

PACS numbers: 68.37.Hk, 82.70.Dd, 83.80.Lz, 87.64.Cc, 87.64.Ee, 87.85.jj, 87.85.Rs

Композиція наночастинок срібла та золота як складова компонента лікарського засобу «Коагулокс_N»

І. В. Затовський, С. М. Дибкова, Л. С. Резніченко, О. А. Циганович,
Т. Г. Грузіна, А. В. Панько, В. А. Прокопенко

Інститут біологічної хімії імені Ф. Д. Овчаренка НАН України,
бульв. Академіка Вернадського, 42,
03142 Київ, Україна

В роботі досліджено можливості одержання композиції водно-спиртових екстрактів незрілих плодів горіха волоського (*Juglans regia* L.) з наночастинками срібла та золота. Наночастинки зазначених металів синтезовано гідротермальним методом. Одержані наночастинки та їхню композицію з рослинними екстрактами охарактеризовано методами СЕМ та UV–Vis. Показано, що синтезовані наночастинки срібла та золота мають сферичну форму з діаметром близько 30 нм і характерні піки вбирання із 427 нм і 528 нм відповідно. Методами ДНК-комет і за характером впливу на Mg^{2+} -АТФазну активність мембранної фракції еукаріотичних клітин показано біобезпечність наночастинок обох типів. Продемонстровано можливості поєднання золів срібла та золота з дослідженими екстрактами незрілих плодів горіха волоського із збереженням морфологічних характеристик наночастинок. Одержані результати засвідчують принципові можливості використання вивченої композиції у розроблюваній рецептурі лікарського засобу «Коагулокс_N».

The paper investigates the possibilities to prepare a composition of water–alcohol extracts of unripe walnut fruits (*Juglans regia* L.) with the silver and gold nanoparticles. The metals' nanoparticles are synthesized by the hydrothermal method. The synthesized nanoparticles and their composition with plant extracts are characterized by the SEM and UV–Vis methods. As shown, the synthesized silver and gold nanoparticles have a spherical shape with a diameter of about 30 nm and characteristic absorption peaks at 427 nm and 528 nm, respectively. The biosafety of nanoparticles of both types is shown by Comet assay and by the influence on the Mg^{2+} -ATPase activity of the membrane fraction of eukaryotic cells. The possibilities to prepare the composition of the silver and gold sols with the investigated extracts of unripe walnut fruits, while preserving the morphological characteristics of nanoparticles, are demonstrated. The obtained results show the possibilities to use the studied composition in the devel-

oped formulation of the means 'Koaguloks_N'.

Ключові слова: наночастинки срібла та золота, водно-спиртовий екстракт, горіх волоський (*Juglans regia* L.), СЕМ, UV-Vis-спектроскопія, біобезпечність.

Key words: silver and gold nanoparticles, water-alcohol extract, walnut (*Juglans regia* L.), SEM, UV-Vis spectroscopy, biosafety.

(Отримано 2 жовтня 2024 р.)

1. ВСТУП

За останні роки проблема розробки нових високоефективних кровоспинних і ранозагоювальних лікарських композицій набула значної актуальності як в Україні, так і у ряді інших країн, які потерпають від інтенсивних бойових дій. Слід зазначити, що традиційні на сьогодні засоби зупинення великих кровотеч (гомеостатичні губки, тромбін, препарати на основі мінеральної сировини — цеоліти та ін.) [1, 2] є дієвими лише на стадії надання первинної допомоги та не забезпечують подальше ефективне лікування. Тому базові вимоги до засобів подальшого лікування та відновлення мають охоплювати більш широкий спектр дії, а саме, пролонговану знезаражувальну активність у поєднанні з речовинами, які сприяли б швидкому загоєнню ран чи опіків. Таке комплексне завдання передбачає охоплення компонентів різної природи у рамках одного препарату, у тому числі із можливим залученням останніх досягнень медичних нанотехнологій.

У відповідності до зазначеного підходу тут ми розглядаємо шляхи модифікування та розширення ранозагоювальних та антимікробних властивостей лікарської композиції, яка створювалася для потреб хворих на гемофілію, — рецептури «Коагулокс» [3]. Первