

**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: « Біотехнологія наночастинок оксиду заліза та перспективи їх  
застосування у фармації»

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

КОВАЛЬОВА Марина Олексіївна

(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

(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) недозволеної 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 СТАБНІКОВ

“ 08 ” жовтня 2024 року

## З А В Д А Н Н Я

### НА КВАЛІФІКАЦІЙНУ РОБОТУ ЗДОБУВАЧА

КОВАЛЬОВОЇ Марина Олексіївна

(прізвище, ім'я, по батькові)

1. Тема роботи Біотехнологія наночастинок оксиду заліза та перспективи їх застосування у фармації

керівник роботи к.б.н., доц. СКРОЦЬКА О.І.  
(прізвище, ім'я, по батькові, науковий ступінь, вчене звання)

затверджені наказом закладу вищої освіти від 07 жовтня 2024р. № 875-кс

2. Строк подання здобувачем роботи 01.12.2024

3. Вихідні дані до роботи Біологічний агент: *Aspergillus niger* BSC-1. Продукт: наночастинок заліза.

4. Зміст пояснювальної записки (перелік питань, які потрібно розробити) Огляд літератури. Техніко-економічне обґрунтування виробництва наночастинок заліза. Обґрунтування післяферментаційних процесів одержання наночастинок заліза. Підбір технологічного обладнання з врахуванням матеріальних потоків по стадіях. Специфікація обладнання для отримання наночастинок заліза. Опис технологічної схеми отримання наночастинок заліза. Контроль виробництва наночастинок заліза. Технологічні особливості отримання антианемічного препарату з наночастинками оксиду заліза. Проект патентної заявки. Наночастинок оксиду заліза для фармації

5. Перелік графічного матеріалу

Технологічна схема: 1 аркуш формату А1, 1 аркуш формату А3.  
Апаратурна схема: 2 аркуші формату А1

## 6. Консультанти розділів роботи

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

7. Дата видачі завдання 08 жовтня 2024 року

## КАЛЕНДАРНИЙ ПЛАН

№	Назва етапів виконання кваліфікаційної роботи	Строк виконання етапів роботи	Примітка
1.	РОЗДІЛ 1. Огляд літератури	07.10.2024-18.10.2024	
2.	РОЗДІЛ 2. Техніко-економічне обґрунтування виробництва наночастинок заліза	18.10.2024-24.10.2024	
3.	РОЗДІЛ 3. Обґрунтування післяферментаційних процесів одержання наночастинок заліза	24.10.2024-28.10.2024	
4.	РОЗДІЛ 4. Підбір технологічного обладнання з врахуванням матеріальних потоків по стадіях	28.10.2024-02.11.2024	
5.	РОЗДІЛ 5. Специфікація обладнання для отримання наночастинок заліза	02.11.2024-05.11.2024	
6.	РОЗДІЛ 6. Опис технологічної схеми отримання наночастинок заліза	05.11.2024-08.11.2024	
7.	РОЗДІЛ 7. Контроль виробництва наночастинок заліза	08.11.2024-10.11.2024	
8.	РОЗДІЛ 8. Технологічні особливості отримання антианемічного препарату з наночастинками оксиду заліза	10.11.2024-11.11.2024	
9.	РОЗДІЛ 9. Проєкт патентної заявки. Наночастинки оксиду заліза для фармації	11.11.2024-12.11.2024	
10.	Графічна частина	12.11.2024-13.11.2024	
11.	Оформлення роботи та списку джерел	13.11.2024-14.11.2024	

**Здобувач**

\_\_\_\_\_ (підпис)

**Марина КОВАЛЬОВА**

\_\_\_\_\_ (ім'я та прізвище)

**Керівник роботи**

\_\_\_\_\_ (підпис)

**Оксана СКРОЦЬКА**

\_\_\_\_\_ (ім'я та прізвище)

## ABSTRACT

The topic of this qualification work concerns design of the technology for obtaining iron nanoparticles (NPs) using the *Aspergillus niger* BSC-1 strain. It is proposed to use iron nanoparticles for anemia treatment in 1% of patients in Ukraine. According to calculations, 0.73 kg of iron nanoparticles is the annual need for treatment of 478 patients in Ukraine. Taking into account 300 working days and 10% loss of Fe nanoparticles at the stages of finished product extraction, the geometric volume of fermenter is 20 l, the filling factor is 0.6.

The technological scheme for obtaining iron nanoparticles using *A. niger* BSC-1 strain involves the following stages: storage of culture liquid, mycelium separation from culture liquid by filtration, preparation of fungal suspension in distilled water, biosynthesis of iron nanoparticles with addition of precursors, separation of synthesized iron nanoparticles by centrifugation, drying iron nanoparticles in a vacuum drying oven. Control of iron nanoparticle production is presented by definition of appearance, identification, antibacterial and antifungal activity.

The proposal for anti-anemic drug production in the injectable form in vials is described. The choice of glass vials for packing an injectable anti-anemic drug is justified. Secondary packaging will be a cardboard box. The production process includes auxiliary stages and the technological process of obtaining anti-anemic medicinal product. Control methods of anti-anemic preparation with iron oxide nanoparticles include: appearance, test for extractable volume of parenteral preparations, uniformity of content of single-dose preparations, sterility, pyrogens, identification of iron nanoparticles.

The qualification work contains 9 chapters, includes 5 figures, 7 tables, 108 literary sources and is presented on 110 pages. The graphic part is represented by technological and hardware schemes (3 drawings in A1 format and 1 drawing in A3 format, respectively).

**Key words:** iron nanoparticles, anemia, *Aspergillus niger*, vacuum drying, ultrafiltration, vials, AND, identification.

## РЕФЕРАТ

Тема кваліфікаційної роботи стосується проектування технології отримання наночастинок (НЧ) заліза з використанням штаму *Aspergillus niger* BSC-1. Пропонується використання наночастинок заліза для лікування анемії в 1% пацієнтів України. За проведеними розрахунками, 0,73 кг наночастинок заліза є річною потребою для лікування 478 пацієнтів в Україні. Враховуючи 300 трудоднів та 10% втрат наночастинок Fe по стадіях виділення готового продукту, розраховано геометричний об'єм ферментера 20 л, коефіцієнт заповнення – 0,6.

Технологічна схема одержання наночастинок заліза за допомогою штаму *A. niger* BSC-1 передбачає етапи: зберігання культуральної рідини, відділення міцелію від культуральної рідини фільтруванням, приготування грибної суспензії в дистильованій воді, біосинтез наночастинок заліза з додаванням попередників, відділення синтезованих наночастинок заліза центрифугуванням, а також сушіння наночастинок заліза у вакуум-сушильній шафі. Контроль виробництва наночастинок заліза представлений визначенням опису, ідентифікацією, а також антибактеріальною та антифунгальною активністю.

Описано пропозицію виробництва антианемічного лікарського препарату у формі ін'єкційного лікарського засобу у флаконах. Обґрунтовано вибір скляних флаконів для фасування ін'єкційного протианемічного препарату. Вторинна упаковка являтиме собою картонну коробку. Виробничий процес включає допоміжні стадії та технологічний процес одержання антианемічного лікарського засобу. Методи контролю антианемічного препарату з наночастинками оксиду заліза включають: опис, об'єм, що витягається, однорідність вмісту, стерильність, пірогени, ідентифікація наночастинок заліза.

Кваліфікаційна робота містить 9 розділів, включає 5 рисунків, 7 таблиць, 108 літературних джерел та представлена на 110 сторінках. Графічна частина представлена технологічною та апаратурною схемами (3 креслення формату А1 та 1 креслення формату А3 відповідно).

**Ключові слова:** наночастинки заліза, анемія, *Aspergillus niger*, вакуум-висушування, ультрафільтрація, флакони, АНД, ідентифікація..

## ЗМІСТ

ВСТУП.....	8
РОЗДІЛ 1. ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ .....	10
1.1. Загальна характеристика наночастинок заліза.....	10
1.2. Мікробний синтез наночастинок заліза .....	18
1.2.1. Бактерії .....	18
1.2.2. Гриби .....	26
1.3. Можливості потенційного застосування наночастинок заліза у фармації... 31	
РОЗДІЛ 2. ТЕХНІКО-ЕКОНОМІЧНЕ ОБГРУНТУВАННЯ ОДЕРЖАННЯ НАНОЧАСТИНОК ЗАЛІЗА.....	38
2.1. Характеристика наночастинок заліза .....	38
2.2. Потреба у наночастинках заліза .....	40
2.3. Розрахунок річної потужності виробництва наночастинок заліза.....	43
2.4. Розрахунок геометричного об'єму ферментера.....	44
РОЗДІЛ 3. ОБГРУНТУВАННЯ ПІСЛЯФЕРМЕНТАЦІЙНИХ ПРОЦЕСІВ ОДЕРЖАННЯ НАНОЧАСТИНОК ЗАЛІЗА .....	46
3.1. Відділення міцелію від культуральної рідини .....	47
3.2. Приготування грибної суспензії .....	49
3.3. Біосинтез наночастинок заліза.....	49
3.4. Відділення синтезованих наночастинок заліза .....	50
3.5. Зневоднення одержаних наночастинок заліза.....	50
РОЗДІЛ 4. ПІДБІР ТЕХНОЛОГІЧНОГО ОБЛАДНАННЯ З ВРАХУВАННЯМ МАТЕРІАЛЬНИХ ПОТОКІВ ПО СТАДІЯХ .....	53
РОЗДІЛ 5. СПЕЦИФІКАЦІЯ ОБЛАДНАННЯ ДЛЯ ОТРИМАННЯ НАНОЧАСТИНОК ЗАЛІЗА.....	57
РОЗДІЛ 6. ОПИС ТЕХНОЛОГІЧНОЇ СХЕМИ ОТРИМАННЯ НАНОЧАСТИНОК ЗАЛІЗА.....	59
РОЗДІЛ 7. КОНТРОЛЬ ВИРОБНИЦТВА НАНОЧАСТИНОК ЗАЛІЗА.....	62
РОЗДІЛ 8. ТЕХНОЛОГІЧНІ ОСОБЛИВОСТІ ОТРИМАННЯ АНТИАНЕМІЧНОГО ПРЕПАРАТУ З НАНОЧАСТИНКАМИ ОКСИДУ ЗАЛІЗА .....	66
8.1. Обґрунтування кінцевої форми та упаковки, вибору форми випуску антианемічного засобу та необхідних умов виробництва .....	66

8.2. Технологія отримання протианемічного засобу з наночастинками оксиду заліза .....	72
8.3. Специфікація обладнання .....	75
8.4. Опис технологічного процесу виробництва антианемічного лікарського засобу.....	78
8.5. Методи контролю. АНД на антианемічний препарат з наночастинками оксиду заліза .....	81
РОЗДІЛ 9. ПРОЄКТ ПАТЕНТНОЇ ЗАЯВКИ. НАНОЧАСТИНКИ ОКСИДУ ЗАЛІЗА ДЛЯ ФАРМАЦІЇ.....	90
СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ .....	95

## ВСТУП

В останні роки галузь досліджень і розробок, зокрема дослідження наноструктур, стає все більш популярним напрямком в усьому світі. Термін «наноматеріали» стосується речовин розміром менше 100 нанометрів [1].

Так, наночастинки металів часто використовуються в каталітичних реакціях завдяки своїй оптимальній вартості та екологічності в таких галузях, як охорона здоров'я, електроніка, фізика, матеріалознавство та відновлення навколишнього середовища. Удосконалення синтетичних методологій все ще є проблемою для науки. Загальновизнано, що структурні характеристики, включаючи склад, форму, розмір і хімічний склад поверхні, впливають на токсичність наноматеріалів. Вирішальним є використання безпечних, нетоксичних стабілізаторів і простих підходів для збільшення терміну придатності наночастинок металів.

Завдяки своїм фізико-хімічним характеристикам, таким як морфологія, розмір і розподіл, магнітні властивості, антимікробні властивості та каталітична активність, передові наноматеріали дорогоцінних металів, такі як мідь, срібло та золото, привернули увагу вчених в останні десятиліття. Існує декілька способів створення наночастинок, включаючи фізичні, хімічні та біологічні. Однак фізичні та хімічні підходи мають суттєві недоліки, включаючи утворення отруйних і небезпечних побічних продуктів [1].

Залізо є одним із найпоширеніших та широко використовуваних елементів, володіє високою намагніченістю при кімнатній температурі і необхідний для забезпечення різних біологічних процесів, таких як транспорт кисню гемоглобіном і клітинне дихання окисно-відновними ферментами [2].

НУХТ БТЕК 02.01.04 КР ПЗ

Вступ

Літ. Арк. Аркушів  
8 2

Кафедра БТМ

Змн.	Лист	№ докум.	Підпис	Дата			
Розроб.		Ковальова М.О.			Кафедра БТМ		
Перевір.		Скороцька О.І.					
Реценз.							
Н. Контр.							
Затверд.		Стабніков В.П.					

Наночастинки заліза є одними з небагатьох наноматеріалів, які можна вводити в організм і включати в природні метаболічні шляхи людини. Залізо зазвичай існує в навколишньому середовищі у вигляді оксидів заліза (II) і заліза (III). Останнім часом широко вивчається використання наноматеріалів на основі заліза з новими властивостями та функціями через їх низьку токсичність, здатність до біологічного розкладу, малий розмір, велику площу поверхні та магнітні властивості. Крім того, залізо є відносно дешевим і поширеним матеріалом [2].

Серед наночастинок комплексу ядро–оболонка наночастинки заліза становлять особливий інтерес завдяки здатності до регуляції та функціональності, тому серед спектру наноматеріалів синтез залізовмісних наночастинок привертає великий інтерес не лише через фундаментальну наукову перспективу, а й через великий потенціал застосування, зокрема в ролі контрастних речовин для магнітно-резонансної томографії (МРТ), гіпертермії, цільової доставки ліків, біосенсування та розділення білків, очищення води (усунення забруднювачів і бактерій), виробництва магнітних пристроїв, електронних оптичних пристроїв, систем біозображення, матеріалів для накопичення енергії, у генній інженерії та отриманні стовбурових клітин, паливних елементів, чутливих до барвників сонячних батарей та в багатьох інших важливих каталітичних процесах [2].

Отже, вищеописані відомості обумовлюють актуальність біотехнологічного виробництва наночастинок заліза та дослідження шляхів застосування таких наноматеріалів.

## РОЗДІЛ 1. ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ

### 1.1. Загальна характеристика наночастинок заліза

Наночастинки заліза (Fe-НЧ) є нетоксичними частинками з чудовою стабільністю розмірів, високою каталітичною активністю, високим магнетизмом, високою тепло- та електропровідністю, великою площею поверхні та високою здатністю до мікрохвильової адсорбції. Однак наночастинки заліза схильні до окислення, що вважається їх найбільшим недоліком [3].

Деякі приклади їх застосування включають:

- магнітні та електричні прилади (трансформатори, котушки індуктивності, магнітні записуючі головки, електромагніти, двигуни та інші електричні компоненти);
- застосування в каталітичних реакціях (гідроформілювання алкєну, гідрування нафталіну, перетворення сполук азоту в N<sub>2</sub> під час піролізу вугілля, розкладання трихлоретилену, зростання наноструктур нітриду галію та зростання вуглецевих нанотрубок);
- біомедична галузь (магнітно-резонансна томографія, біологічне фарбування, доставка ліків, адсорбція забруднюючих речовин, генна терапія, виробництво антимікробних препаратів тощо);
- застосування в харчових продуктах (консервування та аналіз харчових продуктів, іммобілізація ферментів, виділення та очищення білка)
- застосування в сільському господарстві (нанодобавки, нанодобрива, наносенсори, нанопестициди та гербіциди).

Через широкий спектр використання наночастинок заліза виникає потреба в їх оптимальному синтезі [3].

НУХТ БТЕК 02.01.04 КР ПЗ

Змн.	Лист	№ докум.	Підпис	Дата				
Розроб.		Ковальова М.О.			РОЗДІЛ 1. Огляд літератури	Літ.	Арк.	Аркушів
Перевір.		Скороцька О.І.					10	28
Реценз.						1		
Н. Коитр.						Кафедра БТМ		
Затверд.		Стабніков В.П.						

Хімічні методи, що використовують для синтезу наночасток заліза, включають гідротермічний синтез з термічним розкладанням, технологія зворотньої міцели, співосадження, мікроемульсійну технологію, золь-гель синтез, сонохімічні реакції, термоліз та гідроліз прекурсорів, електророзпилюючий синтез, проточно-інжекційний синтез та методи колоїдної хімії [4, 5].

Наночастинки заліза, синтезовані цими методами, швидко агломеруються з утворенням кластерів завдяки міжчастинковим Ван-дер-Ваальсовим силам і магнітній взаємодії, внаслідок чого Fe-НЧ можуть далі швидко окислюватися в присутності окислювачів, тим самим обмежуючи їх реакційну здатність [6].

Таким чином, хімічні методи поступаються біотехнологічним способам синтезу наночастинок заліза, які проявляють екологічність та можливість регуляції властивостей цільових метаболітів застосуванням певних прийомів при культивуванні біологічного продуцента Fe-НЧ.

Так, опосередкований бактеріями синтез наночастинок заліза описаний в сучасній літературі як результат двох можливих шляхів: біологічно індукована біомінералізація (позаклітинна), коли кристали магнетиту утворюються в культуральному розчині як побічний продукт, і біологічно контрольована біомінералізація (внутрішньоклітинна) [3].

Позаклітинні процеси можуть бути опосередковані за допомогою Fe(III)-відновлюючих бактерій (*Geobacter metallireducens*, *Shewanella putrefaciens*, *Thermoanaerobacter ethanolicus*, *Archaeoglobus fulgidus*, *Desulfuromonas acetoxidans*) і сульфатвідновлюючих бактерій (*Desulfuromonas*, *Actinobacter*) – у цьому разі бактеріальні метаболіти, що виділяються з клітини, діють як відновники. Внутрішньоклітинні процеси відбуваються в цитоплазмі або клітинній стінці. Специфічні іони повинні перенестись всередину клітини, де відбувається утворення, а утворення наночасток заліза регулюється внутрішніми процесами мікроорганізму-продуцента.

Крім того, сучасні науковці у своїх працях згадують і про синтез наночастинок заліза з використанням *Bacillus cereus*, *Staphylococcus warneri*,

*Bacillus subtilis*, *Lactobacillus casei* для позаклітинного синтезу Fe-НЧ та використання *Lactobacillus fermentum*, *Gluconacetobacter xylinus* та ін. для внутрішньоклітинного синтезу наночастинок феруму.

Синтез наночастинок заліза грибними продуцентами відбувається при виділенні грибами біологічно активних сполук, які діють як біокатализатори для утворення наночастинок. Крім того, гриби вважаються чудовими посередниками наносинтезу через їх високу швидкість росту. Хоча механізми утворення наночастинок за допомогою грибів ще не повністю вивчені, вважається, що подібно до бактерій синтез може відбуватися позаклітинно та внутрішньоклітинно. Зазвичай клітини вирощують, фільтрують і промивають, а безклітинний екстракт змішують з попередниками для синтезу наночастинок. Як повідомляється, серед інших представників грибів саме *Trichoderma asperellum*, *Phalemoniopsis ocularis*, *Fusarium incarnatum*, *Aspergillus flavus*, *Aspergillus niger*, *Rhizopus stolonifera*, *Penicillium oxalicum*, *Alternaria alternata* та *Candida bombicola* успішно використовувались для синтезу наночастинок заліза.

Також встановлено, що водорості, здатні виробляти вторинні біоактивні метаболіти, які можуть діяти як відновлювачі, блокуючі та стабілізуючі агенти, можна використовувати у виробництві Fe-НЧ. Крім того, через швидку швидкість росту червоні, зелені та бурі водорості часто виступають біологічними агентами для синтезу наночастинок [3].

Літературні відомості засвідчують, що синтезовані бурими водоростями наночастинок заліза виявляють антиоксидантний потенціал і ефективно пригнічують проліферацію ракових клітин гліобластоми [7].

Наночастинок заліза, синтезовані з використанням рослин, грибів, бактерій та водоростей, зазвичай мають розмір у діапазоні 1–100 нм і мають різні форми, такі як кубічні, тетрагональні кристалічні, сферичні, циліндричні, еліптичні, октаедричні, орторомбічні, гексагональні стрижні, наносферні та квазісферичні [8, 9, 10].

Варто зазначити, що у розрізі використання в медицині важливою властивістю магнітних наночастинок оксиду заліза, на відміну від інших металевих наночастинок, є їх здатність до біологічного розкладу. Вважається, що механізм біодеградації Fe-НЧ аналогічний метаболізму феритину, який перетравлюється лізосомальними ферментами для вивільнення іонів заліза. Багато досліджень засвідчують, що магнітні наночастинок демонструють низьку токсичність, викликаючи лише короточасні, тимчасові зміни, наприклад, окислювальний стрес, але не сприяють постійному пошкодженню органів. Тільки надзвичайно високі дози (500 мг Fe/кг) викликали патологічні зміни в печінці та селезінці. Біорозподіл магнітних наночастинок в організмі є важливим параметром, знання якого дає змогу зменшити токсичність наноструктур, що є наслідком їх небажаного розподілу, а також підвищити очікувану функціональність Fe-НЧ у цільовому органі чи тканині [11].

Разом з тим, для сполучення органічних або неорганічних сполук на поверхні Fe-НЧ, найбільш широко використовуваною стратегією модифікації поверхні є техніка нанесення покриття. Поверхневі покриття необхідні для підвищення колоїдної стабільності наночастинок заліза у фізіологічному середовищі. Згідно з літературними даними, основними цілями модифікації поверхні є посилення дисперсності НЧ, регулювання поверхневої активності, покращення механічних і фізико-хімічних характеристик, підвищення біосумісності наночастинок [12].

Такі частинки заліза дуже активні в своїх нанорозмірах, оскільки співвідношення площі поверхні до об'єму є великим і потрібна модифікація поверхні, щоб утримувати поверхневу енергію якомога нижче, зберігаючи при цьому необхідну хімічну стабільність. Як додаткова перевага, покриття запобігає агрегації Fe-НЧ, що може призвести до емболії. Ці наночастинок можуть бути покриті різними сполуками, включаючи амінокислоти, полімери та жири. Матеріал покриття також може впливати на біорозподіл наноматеріалів, впливаючи на процеси опсонізації. Найпоширенішими полімерами серед матеріалів для покриття є [12]:

### 1) Декстран

Завдяки своїй здатності до біологічного розкладання декстран використовується як покриття для наноносіїв лікарських речовин. Такий підхід зменшує токсичність препарату та негативний вплив на живий організм. Відрізняється високоефективним лікарським навантаженням, простим всмоктуванням і утилізацією, забезпечує тривалу циркуляцію ліків у крові та стабільну дію.

### 2) Хітозан

Похідні хітозану мають підвищену міцність, швидкість набухання, паропроникність і змочувальність матриці. Хітозану притаманні такі властивості як ранозагоювальна, бактерицидна, а також протипухлинна та фунгіцидна дія.

### 3) Полівінілпіролідон

У розчині має чудові змочувальні властивості та легко утворює плівки, що обумовлює його застосування в ролі покриття. Використовується як допоміжний засіб для підвищення розчинності лікарських препаратів.

### 4) Полімолочна гліколева кислота

Характеризується як біосумісний і біорозкладний агент, демонструє широкий діапазон часу ерозії, має регульовані механічні властивості і, що найважливіше, є схваленим FDA полімером. Широко вивчалась для розробки пристроїв для контрольованої доставки маломолекулярних лікарських сполук, білків та інших макромолекул для комерційного використання та в наукових дослідженнях.

### 5) Полівініловий спирт

Водорозчинний, має високу біосумісність і здатний до біологічного розкладання. Використовується для виготовлення водорозчинних і біодеградабельних носіїв. Що ще цікавіше, полівініловий спирт здатний до самозшивання завдяки високій щільності гідроксильних груп, розташованих на його бічних ланцюгах.

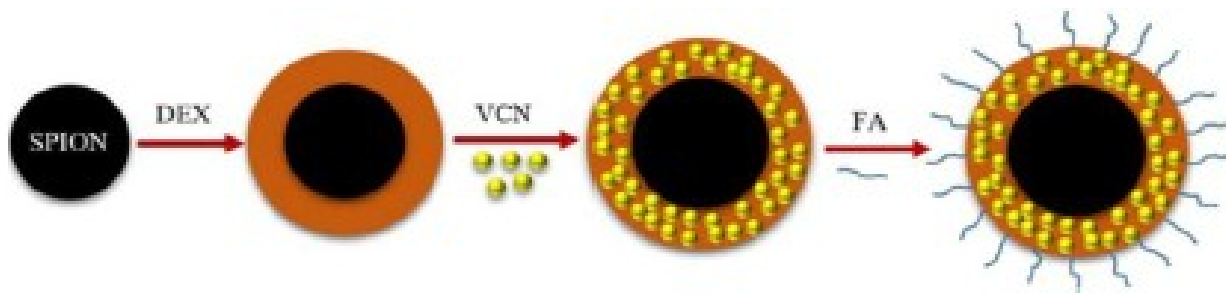


Рис. 1.1. Етапи процесу  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  нанокапсулювання протипухлинного препарату винкристину (VCN) та його фолатної функціоналізації з використанням декстрану як покриття (DEX) [12].

Функціоналізовані полімерні наночастинки заліза мають низку значних переваг порівняно зі стандартними способами перорального та внутрішньовенного введення лікарських препаратів з точки зору доставки ліків. На взаємодії НЧ впливає поверхневе покриття, як показано на рис. 1.1, включаючи його природу та структурну організацію, поверхневе покриття контролює розмір частинок і гідродинамічні параметри в колоїді.

Оскільки кожен матеріал має переваги та недоліки, вибір покриття значною мірою залежить від передбачуваного застосування з точки зору функціональності, стабільності або розміру. Цілеспрямований розподіл із локалізацією наночастинок у цільовому місці доставки стає можливим завдяки використанню відповідного покриття поверхні [12].

Як і більшість наночастинок металів, наночастинки заліза мають високе співвідношення площі поверхні до об'єму, що обумовлює їх низьку температуру плавлення, температуру спікання та особливі магнітні властивості. Різні Fe-наночастинки можуть бути отримані шляхом набуття унікальної морфології залежно від шляху синтезу та основних параметрів, таких як температура, тиск, час реакції, набір реагентів тощо, що може змінити фізико-хімічні властивості Fe-НЧ, функціональність поверхні та магнітні властивості. На поведінку феромагнітної наночастинки значно впливає її розмір. Коли розмір зменшується, вона перетворюється з багатодоменної частинки в наночастинку з одним магнітним доменом і зрештою в суперпарамагнітну наночастинку [13].

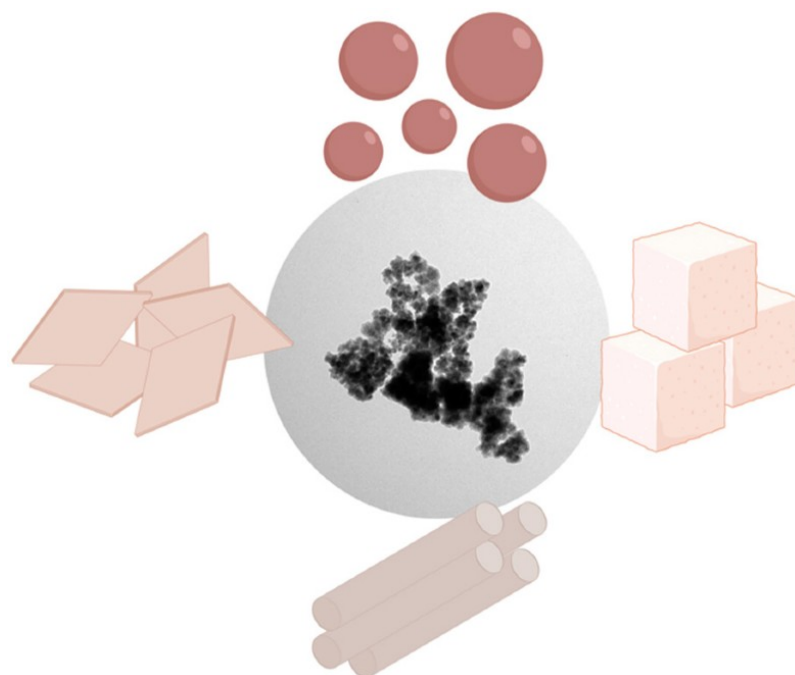


Рис. 1.2. Приклади форм наночастинок заліза, отриманих при регуляції фізико-хімічних властивостей при їх синтезі [13].

Знання фармакокінетики використаних магнітних наноструктур має вирішальне значення для посилення їх передбачуваної функціональності в будь-якій області організму та мінімізації їх потенційних токсичних ефектів через небажаний біорозподіл або накопичення [14].

Іони заліза, що містяться в магнітних наночастинках, є мікроелементами в організмі. Після перетравлення Fe-НЧ в лізосомах іони заліза можуть бути включені в природну циркуляцію цього елемента. У крові залізо зв'язується транспортним глікопротеїном, який називається трансферином, і більша частина абсорбованого заліза використовується кістковим мозком для еритропоезу. З іншого боку, феритин є клітинним білком для зберігання заліза та маркером заряду заліза в тканинах.

Так, прогрес у дослідженнях щодо використання магнітних наночастинок для біомедичних застосувань показав, що на їхню фармакокінетику та біорозподіл впливають розмір, форма, заряд і, перш за все, хімічний склад поверхні наночастинок заліза. Таким чином, залежно від цих факторів, а також від методу введення, очікувана фармакокінетична поведінка Fe-НЧ може відрізнитися.

Загалом було доведено, що наночастинки з гідродинамічними розмірами в діапазоні 15–100 нм є оптимальними, оскільки Fe-НЧ таких розмірів демонструють найдовший час циркуляції в кровотоці і мають більший шанс досягти інших органів – мозок, стінки артерій, лімфатичні вузли, пухлини тощо. Більші частинки ( $d > 100$  нм) легко захоплюються фагоцитуючими клітинами та накопичуються в печінці та селезінці, при цьому частинки діаметром ( $d > 200$  нм) демонструють вищу швидкість поглинання селезінкою порівняно з печінкою. Дуже малі наночастинки ( $d < 10$ –15 нм) виводяться нирками. Прикладом наночастинок, у випадку яких чітко проявляється залежність періоду напіврозпаду від їх розміру, є Ферумоксиди і Ферумокстран-10– агенти МРТ. Обидва мають подібне декстранове покриття, але Ферумокстран-10, що складається з менших наночастинок ( $d = 15$ –50 нм), характеризується набагато довшим часом циркуляції (період напіввиведення з крові людини становить від 24 до 36 годин), ніж Ферумоксиди з  $d = 62$ –80 нм. Отже, наночастинки Ферумокстрану-10 мають легший доступ до лімфатичних вузлів, мозку та кістково-суглобових тканин, тоді як Ферумоксиди з більшими наночастинками швидко виводяться з кровотоку внаслідок його поглинання клітинами Купфера в печінці.

Загалом, позитивно заряджені Fe-НЧ сильно взаємодіють з компонентами крові та відносно швидко виводяться із системного кровообігу, на відміну від негативно та нейтрально заряджених наночастинок заліза. Крім того, ліганди та функціональні покриваючі молекули часто значно збільшують гідродинамічні Fe-НЧ, що призводить до макрофагального та системного очищення розроблених наночастинок. Важливо, що профіль токсичності наночастинок заліза з функціональними шарами може бути змінений внаслідок модифікації їх біорозподілу та очищення. Тому так важливо розвивати методи швидшого та кращого визначення фармакокінетики, біорозподілу та токсикології Fe-наночастинок [14, 15].

Оскільки розмір Fe-НЧ невеликий, вони не мають кількох доменів, як великі магніти. Натомість вони утворюють єдиний магнітний домен і володіють

підвищеною магнітною сприйнятливістю. Це надає сильнішу та швидшу магнітну реакцію під впливом зовнішнього магнітного поля. Отже, важливими компонентами наночастинок заліза є:

1) ядро наночастинки оксиду заліза, яка містить лікарський засіб або контрастну речовину для МРТ,

2) біосумісне покриття наночастинок оксиду заліза, ефективне для їх взаємодії з біологічною системою,

3) націлюючий ліганд, який може бути компонентом лікарського засобу або біомолекулою, що має вирішальне значення для ідентифікації та подальшого лікування надекспресованого рецептора на зовнішній поверхні ракових клітин [16].

Отже, наночастинки заліза володіють широким спектром фізико-хімічних та біологічних властивостей, їх синтез за допомогою біотехнологічних прийомів є більш перспективним підходом, порівняно з хімічними методами.

## **1.2. Мікробний синтез наночастинок заліза**

Одним із методів синтезу наночастинок є біологічний метод і в наш час увага до таких методів синтезу наночастинок металів зростає. Наночастинки заліза (Fe-НЧ), синтезовані з використанням біотехнологічних агентів, демонструють широкий спектр різноманітних оптичних, хімічних, магнітних, термічних, фізико-хімічних, каталітичних, структурних, фотоелектрохімічних та електронних властивостей. Також синтез наночастинок з використанням біотехнологічних підходів є нетоксичним, економічно та екологічно вигідним рішенням [17].

### **1.2.1. Бактерії**

Бактеріальний синтез став стійким підходом мікробного синтезу різноманітних наночастинок завдяки своїй різноманітності, адаптованості до екстремальних умов та екологічності. Бактерії мають здатність синтезувати Fe-НЧ як внутрішньоклітинно, так і позаклітинно, залежно від використовуваного бактеріального штаму [18, 19].

З метою біосинтезу наночасток заліза автори роботи [20] *Bacillus subtilis* VT03 культивували в середовищі з глюкозою у концентрації 15 г/л. Для одержання наночасток 2 мг/мл ЕПС додавали у водний розчин 3 М FeCl<sub>3</sub> (безводний) і 3 М водного розчину FeSO<sub>4</sub> у співвідношенні 2 : 3 для Fe<sup>3+</sup>/Fe<sup>2+</sup>. Розмір наночастинок заліза був у межах 60-80 нм, при цьому вони проявляли антимікробну активність. Зони інгібування росту *Aeromonas hydrophila* ATCC 49140, *A. hydrophila* MTCC 1739, *A. sobria* MTCC 3613, *A. hydrophila* (лабораторний штам) у кількості 100-400 мкг/мл склали 1,33-7,66 мм. Fe-НЧ мали цитотоксичний ефект відносно лінії клітин епідермоїдної карциноми людини A431. Значення IC<sub>50</sub> склало 62,946 мг/мл упродовж 24 годин впливу.

Позаклітинний біосинтез магнітних наночастинок оксиду заліза штамом *Bacillus cereus* НМН1 описано в статті [21]. Продуцента вирощували в середовищі NB протягом 24 годин при 37 °С. Після цього проводили центрифугування культуральної рідини при 5000 об/хв протягом 15 хв. Біосинтез магнітних наночастинок оксиду заліза визначали за зміною кольору від прозорого золотисто-жовтого до мутно-коричневого. Розмір наночастинок заліза склав від 18,8 до 28,3 нм.

Аналіз показав, що середній розмір частинок стабільних сферичних магнітних наночастинок оксиду заліза становить приблизно 29,3 нм. Результати показують, що токсичність отриманих наночастинок (IC<sub>50, MCF-7</sub> > 5 мг/мл та IC<sub>50, 3T3</sub> > 7,5 мг/мл) залежить від концентрації [21].

У статті [22] визначено особливості одержання наночастинок заліза при культивуванні *Microbacterium hominis* та *Bacillus licheniformis*. Максимальний пік поглинання для синтезованих наночасток феруму зафіксували на рівні 283 та 36 нм. Форма отриманих наночастинок заліза кубічна, а розмір НЧ знаходився у межах 29-42 нм.

Метою роботи [23] було одержання наночастинок заліза (Fe-НЧ) мікробним шляхом з анаеробних бактерій, вирощених в анаеробних реакторах із псевдозрідженим шаром, які становлять новий етап біопереробки відходів. Біочастинки з біологічних реакторів із псевдозрідженим шаром з біорафінажу

органічної фракції твердих побутових відходів (гідролізати, багаті відновними цукрами) містили біологічно відновлені солі заліза. Склад стічних вод як поживного середовища був наступним (мг/л): сечовина - 125,  $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  - 5,  $\text{CaCl}_2$  безводний - 47,  $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  - 0,5,  $\text{SeO}_2$  - 0,07,  $\text{CoCl}_2$  - 0,08,  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  - 85,  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  - 21,7,  $\text{K}_2\text{HPO}_4$  - 33,4,  $\text{NaHCO}_3$  - 1000. Було визначено постійну концентрацію заліза в наночастинках – 60-65%.

У роботі [24] науковці виділили *Pseudomonas aeruginosa* (штам не вказано) з клінічних зразків і продемонстрували здатність цього біологічного агента біосинтезувати магнітні наночастинки. *P. aeruginosa* вирощували в середовищі 9 К з мінімальним вмістом вуглецю з додаванням заліза при низькому рН [21].

Середовище 9 К має такий склад:  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  - 3,0 г,  $\text{KCl}$  – 0,10 г,  $\text{K}_2\text{HPO}_4$  – 0,50 г,  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  – 0,50 г,  $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$  – 0,01 г, вода – до 700 мл, 10 н  $\text{H}_2\text{SO}_4$  – 1,0 мл з додаванням 300 мл 14,74% розчину  $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  [25].

Культивування проводили за температури 37 °С в режимі перемішування 120 об/хв. З метою виділення наночасток проводили наступні стадії. Відбирали зразки 50 мл культуральної рідини та центрифугували при 13000 об/хв протягом 10 хвилин при 4 °С. Осад тричі промивали 0,9 М розчином  $\text{NaCl}$ , потім суспендували в 0,2% додецилсульфату натрію та інкубували при кімнатній температурі протягом 45 хв. Суспендовані клітини обробляли ультразвуком при 20 кГц протягом 10 хвилин з амплітудою 40%. Магнітосоми збирали після ультразвукової обробки шляхом застосування сильного магнітного поля з використанням магнітного стрижня з одного боку кожної трубки. Екстраговані магнітосоми промивали 0,9 М розчином  $\text{NaCl}$ . Такий метод біосинтезу з використанням представника роду *Pseudomonas* має перевагу, оскільки синтезовані таким біологічним агентом магнітні наночастинки заліза мають вузький розподіл за розміром, що робить їх потенційними кандидатами для магнітної гіпертермії, адже ця властивість допомагає наночасткам підтримувати необхідну температуру, що є критичним параметром для лікування [24].

*Escherichia coli* також є перспективним продуцентом для біосинтезу наночастинок заліза. Концентрація синтезованих *E. coli* Qc1301 в середовищі LB наночастинок заліза склала 7-700 мг/л. Цитотоксичні ефекти проявлялись для наночастинок Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> і наночастинок нуль-валентного заліза при дозах понад 700 мг/л і 70 мг/л відповідно. Хімічно стабільні наночастинки Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub> не мали цитотоксичності. Розмір наночастинок нуль-валентного заліза становив близько 50 нм, а Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>-НЧ – 6 ± 1 нм [26].

Бактерії, що відновлюють залізо, зазвичай використовують для синтезу наноматеріалів заліза. Зокрема, цікавість викликають представники роду *Actinobacter* для одержання наночастинок феруму. Було виявлено, що *Actinobacter* sp. (штам не ідентифіковано) здатний до позаклітинного синтезу магнітних наночастинок при додаванні водного розчину солей заліза в аеробних умовах протягом 48–72 годин. На утворення наночастинок оксиду заліза вказувала зміна кольору реакції, від коричневого до темно-коричневого [27].

Бактеріальний синтез магнітних частинок є складним явищем і синтез включає фермент залізоредуктазу, що виробляється *Actinobacter* sp. у присутності солі заліза. Залізоредуктаза, відновлює Fe<sup>3+</sup> до Fe<sup>2+</sup> позаклітинно для утворення магнітних наночастинок. *Actinobacter* sp. (штам не ідентифіковано) культивували в середовищі LB при ~35 °C та перемішуванні 150 об/хв. Було встановлено, що позаклітинна залізоредуктаза синтезувалася в присутності надлишку солі заліза.

Інші дослідники одержали наночастинки заліза в анаеробних умовах з використанням термофільного штаму *Thermoanaerobacter* sp. TOR-39 і з додаванням FeOОН як попередника. Позаклітинні наночастинки заліза продемонстрували хорошу монодисперсність із середнім діаметром 13,1 нм [27].

*Bacillus megaterium* PTCC1250— це магнітотактична бактерія, яка має магнітосомну органеллу, здатну орієнтуватися на основі зовнішніх магнітних полів, викликаних мінералізацією магнітних нанокристалів. Використовуючи

цю можливість і додаючи розчин нітрату заліза до бактеріальної суспензії, дослідники синтезували наночастинки оксиду заліза. *B.megaterium* PTCC1250 культивували в середовищі Nutrient Broth з подальшою інкубацією при 37 °C. Після закінчення росту бактеріальну суспензію змішували з розчином залізного купоросу в концентрації 0,1 М у співвідношенні 1:1 і проводили синтез при кімнатній температурі. Після додавання розчину солі до суспензії бактерій спостерігалось зміна кольору від світло-жовтого до помаранчевого та з часом сірувато-зеленого. Розмір наночастинок заліза становив 20-30 нм [28].

Вищеописану інформацію узагальнено в таблиці 1.1.

## Біосинтез наночастинок заліза бактеріальними штамами

Продуцент	Субстрат, концентрація	Особливості одержання Fe-НЧ	Розмір Fe-НЧ	Література
<i>Bacillus subtilis</i> VT03	Глюкоза, 15 г/л	Для одержання наночастинок 2 мг/мл ЕПС додавали у водний розчин 3 М FeCl <sub>3</sub> (безводний) і 3 М водного розчину FeSO <sub>4</sub> у співвідношенні 2:3 для Fe <sup>3+</sup> /Fe <sup>2+</sup> .	60-80 нм	[20]
<i>Bacillus cereus</i> НМН1	Глюкоза, 1 г/л	Проводили центрифугування культуральної рідини при 5000 об/хв протягом 15 хв. Супернатант пропускали через фільтр 0,2 мкм. Вносили сіль заліза таким чином, що концентрація в бажаному об'ємі супернатанту становила 5 мМ.	18,8- 28,3 нм	[21]
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> (штам не вказано)	Середовище 9К	Культивування з додаванням 300 мл 14,74% розчину FeSO <sub>4</sub> * 7H <sub>2</sub> O проводили за температури 37 °С в режимі перемішування 120 об/хв. Відбирали зразки 50 мл культуральної рідини та центрифугували при 13000 об/хв протягом 10 хвилин при 4 °С.	35–120 нм	[24]

		Осад тричі промивали 0,9 М розчином NaCl, потім суспендували в 0,2% додецилсульфату натрію та інкубували при кімнатній температурі протягом 45 хв. Суспендовані клітини обробляли ультразвуком при 20 кГц протягом 10 хвилин з амплітудою 40%. Магнітосоми збирали після ультразвукової обробки шляхом застосування сильного магнітного поля з використанням магнітного стрижня з одного боку кожної трубки. Екстраговані магнітосоми промивали 0,9 М розчином NaCl.		
<i>Escherichia coli</i> Qc1301	Триптон, 10 г/л Дріжджовий екстракт, 5 г/л	Не описано	6 ± 1 нм	[26]
<i>Actinobacter</i> sp. (штам не ідентифіковано)	Не описано	До середовища додавали водний розчин солей заліза (феріціаніду/фероціаніду калію) в аеробних умовах протягом 48–72 годин.	10-40 нм	[27]
<i>Thermoanaerobacter</i>	Глюкоза, 10 мМ	Після того, як температура	13,1 нм	[27]

sp. TOR-39		середовища в реакторі наблизилися до 65°C, інкубацію розпочали з додавання 10 мМ глюкози, 15 мМ 3-(N-морфоліно)пропансульфонові кислоти (MOPS) з рН 7,8, приблизно 80–120 мМ акаганеїту (MxFe1-xOОН, де М — метал) попередника та 2% інокуляту.		
<i>Bacillus megaterium</i> PTCC1250	Дріжджовий екстракт, 2 г/л Пептон, 5 г/л	Культивували в середовищі Nutrient Broth з подальшою інкубацією при 37 °С. Після закінчення росту бактеріальну суспензію змішували з розчином залізного купоросу в концентрації 0,1 М у співвідношенні 1:1 і проводили синтез при кімнатній температурі.	20-30 нм	[28]

## 1.2.2. Гриби

Біосинтез наночастинок за допомогою грибів в сучасних умовах набуває широкого використання, оскільки при цьому одержують монодисперсні наночастинок чітко визначених розмірів, різного хімічного складу та фізичних властивостей. Гриби вважаються ефективними агентами для синтезу наночастинок металів завдяки наявності різноманітних ферментів у їхніх клітинах і легкості культивування таких біологічних агентів. Гриби порівняно з бактеріями синтезують велику кількість наночастинок завдяки виділенню більшої кількості білків, що призводить до підвищення рівня синтезу наночастинок [29].

У дослідженні [30] наночастинок заліза були синтезовані з використанням екстракту грибів *Pleurotus florida*. Біосинтезовані наночастинок заліза проявляли антимікробну дію проти *Candida glabrata*, *Micrococcus mucilaginosus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Candida albicans*, *Klebsiella terrigena*, *K. pneumoniae*, *Escherichia coli*, *Candida sp.*, *Bacillus cereus* і *Staphylococcus aureus*. Наважку 20 г свіжих грибів додавали до 100 мл деіонізованої води, нагрівали протягом години на водяній бані при 60° і фільтрували через фільтрувальний папір – так отримували екстракт. 50 мл екстракту грибів додавали до 50 мл 1 М розчину хлориду заліза в пропорції 1:1 при температурі приблизно 50-60°C і розчин безперервно перемішували. Після цього синтезовані екстракти центрифугували при 3000-5000 об/хв протягом 15 хвилин і тричі промивали дистильованою водою, збирали осад, висушували. Виробництво наночастинок заліза з *P. florida* спочатку було підтверджено зміною кольору від коричневого до темно-коричневого, а потім охарактеризовано ультрафіолетовою видимою спектроскопією та скануючим електронним мікроскопом. Синтезовані наночастинок мали сферичну форму і їх розмір становив приблизно 100 нм [30].

Зростання інтенсивності функціонування шкіряної та текстильної промисловості призвело до потрапляння у водне середовище величезної кількості токсичних важких металів, включаючи хром, як домішок синтетичних

барвників. Крім шкіряної та текстильної промисловості, забруднення хромом навколишнього середовища може виникати через гальванічну промисловість, виробництво кераміки, вогнетривкої цегли, процесів обробки деревини під тиском тощо [31].

Суперпарамагнітні наночастинки оксиду заліза були успішно утворені за допомогою мангрового гриба *Aspergillus niger* BSC-1 і використані для видалення шестивалентного хрому з модельованого водного розчину. Синтезовані наночастинки оксиду заліза мали розмір 20–40 нм. Серійний експеримент виявив суттєво високе видалення Cr за температури 40°C і pH 3 при внесенні наночасток заліза у концентрації 2,5 г/л. Дослідження регенерації підтвердило, що синтезовані наночастинки заліза оксиду зберегли свою ефективність видалення шестивалентного хрому з мінімальними втратами (19,3%) після п'яти циклів адсорбції/десорбції [31].

Мікробний синтез магнітних наночастинок Fe та Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> з використанням штаму *A. niger* YESM1 описано в роботі [32]. Культивування проводили в рідкому декстрозному середовищі Сабуро, що складається з 20 г/л декстрази та 10 г/л пептону протягом 7 днів при 25°C. Потім міцеліальну біомасу суспендували в стерильній воді, утворюючи суспензію концентрацією 250 мг/мл. Після цього додавали розчини солей FeSO<sub>4</sub> та FeCl<sub>3</sub> концентрацією 2000 ppm до суспензії грибів (співвідношення 1:1) і витримували їх протягом 6 днів у 2 окремих колбах при кімнатній температурі. Після 6 днів статичної інкубації суміші центрифугували при 6000 об/хв протягом 30 хв, відділені осадки промивали етанолом, центрифугували при 14000 об/хв протягом 10 хв і сушили при 65°C. Визначили, що у присутності суспензії грибів FeSO<sub>4</sub> і FeCl<sub>3</sub> розкладаються з утворенням наночастинок FeS і Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub> відповідно.

Отримані наночастинки витримували в етиловому спирті протягом 1 години при 300°C і тиску 850 psi (фунтів на квадратний дюйм), що свідчить про їх стабільність. Синтезовані наночастинки Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> мали сферичну форму із середнім розміром 18 та 50 нм відповідно. Розмір кристалів становив 9 нм для Fe і 8 нм для Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>. Отримані результати відкривають новий шлях для

великомасштабного виробництва високомагнітних наночастинок для використання в біомедичних цілях [32]

У всьому світі зростає пошук комерційно вигідного та екологічно чистого синтезу наночастинок заліза з використанням біологічних агентів, однак немає достатньої інформації про виробництво наночастинок заліза з грибів виду *Trichoderma* sp., які мають потенціал для більшого виходу Fe-НЧ порівняно з бактеріальними продуцентами. Фільтрати, отримані з біомаси чистих культур, вирощених в картопляно-декстрозному бульйоні протягом 72 год при перемішуванні 120 об/хв, реагували з 1 М розчином хлориду заліза. Зміна забарвлення за допомогою ультрафіолетового видимого спектрофотометра при 200-600 нм порівняно з контролем (розчин хлориду заліза) засвідчила утворення наночастинок заліза. Оптимальні умови для біосинтезу наночастинок спостерігалися при рН 4,5 та температурі 35 °С. Встановлено, що властивості позаклітинних наночастинок заліза, синтезованих *Trichoderma* sp. (штам не ідентифіковано), обумовлюють роль грибів як біоресурсу для синтезу стабільних наночастинок [33].

Таким чином, біологічні агенти бактеріального та грибного походження є багатообіцяючими кандидатами для біотехнологічного синтезу наночастинок заліза з метою їх використання у медицині та фармацевтичній галузі.

## Узагальнена інформація щодо отримання наночастинок заліза культивуванням грибів

Продуцент	Субстрат, концентрація	Особливості одержання Fe-НЧ	Розмір Fe-НЧ	Література
<i>Aspergillus niger</i> BSC-1	Декстроза, 20 г/л	Після культивування вільний від клітин фільтрат обробляли сумішшю солей-попередників заліза, що містить хлорид заліза ( $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ ) і сульфат заліза ( $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ ) у молярному співвідношенні 2:1 та інкубували протягом 3 годин при 28°C та 120 об/хв у темних умовах. Синтезовані наночастинки збирали центрифугуванням (5000 об/хв) при 4°C протягом 15 хвилин з подальшим промиванням стерильною водою.	20–40 нм	[31]
<i>Aspergillus niger</i> YESM1	Декстроза, 20 г/л Пептон, 10 г/л	Міцеліальну біомасу суспендували в стерильній воді, утворюючи суспензію концентрацією 250 мг/мл. Після цього додавали розчини солей $\text{FeSO}_4$ та $\text{FeCl}_3$ концентрацією 2000 ppm до суспензії грибів	18 та 50 нм відповідно	[32]

			(співвідношення 1:1) і витримувати їх протягом 6 днів у 2 окремих колбах при кімнатній температурі. Після 6 днів статичної інкубації суміші центрифугували при 6000 об/хв протягом 30 хв, відділені осадки промивали етанолом, центрифугували при 14000 об/хв протягом 10 хв і сушили при 65°C. Визначили, що у присутності суспензії грибів FeSO <sub>4</sub> і FeCl <sub>3</sub> розкладаються з утворенням наночастинок FeS і Fe <sub>2</sub> O <sub>3</sub> відповідно		
<i>Trichoderma</i> sp. (штам не ідентифіковано)	Декстроза, 20 г/л		Фільтрати, отримані з біомаси чистих культур, вирощених в картопляно-декстрозному бульйоні протягом 72 год при перемішуванні 120 об/хв, реагували з 1 М розчином хлориду заліза.	Не описано	[33]

### **1.3. Можливості потенційного застосування наночастинок заліза у фармації**

Завдяки нанорозмірності функціональних компонентів клітин використання підходів нанотехнологій у біотехнологічних та медичних цілях є актуальним питанням сьогодення. Одним із перспективних напрямів є використання наночастинок з метою молекулярної діагностики, цільової доставки ліків, при розробці нових фармацевтичних засобів тощо [34].

Сучасні препарати для лікування раку мають ряд обмежень, такі як використання високих концентрацій лікарських засобів, вплив на інші клітини та відсутність локалізації в місцях ураження раком, що знижує ефективність дії ліків і також викликає токсичний ефект на інші здорові клітини [35].

Як відомо, наночастинки мають значну площу поверхні. Унікальне явище магнетизму, відоме як суперпарамагнетизм, спостерігається для наночастинок заліза (Fe-НЧ). Наночастинки заліза виступають чудовим каталізатором розрідження вугілля. Існує багато біомедичних застосувань, включаючи магнітне розділення та маркування біологічних матеріалів. Наночастки феруму покращують контрастність магнітно-резонансної томографії (МРТ), забезпечують вибіркове нагрівання ракових пухлин та сприяють видаленню важких металів [36].

Так, магнітні наночастки заліза характеризуються широким спектром використання у медицині, включаючи магнітне розділення та маркування біологічних матеріалів, а також доставку лікарських засобів за відповідним призначенням до різних систем організму. Наночастки заліза вирізняються багатообіцяючими перевагами, порівняно з оксидами заліза, внаслідок вищого магнітного моменту у нуль-валентному стані. У разі направленої доставки ліків і магнітного розділення градієнт магнітного поля має прямий вплив на застосування сили до частинок, яка прямо пропорційна намагніченості частинки, у цьому разі перевага більшої намагніченості є досить суттєвою. Доставка лікарських засобів, курс для яких спрямовують з використанням магнітних сил передбачає внутрішньовенне введення магнітних частинок з

подальшим застосуванням градієнта магнітного поля в області, де необхідна доставка речовин [36].

Суперпарамагнітні наночастинки оксиду заліза обумовлюють спрямовування руху частинок та при необхідності зумовлюють їхнє нагрівання у високочастотному електромагнітному полі. Так, для боротьби з карциномою на наночастинки оксиду заліза наносять оболонку, що містить відповідні ліганди для розпізнавання їх рецепторами пухлини [37].

Наукова література інформує, що наночастинки заліза діють як відновники та каталізатори для видалення забруднень, таких як хром, свинець, миш'як і хлоровані розчинники. Закордонні вчені запропонували безпосередньо додавати наночастинки заліза в забруднені зони для місцевої рекультивації ґрунту. Відмічено, що це високоефективний метод деградації ксенобіотиків різноманітної природи [38].

Застосування наночастинок заліза стало яскравим проривом у наукових дослідженнях і сучасних розробках. В ході досліджень вдалось досягти штучного синтезу стабільних наночастинок заліза для їх подальшого застосування в промисловості, сільському господарстві та побуті [39]. Встановлені властивості наночастинок заліза, зокрема такі як висока адсорбція та розчинність, були ретельно вивчені та застосовані для процесів ремедіації ґрунту й очищення води.

Завдяки сильним магнітним властивостям наночастинки оксиду заліза можуть спрямовуватися зовнішнім магнітним полем до цільових місць *in vivo*, щоб посилити доставку терапевтичних сполук у місці їхньої дії. Цільова доставка ліків також може бути досягнута шляхом векторизації наночастинок заліза за допомогою націлюючих агентів, здатних специфічно взаємодіяти з маркерами захворювання [40].

Зі спалахом вірусних інфекційних захворювань, таких як Ебола, Зіка, Ніпа, грип, коронавірус тощо, дослідники почали розробляти різні типи наноматеріалів на основі противірусних агентів для боротьби з вірусними збудниками згаданих хвороб. Примітно, що завдяки адаптованому хімічному

складу поверхні, колоїдній стабільності, здатності до біологічного розкладу, біосумісності та суперпарамагнітним властивостям наночастки заліза демонстрували значний потенціал проти таких вірусів як вірус грипу, вірусу гепатиту В, вірусу імунодефіциту людини (ВІЛ) та вірусу віспи. Дослідження продемонстрували, що це обумовлено незворотним пошкодженням вірусного геному та інактивацією реплікації вірусного геному. Однак сильна дипольна взаємодія між частинками та агломерація первинних Fe-НЧ обмежують їх застосування у фармацевтичній галузі та медицині. Разом з тим повідомляють, що покращення функціональності поверхні за допомогою полімерних закриваючих агентів може бути багатообіцяючою стратегією, яка контролює їх агломерацію та покращує біосумісність і здатність зв'язуватися з біомолекулами. Це підтверджено дослідженнями з використанням поліетиленгліколю і полівінілпіролідону для впливу наночасток феруму проти вірусу H1N1 грипу А [41].

Авторами праці [42] вивчено застосування наночастинок оксиду заліза з використанням бактерій для лікування анемії. Так, ефективність наночастинок у для лікування анемії була помітно вищою, коли наночастинок були включені в пробіотичну бактерію *Lactobacillus fermentum*, ніж при введенні наночастинок без покриття. Сукупний аналіз результатів показав, що *L. fermentum* є чудовим носієм для подолання шлункового середовища та переміщення наночастинок в кишечник, де відбувається всмоктування заліза. Завдяки пробіотичній здатності прилипати до стінки кишечника, *L. fermentum* проникають в ентероцит, куди доставляються наночастинок заліза, забезпечуючи достатній рівень заліза в ентероциті. Таким чином, запропоновано новий шлях ефективного засвоєння заліза при лікуванні анемії [42].

Хіміотерапевтичний препарат на основі платини цисплатин є високоефективним у лікуванні злоякісних пухлин, але його використання обмежене низькою біодоступністю, серйозними побічними ефектами, що обмежують дозу, і швидким розвитком резистентності до ліків. Застосування цисплатину також обмежено через внутрішню та набуту резистентність,

спричинену зниженням поглинання та відтоку ліків, посиленням детоксикації за допомогою біомолекул, що містять тіол, і посиленням відновлення ДНК. Доставка ліків цисплатину з використанням покритих золотом наночастинок оксиду заліза для покращеного націлювання на пухлину зовнішніми магнітними полями описана у статті [43]. Магнітні наночастинок мають перевагу використання шляхом пасивного націлювання та забезпеченням прямої керованої доставки до пухлини (активне націлювання). Наночастинок оксиду заліза мають суперпарамагнітні властивості, завдяки чому магнетизм присутній лише під дією прямої енергії зовнішнього магнітного поля.

Наночастинок оксиду заліза (Fe-НЧ) були синтезовані за допомогою методу спільного осадження перед відновленням золота на поверхні. Синтезовані Fe-НЧ мали діаметр 5–50 нм, який збільшувався до 20–80 нм після покриття золотом. Наночастинок заліза мали незначну цитотоксичність, порівняно з наночастинками, покритими золотом, що проявляли таку ж активність, як і цисплатин у лініях ракових клітин яєчників людини A2780 та A2780/cp70 [43].

Лейкемія - це злоякісна пухлина, що виникає внаслідок неконтрольованої проліферації гемопоетичних стовбурових клітин ліній В і Т, що призводить до руйнування кровотворної системи. Традиційні методи лікування лейкемії викликають сильну токсичність і тривалий ряд небажаних побічних ефектів, які спричинені недостатньою специфічністю протилейкемічних препаратів. Останнім часом нанотехнології продемонстрували величезне застосування та клінічний вплив у діагностиці та лікуванні лейкемії [44].

Гомохарінгтонін може індукувати апоптоз шляхом активації каспази-3 і зниження експресії BCL-2, який можна використовувати при мієлоїдному лейкозі з інгібітором тирозинкінази. Однак погана розчинність у воді та серйозні побічні реакції обмежують його клінічне застосування. Щоб покращити біодоступність гомохарінгтоніну і зменшити побічні реакції, наночастинок заліза оксиду були виготовлені для доставки цільової речовини. Результати показали, що доставлений з допомогою наночастинок заліза

гомохарінгтонін може не тільки пригнічувати ріст клітин мієлоїдної лейкемії, але також пригнічувати проліферацію клітин лейкемії *in vivo* та *in vitro*, але й індукувати апоптоз клітин лейкемії в більш широкому діапазоні. Причиною покращення терапевтичного ефекту гомохарінгтоніну при його доставці наночастинами заліза може бути здатність магнітних наночастинок знижувати експресію мієлоїдної лейкемії-1, пригнічуючи активацію *cal-pain I* і полі-АДФ-рибополімерази. Таким чином відбувається індукція апоптозу лейкозних клітин [45].

Нещодавні досягнення в тераностиці забезпечили значний прорив у заснованій на діагностиці терапії багатьох ракових захворювань біологічних об'єктів як клітинного, так і субклітинного рівнів, використовуючи унікальні характеристики суперпарамагнітних наночастинок оксиду заліза як контрастних агентів. Суперпарамагнітні наночастинок оксиду заліза як контрастні агенти широко використовуються в сучасних методах візуалізації МРТ, оптичного зображення (флуоресценція/фотолюмінесценція), а також у комбінаторних методах лікування, які включають фотодинамічну терапію (PDT), фототермічну терапію (PTT) і терапію на основі гіпертермії [46].

Відомо, що наночастинок оксиду заліза з подвійною оболонкою використовувались для доставки нестероїдних протизапальних засобів, у тому числі й ібупрофену. Максимальне навантаження наночастинок ібупрофеном становило 75 мг препарату на 1 г. Результати дослідження вивільнення ібупрофену засвідчили високу швидкість вивільнення протягом перших 5 годин при 37 °С, а після 60 годин процес завершився повністю. Інші дослідження описали вивільнення ібупрофену з наночастинок заліза як носія до 96% протягом ночі при рН 7,3 [46].

Також наночастинок заліза є ефективними носіями антибіотиків. Так, енрофлоксацин було успішно завантажено в пори на поверхні наночастинок феруму. Відносна швидкість вивільнення енрофлоксацину була високою – 60,83% ± 3,74% протягом 24 годин [47, 48].

В останні роки перевірено здатність синтезованих наночастинок заліза видаляти свинець у стічних водах. Результати показують, що найвища концентрація адсорбенту (50 мг/л) має максимальну ефективність видалення (96,73 %). Таким чином, синтезовані наночастинок  $\text{Fe}_2\text{O}_3$  можуть бути ефективним агентом для використання в якості очисника важких металів із забруднених стічних та поверхневих вод [49].

Крім того, є повідомлення про можливість використання магнітних наночастинок для лікування фіброзу печінки. Так, в літературі є дослідження покритих цитратом магнітних наночастинок заліза із середнім діаметром 12 нм. Спостерігали очевидне дозозалежне посилення контрасту на T2 - зваженому *in vivo* МРТ зображенні моделі фіброзу печінки у гризунів. З іншого боку, внаслідок такого значного захоплення наночастинок печінкою їх доставка до інших тканин і органів-мішеней може бути недостатньою [50].

Тап та ін. запропонували використовувати магнітні наночастинок заліза як носії ліків шляхом інгаляції безпосередньо до основного цільового місця. На сьогоднішній день однією з найбільших проблем при лікуванні муковісцидозу є проникнення лікарських речовин крізь густий слиз, характерний для даного захворювання. Слиз завдяки своїм фізико-хімічним властивостям перешкоджає доставці ліків у легені та знижує ефективність доставки. Зважаючи на свій невеликий розмір магнітні наночастинок заліза стали перспективними резервуарами лікарських сполук та агентами для їх транспортування через слиз – посилення проникності призводить до вищих показників доставки. Також це дозволяє уникнути ризиків системної токсичності [51].

Експериментальні дані підтверджують, що значними обмеженнями в процедурах введення та доставки ліків є неможливість введення заданої кількості препарату та його поширення в цільовій області. Наночастинок заліза зберігають ексклюзивні магнітні властивості та здатність впливу на клітинному та молекулярному рівнях біологічних взаємодій. Ціллю статті [52] було визначення та розділення інтенсивності кластерів, створених наночастинок оксиду заліза для дослідження ефективності доставки ліків. Наночастинок

заліза були прикріплені до макрофагів і введені у лабораторну модель для дослідження. Fe-НЧ служили маркером, що дозволило слідкувати за макрофагами. Отримані результати підтверджують ефективність запропонованого способу вдосконалення контролю надходження цільового препарату [52].

Разом з тим, відомості роботи [53] описують антиоксидантні, протизапальні, цитотоксичні та ранозагоювальні тести *in vitro*, які проявили біологічну активність Fe-НЧ. Показано збільшення клітинної міграції в стандартних клітинах і клітинах, оброблених Fe-НЧ. Сукупні результати цього дослідження вказують на те, що біосинтез наночастинок заліза підвищує біологічну активність таких метаболітів. Тому автори зазначили, що наночастки заліза можна використати в якості дермального ранозагоювального і цитотоксичного протиракового агента [53].

Розуміння процесу адсорбції та вивільнення лікарського засобу до матеріалу-носія відіграє важливу роль у дослідженнях для створення контрольованої системи доставки ліків. Праця [54] зосереджена на дослідженні зв'язування короткого катіонного пептиду лазіоглосину III з бджолої отрути на наночастинках оксиду заліза як носія. Лазіоглосин має високу антимікробну дію та завдяки своїм катіонним властивостям має високий потенціал зв'язування. Крім того, досліді цитотоксичності, проведені на *E. coli*, показали вищу антимікробну активність зв'язаного лазіоглосину, порівняно з вільним пептидом. Використані наночастинки мали середній діаметр  $9,2 \text{ нм} \pm 0,43 \text{ нм}$  [54].

Зважаючи на вищеописане, наночастинки заліза знаходять широке застосування як у медицині в розрізі розробки та конструювання систем доставки лікарських речовин, так і в інших галузях промисловості. Такі результати засвідчують ефективність використання наночастинок заліза навіть за умови застосування прийомів оптимізації процесу їх біосинтезу в перспективі.

## РОЗДІЛ 2. ТЕХНІКО-ЕКОНОМІЧНЕ ОБГРУНТУВАННЯ ОДЕРЖАННЯ НАНОЧАСТИНОК ЗАЛІЗА

### 2.1. Характеристика наночастинок заліза

Наноматеріали, які широко використовуються в біології, медицині, сільському господарстві та повсякденному житті, включають наночастинки металів (НЧ), а також їх оксиди. Залізо є активатором більшості каталітичних процесів в організмі і бере участь в перенесенні газів кров'ю, тому навіть незначний дефіцит заліза грає домінуючу роль в життєдіяльності всіх організмів, приводячи до перевтоми, погіршення стану імунної системи, зниження температури тіла і втрати витривалості. Наноматеріали, що відповідають таким основним вимогам, як біосумісність і програмований позитивний вплив на біологічні об'єкти, мають найбільші перспективи для використання в медицині [55].

Наночастинки, що складаються з феромагнітних матеріалів, мають розмір <math><10-20</math> нм, демонструють неповторну форму магнетизму, тобто суперпарамагнетизм. До феромагнітних матеріалів належать елементарні метали, сплави, оксиди та інші хімічні сполуки заліза, які намагнічуються зовнішнім магнітним полем. Це важливе явище, яке зазвичай присутнє лише в системах НЧ. Завдяки їхній низькій токсичності, суперпарамагнітним властивостям, таким як площа поверхні та співвідношення об'ємів, і простій методології розділення, НЧ магнітного оксиду заліза ( $\text{Fe}_3\text{O}_4$  та  $\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$ ) привернули велику увагу та є особливо цікавими у біомедичних застосуваннях для іммобілізації білків, таких як діагностична магнітно-резонансна томографія (МРТ), теплова терапія та доставка ліків [56].

НУХТ БТЕК 02.01.04 КР ПЗ

Змн.	Лист	№ докум.	Підпис	Дата				
Розроб.		Ковальова М.О.			РОЗДІЛ 2. Техніко-економічне обґрунтування отримання наночастинок заліза	Літ.	Арк.	Аркушів
Перевір.		Скряцька О.І.					38	8
Реценз.						Кафедра БТМ		
Н. Контр.								
Затверд.		Стабніков В.П.						

Форми наноматеріалів заліза також справляють величезний вплив на їхні властивості, включаючи каталіз. Зміна форми проявляється у вигляді кристалічних граней, а розташування атомів у кожній грані впливає на її властивості.

Різні форми оксидів заліза (тобто нанострижні, пористі сфери, нанопластівці, нанокуби, спотворені куби та самоорієнтовані квіти) можна синтезувати шляхом зміни солі попередника заліза.

НЧ заліза надзвичайно реактивні з окислювачами, особливо з повітрям. Для повного та постійного захисту від окислення кожна наночастинка має бути покрита тонким покриттям, яке мало або взагалі не впливає на магнітні властивості наночастинок. Для цієї мети використовуються різні матеріали покриття, наприклад золото та кремнезем, але ці покриття послаблюють магнітні властивості. Також використовується магнієве покриття, яке мало впливає на магнітні властивості частинок заліза. Однак виготовлений матеріал не простий – наночастинки заліза занурені в субмікрометрові частинки магнію [56].

Розмір і морфологія відіграють істотну роль у глибині проникнення тканин. Сферичні наночастинки заліза (<10 нм) використовуються, щоб мати найвище проникнення та утримання порівняно з більшими. Досліджено важливість розміру та морфології Fe-НЧ для лікування раку. Морфологія та розмір частинок повинні бути правильно підібрані для вирішення конкретних біомедичних завдань. Розмір частинок має бути достатньо малим, щоб проходити крізь капіляри при трансдермальній доставці ліків шляхом внутрішньовенної ін'єкції і достатньо великим для керування за допомогою магнітомеханічної дії [57].

Завдяки структурним особливостям та поверхневій реакції Fe-НЧ, які мають хорошу здатність до біологічного розкладання, проникнення в тканини та знижену токсичність, показуючи хороші якості у фармакокінетиці як магнітомеханічні приводи, МРТ-індикатори та контрастні речовини, вважаються ефективними активними агентами в лікуванні карциноми.

Розмір і морфологія є визначальними для рівня проникнення в тканини — менші (<30 нм) демонструють найвищий рівень поглинання клітинами та найкраще утримання, але швидко поглинаються шляхом піноцитозу, а більші (~100 нм) мають найкращий рівень магніто-механічної селективності управління. Ефективний розмір наночастинок заліза критично визначається їхньою здатністю зв'язуватися з білками сироватки, утворюючи стабільні агрегати (так званий дзета-потенціал). Оптимізація розміру, форми, складу та модифікації поверхні наночастинок Fe робить їх вкрай перспективними для клінічного застосування [57].

## **2.2. Потреба у наночастинках заліза**

Проблема дефіциту заліза наразі є вкрай актуальною, оскільки викликає зміни у функціонуванні різних органів і систем. В першу чергу страждають центральна нервова, ендокринна та серцево-судинна системи. Значно знижується стійкість до фізичних навантажень, а також знижується якість життя пацієнта. Наслідками дефіциту заліза у дітей є анемічний синдром, імунна дисфункція, порушення формування центральної нервової системи, затримка психомоторного розвитку, розлади поведінки і зниження інтелекту. Проблема дефіциту заліза на першому році життя може призвести до серйозних порушень у навчанні та поведінці в майбутньому, особливо у дітей шкільного віку. Доведено, що анемія значно збільшує ризик остеопорозу та переломів у дорослих. Наприклад, чоловіки з легкою анемією (гемоглобін менше 130 г/л) мають у 2 рази більший ризик переломів порівняно з людьми з нормальним рівнем гемоглобіну [58].

Причинами залізодефіцитної анемії і залізодефіцитних станів являються хронічні погіршення патологічних станів, що пов'язані з такими факторами:

- ✓ недостатнє надходженням заліза з нутрієнтами (мальнутриція)
- ✓ порушення травлення (мальабсорбція)
- ✓ крововтрата
- ✓ підвищення потреби в залізі у станах вагітності та лактації, швидке зростання організму, посилення фізичної активності [58].

До залізодефіцитних станів відносять латентний дефіцит заліза (ЛДЗ) та залізодефіцитна анемію [59].

Анемія - це стан, що характеризується зниженням концентрації гемоглобіну: менше 130 г/л у чоловіків та менше 120 г/л у жінок (ВООЗ). За даними ВООЗ, дефіцит заліза різного ступеня тяжкості зустрічається майже у 4 мільярдів чоловік, а залізодефіцитна анемія - майже у 2 мільярдів людей. Як результат, залізодефіцитна анемія є найпоширенішою хворобою у світі і найчастіше зустрічається серед анемічних станів – близько 80-90% [58].

Залізодефіцитні стани клінічно проявляються анемією і сидеропенічним синдромом. Ізольований сидеропенічний синдром є характерним для ЛДЗ, а при ЗДА спостерігається поєднання обох синдромів [59].

Так, метааналіз 4 великих досліджень за участю хворих на COVID-19 (n = 1210) засвідчив, що анемія співпадає з тяжкістю перебігу коронавірусної інфекції. Науковці зробили наступні висновки на основі одержаних результатів:

- 1) Усі пацієнти з COVID-19 повинні вимірювати та контролювати рівень гемоглобіну, феритину та заліза в сироватці крові;
- 2) Прогресуюче зменшення рівня гемоглобіну може свідчити про негативну динаміку захворювання.

Патогенез анемії, що виникає при COVID-19, до кінця ще не вивчений, але її корекція є необхідною стратегією для покращення прогнозу. Під час пандемії COVID-19 рекомендується завчасно проводити скринінг груп ризику та проводити профілактичне лікування дефіциту заліза.

Вчасне розпізнавання ЗДА і ЛДЗ, визначення причин їх виникнення і корекція вказаних станів шляхом адекватної терапії є вкрай важливими для запобігання необоротних дистрофічних змін в організмі [59].

Метою терапії залізодефіциту є не тільки усунення дефіциту заліза, але і відновлення резервів в організмі. Це можливо тільки в тому випадку, якщо усунена першопричина залізодефіцитної анемії і одночасно компенсований дефіцит заліза в організмі. Водночас відновити запаси заліза без призначення препаратів заліза по суті неможливо. [58].

Нанопрепарати, схвалені для використання в США та інших країнах світу, поділяються на органічні та неорганічні залежно від характеру визначення наночастинок (НЧ). Неорганічні нанопрепарати включають наноформи оксиду заліза, схвалені для лікування анемії, візуалізації структури тіла за допомогою магнітно-резонансної томографії (МРТ) [60].

Фармакодинаміка НЧ оксиду заліза включає його магнітні властивості, транспортний, термічний і антианемічний ефекти. Ці властивості в основному магнітні і є основою для препаратів, що містять стабілізовані пластинки оксиду заліза, які з'явилися в останнє десятиліття і на початку цього століття.

Фермокситол (Feraheme, AMAG Pharmaceuticals), ймовірно, є найбільш успішним з препаратів для низькочастотних оксидів заліза. Його концепція, що відрізняється від описаної вище, спрямована на лікування пацієнтів із залізодефіцитною анемією і заснована на здатності іонів заліза, що виділяються з нанооксидів, брати участь в синтезі гемоглобіну.

Ферумокситол-це ін'єкційний антианемічний препарат для дорослих пацієнтів з хронічною нирковою недостатністю, схвалений у Сполучених Штатах з 2009 року на основі результатів відкритих рандомізованих контрольованих досліджень. Колоїдне залізо близьке до отримання цукрів і характеризується високою стабільністю, безпекою наносистем і можливістю швидкого введення великих кількостей заліза.

На відміну від парентеральних препаратів заліза останнього 3-го покоління, що представлені препаратами CosmoFer, Ferinject, Monofer, Infed, Dexferrum, Ferrlecit, Venofer, у яких залізо являє собою гідроксид з низьким рівнем кристалічності або аморфною будовою, ферумокситол містить оксид заліза і був описаний як магнетит зі структурою шпінелі.

Відомо, що внутрішньовенна доза заліза в ході лікування залізодефіцитної анемії становить 1 г і розподіляється у вигляді 10-15 інфузій. Ферумокситол достатньо вводити двічі по 510 мг або одноразово в дозі 1,02 г за 15 хвилин без тяжких побічних реакцій. Значною перевагою препарату при

лікуванні залізодефіцитної анемії на тлі хронічної ниркової недостатності є відсутність втрат ліків при гемодіалізі. [60].

### **2.3. Розрахунок річної потужності виробництва наночастинок заліза**

У 2021 році 1,92 мільярда людей жили з анемією, найбільше від якої страждали жінки та діти до 5 років. Для України проблема теж виявилась актуальною – у той же час від 13% до 16% українців мали анемію, тобто більше однієї десятої частини населення [61].

Згідно даних Державної служби статистики України чисельність населення по регіонах (за оцінкою) на 1 лютого 2022 року становила 40 960 795 осіб. Так, населення Чернігівської області становило 957 665 осіб [62].

Для розрахунків приймемо частку хворих на анемію 1%. Отже, чисельність населення Чернігівської області, що страждає на анемію, складає близько:

$$\frac{957\,665}{100} = 9\,576 \text{ осіб}$$

Оскільки на ринку парентеральних препаратів заліза представлено альтернативні препарати, зокрема і останнього (третього) покоління (CosmoFer, Ferinject, Monofer, Infed, Dexferrum, Ferrlecit, Venofer), приймемо, що будемо забезпечувати препаратом наночасток заліза власного виробництва 5% від загального числа хворих на анемію в Україні:

$$\frac{5 \times 9\,576}{100} = 478 \text{ осіб}$$

Взявши за основу інструкцію до застосування ФЕРАХЕМЕ (Ферумокситол)/ФЕРАНЕМЕ (Ferumoxytol), цей антианемічний препарат являє собою розчин для ін'єкцій концентрацією 30 мг/мл (510 мг елементарного заліза на 17 мл) у флаконі по 1 шт. в упаковці.

Рекомендована доза ФЕРАНЕМЕ - це початкова доза 510 мг, за якою слідує друга доза 510 мг вже через 3 дні і препарат застосовують до 8 днів, причому кожна доза вводиться протягом не менше 15 хвилин [63].

Приймаємо, що в середньому для лікування анемії в 1 пацієнта необхідно 3 ін'єкції препарату, які вводяться з інтервалом у 3 дні. Необхідна загальна доза буде наступною:

$$510 \times 3 = 1\,530 \text{ мг} = 1,53 \text{ г}$$

Тоді для курсу лікування 478 осіб слід передбачити таку кількість ферумокситулу:

$$478 \times 1,53 = 731 \text{ г} = 0,73 \text{ кг}$$

Отже за проведеними розрахунками, 0,73 кг наночасток заліза є річною потребою для лікування 478 пацієнтів в Україні, які страждають на залізодефіцитну анемію.

#### 2.4. Розрахунок геометричного об'єму ферментера

За допомогою мангрового гриба *Aspergillus niger* BSC-1 можна одержати 2,5 г/л (кг/м<sup>3</sup>) наночастинок заліза за 12 діб (288 годин) культивування [31]. Тому розрахуємо об'єм культуральної рідини, який необхідно передбачити для одержання 0,73 кг наночастинок заліза [64]:

Річна потужність підприємства, кг/рік  $G_{\text{гп}} = 0,73$

Кількість робочих днів у рік  $T_{\text{рд}} = 300$

Концентрація БАР в КР, г/л  $P_{\text{кр}} = 2,5$

Вміст сухих речовин (СР) в готовому продукті,  
частка  $СР_{\text{гп}} = 0,9$

Час виробничого циклу, год  $T_{\text{цк}} = 294$

Коефіцієнт запасу (втрати культуральної рідини від можливих  
нестерильних операцій), частка  $K_1 = 1,1$

Коефіцієнт заповнення ферментера,  
частка:  $K_3 = 0,6$

Сумарні втрати при виділенні готового продукту (сума всіх втрат по  
стадіям виділення готового продукту),  
частка  $E_{\text{св}} = 0,1$

Втрати культуральної рідини при біосинтезі (краплевинос за рахунок  
аерації), частка  $E_{\text{кр}} = 0,1$

1. Кількість виробничих циклів (ферментацій) на рік

$$N_{\text{цк}} = 24 \times K_1 \times T_{\text{рд}} / T_{\text{цк}} = 24 \cdot 1,1 \cdot 300 / 294 = 27 \text{ циклів}$$

2. Кількість сухого продукту за цикл,

$$G_{\text{цк}} = G_{\text{гп}} / N_{\text{цк}} = 0,73 / 27 = 0,027 \text{ кг/цикл}$$

3. Об'єм КР, що зливається за одну ферментацію (цикл) з урахуванням втрат при виділенні  $E_{\text{св}}$

$$V_{\text{кр}} = G_{\text{цк}} \cdot C_{\text{Р гп}} / (P_{\text{кр}} \cdot (1 - E_{\text{св}})) = 0,027 \cdot 0,9 / (2,5 \cdot (1 - 0,1)) = 0,024 / 2,25 = 0,01 \text{ м}^3 =$$

10 л

4. Визначаємо робочий об'єм ферментера  $V_{\text{ф}}$ ,

$$V_{\text{ф}} = V_{\text{кр}} / (1 - E_{\text{кр}}) = 0,01 / (1 - 0,1) = 0,011 \text{ м}^3$$

5. Приблизний геометричний об'єм ферментера  $V_{\text{пф}}$ ,

$$V_{\text{пф}} = V_{\text{рф}} / K_3 = 0,011 / 0,6 = 0,018 \text{ м}^3 = 18 \text{ л}$$

Вибираємо найближчий за об'ємом ферментер,  $V_{\text{гф}} = 20 \text{ л}$

6. Уточнюємо коефіцієнт заповнення  $K_{\text{уз}}$ , частка

$$K_{\text{уз}} = V_{\text{рф}} / V_{\text{гф}} = 0,011 / 0,018 = 0,61$$

Перевірене значення  $K_{\text{уз}}$  відповідає вибраному діапазону для ферментера з аерацією - 0,5 - 0,65.

### РОЗДІЛ 3. ОБҐРУНТУВАННЯ ПІСЛЯФЕРМЕНТАЦІЙНИХ ПРОЦЕСІВ ОДЕРЖАННЯ НАНОЧАСТИНОК ЗАЛІЗА

Автори статті [31] описали процес отримання наночастинок заліза з використанням штаму *Aspergillus niger* BSC-1, спираючись на статтю [65] з деякими модифікаціями. Модифікований процес передбачає наступні етапи:

- 1) Культивування продуцента у картопляно-декстрозному бульйоні (Potato Dextrose Broth – PDB) при 28°C протягом 10-12 діб при перемішуванні 120 об/хв.
- 2) Після культивування грибний міцелій відділяли від культуральної рідини шляхом фільтрації через фільтрувальний папір.
- 3) Грибну біомасу ретельно промивали стерильною дистильованою водою, після чого 20 г біомаси розводили у 100 мл стерильної дистильованої води (тобто, у співвідношенні 1:5) та інкубували при 28°C протягом 5 діб при перемішуванні 120 об/хв.
- 4) Після інкубування за допомогою фільтрування через фільтрувальний папір отримували фільтрат, до якого додавали суміш солей-попередників заліза, що містила хлорид заліза ( $FeCl_3 \cdot 6H_2O$ ) і сульфат заліза ( $FeSO_4 \cdot 7H_2O$ ) у молярному співвідношенні 2:1 та інкубували протягом 3 годин при 28°C на роторному шейкері (перемішування 120 об/хв) в умовах темряви.
- 5) Синтезовані наночастинок збирали центрифугуванням в режимі 5000 об/хв при 4°C протягом 15 хвилин з подальшим промиванням стерильною водою для видалення всіх грибних залишків.
- 6) Одержані Fe-НЧ поміщали в ексікатор для видалення надлишку вологи з наночастинок [65].

Отже, розглянемо післяферментаційні стадії отримання наночастинок заліза *Aspergillus niger* BSC-1.

					НУХТ БТЕК 02.01.04 КР ПЗ			
Змн.	Лист	№ докум.	Підпис	Дата				
Розроб.	Ковальова М.О.				РОЗДІЛ 3. Обґрунтування післяферментаційних процесів одержання наночастинок заліза	Літ.	Арк.	Аркушів
Перевір.	Скряцька О.І.						46	7
Реценз.						Кафедра БТМ		
Н. Контр.								
Затверд.	Стабніков В.П.							

### 3.1. Відділення міцелію від культуральної рідини

Періодичне культивування передбачає одночасне завантаження живильного середовища і компонентів насінневого матеріалу в пристрій на початку технічного процесу. Він характеризується постійною зміною складу живильного середовища, що пов'язано з фізіологічним станом клітин і життєдіяльністю мікроорганізмів. Вирощування проводиться в термостатичних умовах до одержання кінцевої сполуки протягом певного періоду часу. Ферментація припиняється в кінці стаціонарної фази росту біологічних об'єктів. [66].

Основними методами відділення біомаси від культуральної рідини є флотація, сепарування, центрифугування, фільтрація [67].

**Флотація.** Цей метод застосовується, коли клітини-продуценти накопичуються в поверхневому шарі вмісту біореактора через низьку змочуваність. Спеціальні пристосування (флотатори) різної конструкції разом з осередками всередині знімають піну, що утворилася при Жовтневому посіві. Підвищення ефективності екстракції біомаси досягається за рахунок спінювання рідини з подальшим механічним поділом її верхнього шару.

Перевагами цього методу є його економічність, висока продуктивність і можливість використання в безперервному процесі. Недоліком флотації є велика втрата біомаси. [68].

**Фільтрація** - це розділення твердої та рідкої фаз, коли суспензія проходить через пористу камеру. Кінцевою метою фільтрації є отримання твердої або рідкої фази (якщо 1 з них відноситься до відходів) або обох фаз одночасно. Фільтрація-це гідродинамічний процес, швидкість якого прямо пропорційна різниці тисків, що виникає з обох сторін фільтрувальної камери, і обернено пропорційна опорі, який отримує рідина при проходженні через пори камери і утворюється шар осаду.

При фільтрації культурального середовища утворюються драглисті лускаті або дрібнозернисті відкладення, які в основному характеризуються високою стійкістю. Середня швидкість фільтрації складає всього 50 л / м<sup>2</sup> за 1

годину. Різні фільтруючі системи (барабанні, тарілчасті фільтри, мембранні фільтри, стрічкові, карусельні вакуумні фільтри, фільтрувальні преси) засновані на одному принципі - утриманні біомаси в пористих фільтруючих камерах.

Недоліком цього методу є адгезія клітин на фільтрі, шар біомаси знижує швидкість потоку рідини під час фільтрації.

**Центрифугування** - це поділ гетерогенних систем під дією відцентрового силового поля. Для центрифугування використовуються центрифуги різної конструкції. Центрифуга з високим коефіцієнтом розділення та тарілчастим барабаном називається **сепаратором**. Це один з найпоширеніших типів центрифуг у мікробіологічній промисловості. Сепаратори забезпечують конденсацію осаду при вологості 60-90%. Існує також спеціальний герметичний сепаратор, який дозволяє проводити сепарацію в автоматичному режимі, щоб можна було вибрати найбільш підходящу для конкретних вимог конкретної культуральної рідини. Сфери застосування центрифугування наступні:

1. Одержання біомаси з культуральної рідини.
2. Розділення емульсій, що утворюються в ході екстракції.
3. Виділення різних типів продуктів мікробного синтезу, попередньо перетворених у тверду фазу.

Недоліки центрифугування:

1. Складнощі експлуатації (відсутність надійності, вібрації, шуму і т.д.);
2. Складна конструкція, значна енергоємність та вартість.
3. Вплив відцентрової сили на клітини, труднощі з нагріванням, герметизацією та забезпеченням умов асептики.

Основними перевагами центрифугування та сепарування є висока ефективність та високий рівень концентрування, які можуть успішно конкурувати з іншими методами виробництва та концентрації як у промислових, так і в лабораторних умовах. Дані способи є дорожчими, ніж фільтрування, тому використовуються у разі:

- а) повільне фільтрування суспензії;

б) потреба максимального очищення культуральної рідини від частинок у її складі;

в) забезпечення безперервного процесу сепарування при розрахунку експлуатації фільтрів у періодичному режимі [68].

Таким чином, враховуючи довідкову інформацію та дані статті, взятої за основу розробки технології одержання наночастинок заліза грибного походження, для відділення міцеліальної біомаси оберемо фільтрування.

Слід відзначити, що Фільтр-прес з ручним відведенням шламу не відповідає сучасним вимогам щодо зниження рівня гігієни праці та техніки безпеки за рахунок ручної праці. Вони були замінені автоматичним фільтрувальним пресом, який працює за певною програмою без втручання оператора під час роботи. Найуспішнішою глобальною розробкою виявився вітчизняний дизайн серії ФПАКМ [69].

Перевагою такого фільтра є високий ступінь автоматизації [70].

Отже, для фільтрування міцеліальної біомаси оберемо фільтр типу ФПАКМ.

### **3.2. Приготування грибної суспензії**

Автори праці описують [31], що грибку біомасу ретельно промивали стерильною дистильованою водою. Такий підхід забезпечує очищення міцеліальної біомаси від залишків поживного середовища.

Після цього 20 г біомаси розводили у 100 мл стерильної дистильованої води та інкубували при 28°C протягом 5 діб при перемішуванні 120 об/хв.

Отже приймаємо, що у виробничих умовах будемо готувати міцеліальну суспензію в питній воді у співвідношенні 1:5.

Далі отримана суспензія після інкубування надходить на наступні стадії.

### **3.3. Біосинтез наночастинок заліза**

Літературні дані містять інформацію про сучасні дослідження з отримання наночастинок заліза з використанням штаму *A. niger* YESM1. До суспензії міцеліальної біомаси концентрацією 250 мг/мл додавали розчини солей FeSO<sub>4</sub> та FeCl<sub>3</sub> концентрацією 2000 ppm до суспензії грибів

(співвідношення 1:1) і витримуванні їх протягом 6 днів у 2 окремих колбах при кімнатній температурі [32].

Однак згідно даних основної статті, після інкубування за допомогою фільтрування через фільтрувальний папір отримували фільтрат, до якого додавали суміш солей-попередників заліза, що містила хлорид заліза ( $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ ) і сульфат заліза ( $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ ) у молярному співвідношенні 2:1 та інкубували протягом 3 годин при  $28^\circ\text{C}$  на роторному шейкері (перемішування 120 об/хв) в умовах темряви [31].

З метою одержання необхідної кількості наночасток оберемо другий варіант проведення процесу при завантаженні хлориду заліза та сульфату заліза у рівних кількостях (1:1) у вигляді суміші.

#### **3.4. Відділення синтезованих наночастинок заліза**

Abdeen зі співавторами [32] після 6 днів статичної інкубації центрифугували суміші при 6000 об/хв протягом 30 хв, відділені осадки промивали етанолом, центрифугували при 14000 об/хв протягом 10 хв і сушили при  $65^\circ\text{C}$ .

У свою чергу, основна стаття [31] містить відомості, що синтезовані з фільтратом культуральної рідини *A. niger* BSC-1 Fe-НЧ збирали центрифугуванням в режимі 5000 об/хв при  $4^\circ\text{C}$  протягом 15 хвилин з подальшим промиванням стерильною водою для видалення всіх грибних залишків.

Використання стерильної води для промивання є більш економічно доцільним методом, порівняно з етанолом. Також використовуючи другий спосіб процес центрифугування буде одностадійним, що полегшить отримання наночастинок заліза.

#### **3.5. Зневоднення одержаних наночастинок заліза**

Одержані Fe-НЧ поміщали в ексікатор для видалення надлишку вологи з наночастинок [31]. Однак такий підхід може бути використаний лише в лабораторних умовах, слід підібрати метод висушування наночастинок заліза у промислових масштабах.

У виробництві наночастинок заліза сушіння часто необхідне для підвищення їх стабільності та відповідно покращення зберігання. При виборі альтернативних методів сушіння слід враховувати вплив процесу сушіння на наночастинок, оскільки це може вплинути на фізичну або хімічну стабільність наночастинок. Видалення води може призвести до утворення агрегатів частинок, які важко відокремити один від одного при повторному диспергуванні. Як наслідок, ефективність активного інгредієнта може бути погіршена після сушіння, якщо наночастинок не зможуть відновити свою високу адсорбційну площу поверхні.

Автори праці [71] дослідили кілька методів висушування Fe-НЧ. Ліофілізація є простим методом сушіння, хоча він характеризується високими енерговитратами та високою вартістю. У фармацевтичній промисловості розпилювальне сушіння широко використовується для виробництва тонких пористих порошоків лікарських засобів із високою швидкістю розчинення в організмі і є особливо багатообіцяючою альтернативою методу ліофілізації. Водночас термічний вплив розпилювальної сушки є помірним, а час обробки коротким.

Було виявлено приблизно на 15% нижчий вихід і на 35% нижче споживання енергії при розпилювальному висушуванні Fe наночастинок. Це дослідження показує, що розпилювальне сушіння є прийнятною альтернативою сублімаційному висушуванню наночастинок оксиду заліза.

Інші науковці промивали синтезовані наночастинок заліза дистильованою водою та залишали сушитися протягом 12 годин при 60 °C [72].

Подібний спосіб наведено і в патенті [73] – проводили вакуумне висушування наночастинок заліза за температури 60 °C протягом 10-24 годин.

Подібно ліофілізаторам, вакуумні сушильні камери призначені для висушування продуктів з низькою термічною стабільністю, але цей процес виконується при кімнатній або високій температурі, яку матеріал буде витримувати, наприклад антибіотики. Сушка проводиться в періодичному режимі, тобто вологий матеріал поміщається в шафу на полиці, створюється

вакуум і шафа нагрівається парою або електричним струмом через зазор в плиті. Цей процес завершується, коли в матеріалі залишається трохи залишкової вологи, а потім готовий сухий матеріал вивантажується. Ці машини призначені для сушіння відносно невеликої кількості вологого матеріалу. [70].

Таким чином, пропонується здійснювати процес сушіння наночасток заліза у вакуум-сушильній шафі протягом 12 годин при 60 °С.

## РОЗДІЛ 4. ПІДБІР ТЕХНОЛОГІЧНОГО ОБЛАДНАННЯ З ВРАХУВАННЯМ МАТЕРІАЛЬНИХ ПОТОКІВ ПО СТАДІЯХ

Вихідні дані:

- a. об'єм культуральної рідини з однієї ферментації -  $V_{кр} = 0,01 \text{ м}^3$ ;
- b. концентрація цільового продукту у КР  $C_{анг} = 2,5 \text{ г/л} (=2,5 \text{ кг/м}^3)$
- c. концентрація біомаси у КР  $C_{БМ} = 7 \text{ г/л} (= 7 \text{ кг/м}^3)$  – АСБ [74]
- d. втрати на стадіях виділення цільового продукту складають 10%

(прийнято для розрахунку ТЕО):

1) початкова кількість цільового продукту, яка поступає з КР складає  
 $0,01 \text{ м}^3 \times 2,5 \text{ кг/м}^3 = 0,025 \text{ кг}$ ;

2) кінцева кількість (з урахуванням 10% втрат) має становити 0,022 кг

Розподіл втрат по стадіях та підбір необхідного обладнання наведено у таблиці 4.1.

### НУХТ БТЕК 02.01.04 КР ПЗ

Змн.	Лист	№ докум.	Підпис	Дата				
					РОЗДІЛ 4. Підбір технологічного обладнання з врахуванням матеріальних потоків по стадіях	Літ.	Арк.	Аркушів
Розроб.		Ковальова М.О.					53	4
Перевір.		Скряцька О.І.				Кафедра БТМ		
Реценз.								
Н. Контр.								
Затверд.		Стабніков В.П.						

Таблиця 4.1

## Підбір технологічного обладнання з врахуванням матеріальних потоків по стадіях

№ п/п	Назва стадії (операції)	Матеріальні потоки на стадії	Кількість по стадіях			Необхідне обладнання
			Надійшло	Втрати, (Разом 10 %)	Вийшло	
1	2	3	4	5	6	7
<b>Підготовка культуральної рідини</b>						
1	Зберігання культуральної рідини	КР	0,01 м <sup>3</sup>	-	0,01 м <sup>3</sup>	Реактор для КР 20 л
<b>Відділення міцелію від культуральної рідини</b>						
2	Фільтрування міцеліальної біомаси	Біомаса	0,07 кг (0,01×7)- АСБ, з урахуванням 90% вологості 0,7 кг	-	0,7 кг	Промисловий фільтр-прес  - (на утилізацію)
		Фільтрат	9,3 л (10-0,7)	-	9,3 л	
<b>Приготування грибної суспензії</b>						
3	Розведення біомаси у дистильованій воді (1:5)	Біомаса	0,7 кг	-	-	Реактор об'ємом 10 л
		Дистильована вода	3,5 кг	-	-	
		Грибна суспензія	4,2 кг (0,7+3,5)	-	4,2 кг	

Продовження таблиці 4.1

1	2	3	4	5	6	7
<b>Біосинтез наночастинок заліза</b>						
4	Біосинтез	Грибна суспензія	4,2 кг	-	-	Реактор об'ємом 17 л
		Хлорид заліза (FeCl <sub>3</sub> *6H <sub>2</sub> O) і сульфат заліза (FeSO <sub>4</sub> *7H <sub>2</sub> O)	8,4 кг	-	-	
		Реакційна суміш	12,6 кг (4,2+8,4)	-	-	
<b>Відділення синтезованих наночастинок заліза</b>						
5	Центрифугування реакційної суміші	Реакційна суміш	12,6 кг	-	-	Промислова центрифуга з охолодженням
		Вологі наночастинок заліза	0,23 кг	0,1 кг (5%)	0,22 кг	- (подається відразу на зневоднення)
		Супернатант	-	-	12,37 (12,6-0,23) кг	- (на утилізацію)

Закінчення таблиці 4.1

1	2	3	4	5	6	7
<b>Зневоднення одержаних наночастинок заліза</b>						
6	Сушіння наночасток заліза у вакуум-сушильній шафі	Вологі наночастинок заліза	0,22 кг	-	-	Вакуум-сушильна шафа
		Висушені наночастинок заліза (вологість 3%)	0,025 кг	0,003 кг (5%)	0,022 кг	Збірник об'ємом 1 л (передають на стадії пакування)

## РОЗДІЛ 5. СПЕЦИФІКАЦІЯ ОБЛАДНАННЯ ДЛЯ ОТРИМАННЯ НАНОЧАСТИНОК ЗАЛІЗА

Таблиця 5.1.

### Специфікація обладнання для виділення та очищення наночастинок заліза

Позиція	Найменування	Кількість	Технічна характеристика
1	2	3	4
Р-1	Реактор 20 л	1	Реактор лабораторний 20 літрів з нержавіючої сталі AISI 316L, AISI 304 з мішалкою та сорочкою. Частота обертання якорної мішалки 0-70 об/хв. Габарити 560 x 560 x 2100 мм. Компанія: «STS Group» (Україна) [75]
Н-2 Н-5 Н-8	Насос	3	Відцентровий насос для фармацевтичної промисловості. Продуктивність: до 1100 м <sup>3</sup> /год. Напір: до 150 метрів. Тиск: до 15 кг/см <sup>2</sup> . Швидкість: до 3500 об/хв. Температура: до 350 °С. Компанія: «Sujal Engineering» (Індія) [76]
Ф-3	Фільтр	1	Фільтрпрес Columbite із нержавіючої сталі із 42 фільтруючими пластинами та 43 рамами розмірами 800 мм x 800 мм. Прес має ручне/гідравлічне закриття. Поверхня фільтрації 27,5 м <sup>2</sup> . Компанія: «Perry Videx LLC» (Польща) [77]
Р-4	Реактор 10 л	1	Одношаровий скляний реактор Kori DF-10L об'ємом 10 л. Максимальна температура нагрівання до +200 °С. Мінімальна температура охолодження -120 °С. Швидкість обертання 60-600 об/хв. Матеріал нержавіюча сталь. Компанія: «UkrChemGroup» (Україна) [78]
Д-6	Дозатор ваговий	1	Бункер дозатор БП-500. Продуктивність: до 300 кг/год. Напруга: 220/380 в. Потужність: 1,1 кВт. Компанія: «ТехноМашСтрой» (Україна) [79]
Р-7	Реактор 17 л	1	Реактор Karl Preiss KG ULM з нержавіючої сталі об'ємом 17 л. Має розміри приблизно 251 мм у діаметрі на 400 мм прямої сторони. Номінальний внутрішній розрахунковий тиск 25 бар при максимальній температурі 250°С. Має зовнішній кожух із нержавіючої сталі об'ємом 6,5 л, розрахований на тиск 18 бар при максимальній температурі 250°С. Компанія: «Karl Preiss Kg» (Нідерланди) [80]

НУХТ БТЕК 02.01.04 КР ПЗ

Змн.	Лист	№ докум.	Підпис	Дата				
Розроб.		Ковальова М.О.			РОЗДІЛ 5. Специфікація обладнання для отримання наночастинок заліза	Літ.	Арк.	Аркушів
Перевір.		Скροцька О.І.					57	2
Реценз.						Кафедра БТМ <sup>1</sup>		
Н. Контр.								
Затверд.		Стабніков В.П.						

Закінчення таблиці 5.1

Ц-9	Центрифуга	1	<p>Промислова центрифуга CFE-1000B. Об'єм обертового барабана 467 л. Продуктивність за біомасою 1200 кг. Температура – від -80°C до значення кімнатної температури. Максимальна швидкість 1200 об/хв.</p> <p>Компанія: «Both Instrument &amp; Industrial Equipment (Shanghai) Co., Ltd.» (Китай) [81]</p>
ВСШ-10	Вакуум-сушильна шафа	1	<p>Шафа сушильна вакуумна СВ-30. Повний об'єм камери 33 л. Кількість полиць у робочій камері (стандартна / максимальна) - 2 шт. Матеріал полиць – алюміній, матеріал камери – сталь AISI 304. Захист від перегріву - капілярний термостат. Максимальне завантаження полиці -14 кг. Максимальне завантаження камери - 28 кг. Максимальна корисна площа завантаження – 0,2 м<sup>2</sup>. Діапазон робочої температури - Температура зовнішнього середовища +5 ÷ 200°C. Діапазон вакууметра 0,06 ÷ 100 мПа.</p> <p>Компанія: «Алмедика» (Україна) [82]</p>
З-11	Збірник 1 л	1	<p>Лабораторний реактор об'ємом 1 л FCF-1L. Матеріал – нержавіюча сталь. Габаритні розміри 600*466*518 мм.</p> <p>Компанія: «Zhengzhou Keda Machinery and Instrument Equipment Co., Ltd.» (Китай) [83]</p>

## РОЗДІЛ 6. ОПИС ТЕХНОЛОГІЧНОЇ СХЕМИ ОТРИМАННЯ НАНОЧАСТИНОК ЗАЛІЗА

Технологічна схема одержання наночасток заліза за допомогою штаму *Aspergillus niger* BSC-1 передбачає здійснення наступних виробничих етапів: зберігання культуральної рідини, відділення міцелію від культуральної рідини фільтруванням, приготування грибної суспензії, біосинтез наночастинок заліза з додаванням попередників, відділення синтезованих наночастинок заліза центрифугуванням, а також сушіння наночасток заліза у вакуум-сушильній шафі.

### ***ТП 1. Підготовка культуральної рідини***

#### ***ТП 1.1. Зберігання культуральної рідини***

Культуральну рідину після виробничого біосинтезу за допомогою насоса перекачують до реактора Р-1 обсягом 20 л. Протягом усього процесу зберігання культуральної рідини в Р-1 підтримують температуру зберігання  $21 \pm 1$  °С, після чого подають за допомогою насоса Н-2 на наступну стадію відділення міцелію.

### ***ТП 2. Відділення міцелію від культуральної рідини***

#### ***ТП 2.1. Фільтрування міцеліальної біомаси***

За допомогою насоса Н-2 культуральну рідину від реактора Р-1 (від *ТП 1.1*) подають на промисловий фільтр-прес Ф-3 із нержавіючої сталі з поверхнею фільтрації  $27,5 \text{ м}^2$ . Процес завершують, коли весь об'єм культуральної рідини буде профільтровано.

Одержану біомасу збирають з фільтра Ф-3 та вручну завантажують до реактора Р-4 об'ємом 10 л для приготування грибної суспензії.

НУХТ БТЕК 02.01.04 КР ПЗ

Змн.	Лист	№ докум.	Підпис	Дата				
Розроб.		Ковальова М.О.			РОЗДІЛ 6. Опис технологічної схеми отримання наночастинок заліза	Літ.	Арк.	Аркушів
Перевір.		Скряцька О.І.					59	3
Реценз.						Кафедра БТМ		
Н. Контр.								
Затверд.		Стабніков В.П.						

### ***ТП 3. Приготування грибної суспензії***

#### ***ТП 3.1. Розведення біомаси та інкубування***

До міцеліальної біомаси *A.niger* BSC-1 (від ТП 2.1), що знаходиться у реакторі Р-4, по трубопроводу із сектора підготовки води подають воду дистильовану – 3,5 кг; кількість води контролюють за допомогою лічильника. Вмикають перемішуючий пристрій та в режимі 20-50 об/хв перемішують суспензію.

Після цього проводять інкубування при температурі 28°C протягом 5 діб при перемішуванні 120 об/хв.

### ***ТП 4. Біосинтез наночастинок заліза***

#### ***ТП 4.1. Біосинтез***

Через 5 діб інкубування грибну суспензію від ТП 3.1 за допомогою насоса Н-5 перекачують з реактора Р-4 до реактора Р-7 об'ємом 17 л. За допомогою вагового дозатора Д-6 відважують та подають 8,4 кг хлориду заліза ( $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ ) і сульфату заліза ( $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ ) – суміш містить рівні кількості обох солей (1:1).

Здійснюють інкубування протягом 3 годин при 28°C у режимі перемішування 120 об/хв в умовах темряви.

### ***ТП 5. Відділення синтезованих наночастинок заліза***

#### ***ТП 5.1. Центрифугування реакційної суміші***

Після інкубування реакційну суміш від ТП 4.1 з реактора Р-7 за допомогою насоса Н-8 передають на промислову центрифугу Ц-9.

Синтезовані наночастинок заліза збирають центрифугуванням в режимі 5000 об/хв при 4°C протягом 15 хвилин з подальшим промиванням питною водою для видалення всіх грибних залишків.

### ***ТП 6. Зневоднення одержаних наночастинок заліза***

#### ***ТП 6.1. Сушіння наночастинок заліза у вакуум-сушильній шафі***

Вологі наночастинок заліза (від ТП 5.1) вручну завантажують на полиці вакуум-сушильної шафи ВСШ-10.

Здійснюють процес сушіння наночасток заліза у вакуум-сушильній шафі ВСШ-10 протягом 12 годин при температурі 60 °С. Вологість висушених наночастинок заліза в кінці процесу має складати 3%.

Після висушування висушені наночастинки заліза вручну вивантажують з полиць ВСШ-10 та переносять у збірник З-11 об'ємом 1 л, у якому зберігають цільовий продукт до передачі на стадії пакування.

## РОЗДІЛ 7. КОНТРОЛЬ ВИРОБНИЦТВА НАНОЧАСТИНОК ЗАЛІЗА

### 1. Опис.

Визначення проводять візуально та органолептично.

Субстанція у вигляді червонувато-коричневого твердого порошку [84].

### 2. Ідентифікація.

Готують розведення зразків у деіонізованій воді (1%), відбирають пробу 2 мл та проводять вимірювання оптичної густини в УФ-видимому спектрі між довжинами хвиль 200-700 нм у спектрофотометрі [85].



Рис. 7.1. Спектрофотометр Beckman Coulter DU – 50, Fullerton [86].

Ідентифікацію синтезованих Fe-НЧ здійснюють спочатку візуально – при додаванні наночастинок заліза колір розчину поступово змінюється з жовтого на чорний, що вказує на утворення Fe-НЧ.

НУХТ БТЕК 02.01.04 КР ПЗ

Змн.	Лист	№ докум.	Підпис	Дата			
Розроб.		Ковальова М.О.			РОЗДІЛ 7. Контроль виробництва наночастинок заліза		
Перевір.		Скряцька О.І.					
Реценз.							
Н. Контр.							
Затверд.		Стабніков В.П.					
					Літ.	Арк.	Аркушів
						62	4
					Кафедра БТМ		

Синтезовані Fe-НЧ проявляють пік поглинання при 254,12 нм. Таке спостереження характерне для елементів перехідних металів, де спостережувані широкі піки зумовлені переходами всередині заповненої та незаповненої d-орбіталі, що ускладнюється впливом інших зовнішніх факторів. Пік при 254,12 нм пояснюється присутністю наночастинок заліза в стані Fe<sup>0</sup> [85].

### **3. Антимікробна активність.**

#### *Антибактеріальна активність*

Можна визначити методом мінімальної інгібуючої концентрації (МІК).

Суспензію бактеріальних клітин (*Enterococcus faecalis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Micrococcus*, *Staphylococcus aureus*, *Proteus mirabilis*, *Escherichia coli*) після інкубації протягом ночі при 37°C у 5 мл серцево-мозкового бульйону доводять до ступеня 0,5 каламутності за МакФарландом (еквівалентно  $1,5 \times 10^8$  колонієутворюючої одиниці (КУО)). Після цього 0,1 мл суспензії бактеріальних клітин додають до 9,9 мл серцево-мозкового бульйону, щоб досягти концентрації  $1,5 \times 10^6$  КУО, що представляє вихідну культуру бактерій для дослідження [87].

Наважку 0,001 г наночастинок заліза розчиняють у 2 мл диметилсульфоксиду, щоб отримати концентрацію 5 мг/мл. Потім розчин поміщають в крижану баню і піддають дії ультразвукових хвиль протягом 5 хвилин за допомогою ультразвукового апарата.

Мінімальні інгібуючі концентрації наночастинок заліза проти бактерій визначають в пробірках у культуральному середовищі за допомогою методу серійних розведень (50, 100, 200, 400, 500, 600, 800, 900 мкг/мл) з 5 мг/мл наночастинок із вихідною культурою росту бактерій, після інкубування протягом 24 годин при 37°C.

Значення МІК визначають шляхом спостереження за найнижчою концентрацією наночастинок, необхідною для інгібування росту бактерій, після визначення КУО кожної обробленої бактерії на мозково-серцевому агарі порівняно з контрольним зразком. Контроль готують з аналогічним зразком

бактеріальної суспензії, додаючи перед інкубуванням дистильовану воду замість досліджуваного розчину наночастинок заліза [87].

#### *Антифунгальна активність*

Антифунгальну дію наночастинок заліза визначають за допомогою методу дифузії в лунках агару. Для дослідження протигрибкової активності синтезованих наночастинок використовують 7–8-денні культури грибів (*Trichothecium roseum*, *Cladosporium herbarum*, *Penicillium chrysogenum*, *Alternaria alternata*, *Aspergillus niger*), вирощені на картопляно-декстрозному середовищі (PDA) [88].

Аліквоту 0,02 мл інокуляту від кожного грибкового патогена інокулюють у 20 мл розплавленого агару Сабуро з глюкозою (SDA) у культуральні пробірки. Культуральні пробірки потім гомогенізують і розливають їх вміст на 90 мм у чашки Петрі.

Чашки Петрі з агаризованим середовищем залишають в камері з ламінарним потоком повітря для застигання, після чого утворюють лунки за допомогою 5-мм стандартного пробкового свердла. Готують різні концентрації (0,10 мг/мл, 0,25 мг/мл і 0,50 мг/мл) розчину наночастинок заліза та додають у відповідні лунки [88].

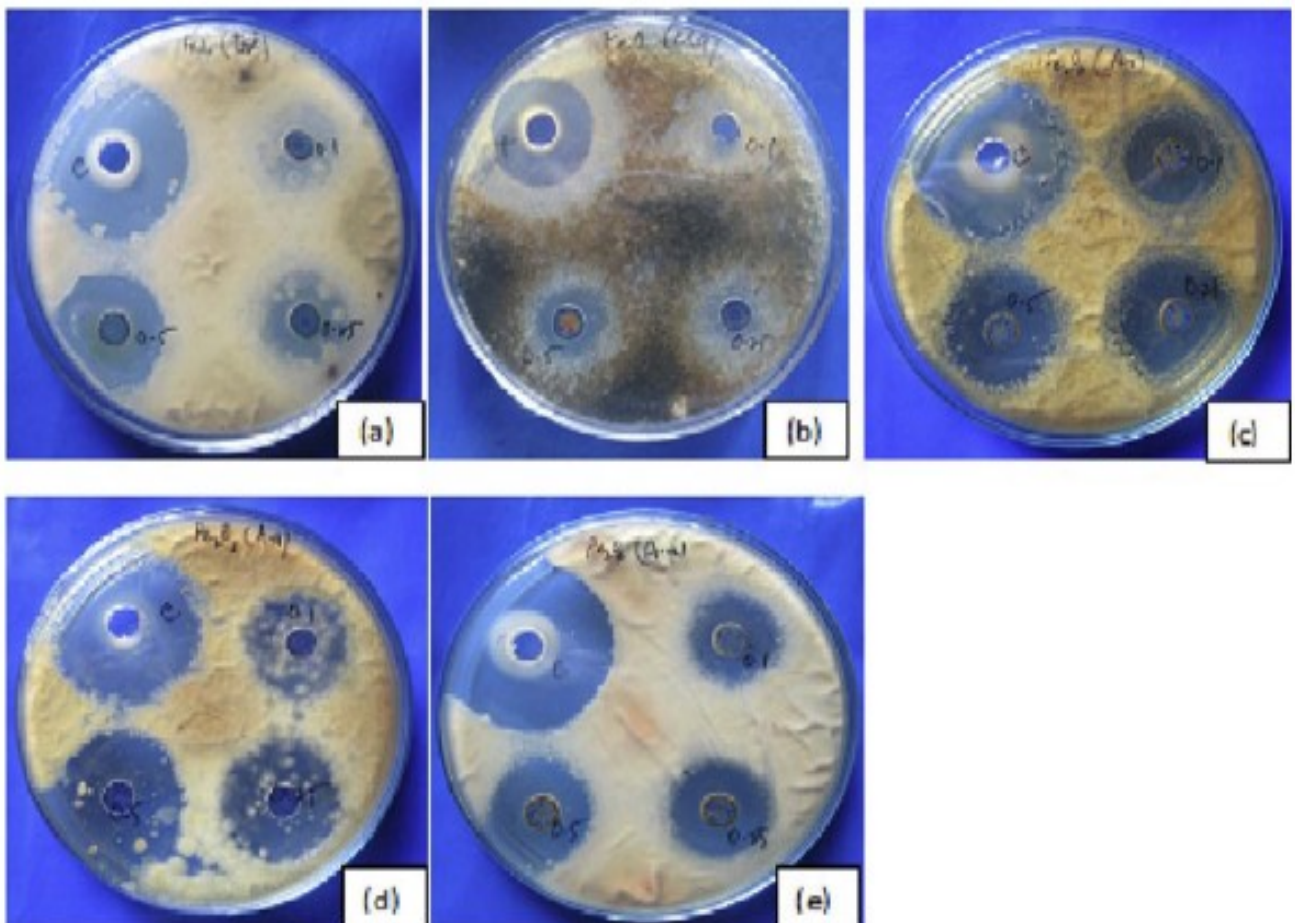


Рис. 7.2. Зображення зон інгібування росту тест-культур грибів наночастинками заліза: (a) *Trichothecium roseum*, (b) *Cladosporium herbarum*, (c) *Penicillium chrysogenum*, (d) *Alternaria alternata*, (e) *Aspergillus niger* [88].

В якості контролю використовують фунгіцид Нехадит 0,1 мг/мл (20 мкл/диск) (позитивний контроль).

Потім чашки Петрі закривають та інкубують при  $25 \pm 2$  °C протягом 5 днів. Протигрибкову активність розраховують шляхом вимірювання зон інгібування росту тест-культур за стандартною шкалою [88].

## РОЗДІЛ 8. ТЕХНОЛОГІЧНІ ОСОБЛИВОСТІ ОТРИМАННЯ АНТИАНЕМІЧНОГО ПРЕПАРАТУ З НАНОЧАСТИНКАМИ ОКСИДУ ЗАЛІЗА

### 8.1. Обґрунтування кінцевої форми та упаковки, вибору форми випуску антианемічного засобу та необхідних умов виробництва

Антианемічний препарат ФЕРАХЕМЕ (Ферумокситол)/FERANEME (Ferumoxytol) являє собою розчин для ін'єкцій концентрацією 30 мг/мл (510 мг елементарного заліза на 17 мл) у флаконі по 1 шт. в упаковці [63].

Тому кінцевою формою лікарського засобу з наночастинками заліза буде розчин для ін'єкцій.

Успіхи фармацевтичної промисловості у розробленні та випуску на ринок нових ефективних ліків, а також у розширенні їх продажів в основному пов'язані із суворим дотриманням вимог, що впроваджені у Кодекси міжнародно визнаних правил, а також навпаки, оскільки ліки, розроблені та поставлені споживачам без дотримання даних правил, не здатні бути зареєстровані в країнах, що є найперспективнішими для виробників ліків [89].

Цей стандарт був введений у зв'язку зі стрімким розвитком світової фармацевтичної промисловості і необхідністю жорсткого контролю в сфері виробництва ліків. В результаті розвитку концепції GMP у світовій практиці було створено правило: не можна підвищувати якість ліків шляхом тестування. Цьк правило стало ідеологічним підґрунтям концепції GMP і в кінцевому підсумку поширилася по світу [89].

НУХТ БТЕК 02.01.04 КР ПЗ

Змн.	Лист	№ докум.	Підпис	Дата				
Розроб.		Ковальова М.О.			РОЗДІЛ 8. Технологічні особливості отримання антианемічного препарату з наночастинками оксиду заліза	Літ.	Арк.	Аркушів
Перевір.		Скροцька О.І.					66	25
Реценз.						Кафедра БТМ		
Н. Контр.								
Затверд.		Стабніков В.П.						

Стандарти GMP систематизують роботу по забезпеченню якості ліків і при цьому значну кількість уваги приділяють документуванню контролю всіх процесів, від якості сировини до готового продукту. GMP являє собою перелік вимог, що пред'являються до виробників ліків щодо персоналу, обладнання, виробничого обладнання, якості матеріалів, підготовки та кваліфікації для зберігання й транспортування продукції.

Найважливішими елементами GMP є:

- усієї технологічна й контрольна документація відповідає наповненню реєстраційного досьє на певний препарат;
- контроль щодо дотримання правил виробництва ліків має бути строгим;
- населення має бути забезпечене ефективними та лише якісними лікарськими засобами;
- в цілому має підтримуватись здоров'я населення та загальнонаціональна безпека.

Впровадження міжнародних стандартів GMP це складний, трудомісткий і дорогий процес, який також необхідний для української фармацевтичної промисловості. Щоб компанія могла повноцінно функціонувати, вітчизняні виробники ліків мають вийти на міжнародні ринки. Значне впровадження стандартів належної виробничої практики повинно забезпечити оптимальне функціонування фармацевтичних підприємств і захистити населення України від неякісних ліків.

Виробництво стерильних продуктів в залежності від методу досягнення стерильності за правилами належної виробничої практики ВООЗ поділяє на такі категорії:

- виробництво препаратів, стерилізованих фільтруванням;
- виробництво, коли препарати стерилізують в герметичному пакуванні;
- виробництво в умовах асептики зі стерильної сировини та матеріалів.

При цьому правила Європейського Союзу розділяють технологічні процеси на дві категорії:

- виробництво з дотриманням умов асептики на вибіркових але на всіх етапах,
- виробництво продуктів з кінцевою стерилізацією в герметично закупореному первинному пакуванні.

Ліки для парентерального введення у великих кількостях повинні бути упаковані при роботі з ламінарним повітряним потоком (клас А), відповідним якістю навколишнього повітря класу С.

Стерильні ліки (ЛЗ) повинні вироблятися в чистих приміщеннях. Доступ персоналу та / або сировини, матеріалів, напівпродуктів дозволений лише через повітряний шлюз. Належна очистка повинна забезпечуватися в чистих приміщеннях, регульованих відповідно до вимог належної виробничої практики, а повітря повинне з належною ефективністю очищатися на фільтрах. Допоміжні стадії (підготовка сировини і матеріалів, виробництво проміжних продуктів, упаковка в первинне пакування, стерилізація) повинні проводитися в певних зонах чистих кімнат. На підставі результатів валідації необхідно забезпечити необхідний ступінь чистоти повітря.

Заз вимогами GMP, чисті приміщення для одержання стерильної продукції класифікуються у відповідно до розподілу класів чистоти - А, В, С та Д.

Для зон класів чистоти А, В і С організація повітрязабезпечення має включати певні фільтри, такі як фільтри HEPA.

Клас А: Це локальні ділянки для технологічних процесів, що потребують найменшого ризику забруднення - зони наповнення, закупорювання, відкривання ампул та флаконів, перемішування в умовах асептики.

Клас В: Навколишня зона для ділянки чистоти А у разі приготування і наповнювання в умовах асептики.

Клас С та Д: Чисті зони здійснення технологічних операцій, для яких допустима більша ступінь забруднення в ході виробництва стерильних препаратів та виробів.

З метою підтвердження класу чистоти зон в робочому режимі слід час від часу здійснювати мікробіологічний контроль [89, 90].

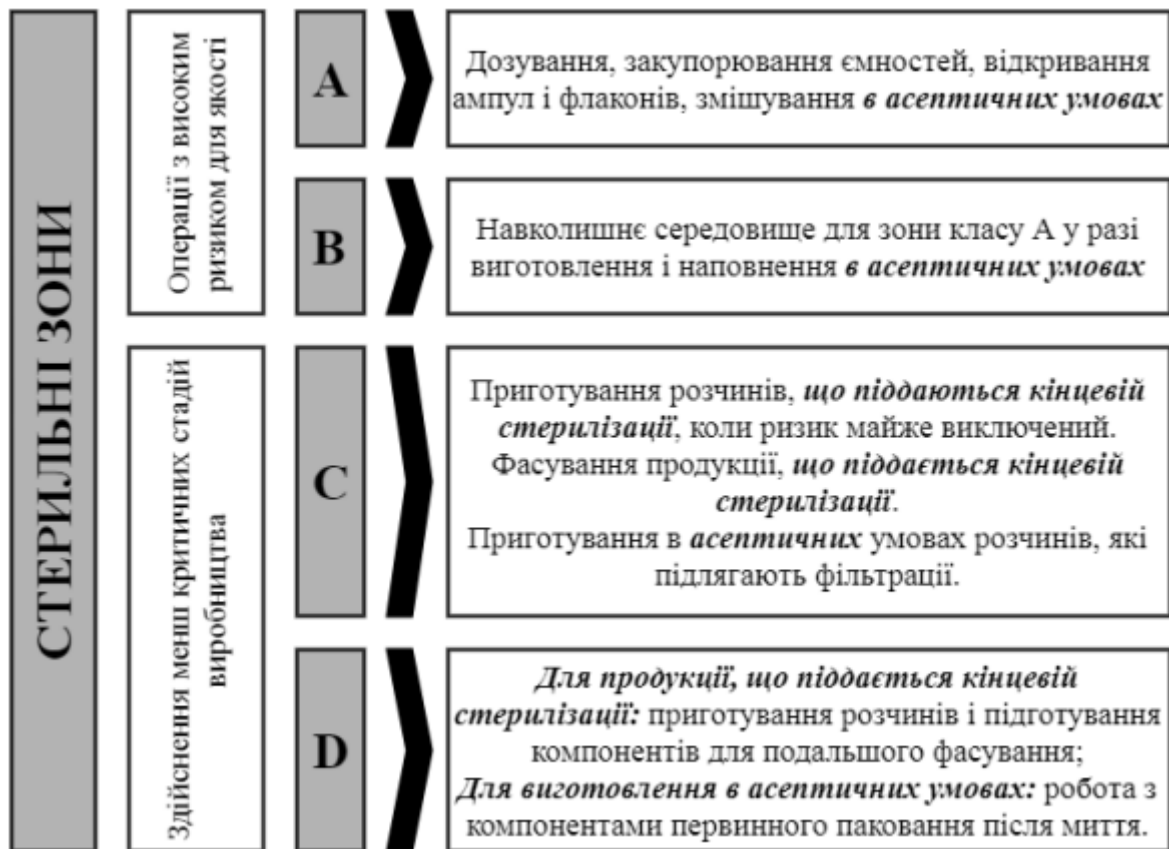


Рис. 8.1. Схема стерильних зон та основних операцій.

При проектуванні підприємства нового типу зарубіжні проектувальники передбачили додаткову зону контролю чистоти К, що включає виробничі приміщення або прилеглі території для візуального контролю і упаковки продукції, проходи для матеріалів в зону D, карантинні приміщення та склади для зберігання й контролювання основних параметрів сировини, первинної упаковки і напівфабрикатів [90].

Препарати для ін'єкцій являють собою стерильні розчини, емульсії або суспензії. Розчин для ін'єкцій повинен бути прозорим і практично не містити частинок. Емульсії для ін'єкцій не повинні мати ознак розшарування. У суспензії для ін'єкцій може спостерігатися осад, який при струшуванні повинен швидко розсіюватися і утворювати суспензію. Отримана суспензія повинна бути достатньо стабільною, щоб забезпечити введення необхідної дози.

Широке застосування й виробництво засобів для парентерального введення обумовлюють їх переваги перед іншими готовими лікарськими засобами (ГЛЗ): точне дозування, швидкість дії та біодоступність АФІ, стабільність складу та форми й тривале зберігання, виключення впливу біологічних рідин та ферментів на лікарську речовину, заміна крові після її втрати, введення та засвоєння ЛЗ у разі перебування пацієнта без свідомості, створення запасу лікарського препарату, що покращує дистрибуцію тощо [89].

Ін'єкції заводського виробництва випускаються в ампулах, флаконах, прозорих пластикових упаковках з полімерних матеріалів і скляних контейнерах, а також в одноразових шприц-тюбиках. [89].

Антианемічний препарат ФЕРАХЕМЕ (Ферумокситол)/FERANEME (Ferumoxytol) являє собою розчин для ін'єкцій концентрацією 30 мг/мл (510 мг елементарного заліза на 17 мл) у флаконі по 1 шт. в упаковці [63].

#### **Тому оберемо в якості первинного пакування скляний флакон.**

Скляні флакони виготовлені зі скла марки НС-2, яке менш стійке до гідролізу, ніж ампули, що впливає на стабільність розчину. Крім якості скла, на стабільність парентерального лікарського засобу (ПЛЗ) може впливати фізико-хімічна стійкість гумової пробки, яка залежить від складу і технології виробництва каучуку/гуми [91].

Процес підготовки флакона розпочинається із замочування, очищення і стерилізації зовнішньої і внутрішньої поверхонь. Під час замочування миючий розчин поверхнево-активної речовини розкладає частинки забруднень, що призводить до їх відшаровування і видалення з поверхні скла; 1-м етапом очищення, як правило, є очищення внутрішньої поверхні флакона, в ході якої проводиться механічне очищення від забруднень.

Очищення зовнішньої і внутрішньої поверхонь флакона здійснюється шприцевим (струменевим), ультразвуковим або контактним ультразвуковим методом або їх комбінацією. На деяких підприємствах для очищення флаконів використовується установка 574Р-К з методом конденсації пари.

У промислових умовах флакони промивають на типовому устаткуванні вітчизняного та закордонного виробництва. Наприклад, лінія АЛВ проводить шприцевий спосіб промивання, здійснюється миття внутрішньої поверхні, споліскування гарячою водою, 4-позиційне промиття з наступним ополіскуванням очищеною водою. Схожий метод очищення запрограмовано у апаратах марки МРП і БМ українського виробництва, а також імпортованих, як от LAS, Данія, «Гилови 25-05», Німеччина. Ультразвуковий метод передбачено в обладнанні вітчизняного виробництва типу МПД та закордонного - фірма «Fortune International», Індія «Гист-Брокадес-Продактс», Голландія.

Заключне ополіскування флаконів здійснюють ін'єкційною водою, що була профільтрована через мембранний фільтр розміром пор не більш 5,0 мкм.

Після промивання флакони відправляються на стерилізацію. Для цієї мети використовуються сушильні і стерилізаційні установки тунельного типу, в яких флакони проходять через 3 зони: нагрівання до температури стерилізації ( $315 \pm 35^\circ\text{C}$ ), витримування при необхідній температурі протягом заданого часу (від 5 до 30 хвилин) та охолодження стерилізованим повітрям, відфільтрованим через фільтр тонкого очищення. Прикладами використовуваного обладнання є стерилізаційний тунель АЛВ-IV українського виробництва; сушильно-стерилізаційна установка LAS, Данія; тунельний стерилізатор "Пірокленз", Нідерланди тощо.

Для підготовки пробок і ковпачків у виробничих умовах слід використовувати багатофункціональний програмний пристрій управління, що дозволяє виконувати всі операції в одному пристрої. [91].

Промивання пробок і закупорювальних засобів включають в себе кілька послідовних операцій мийки. MU42-51-21- 93 і MU42-51-22- 93 регулюють ряд дій, таких як очищення пробки від гумового зрізу, промивання розчином миючого засобу, кип'ятіння в розчині гідроксиду натрію, кальцинованої соди або тринатрійфосфату, кип'ятіння в розчині хлоридної кислоти і т.д. Після кожної операції пробку промивають водопровідною водою, а потім підготовленою очищеною водою. Заключне промивання проводять ін'єкційною

водою, відфільтрованою через фільтр 5,0 мкм. Перед стерилізацією проводять силіконування пробки.

Стерилізацію пробок і ковпачків здійснюють насиченою парою в стерилізаторі з подальшою сушкою на стерильному повітрі. Для приготування ковпачків використовуються промислові машини та котли для варіння, такі як РМ-ХVІІІ, РМ-ХІХ, парові стерилізатори, але в основному використовуються автоматичні лінії і багатофункціональні пристрої, які з'єднують всі операції з очищення та стерилізації, наприклад, виробництва Фарма-Клін, Швейцарія.

Стерильні флакони, пробки і ковпачки необхідно помістити в стерильний контейнер з кришкою і зберігати в чистому приміщенні класу D не менше 24 годин.

Вторинна упаковка - це контейнер, призначений для захисту первинної упаковки від пошкоджень та більш детального інформування споживачів. Саме тому нещодавно на вторинній упаковці дублюють текст інструкції із застосування лікарських засобів. Вторинна упаковка (картонні або полімерні пакети, коробки) покращує облік і контроль препаратів, в деяких випадках додатково герметизує. Вторинне пакування також вважається споживчим [91].

Отже, прийmemo пакування флакону зі скла гідролітичного класу I у картонну коробку з інструкцією по застосуванню в комплекті.

## **8.2. Технологія отримання протианемічного засобу з наночастинками оксиду заліза**

У доступних інформаційних джерелах представлено коротку характеристику референтного лікарського засобу Rienso (Ріензо) 30 мг/мл розчин для ін'єкцій. 1 мл розчину містить 30 мг заліза у вигляді ферумоксиду. Кожен флакон з 17 мл розчину містить 510 мг заліза у вигляді ферумоксиду.

Склад препарату [92]:

- 1) Поліглюкозо-сорбітолкарбоксиметилловий ефір (PSC)
- 2) Манітол
- 3) Вода для ін'єкцій

4) Гідроксид натрію (для регулювання рН)

5) Соляна кислота (для регулювання рН)

Поліглюкозо-сорбітолкарбоксиметиловий ефір слугує покриттям наночастинок заліза. Отриманий внаслідок покриття наночастинок ферумокситол характеризується суперпарамагнетизмом, малим розміром частинок, тривалим періодом напіввиведення з плазми та легким розподілом у тканинах і органах, багатих ретикулоендотеліальними клітинами [93].

Манітол виступає стабілізатором отриманої суперпарамагнітної форми наночастинок заліза [94].

Вода для ін'єкцій є розчинником. Гідроксид натрію та соляна кислота, як вказано вище, слугують агентами для регуляції рН композиції лікарського засобу.

Тому слід розглянути технологію отримання готового лікарського засобу для лікування анемії на основі наночастинок оксиду заліза.

Як було вказано у попередній курсовій роботі, після біосинтезу та ряду операцій з виділення та очищення наночастинок отримують висушені наночастинок заліза.

Патент [93] описує спосіб покриття наночастинок заліза поліглюкозо-сорбітолкарбоксиметиловим ефіром.

В реакційну колбу додавали поліглюкозо-сорбітолкарбоксиметиловий ефір (400 мг, форма натрієвої солі), додавали дистильовану воду (3 мл) і розчиняли механічним перемішуванням при кімнатній температурі. Після барботування газоподібним азотом та перемішування протягом 5 хвилин додавали водний розчин (6 мл) гексагідрату хлориду заліза (300 мг) і хлориду заліза (150 мг) і перемішування продовжували протягом 15 хвилин. Газоподібний азот видаляли, по краплях додавали аміачну воду (1 мл концентрованої аміачної води (28%), розведеної додаванням 1 мл води), рН розчину доводили до значення 11.

Розпочинали високочастотне індукційне нагрівання обладнання і перемішували при 80 ° С протягом 20 хв. У реакційний розчин барботували

повітря та продовжували перемішування при 80°C протягом 25 хвилин. Вимикали високочастотний індукційний нагрівач і припиняли перемішування.

Після охолодження реакційної системи до кімнатної температури реакційний розчин переносили у діалізний мішок (діалізний мішок 100 кДа) і діалізували протягом 24 годин проти води для ін'єкцій. Діалізований розчин піддавали відцентровій ультрафільтрації - ультрафільтраційна трубка з відтинаючою здатністю 100 кДа.

Після одноразового фільтрування розчину через фільтр 0,22 мкм було отримано 2,2 мл продукту [93].

Однак це лабораторна методика, яка потребує адаптації до виробничих умов.

У патенті вказано, що розчин поліглюкозо-сорбітолкарбоксиметилового ефіру готували в концентрації 0,4 г на 3 мл дистильованої води – виходить пропорція 2:15.

Окремо готували водний розчин (6 мл) заліза, що містив  $300+150=450$  мг заліза. Отже, висушені наночастинки оксиду заліза слід розвести у воді в концентрації 13,3%.

До 3 мл розчину поліглюкозо-сорбітолкарбоксиметилового ефіру та 6 мл розчину наночастинок заліза додавали 2 мл розчину розведеної аміачної води, пропорції виходять наступні – 3:6:2.

Після перемішування всіх компонентів з нагріванням та барботуванням повітря проводили діаліз та наступну ультрафільтрацію.

Слід зазначити, що у виробничих умовах діаліз провести вкрай складно, даний метод не підходить для промислових масштабів. Тому приймемо, що будемо двічі проводити ультрафільтрацію отриманого розчину через мембрану з відтинаючою здатністю 100 кДа.

Після ультрафільтрації проводили фільтрування через мембранний фільтр з розміром пор 0,22 мкм.

Оскільки в якості розчинника виступала вода, фільтр має бути гідрофільним.

Так, мембранні фільтрувальні картриджі з полієфірсульфону (PES) призначені для забезпечення надійної стерилізаційної фільтрації для широкого спектру застосувань. Фільтри PES представлені з такими розмірами пор - 0,1, 0,22 та 0,45 мкм. Ефективна площа фільтрації складає 0,58 м<sup>2</sup>/10 [95].

Разом з тим, наукові дані підтверджують, що додавання манітолу у концентрації 15% було оптимальним для стабілізації композиції наночастинок [94].

Воду для ін'єкцій від сектору підготовки води подають до реактора з сумішшю, доводячи до розрахованого об'єму серії лікарського засобу.

Гідроксид натрію та соляну кислоту будемо готувати у вигляді 6% розчинів та подавати для доведення рН до діапазону значень 6,5-8,0 у розрахунку 2 мл регулятора рН на 1 л готового розчину антианемічного лікарського засобу [70].

Якщо в 1 флаконі референтних препаратів Ферумокситол та Rienso (Ріензо) міститься 17 мл лікарського засобу відповідно, то будемо описувати технологічний процес на серію об'ємом 1700 л.

Таким чином, для реалізації описаного технологічного процесу слід підібрати відповідне обладнання, тому далі наведемо характеристики необхідних апаратів для виробництва протианемічного лікарського засобу з наночастинками оксиду заліза мікробного походження.

### 8.3. Специфікація обладнання

Таблиця 8.1

Специфікація обладнання для виробництва антианемічного лікарського засобу з наночастинками оксиду заліза

Позиція	Найменування	Кількість	Технічна характеристика
1	2	3	4
Д-1 Д-13	Дозатор рідин	2	Дозатор для рідин NPLL-1000. Тиск повітря 0,5 мПа. Похибка дози (допустима) 1,0%. Матеріал корпуса нержавіюча сталь. Діапазон зважування 200-1000 мл. Компанія: «Нік Пак» (Україна) [96]
Р-2 Р-5	Реактор 5 л	2	Лабораторний реактор РП-5 об'ємом 5 л. Швидкість роботи якірної мішалки з

			<p>плаваючими скребками від 0 до 60 об/хв. Габаритні розміри: довжина 620 мм, ширина 410 мм, висота 840 мм.</p> <p>Матеріали: сталь AISI 316 L (03X17H9M2) та AISI 304 (07X17H9)</p> <p>Компанія: «Промвіт» (Україна) [97]</p>
Н-3 Н-6	Насос	2	<p>Перистальтичний насос ВН3-V 100-1 230V Norpr. Частота обертання 150 об/хв. Продуктивність 100 л/год з тиском 1,5 бар. Корпус насоса виготовлений з антикислотного пластика (поліпропілену), стійкого до хімічних реагентів.</p> <p>Компанія: «ETATRON D.S.» (Італія) [98]</p>
В-4	Ваги технічні	1	<p>Ваги лабораторні ФЕН-300Л. модель має 4-й клас точності з межею зважування до 300 грамів і кроком дискретності 0,01 грама. Максимальна робоча температура 45 °С. Матеріал чаші/платформи – нержавіюча сталь.</p> <p>Компанія: «УкрВаги» (Україна) [99]</p>
Д-7 Д-10 Д-21	Дозатор ваговий	2	<p>Ваговий дозатор ФС-1000. Робочий діапазон ваги від 0,15 до 50 кг. Обсяг накопичувального бункера – 1000 л.</p> <p>Компанія: «ТехноМашСтрой» (Україна) [100]</p>
Р-8 Р-14	Реактор 500 л	2	<p>Вертикальний реактор/ємність для змішування 500 л з нержавіючої сталі. Внутрішній діаметр становить приблизно 890 мм, довжина прямої сторони становить 900 мм. Внутрішній номінальний максимальний тиск 0,196 МПа при максимальній температурі 100°С, оболонка з вуглецевої сталі. Мішалка турбінного типу приводиться в рух через редуктор електродвигуном 380 В. Вихід знизу.</p> <p>Компанія: «Perry Videx» (Чехія) [101]</p>
Н-9 Н-12 Н-15 Н-17 Н-23	Насос	5	<p>Фармацевтичний мембранний насос SANIBOXER 100. Висота подачі 70 м.вод.ст. Продуктивність 7,2 м<sup>3</sup>/год (120 л/хв). Матеріал нержавіюча сталь AISI 316L. Тип насосу мембранний пневматичний</p> <p>Компанія: «DEBEM» (Італія) [102]</p>
Р-11	Реактор 1000 л	1	<p>Реактор 1000 л з двома мішалками СС-1000. Габаритні розміри без пульта керування - L ≤ 1650; В ≤ 1250; Н = 2550. Якірна мішалка 0-40 об/хв, турбінна мішалка 300-800 об/хв.</p> <p>Компанія: «Промвіт» (Україна) [103]</p>

P-16 P-22	Реактор 2000 л	2	Реактор з нержавіючої сталі 2000 л. Робочий тиск : 3,2 бар, тиск в сорочці 16 бар. Габаритні розміри 1400x1730 мм. Макс. температура : 200 °С. Компанія: «Kremsmüller» (Австрія) [104]
УФ-18 УФ-19	Ультрафільтраційна система	2	Промислова система ультрафільтрації. Матеріал корпусу - полівінілхлорид (ПВХ) або нержавіюча сталь (SS) 304. Матеріал мембрани - полівініліденфторид (PVDF) або полісульфон (PS). Номінальний розмір пор мембрани 0,02 мкм (має можливість заміни). Допустимий діапазон рН 2-10. Компанія: «Newterra» (США) [105]
Ф-20	Фільтр	1	Мембранні фільтрувальні картриджі з поліетилсульфону (PES). Фільтри PES представлені з такими розмірами пор - 0,1, 0,22 та 0,45 мкм. Ефективна площа фільтрації складає 0,58 м <sup>2</sup> /10. Компанія: «Allied Filter Systems Ltd» (Великобританія) [95]
МНФ-24	Машина наповнення флаконів	1	Машина для наповнення флаконів моделі МУХУ-6. Наповнювальна здатність – 2-30 мл. Вихід 80-150 шт/хв. Кількість наповнювальних головок – 6 шт. Швидкість подачі вакууму 30 м <sup>3</sup> /год. Компанія: «Shanghai Marya Pharmaceutical Engineering and Project Co., Ltd.» (Китай) [106]
ФПМ-25	Фасувально-пакувальна машина	1	Автоматична пакувальна машина для коробки WZH180. Автоматичне складання (1-4 складання) і транспортування ручної листівки, автоматична категоризація та подача матеріалу; автоматичне розкладання картонної коробки; автоматичне ручне пакування листівок і матеріалів у картонні коробки, синхронний (3-рядковий) друк номерів партій, автоматичне запечатування паперових коробок, автоматичне видалення відходів. Продуктивність – 180 упаковок/хв. Споживання повітря - $\geq 0,3$ м <sup>3</sup> /хв; 0,6 МПа. Компанія: «Чумаки в Китаї» (Україна) [107]

## **8.4. Опис технологічного процесу виробництва антианемічного лікарського засобу**

Виробничий процес включає допоміжні стадії та технологічний процес одержання лікарського засобу.

### ***ДР 1. Підготовка виробництва***

#### ***ДР 1.1. Підготовка 6% розчину соляної кислоти***

Зі складу подають 37% розчин соляної кислоти. За допомогою лічильника до реактора Р-2 об'ємом 5 л подають 2,842 л води ін'єкційної від сектору підготовки води. Потім за допомогою дозатора рідин Д-1 подають 0,558 л 37% розчину НСІ. Вмикають перемішуючий пристрій, при 50 об/хв розчин перемішують протягом 10 хв. Після цього 6% розчин соляної кислоти насосом Н-3 подають до стадії приготування лікарського засобу *ТП 2.8*.

#### ***ДР 1.2. Підготовка та стерилізація 6% розчину гідроксиду натрію***

Зі складу відбирають субстанцію гідроксиду натрію. На технічних вагах В-4 зважують 204 г NaOH. Вручну подають до реактора Р-5 об'ємом 5 л. За допомогою лічильника до реактора подають 3,4 л води ін'єкційної від сектору підготовки води. Вмикають перемішуючий пристрій, при 50 об/хв розчин перемішують протягом 10 хв, при перемішуванні до сорочки подають глуху пару. Стерилізацію розчину проводять за температури 131°C та тиску 0,15 МПа протягом 40 хв.

Після цього 6% розчин гідроксиду натрію насосом Н-6 подають до стадії приготування лікарського засобу *ТП 2.8*.

### ***ТП 2. Виробничий процес отримання антианемічного лікарського засобу***

#### ***ТП 2.1. Приготування розчину поліглюкозо-сорбітолкарбоксиметилового ефіру***

До реактора Р-8 об'ємом 500 л за допомогою вагового дозатора Д-7 відважують та подають 61,8 кг поліглюкозо-сорбітолкарбоксиметилового ефіру (натрієва сіль). Потім за допомогою лічильника до реактора подають 400 л води для ін'єкцій. Вмикають перемішуючий пристрій, при 100 об/хв розчин

перемішують протягом 20 хв. Насосом Н-9 розчин подають до стадії покриття наночастинок оксиду заліза *ТП 2.4.*

#### *ТП 2.2. Приготування розчину наночастинок оксиду заліза*

Розчин готують у реакторі об'ємом 1000 л Р-11. Використовуючи ваговий дозатор Д-10 відважують та подають 123,3 кг наночастинок заліза оксиду до реактора. Лічильником відмірюють 804 л води для ін'єкцій та вносять в реактор. Вмикають перемішуючий пристрій, при 100 об/хв розчин перемішують протягом 15 хв. Насосом Н-12 розчин подають до стадії покриття наночастинок оксиду заліза *ТП 2.4.*

#### *ТП 2.3. Приготування розчину аміачної води*

Зі складу одержують 28% розчин аміачної води. Використовуючи дозатор рідин Д-13 подають 154,55 л 28% розчин аміачної води до реактора об'ємом 500 л Р-14. Далі в реактор лічильником відмірюють 154,55 л води для ін'єкцій. Вмикають перемішуючий пристрій, при 50 об/хв розчин перемішують протягом 10 хв. Насосом Н-15 одержаний розчин подають до стадії покриття наночастинок оксиду заліза *ТП 2.4.*

#### *ТП 2.4. Покриття наночастинок оксиду заліза*

У попередньо підготований реактор Р-16 об'ємом 2000 л перекачують розчин поліглюкозо-сорбітолкарбоксиметилового ефіру від *ТП 2.1.* Проводять барботування газоподібним азотом та перемішування протягом 5 хвилин. Від *ТП 2.2* насосом подають розчин наночастинок оксиду заліза і продовжують перемішування протягом 15 хвилин. Газоподібний азот видаляють.

Після цього обережно насосом порційно подають розчин аміачної води від *ТП 2.3*, доводячи рН до значення 11.

В сорочку реактора подають пару до досягнення температури 80 ° С і перемішують протягом 20 хв. У реакційний розчин барботують повітря та продовжують перемішування при температурі 80°С протягом 25 хвилин. Припиняють нагрівання і перемішування. Одержаний розчин охолоджують до кімнатної температури.

#### *ТП 2.5. Ультрафільтрація*

Охолоджений розчин (від *ТП 2.4*) з реактора Р-16 за допомогою насоса Н-17 подають на ультрафільтраційну систему УФ-18, відтинаюча здатність мембрани становить 100 кДа.

Отриманий очищений розчин передають до наступної системи ультрафільтрації УФ-19.

#### *ТП 2.6. Повторна ультрафільтрація*

Отриманий очищений розчин від *ТП 2.5* подають на ультрафільтраційну систему УФ-19, відтинаюча здатність мембрани становить 100 кДа.

Повторно очищений розчин передають на фільтрування.

#### *ТП 2.7. Фільтрування*

Повторно очищений розчин від системи ультрафільтрації УФ-19 надходить до фільтра Ф-20 з поліефірсульфону. Розмір пор складає 0,22 мкм.

Після фільтрування всього об'єму розчину покритих наночастинок оксиду заліза даний розчин надходить на приготування антианемічного лікарського засобу.

#### *ТП 2.8. Приготування антианемічного лікарського засобу*

До реактора Р-22 об'ємом 2000 л від *ТП 2.7* подають очищений розчин покритих наночастинок оксиду заліза. За допомогою вагового дозатора Д-21 зважують та вносять до реактора 255 кг манітолу. Вмикають перемішуючий пристрій, при 100 об/хв розчин перемішують протягом 30 хв.

Значення рН доводять до 6,5-8,0 шляхом додавання 6% розчину соляної кислоти (від *ДР 1.1*) та 6% розчину гідроксиду натрію (від *ДР 1.2*). Із сектору підготовки води подають воду ін'єкційну до загального об'єму 1700 л. Вмикають перемішуючий пристрій, при 100 об/хв розчин перемішують протягом 30 хв.

### ***ТП. 3. Фасування***

#### *ТП 3.1. Фасування розчину у флакони*

Із сектору підготовки тари отримують стерильні флакони та закупорювальні засоби. Розчин антианемічного лікарського засобу насосом Н-23 подають на машину наповнення флаконів МНФ-24. Здійснюють наповнення

флаконів дозами по 17 мл. Наповнені флакони закупорюють та направляють на наступну стадію пакування.

#### ***ПМВ 4. Пакування, маркування, відвантаження***

##### *ПМВ 4.1. Пакування та маркування*

Наповнені та закупорені флакони від *ТП 3.1* в автоматичному режимі надходять на фасувально-пакувальну машину ФПМ-25. Здійснюють нанесення етикетки на флакони, після чого флакони фасують у картонні коробки разом з інструкцією по застосуванню, проводять автоматичне маркування.

##### *ПМВ 4.2. Відвантаження*

Запаковані та промарковані коробки з флаконами вручну поміщають у третинну упаковку (групові картонні коробки) та відвантажують на склад. Зразки продукції направляють в лабораторію контролю якості для визначення основних показників готового антианемічного препарату згідно специфікації для випуску препарату.

### **8.5. Методи контролю. АНД на антианемічний препарат з наночастинками оксиду заліза**

#### **ЯКІСНИЙ ТА КІЛЬКІСНИЙ СКЛАД**

1 мл розчину містить 30 мг заліза у вигляді ферумоксифолу.

Кожен флакон з 17 мл розчину містить 510 мг заліза у вигляді ферумоксифолу.

Перелік допоміжних речовин:

- 1) Поліглюкозо-сорбітолкарбоксиметилловий ефір (PSC)
- 2) Манітол
- 3) Вода для ін'єкцій
- 4) Гідроксид натрію (для регулювання рН)
- 5) Соляна кислота (для регулювання рН)

#### **ЛІКАРСЬКА ФОРМА**

Розчин для ін'єкцій.

Розчин від чорного до червонувато-коричневого кольору

Осмоляльність: 270-330 мОсм/кг

pH: від 6,5 до 8,0

## **КЛІНІЧНІ ОСОБЛИВОСТІ**

### **Терапевтичні показання**

Препарат показаний для внутрішньовенного лікування залізодефіцитної анемії у дорослих пацієнтів. Діагноз дефіциту заліза повинен базуватися на відповідних лабораторних дослідженнях.

### **Дозування та спосіб застосування**

Уважно спостерігайте за пацієнтами щодо ознак і симптомів реакцій гіперчутливості під час і після кожного введення препарату.

Препарат слід вводити лише тоді, коли персонал навчений оцінювати та контролювати анафілактичні реакції, є негайно доступним у середовищі, де можна забезпечити повну реанімацію. Після кожної ін'єкції за пацієнтом слід спостерігати щонайменше протягом 30 хвилин для виявлення побічних ефектів.

### Курс лікування

Кожну дозу 510 мг вводять у вигляді внутрішньовенної ін'єкції. Пацієнтам, які отримують дві дози, другу внутрішньовенну ін'єкцію 510 мг слід зробити через 2–8 днів.

Максимальна доза становить 1020 мг (2 флакони), дві дози препарату не можна вводити одночасно. Препарат не слід призначати пацієнтам, якщо їх гемоглобін перевищує 12 г/дл, насичення трансферину в сироватці (TSAT) перевищує 50 % або феритин перевищує 800 нг/мл. Слід повторно обстежити пацієнтів принаймні через місяць після завершення курсу прийому препарату. Це повинно включати лабораторне дослідження гематологічних показників і параметрів вмісту заліза в крові.

### Повторне лікування

Щоб підтримувати цільове значення гемоглобіну, повторне лікування препаратом може бути призначено після повторного обстеження пацієнта та підтвердження дефіциту заліза. Для підтримуючої терапії та спостереження за пацієнтом слід дотримуватися рекомендацій поточних настанов.

### Педіатричне населення

Безпека та ефективність препарату у дітей та підлітків віком до 18 років не встановлені. Дані відсутні. Тому препарат не слід призначати дітям та підліткам віком до 18 років.

#### Особлива група – пацієнти, які перебувають на гемодіалізі

Пацієнтам, які перебувають на гемодіалізі, препарат слід вводити, коли артеріальний тиск стабілізується та пацієнт завершить принаймні одну годину гемодіалізу.

#### Печінкова недостатність

Препарат спеціально не вивчався у пацієнтів з порушенням функції печінки; клінічний досвід обмежений 8 пацієнтами. Пацієнтам із порушенням функції печінки парентеральне введення препаратів заліза слід призначати лише після ретельної оцінки співвідношення ризик/користь. Не рекомендується змінювати дозування.

#### Спосіб застосування

Внутрішньовенне застосування. Препарат вводять у вигляді нерозведеної внутрішньовенної ін'єкції зі швидкістю до 1 мл/с (30 мг/с), що відповідає 17 с для одного флакона. Після введення слід провести повільне промивання розчином натрію хлориду 9 мг/мл (0,9%) для ін'єкцій, щоб очистити лінію.

### **ПРОТИПОКАЗАННЯ**

Застосування препарату протипоказано при:

- Підвищена чутливість до діючої речовини або до будь-якої з допоміжних речовин препарату
- Відома серйозна гіперчутливість до інших парентеральних препаратів заліза
- Ознаки передозування залізом
- Анемія, не викликана дефіцитом заліза

### **ТЕРМІН ЗБЕРІГАННЯ**

48 місяців.

Термін придатності після першого відкриття: з мікробіологічної точки зору продукт слід використати негайно. Якщо не використовувати негайно,

відповідальність за тривалість та умови зберігання до використання несе користувач.

### **ОСОБЛИВІ ЗАСТЕРЕЖЕННЯ ПРИ ЗБЕРІГАННІ**

Зберігати в оригінальній упаковці в захищеному від світла місці. Не заморожувати.

### **УПАКОВКА**

По 17 мл розчину у флаконі (скло І типу) з пробкою та алюмінієвою гофрованою кришкою.

*Таблиця 8.2*

АНД на антианемічний препарат з наночастинками оксиду заліза

<b>Найменування показника</b>	<b>Допустимі межі</b>	<b>Методи контролю</b>
Опис	Розчин від чорного до червонувато-коричневого кольору	За п.1, візуально
Об'єм, що витягається	17 мл	За п. 2, ДФУ 2.9.17
Однорідність вмісту	Розчин має бути однорідним	За п. 3, ДФУ 2.9.6
Стерильність	Розчин має бути стерильним	За п.4, ДФУ 2.6.1.
Пірогени	Має бути апірогенним	За п. 5, ДФУ 2.6.8
Ідентифікація	Пік поглинання при 254,12 нм	За п.6, метод спектрофотометрії
Умови зберігання	Зберігати в оригінальній упаковці в захищеному від світла місці. Не заморожувати.	За п. 7
Термін придатності	48 місяців. Термін придатності після першого відкриття: з мікробіологічної точки зору продукт слід використати негайно.	За п. 8

## МЕТОДИ КОНТРОЛЮ

### 1. Опис

Визначають візуально. Розчин від чорного до червонувато-коричневого кольору.

### 2. Об'єм, що витягається

Визначення проводять за ДФУ 2.9.17. Об'єм лікарських засобів парентерального застосування, що витягається [108].

Якщо номінальний обсяг препарату становить більше 10 мл, то вибирається 1 контейнер. Весь вміст кожного контейнера відбирається окремо сухим шприцом, обсяг якого не перевищує 3-кратного виміряного обсягу і забезпечений голкою 2,1го калібру довжиною не менше 2,5 см. Видаліть бульбашки повітря зі шприца і голки, не спорожняючи її, перелийте вміст шприца в сухий стандартний циліндр (зі шкалою, який містить більше обсягу, запланованого до набору) такого розміру, щоб вимірний обсяг відповідав принаймні 40% від номінального обсягу циліндра. В якості альтернативи, вміст в мілілітрах може бути розраховане як маса в грамах, поділена на щільність.

Обсяг, що витягається, номінальним обсягом 10 мл і більше можна встановити, відкривши їх і перемістивши у мірний циліндр чи зважений хімічний стакан. [108].

Об'єм, що витягається, має бути не меншим номінального об'єму – 17 мл.

### 3. Однорідність вмісту

Визначення проводять за ДФУ 2.9.6. Однорідність вмісту діючої речовини в одиниці дозованого лікарського засобу [108].

Тест на однорідність вмісту активної речовини в одиниці введеного лікарського засобу заснований на кількісному вмісті активної речовини у визначеній кількості одиниць дозованого засобу для визначення того, чи знаходиться цей вміст у встановленому діапазоні по відношенню до середнього вмісту в досліджуваному лікарському засобі.

Визначають кількість активної речовини у кожній з 10 дозованих одиниць ЛЗ, що були довільно відібрані.

Препарат витримує випробування у разі якщо вміст у кожній разовій дозі у діапазоні від 85% до 115% від середнього значення. Якщо вміст більш ніж в одній одиниці перевищує вищевказану межу або якщо вміст хоча б однієї одиниці перевищує межу в 75-125% від середнього значення, препарат не проходить випробування.

Якщо кількість в 1 одиниці ЛЗ виходить за межі 85-115 %, але потрапляє в межі від 75 % до 125 %, визначають кількість у кожній з 20 додаткових однодозових одиниць ЛЗ, що були довільно відібрані. Досліджуваний зразок витримує випробування, якщо кількість не більш як в 1 з досліджених 30 одиниць виходить за діапазон 85-115 % і ні в одній одиниці не перевищує значення 75-125 % від середнього значення [108].

#### 4. Стерильність

Дослідження на стерильність проводять, використовуючи метод мембранного фільтрування за ДФУ 2.6.1 Стерильність, з інкубуванням на спеціальних тест-середовищах зразків кожної серії продукції [108].

Метод мембранної фільтрації слід використовувати, коли це дозволяє природа тестованого ЛЗ - тестування лікарського засобу у вигляді відфільтрованих водних розчинів, спиртових або масляних ліків, препаратів, змішаних або розчинених у водному або масляному розчиннику, що не володіють антибактеріальною активністю в умовах випробувань.

#### Випробування методом мембранної фільтрації

Застосовують мембранні фільтри з номінальним розміром пор не більше 0.45 мкм. Для водних, спиртових розчинів та олійних розчинів використовують, целюлозно-нітратні мембранні фільтруючі матеріали, у свою чергу, для концентрованих спиртових розчинів підходять целюлозно-ацетатні мембранні фільтруючі матеріали. Для ЛЗ з антибіотиками можуть застосовуватись інші мембранні фільтри. Обирають мембранні фільтри діаметром орієнтовно 50 мм. Якщо обирають мембранні фільтри іншого діаметра, обсяг розчинника і промивної рідини відповідно адаптують. Установку для фільтрації та мембранні фільтри стерилізують відповідним чином. Конструкція установки

для фільтрації повинна обумовлювати умови асептики при внесенні та фільтрації ЛЗ, також перенесенні мембранного фільтра в поживне середовище. Окрім цього, це має дозволяти здійснювати інкубування посівів у даній установці після внесення поживного середовища.

Перед початком дослідження рекомендовано прогнати через мембранний фільтр стерильний розчинник – так, підійде нейтральний розчин 1 г/л м'ясного чи казеїнового пептону з рН 7,1-7,3.

Весь вміст контейнера з тестованим зразком переноситься в мембранний фільтр. При необхідності обсяг проби попередньо доводять до того ж обсягу, що і при перевірці сумісності методики з відповідним стерильним розчинником. Одразу проводять фільтрування.

Мембранний фільтр переносять в поживне середовище або розрізають на 2 рівні частини відповідно до правил асептики, кожен з яких поміщають у певне поживне середовище. Така ж кількість живильного середовища використовується при перевірці відповідності методики. При використанні установки закритої конструкції поживне середовище додають безпосередньо до установки. Проводять інкубування посівів не менше 14 днів.

Лікарський засіб проходить тестування на стерильність, якщо в ході візуального обліку ріст мікроорганізмів не спостерігається [108].

## 5. Пірогени

Дослідження проводять за ДФУ 2.6.8 Пірогени.

Тест на піроген-це вимірювання підвищення температури тіла, яке відбувається у кроликів при внутрішньовенному введенні тестованого стерильного розчину лікарського засобу [108].

Досліджуваний розчин нагрівають орієнтовно до 38,5 ° С. Випробуваний зразок розчиняють або розбавляють у апірогенному розчині хлориду натрію 9 г / л або іншому розчиннику, що зазначений в іншій статті. Якщо в іншій статті не вказано інше, розчин повільно вводять у лімбічну вену вуха кожного кролика протягом 4 хв. Кількість зразка для введення залежить від його характеристик,

це має бути зазначено в окремій статті. Обсяг, що вводиться, повинен становити не менше 0,5 мл і не більше 10 мл на 1 кг маси організму.

*Визначення вихідної і максимальної температур.* "Вихідна температура" кожного кролика являє собою середнє значення 2-х температурних показників, зафіксованих у кролика з інтервалом 30 хв упродовж 40 хв, що передують введенню досліджуваного зразка. Максимальною температурою кожного кролика вважається найвища зафіксована температура досліджуваного кролика упродовж 3 год після ін'єкції. Температуру кролика фіксують через проміжки часу не більше 30 хв, починаючи близько за 90 хв перед введенням досліджуваного ЛЗ, продовжуючи упродовж 3 год по закінченню введення. Різниця між максимальною і вихідною температурами кожної досліджуваної тварини вважають за реакцію. Результат оцінюють за нульову реакцію, якщо дана різниця від'ємна.

При визначенні початкової температури кролика, у якого виявляється різниця між двома послідовними температурними значеннями вище 0,2°C, виводять з дослідження. У будь-якому тесті використовують тільки кроликів, у яких початкова температура не відрізняється вище на 1°C. Кроликів з початковою температурою більше 39,8°C або менше 38,0°C виводять з експерименту.

*Інтерпретація результатів.* Тест проводять спочатку в групі з 3 кроликів, а потім, в залежності від отриманих результатів, повторюють на подальших групах з 3-х кроликів до загальної кількості 4 групи. Якщо сумарна реакція першої групи не перевищує значень, зазначених у 2-му стовпці таблиці 3.2, зразок проходить випробування. Якщо загальний результат перевищує значення, вказане в 2-му стовпці таблиці, але не перевищує значення в 3-му стовпці таблиці, тест повторюється, як описано вище. Якщо загальна реакція перевищить значення, вказане в 3-му стовпці таблиці, зразок не проходить випробування [108].

Таблиця 8.3

Кількість кроликів	Зразок витримує	Зразок не витримує
--------------------	-----------------	--------------------

	<b>випробування, якщо сумарна реакція не перевищує</b>	<b>випробування, якщо сумарна реакція перевищує</b>
3	1,15 °C	2,65 °C
6	2,80 °C	4,30 °C
9	4,45 °C	5,95 °C
12	6,60 °C	6,60 °C

## 6. Ідентифікація

Готують розведення зразків у деіонізованій воді (1%), відбирають пробу 2 мл та проводять вимірювання оптичної густини в УФ-видимому спектрі між довжинами хвиль 200-700 нм у спектрофотометрі.

Синтезовані Fe-НЧ проявляють пік поглинання при 254,12 нм. Таке спостереження характерне для елементів перехідних металів, де спостережувані широкі піки зумовлені переходами всередині заповненої та незаповненої d-орбіталі, що ускладнюється впливом інших зовнішніх факторів. Пік при 254,12 нм пояснюється присутністю наночастинок заліза в стані Fe<sup>0</sup> [85].

## 7. Умови зберігання

Зберігати в оригінальній упаковці в захищеному від світла місці. Не заморожувати.

## 8. Термін придатності

48 місяців.

Термін придатності після першого відкриття: з мікробіологічної точки зору продукт слід використати негайно.

## РОЗДІЛ 9. ПРОЄКТ ПАТЕНТНОЇ ЗАЯВКИ. НАНОЧАСТИНКИ ОКСИДУ ЗАЛІЗА ДЛЯ ФАРМАЦІЇ

### Заявник:

Ім'я та прізвище заявника/

Адреса заявника/

Контактна інформація заявника

### «НАНОЧАСТИНКИ ОКСИДУ ЗАЛІЗА ДЛЯ ФАРМАЦІЇ»

Корисна модель "Наночастинки оксиду заліза для фармації" відноситься до сфери "Промислова та фармацевтична біотехнологія". Освітньо-професійна програма "Промислова та фармацевтична біотехнологія" охоплює вивчення технологічних процесів виробництва лікарських засобів та використання біотехнологічних підходів у фармацевтиці та промисловості. У цьому контексті біотехнологія наночастинок оксиду заліза для фармації вписується у сучасні тенденції розвитку біотехнологічних процесів у фармацевтиці та медицині.

Винахід полягає в розробці біотехнологічного методу синтезу наночастинок оксиду заліза та їхнього використання для цільової доставки лікарських засобів. Метод включає в себе створення стабільних та біосумісних наночастинок оксиду заліза, які можуть бути програмовані для точної доставки лікарських препаратів у конкретні клітини чи органи в організмі.

Основна ідея винаходу полягає в використанні біотехнологічного підходу для ефективного синтезу наночастинок оксиду заліза. Цей підхід має за мету створення частинок із оптимальним розміром та формою, спеціально адаптованими для максимальної стабільності та взаємодії з біологічними системами. У біотехнологічному процесі синтезу використовуються новаторські методи, які дозволяють точно контролювати розмір та морфологію наночастинок.

НУХТ БТЕК 02.01.04 КР ПЗ

Змн.	Лист	№ докум.	Підпис	Дата				
Розроб.		Ковальова М.О.			РОЗДІЛ 9. Проєкт патентної заявки. Наночастинки оксиду заліза для фармації	Літ.	Арк.	Аркушів
Перевір.		Скороцька О.І.					91	5
Реценз.						Кафедра БТМ		
Н. Контр.								
Затверд.		Стабніков В.П.						

Це дозволяє досягти не лише високої ефективності, але і максимальної біосумісності в контексті взаємодії з біологічними середовищами. Застосування біотехнологічного підходу в синтезі наночастинок оксиду заліза відкриває широкі перспективи для медичної та фармацевтичної галузей. Такий метод дозволяє підняти якість та ефективність лікарських препаратів, спрямованих на конкретні клітини чи органи, та одночасно гарантує їхню безпеку та мінімізацію негативного впливу на навколишні тканини.

Цільова доставка лікарських засобів є критичним вдосконаленням у медичній науці, і саме цей аспект становить ключову інноваційну рису винаходу. Процес забезпечення точного та спрямованого доставлення лікарських препаратів до конкретних місць в організмі здійснюється завдяки використанню унікальної можливості програмування наночастинок.

Наночастинки оксиду заліза, які є ключовим компонентом винаходу, можуть бути програмовані для спрямованої транспортації в організмі. Це означає, що вони можуть бути налаштовані для перенесення лікарських засобів до конкретних місць дії, де їхня присутність є найбільш необхідною для лікування. Такий підхід виключає непотрібне розсіювання ліків в організмі, що властиве традиційним методам доставки. Натомість, цей метод забезпечує максимальну концентрацію лікарських препаратів в цільових органах чи тканинах, що, в свою чергу, підвищує ефективність та знижує ризик побічних ефектів. Така точність та спрямованість в доставці лікарських засобів відкриває нові перспективи у лікуванні різноманітних захворювань. Використання програмованих наночастинок оксиду заліза є не тільки технологічним проривом, але й обіцячкою для персоналізованого та ефективного підходу до лікування.

Переваги винаходу включають в себе ряд ключових аспектів, що роблять його високоефективним та перспективним у сфері медичних технологій.

1) Підвищена ефективність лікування забезпечується завдяки можливості досягнення максимальної концентрації лікарських засобів в цільовому місці. Наночастинки оксиду заліза, які застосовуються в рамках

винаходу, спроможні точно доставляти лікарські препарати в потрібні клітини чи органи, забезпечуючи вищу ефективність лікування.

2) Мінімізація побічних ефектів є іншою важливою перевагою. За допомогою розробленої біотехнології зменшується вплив лікарських засобів на здорові клітини та органи поза цільовою зоною, що сприяє покращенню толерантності до лікування та зменшенню небажаних ефектів.

3) Широкий спектр застосування винаходу дозволяє використовувати його для лікування різних захворювань. Технологія цільової доставки лікарських засобів може бути адаптована до різних типів лікарських препаратів, розширюючи сферу застосування винаходу у медичній практиці.

Такі переваги винаходу визначають його великий потенціал для вдосконалення лікування та підвищення якості медичної допомоги в широкому спектрі захворювань.

## **Реферат**

### **Заявник:**

Ім'я та прізвище заявника/

Адреса заявника/

Контактна інформація заявника

### **«Біотехнологія наночастинок оксиду заліза для фармації»**

В сучасному світі медичної науки і технологій ключовим завданням є розробка ефективних методів доставки лікарських засобів безпосередньо до цільових місць в організмі. У цьому контексті велике значення має розвиток біотехнологій, які дозволяють створювати інноваційні підходи до лікування. Один із найперспективніших напрямків у цій сфері - це використання біотехнології наночастинок оксиду заліза для цільової доставки лікарських засобів. Цей винахід базується на використанні наночастинок оксиду заліза, які

володіють унікальними властивостями. Досягнута висока стабільність і велика поверхнева активність цих наночастинок дозволяє їм взаємодіяти з біологічними системами організму. Завдяки ретельному біотехнологічному синтезу, ці наночастинок можуть бути спрямовано впроваджені в організм та доставлені до конкретних клітин або органів, де вони виявляють свою дію. Програмування наночастинок дозволяє спрямовано доставляти ліки до конкретних клітин чи органів, забезпечуючи максимальний терапевтичний ефект та мінімізацію побічних реакцій. Винахід відкриває нові перспективи для лікування різноманітних захворювань, відзначаючись широким спектром застосування. Використання біотехнології наночастинок оксиду заліза для фармації є обіцяючим кроком вперед у покращенні якості та ефективності медичної терапії.

### **Формула винаходу**

#### **Заявник:**

Ім'я та прізвище заявника/

Адреса заявника/

Контактна інформація заявника

### **«Біотехнологія наночастинок оксиду заліза для фармації»**

Формула винаходу "Біотехнологія наночастинок оксиду заліза для цільової доставки лікарських засобів" може бути узагальненою у такому контексті:

**Наночастинок оксиду заліза + Біотехнологічний підхід = Цільова доставка.**

У цій формулі "Наночастинок оксиду заліза" є ключовим компонентом, який забезпечує транспорт лікарських засобів, а "Біотехнологічний підхід" відображає технологію синтезу та програмування цих частинок для

спрямованої доставки. Результатом їх спільної взаємодії є "Цільова доставка лікарських засобів", що визначає основний ефект винаходу.

Така формула відображає не лише складові елементи винаходу, але й їхню взаємодію та результативність, що дозволяє досягти ефективної цільової доставки лікарських засобів.

## СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Khan, Misbah & Ullah, Hayat & Honey, Shehla & Talib, Zunaira & Abbas, Mustansar & Umar, Ali & Ahmad, Tayyaba & Sohail, JehanZeb & Sohail, Ammara & Makgopa, Katlego & Ahmad, Javed & Asim, Jamil. (2023). Metal Nanoparticles: Synthesis Approach, Types and Applications – A Mini Review. *Nano-Horizons*. 2. 10.25159/NanoHorizons.87a973477e35.
2. Iqbal, Anam & Iqbal, Kanwal & Li, Bo & Gong, Deyan & Qin, Wenwu. (2017). Recent Advances in Iron Nanoparticles: Preparation, Properties, Biological and Environmental Application. *Journal of Nanoscience and Nanotechnology*. 17. 4386-4409. 10.1166/jnn.2017.14196.
3. Benković, Maja & Valinger, Davor & Jurina, Tamara & Gajdoš Kljusurić, Jasenka & Jurinjak Tusek, Ana. (2023). Biocatalysis as a Green Approach for Synthesis of Iron Nanoparticles—Batch and Microflow Process Comparison. *Catalysts*. 13. 112. 10.3390/catal13010112.
4. Khalil, Ali & Ovais, Muhammad & Ullah, Ikram & Ali, Muhammad & Shinwari, Zabta & Maaza, Malik. (2017). Biosynthesis of iron oxide (Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub>) nanoparticles via aqueous extracts of *Sageretia thea* (Osbeck.) and their pharmacognostic properties. *Green Chemistry Letters and Reviews*. 10. 186-201. 10.1080/17518253.2017.1339831.
5. Moacă, E. A., Watz, C. G., Flondor Ionescu, D., Păcurariu, C., Tudoran, L. B., Ianoș, R., Socoliuc, V., Drăghici, G. A., Iftode, A., Liga, S., Dragoș, D., & Dehelean, C. A. (2022). Biosynthesis of Iron Oxide Nanoparticles: Physico-Chemical Characterization and Their In Vitro Cytotoxicity on Healthy and Tumorigenic Cell Lines. *Nanomaterials* (Basel, Switzerland), 12(12), 2022. <https://doi.org/10.3390/nano12122012>.
6. Madivoli, Edwin & Kareru, Patrick & Maina, Ernest & Nyabola, Augustine & Wanakai, Sammy & Nyang'au, Jared. (2019). Biosynthesis of iron nanoparticles using *Ageratum conyzoides* extracts, their antimicrobial and photocatalytic activity. *Applied Sciences*. 2019. 1-11. 10.1007/s42452-019-0511-7.

7. Palaniyandi, Thirunavukkarasu & Baskar, Gomathy & V, Bhagyalakshmi & Viswanathan, Sandhiya & Abdul Wahab, Mugip Rahaman & Govindaraj, Manojkumar & Asha, Sivaji & Rajendran, Barani Kumar & Kaliamoorthy, Senthilkumar. (2023). Biosynthesis of iron nanoparticles using brown algae *Spatoglossum asperum* and its antioxidant and anticancer activities through in vitro and in silico studies. *Particulate Science and Technology*. 41. 1-14. 10.1080/02726351.2022.2159900.
8. Kaushal, Priya & Verma, Naveen & Kaur, Kamaljit & Sidhu, Amanpreet. (2021). Green Synthesis: An Eco-friendly Route for the Synthesis of Iron Oxide Nanoparticles. *Frontiers in Nanotechnology*. 3. 655062. 10.3389/fnano.2021.655062.
9. Karkuzhali, & Yogamoorthi, A. (2015). Biosynthesis Of Iron Oxide Nanoparticles Using Aquous Extract Of *Jatropha Gossypifolia* As Source Of Reducing Agent. *International Journal of NanoScience and Nanotechnology*. 6 (1). 47-55.
10. Ghafarzadegan, R., Yaghoobi, M., Momtaz, S., Ashoory, N., Yekta, M.G., Hajiaghaee, R. (2022). Process optimization for green synthesis of iron nanoparticles by extract of fenugreek (*Trigonella foenum-graecum* L.) seeds. *J. Med. Plants*. 21. 22–32. doi: 10.52547/jmp.21.81.22.
11. Nowak-Jary, J., & Machnicka, B. (2023). In vivo Biodistribution and Clearance of Magnetic Iron Oxide Nanoparticles for Medical Applications. *International journal of nanomedicine*, 18, 4067–4100. <https://doi.org/10.2147/IJN.S415063>.
12. Abdulwahid, Farah & Haider, Adawiya & Al-Musawi, Sharafaldin. (2022). Magnetic Iron Oxide Nanoparticles (IONs): Synthesis, Surface Functionalization, and Targeting Drug Delivery Strategies: mini-review. *Nano*. 17. 10.1142/S1793292022300079.
13. Vargas, Jesús & González, Carmen & Escalante, Karen. (2022). Magnetic Iron Nanoparticles: Synthesis, Surface Enhancements, and Biological Challenges. *Processes*. 10. 1. 10.3390/pr10112282.

14. Nowak-Jary, J., & Machnicka, B. (2022). Pharmacokinetics of magnetic iron oxide nanoparticles for medical applications. *Journal of nanobiotechnology*, 20(1), 305. <https://doi.org/10.1186/s12951-022-01510-w>.
15. Zhang, L., Ma, M., Li, J., Qiao, K., Xie, Y., & Zheng, Y. (2024). Stimuli-responsive microcarriers and their application in tissue repair: A review of magnetic and electroactive microcarrier. *Bioactive materials*, 39, 147–162. <https://doi.org/10.1016/j.bioactmat.2024.05.018>.
16. Sachdeva, Vridhi & Monga, Aditi & Vashisht, Radhika & Siingh, Diilpreet & Singh, Anupinder & Bedi, Neena. (2022). Iron Oxide Nanoparticles: The precise strategy for targeted delivery of genes, oligonucleotides and peptides in cancer therapy. *Journal of Drug Delivery Science and Technology*. 74. 103585. [10.1016/j.jddst.2022.103585](https://doi.org/10.1016/j.jddst.2022.103585).
17. Ahmadi, Saeed & Izanloo, Cobra. (2023). Biosynthesis of iron oxide nanoparticles at different temperatures and its application for the removal of Zinc by plant mediated nanoparticle, as an eco-friendly nanoadsorbent. *Results in Chemistry*. 6. 101192. [10.1016/j.rechem.2023.101192](https://doi.org/10.1016/j.rechem.2023.101192).
18. Nadeem, M., Khan, R., Shah, N., Bangash, I. R., Abbasi, B. H., Hano, C., Liu, C., Ullah, S., Hashmi, S. S., Nadhman, A., & Celli, J. (2021). A Review of Microbial Mediated Iron Nanoparticles (IONPs) and Its Biomedical Applications. *Nanomaterials (Basel, Switzerland)*, 12(1), 130. <https://doi.org/10.3390/nano12010130>.
19. Ghosh, S., Ahmad, R., Banerjee, K., AlAjmi, M. F., & Rahman, S. (2021). Mechanistic Aspects of Microbe-Mediated Nanoparticle Synthesis. *Frontiers in microbiology*, 12, 638068. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2021.638068>.
20. Vignesh, Venkatasamy; Sathiyarayanan, Ganesan; Sathishkumar, Gnanasekar; Parthiban, Karuppaiah; Sathish-Kumar, Kamaraj; Thirumurugan, Ramasamy (2015). Formulation of iron oxide nanoparticles using exopolysaccharide: evaluation of their antibacterial and anticancer activities. *RSC Adv.*, 5(35), 27794–27804. [doi:10.1039/C5RA03134F](https://doi.org/10.1039/C5RA03134F).

21. Fatemi, M., Mollania, N., Momeni-Moghaddam, M., & Sadeghifar, F. (2018). Extracellular biosynthesis of magnetic iron oxide nanoparticles by *Bacillus cereus* strain HMH1: Characterization and in vitro cytotoxicity analysis on MCF-7 and 3T3 cell lines. *Journal of biotechnology*, 270, 1–11. <https://doi.org/10.1016/j.jbiotec.2018.01.021>.
22. Emtiazi, G. (2015). The Influence of *Microbacterium hominis* and *Bacillus licheniformis* Extracellular Polymers on Silver and Iron Oxide Nanoparticles Production; Green Biosynthesis and Mechanism of Bacterial Nano Production. *Journal of Nanomaterials and Molecular Nanotechnology*. 04. 10.4172/2324-8777.1000160.
23. Romero-Cedillo, L., Poggi-Varaldo, H. M., Santoyo-Salazar, J., Escamilla-Alvarado, C., Matsumoto-Kuwabara, Y., Ponce-Noyola, M. T., Bretón-Deval, L., & García-Rocha, M. (2020). Biological synthesis of iron nanoparticles using hydrolysates from a waste-based biorefinery. *Environmental science and pollution research international*, 27(23), 28649–28669. <https://doi.org/10.1007/s11356-020-08729-w>.
24. Khan, A. A., Khan, S., Khan, S., Rentschler, S., Laufer, S., & Deigner, H. P. (2021). Biosynthesis of iron oxide magnetic nanoparticles using clinically isolated *Pseudomonas aeruginosa*. *Scientific reports*, 11(1), 20503. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-99814-8>.
25. SILVERMAN, M. P., & LUNDGREN, D. G. (1959). Studies on the chemoautotrophic iron bacterium *Ferrobacillus ferrooxidans*. I. An improved medium and a harvesting procedure for securing high cell yields. *Journal of bacteriology*, 77(5), 642–647. <https://doi.org/10.1128/jb.77.5.642-647.1959>.
26. Lei, C., Sun, Y., Tsang, D. C. W., & Lin, D. (2018). Environmental transformations and ecological effects of iron-based nanoparticles. *Environmental pollution (Barking, Essex : 1987)*, 232, 10–30. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2017.09.052>.
27. Saif, S., Tahir, A., & Chen, Y. (2016). Green Synthesis of Iron Nanoparticles and Their Environmental Applications and

Implications. *Nanomaterials* (Basel, Switzerland), 6(11), 209. <https://doi.org/10.3390/nano6110209>.

28. Hajiali, S., Daneshjou, S., & Daneshjoo, S. (2022). Biomimetic synthesis of iron oxide nanoparticles from *Bacillus megaterium* to be used in hyperthermia therapy. *AMB Express*, 12(1), 145. <https://doi.org/10.1186/s13568-022-01490-y>.

29. Hulkoti, N. I., & Taranath, T. C. (2014). Biosynthesis of nanoparticles using microbes- a review. *Colloids and surfaces. B, Biointerfaces*, 121, 474–483. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2014.05.027>.

30. Gurusamy, Manikandan & Raju, Ramasubbu. (2021). Biosynthesis of Iron Nanoparticles from *Pleurotus florida* and its Antimicrobial Activity against Selected Human Pathogens. *Indian Journal of Pharmaceutical Sciences*. 83. 45-51. [10.36468/pharmaceutical-sciences.748](https://doi.org/10.36468/pharmaceutical-sciences.748).

31. Chatterjee, Shreosi & Mahanty, Shouvik & Das, Papita & Chaudhuri, Punarbasu & Das, Surajit. (2019). Biofabrication of iron oxide nanoparticles using manglicolous fungus *Aspergillus niger* BSC-1 and removal of Cr(VI) from aqueous solution. *Chemical Engineering Journal*. 123790. [10.1016/j.cej.2019.123790](https://doi.org/10.1016/j.cej.2019.123790).

32. Abdeen, Mai & Sabry, Soraya & Ghozlan, Hanan & El-Gendy, Ahmed & Carpenter, Everett. (2016). Microbial-Physical Synthesis of Fe and Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> Magnetic Nanoparticles Using *Aspergillus niger* YESM1 and Supercritical Condition of Ethanol. *Journal of Nanomaterials*. 2016. 1-7. [10.1155/2016/9174891](https://doi.org/10.1155/2016/9174891).

33. Kareem, S., Adeleye, T., & Ojo, R. (2020). Effects of pH, temperature and agitation on the biosynthesis of iron nanoparticles produced by *Trichoderma* species. *IOP Conference Series: Materials Science and Engineering*, 805, 012036. [doi:10.1088/1757-899x/805/1/012036](https://doi.org/10.1088/1757-899x/805/1/012036).

34. Bogutska, K., Sklyarov, Y.P. and Prylutsky, Y.I. (2013) Zinc and Zinc Nanoparticles: Biological Role and Application in Biomedicine. *Ukrainica Bioorganica Acta*, 1, 9-16.

35. Hassan, Muhammad & Khan, Aqib Zafar & Sajid, Muhammad & Javed, Yasir & Ullah, Asmat & Shad, Naveed & Shafique, Muhammad & Sarwar,

Muhammad. (2021). Potential of Iron Oxide Nanoparticles as Drug Delivery Vehicle. 10.1007/978-3-030-79960-1\_5.

36. Iqbal, Anam; Iqbal, Kanwal; Li, Bo; Gong, Deyan; Qin, Wenwu (2017). Recent Advances in Iron Nanoparticles: Preparation, Properties, Biological and Environmental Application. *Journal of Nanoscience and Nanotechnology*, 17(7), 4386–4409. doi:10.1166/jnn.2017.14196.

37. Багрова Л. П. Перспективи використання суперпарамагнітних наночастинок в біотехнології та нанофармакології // НОВІТНІ ДОСЯГНЕННЯ БІОТЕХНОЛОГІЇ ТА НАНОФАРМАКОЛОГІЇ: тези доповідей III Міжнародної науково-практичної конференції, присвяченої 10-річчю кафедри біотехнології Національного авіаційного університету та 175-річчю кафедри фармакології Національного медичного університету ім. О.О.Богомольця (Київ, 22-23 жовтня 2015 р.). – С. 9-10.

38. Xu, Weihua & Yang, Ting & Liu, Shaobo & Du, Li & Chen, Qiang & Li, Xin & Dong, Jie & Zhang, Zhuang & Lu, Sihui & Gong, Youzi & Zhou, Liang & Liu, Yunguo & Tan, Xiaofei. (2022). Insights into the Synthesis, types and application of iron Nanoparticles: The overlooked significance of environmental effects. *Environment International*. 158. 106980. 10.1016/j.envint.2021.106980.

39. Peng, Dinghua; Wu, Bin; Tan, Hang; Hou, Siyu; Liu, Min; Tang, Hao; Yu, Jiang; Xu, Heng (2019). Effect of multiple iron-based nanoparticles on availability of lead and iron, and micro-ecology in lead contaminated soil. *Chemosphere*, 228, 44–53. doi:10.1016/j.chemosphere.2019.04.106.

40. Vangijzegem, T., Stanicki, D., & Laurent, S. (2019). Magnetic iron oxide nanoparticles for drug delivery: applications and characteristics. *Expert opinion on drug delivery*, 16(1), 69–78. <https://doi.org/10.1080/17425247.2019.1554647>.

41. Attia, Nour & El-Monaem, Eman & El-Aqapa, Hisham & Elashery, Sally & Eltaweil, Abdelazeem & Kady, Misara & Khalifa, Shaden & Hawash, Hamada & El-Seedi, Hesham. (2022). Iron oxide nanoparticles and their pharmaceutical applications. 11. 100284. 10.1016/j.apsadv.2022.100284.

42. Garcés, V., Rodríguez-Nogales, A., González, A., Gálvez, N., Rodríguez-Cabezas, M. E., García-Martin, M. L., Gutiérrez, L., Rondón, D., Olivares, M., Gálvez, J., & Dominguez-Vera, J. M. (2018). Bacteria-Carried Iron Oxide Nanoparticles for Treatment of Anemia. *Bioconjugate chemistry*, 29(5), 1785–1791. <https://doi.org/10.1021/acs.bioconjchem.8b00245>.

43. Wagstaff, Amelia & Brown, Sarah & Holden, Megan & Craig, Gemma & Plumb, Jane & Brown, Roisin & Schreiter, Norbert & Chrzanowski, Wojciech & Wheate, Nial. (2012). Cisplatin drug delivery using gold-coated iron oxide nanoparticles for enhanced tumour targeting with external magnetic. *Inorganica Chimica Acta*. 393. 328–333. [10.1016/j.ica.2012.05.012](https://doi.org/10.1016/j.ica.2012.05.012).

44. Alsalem, M. A., Zaidan, A. A., Zaidan, B. B., Hashim, M., Madhloom, H. T., Azeez, N. D., & Alsysisuf, S. (2018). A review of the automated detection and classification of acute leukaemia: Coherent taxonomy, datasets, validation and performance measurements, motivation, open challenges and recommendations. *Computer methods and programs in biomedicine*, 158, 93–112. <https://doi.org/10.1016/j.cmpb.2018.02.005>.

45. Wang, Y., Yang, Y., Zheng, X., Shi, J., Zhong, L., Duan, X., & Zhu, Y. (2023). Application of iron oxide nanoparticles in the diagnosis and treatment of leukemia. *Frontiers in pharmacology*, 14, 1177068. <https://doi.org/10.3389/fphar.2023.1177068>.

46. Mohammad, Faruq & Al-Lohedan, Hamad & Joshi, Payal & Obulapuram, Prasanna & CHAVALI, Murthy & Al-Balawi, Aiesha & Nikolova, Maria. (2022). Engineered superparamagnetic iron oxide nanoparticles for externally controlled hyperthermia, drug delivery, and therapeutic toxicity. *Precision Nanomedicine*. 5. [10.33218/001c.37603](https://doi.org/10.33218/001c.37603).

47. Mohammadi Ziarani, G., Malmir, M., Lashgari, N., & Badiei, A. (2019). The role of hollow magnetic nanoparticles in drug delivery. *RSC Advances*, 9(43), 25094–25106. [doi:10.1039/c9ra01589b](https://doi.org/10.1039/c9ra01589b).

48. Zhang, Z., Zhuang, L., Lin, Y., Yan, M., Lv, J., Li, X., Lin, H., Zhu, P., Lin, Q., & Xu, Y. (2020). Novel drug delivery system based on hollow mesoporous

magnetic nanoparticles for head and neck cancers--targeted therapy *in vitro* and *in vivo*. *American journal of cancer research*, *10*(1), 350–364.

49. Miri, A., Najafzadeh, H., Darroudi, M., Miri, M. J., Kouhbanani, M. A. J., & Sarani, M. (2021). Iron Oxide Nanoparticles: Biosynthesis, Magnetic Behavior, Cytotoxic Effect. *ChemistryOpen*, *10*(3), 327–333. <https://doi.org/10.1002/open.202000186>.

50. Eftekhari, A., Arjmand, A., Asheghvatan, A., Švajdlenková, H., Šauša, O., Abiyev, H., Ahmadian, E., Smutok, O., Khalilov, R., Kavetsky, T., & Cucchiari, M. (2021). The Potential Application of Magnetic Nanoparticles for Liver Fibrosis Theranostics. *Frontiers in chemistry*, *9*, 674786. <https://doi.org/10.3389/fchem.2021.674786>.

51. Tan, Marsha & Reyes-Ortega, Felisa & Schneider, Elena. (2020). Successes and Challenges: Inhaled Treatment Approaches Using Magnetic Nanoparticles in Cystic Fibrosis. *Magnetochemistry*. *6*. [10.3390/magnetochemistry6020025](https://doi.org/10.3390/magnetochemistry6020025).

52. Almiqalli, M., Saad, A., Alhussaini, K., Aleid, A., & Alwasel, A. (2021). Towards Drug Delivery Control Using Iron Oxide Nanoparticles in Three-Dimensional Magnetic Resonance Imaging. *Nanomaterials (Basel, Switzerland)*, *11*(8), 1876. <https://doi.org/10.3390/nano11081876>.

53. Nahari, M. H., Al Ali, A., Asiri, A., Mahnashi, M. H., Shaikh, I. A., Shettar, A. K., & Hoskeri, J. (2022). Green Synthesis and Characterization of Iron Nanoparticles Synthesized from Aqueous Leaf Extract of *Vitex leucoxydon* and Its Biomedical Applications. *Nanomaterials (Basel, Switzerland)*, *12*(14), 2404. <https://doi.org/10.3390/nano12142404>.

54. Turrina, C., Berensmeier, S., & Schwaminger, S. P. (2021). Bare Iron Oxide Nanoparticles as Drug Delivery Carrier for the Short Cationic Peptide Lasioglossin. *Pharmaceuticals (Basel, Switzerland)*, *14*(5), 405. <https://doi.org/10.3390/ph14050405>.

55. Курапов Ю. А. Дисперсність та магнітні властивості наночастинок магнетиту, отриманих методом конденсації молекулярних пучків [Електронний

ресурс] / Ю. А. Курапов, Литвин С. Є., Дідікін Г. Г., Борецький В.В.// Електронно-променеві процеси. – 2022. – № 2. – С. 17–26.

56. Ali, A., Zafar, H., Zia, M., Ul Haq, I., Phull, A. R., Ali, J. S., & Hussain, A. (2016). Synthesis, characterization, applications, and challenges of iron oxide nanoparticles. *Nanotechnology, science and applications*, 9, 49–67. <https://doi.org/10.2147/NSA.S99986>.

57. Montiel Schneider, M. G., Martín, M. J., Otarola, J., Vakarelska, E., Simeonov, V., Lassalle, V., & Nedyalkova, M. (2022). Biomedical Applications of Iron Oxide Nanoparticles: Current Insights Progress and Perspectives. *Pharmaceutics*, 14(1), 204. <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics14010204>.

58. До питання щодо залізодефіцитної анемії Автори: О. М. Біловол, Академік НАМН України, Д.М.Н., Професор, І.І. Князькова, Д.М.Н., Професор, Кафедра Клінічної Фармакології Та Внутрішньої Медицини Харківського Національного Медичного Університету [Електронний ресурс] Режим доступу: <https://health-ua.com/terapiya-i-semeynaya-meditsina/anemiia/70655-do-pitannya-shodo--zalzodeftcitno-anem> .

59. Мандзій З. П., Бойчук О.Г., Мигович В.В. Корекція залізодефіцитних станів у клініці внутрішніх захворювань // Медицина невідклад. станів. - 2021. - 17, № 3. 10.

60. Важнича О. М. Клінічне застосування наночастинок оксидів заліза / О. М. Важнича, Т. О. Дев'яткіна, Н. М. Дев'яткіна // Актуальні проблеми сучасної медицини. – 2017. – Т. 17, вип.1 (58). – С. 316–320.

61. У 2021 РОЦІ МАЙЖЕ 2 МІЛЬЯРДИ ЛЮДЕЙ МАЛИ АНЕМІЮ. ДО ЧОГО ТУТ ЗДОРОВЕ ХАРЧУВАННЯ? [Електронний ресурс] Режим доступу: <https://phc.org.ua/news/u-2021-roci-mayzhe-2-milyardi-lyudey-mali-anemiyu-do-chogo-tut-zdorove-kharchuvannya>

62. Чисельність населення по регіонах (за оцінкою) на 1 лютого 2022 року та середня чисельність у січні 2022 року [Електронний ресурс] Режим доступу: [http://db.ukrcensus.gov.ua/PXWEB2007/ukr/news/op\\_popul.asp](http://db.ukrcensus.gov.ua/PXWEB2007/ukr/news/op_popul.asp)

63. ФЕРАХЕМЕ (Ферумокситол) / FERANEME (Ferumoxytol)  
[Електронний ресурс] Режим доступу:  
<https://farmalad.com.ua/goods/feraheme.html>

64. Проектування біотехнологічних виробництв [Електронний ресурс]: до вивч.дисц.,провед.практи.занять та викон.контр.роб.для здобув.осв.ступ. «Бакалавр» спец. 162 «Біотехнології та біоінженерія» світньо-професійнох програми «Біотехнології: фармацевтична, промислова, харчова, природоохоронна» ден. форми навч./ уклад. Ю.В. Карлаш, В.М. Удимович. – К.: НУХТ, 2023. – 112 с.

65. Bhargava, A., Jain, N., Barathi L., M., Akhtar, M. S., Yun, Y.-S., & Panwar, J. (2013). Synthesis, characterization and mechanistic insights of mycogenic iron oxide nanoparticles. *Nanotechnology for Sustainable Development*, 337–348. doi:10.1007/978-3-319-05041-6\_27

66. Розробка технологічної блок-схеми виробництва сухого порошку біомаси *F. velutipes* / Т. А. Буткевич, В. П. Попович, Н. О. Козіко // Фармацевтичний часопис. - 2014. - № 4. - С. 47-50.

67. Клімкіна, І.І. Методичні рекомендації до виконання лабораторних робіт з дисципліни «Біотехнології в екології» для студентів спеціальностей 091 «Біологія», 101 «Екологія» та 183 «Технології захисту навколишнього середовища» [Текст] / І. І. Клімкіна, В. В. Федотов; НТУ «Дніпровська політехніка». – Дніпро: НТУ «ДП», 2020. – 52 с.

68. Кравченко О. О., Савчук О. М., Остапченко Л. І. Загальна біотехнологія : навчальний посібник / О. О. Кравченко, О. М. Савчук, Л. І. Остапченко. – К. : ВПЦ "Київський університет", 2019. – 269 с.

69. Конспект лекцій з дисципліни “ Устаткування виробництва”. Для здобувачів вищої освіти бакалаврського рівня зі спеціальності 162 «Біотехнології та біоінженерія». Укладач: В.М.Гуляев. Кам’янське: ДДТУ, 2019. – 58с.

70. Карлаш Ю.В., Красінько В.О. Основи проєктування біотехнологічних виробництв Електронний ресурс: Навч. посібник. –К.:НУХТ, 2022. –373 с.

71. Spicher, Magdalena & Schwaminger, Sebastian & Haar-Leistl, Daniela & Fellenberg, Elena & Berensmeier, Sonja. (2023). Process development for pilot-scale spray drying of ultrasmall iron (oxyhydr)oxide nanoparticles. *Powder Technology*. 433. 119186. 10.1016/j.powtec.2023.119186.

72. Ianoş , Robert & Tăculescu (Moacă), Elena & Capraru, Aylin & Lazău, Radu & Păcurariu, C.. (2018). Maghemite,  $\gamma$ -Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub>, nanoparticles preparation via carbon-templated solution combustion synthesis. *Ceramics International*. 44. 10.1016/j.ceramint.2018.04.258.

73. Method for preparing dispersed iron nanoparticles from caprolactam type ionic liquid: pat. CN103551590A China: 2013105422220.2, 21205; заявл. 06.11.2013; опубл. 05.02.2014. 5 с.

74. Cavka, Adnan & Jönsson, Leif. (2014). Comparison of the growth of filamentous fungi and yeasts in lignocellulose-derived media. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*. 3. 10.1016/j.bcab.2014.04.003.

75. Реактор лабораторний 20 літрів з нержавіючої сталі з мішалкою та сорочкою [Електронний ресурс] Режим доступу: [https://stprom.com.ua/ua/p1723663252-reaktor-laboratornyj-litrov.html?srsltid=AfmBOopf\\_yuImgoEYyYe1LG5WJEmg-0274PHsavnnGgRqq4lBWOx8LKU](https://stprom.com.ua/ua/p1723663252-reaktor-laboratornyj-litrov.html?srsltid=AfmBOopf_yuImgoEYyYe1LG5WJEmg-0274PHsavnnGgRqq4lBWOx8LKU)

76. Centrifugal Pump For The Pharmaceutical Industry [Електронний ресурс] Режим доступу: <https://www.sujalpumps.com/centrifugal-pump-for-the-pharmaceutical-industry/>

77. ФІЛЬТРПРЕС ІЗ НЕРЖАВІЮЧОЇ СТАЛІ ВІД COLUMBITE ІЗ 42 ФІЛЬТРУЮЧИМИ ПЛАСТИНАМИ ТА 43 РАМАМИ РОЗМІРАМИ 800 ММ X 800 ММ [Електронний ресурс] Режим доступу: <https://perryvidex.eu/product/800-mm-x-800-mm-275-sqm-ss-columbite-plafr-ug5968>

78. Скляний хімічний реактор на 10л з підігрівом [Електронний ресурс]  
Режим доступу: <https://ukrchemgroup.com/ua/p1459285251-steklyannyj-himicheskij-reaktor.html> .
79. Бункер дозатор БП-500 [Електронний ресурс] Режим доступу:  
<https://tehnomashstroy.com.ua/ua/p1077874700-bunker-dozator-500.html>
80. 17 літрів, внутрішній тиск 25 бар, кожух 18 бар, реактор з нержавіючої сталі [Електронний ресурс] Режим доступу:  
<https://perryvidex.eu/product/17-ltr-25-bar-int-18-bar-jkt-0-25-agit-rg8991> .
81. Industrial 10L-45L Direct Shaft Centrifuge Separator Centrifuge Ethanol Extraction Centrifuge Machine [Електронний ресурс] Режим доступу:  
<https://shglass.en.made-in-china.com/product/PmeUZrJThwVs/China-Industrial-10L-45L-Direct-Shaft-Centrifuge-Separator-Centrifuge-Ethanol-Extraction-Centrifuge-Machine.html>
82. ШАФА СУШИЛЬНА ВАКУУМНА СВ-30 [Електронний ресурс]  
Режим доступу: <https://almedika.company.ua/p1632867545-shkaf-sushilnyj-vakuumnyj.html>
83. 1L Small High Pressure Reactor Stainless Steel Autoclave Reactor for Lab Pilot Chemical Reaction with Electric Heating [Електронний ресурс] Режим доступу: <https://kedayq.en.made-in-china.com/product/swTavXcPkjWz/China-1L-Small-High-Pressure-Reactor-Stainless-Steel-Autoclave-Reactor-for-Lab-Pilot-Chemical-Reaction-with-Electric-Heating.html> .
84. Gautam, Anamika & Rawat, Shalu & Singh, Dr. Jiwan & Sikarwar, Samiksha & Yadav, Bal & Kalamdhad, Ajay. (2018). Green synthesis of iron nanoparticle from extract of waste tea: An application for phenol red removal from aqueous solution. *Environmental Nanotechnology, Monitoring & Management*. 10. 10.1016/j.enmm.2018.08.003.
85. Sundari, J Jeya & Praba, P & Brightson, Y & , Brightson Arul Jacob Y & Vasantha, V. & Shanmugaiah, Vellasamy. (2017). Green Synthesis and Characterization of Zero Valent Iron Nanoparticles from the Leaf Extract of Psidium

Guajava Plant and Their Antibacterial Activity. *Chemical Science Review and Letters*. 1244-1252.

86. BECKMAN COULTER DU-50 SPECTROPHOTOMETER [Електронний ресурс] Режим доступу: <https://americanlaboratorytrading.com/lab-equipment-products/beckman-coulter-du-50-spectrophotometer-6305/>

87. Al-Rawi, M., Al-Mudallal, N. H. A. L., & Taha, A. A. (2021). Determination of Ferrous Oxide Nanoparticles Minimum Inhibitory Concentration against Local Virulent Bacterial Isolates. *Archives of Razi Institute*, 76(4), 795–808. <https://doi.org/10.22092/ari.2021.355997.1758>.

88. Parveen, S., Wani, A. H., Shah, M. A., Devi, H. S., Bhat, M. Y., & Koka, J. A. (2018). Preparation, characterization and antifungal activity of iron oxide nanoparticles. *Microbial pathogenesis*, 115, 287–292. <https://doi.org/10.1016/j.micpath.2017.12.068>.

89. Промислова технологія лікарських засобів. Частина 1. Нормативно-технічна документація у виробництві ГЛЗ. Промислове виробництво парентеральних лікарських засобів [Електронний ресурс] : електрон. метод. вказівки до лаб. робіт для здобувачів вищ. освіти спец. 226 «Фармація, промислова фармація» / уклад.: О. І. Александрова. – Одеса : Одес. нац. ун-т ім. І. І. Мечникова, 2023. – 97 с. – 1,6 МБ

90. Фармацевтична технологія : навчальний посібник для семінарських занять та самостійної роботи провізорів передатестаційного циклу підвищення кваліфікації за спеціальністю «Аналітично-контрольна фармація» / Г. П. Смойловська, О. О. Малюгіна, О. В. Мазулін. - Вид. 2-ге, доопрац. та допов.– Запоріжжя : ЗДМУ, 2018. – 102 с.

91. Лич І.В. Промислова технологія лікарських засобів [Електронний ресурс]: конспект лекцій для студ. освітнього ступеня бакалавр спеціальності 162 «Біотехнології та біоінженерія» ден. та заоч. форм навч. / І.В. Лич. – К.: НУХТ, 2017. – 323 с.

92. ANNEX I SUMMARY OF PRODUCT CHARACTERISTICS Rienso [Електронний ресурс] Режим доступу:

[https://ec.europa.eu/health/documents/community-register/2014/20140129127932/anx\\_127932\\_en.pdf](https://ec.europa.eu/health/documents/community-register/2014/20140129127932/anx_127932_en.pdf)

93. Method for preparing modified superparamagnetic ferric oxide: pat. WO2016078576A1 China: C01G 49/06; PCT/CN2015/094862; заявл. 18.11.2015; опубл. 26.05.2016. 12 с. [Електронний ресурс] Режим доступу: <https://patents.google.com/patent/WO2016078576A1/en>

94. Liu XG, Zhang L, Lu S, Liu DQ, Zhang LX, Yu XL, Liu RT. Multifunctional Superparamagnetic Iron Oxide Nanoparticles Conjugated with A $\beta$  Oligomer-Specific scFv Antibody and Class A Scavenger Receptor Activator Show Early Diagnostic Potentials for Alzheimer's Disease. Int J Nanomedicine. 2020 Jul 10;15:4919-4932. doi: 10.2147/IJN.S240953. PMID: 32764925; PMCID: PMC7360423.

95. PES Membrane Filter Cartridges [Електронний ресурс] Режим доступу: <https://www.alliedfilter.fr/product/pleated-filter-cartridges-2-2-2-2-2-2-2-2/>

96. Дозатор для рідин NPLL-1000 [Електронний ресурс] Режим доступу: <https://www.nikpack.ua/products/dozator-dlya-ridyn-npll-1000>

97. Лабораторний реактор РП-5 для МЛФ (креми, мазі, гелі) 5 л [Електронний ресурс] Режим доступу: <https://promvit.com.ua/laboratornyj-reaktor-rp-5-dlya-mlf-kremy-mazi-geli-5-l/>

98. Перистальтичний насос ВНЗ-V 100-1 230V Norpr [Електронний ресурс] Режим доступу: [https://prom-nasos.com.ua/ua/catalog/pumps-by-type/peristaltic\\_pumps/peristaltichniy-nasos-b-h-100-1-230v-norpr/](https://prom-nasos.com.ua/ua/catalog/pumps-by-type/peristaltic_pumps/peristaltichniy-nasos-b-h-100-1-230v-norpr/)

99. Ваги лабораторні ФЕН-300Л (0,01 грам) [Електронний ресурс] Режим доступу: <https://ukrvesi.com.ua/ua/p143094669-vesy-laboratornye-fen.html>

100. Ваговий дозатор ФС-1000 [Електронний ресурс] Режим доступу: <https://tehnomashstroy.com.ua/ua/p1252572989-vesovoj-dozator-1000.html>

101. 500 літрів, 2 бари внутрішні, 1 бар кожух, ZVU реактор з нержавіючої сталі [Електронний ресурс] Режим доступу: <https://perryvidex.eu/product/500-ltr-2-bar-int-1-bar-jkt-agit-H4299-7>

102. Фармацевтичний мембранний насос SANIBOXER 100 [Електронний ресурс] Режим доступу: [https://prom-nasos.com.ua/ua/catalog/pumps-by-type/diafragmen\\_pump/farmaceutichniy-membranniy-nasos-saniboxer-100/](https://prom-nasos.com.ua/ua/catalog/pumps-by-type/diafragmen_pump/farmaceutichniy-membranniy-nasos-saniboxer-100/)

103. Реактор 1000 л для приготування шампуню з двома мішалками СС-1000. Виробництво рідких миючих засобів [Електронний ресурс] Режим доступу: <https://promvit.com.ua/reaktor-1000-l-dlya-prigotovleniya-shampunya-s-2-mya-meshalkami/>

104. Kremsmüller 2000 Ltr. - Stainless Steel Reactor [Електронний ресурс] Режим доступу: <https://www.machineseeker.com.ua/kremism%C3%BCller-2000+ltr.+--+stainless+steel+reactor/i-7624010>

105. Ultrafiltration Systems [Електронний ресурс] Режим доступу: <https://www.newterra.com/technology/ultrafiltration-systems/>

106. Vial Filling Machine [Електронний ресурс] Режим доступу: <https://www.marya-pharmaceutical-solution.com/pharmaceutical-machinery/pharmaceutical-machine/vial-filling-machine.html>

107. Автоматична пакувальна машина для коробки WZH180 [Електронний ресурс] Режим доступу: [https://chumaki.in.ua/ua/p1814153281-avtomatichna-pakuvalna-mashina.html?srsltid=AfmBOop1f--WO51a2RSj-6pPMFU6GRT\\_LcjAnu9oClfTTmQFc-hkUHbG](https://chumaki.in.ua/ua/p1814153281-avtomatichna-pakuvalna-mashina.html?srsltid=AfmBOop1f--WO51a2RSj-6pPMFU6GRT_LcjAnu9oClfTTmQFc-hkUHbG)

108. Державна Фармакопея України : в 3 т. / Державне підприємство «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів». — 2-е вид. — Харків: Державне підприємство «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів», 2015. — Т. 1. — 1128 с.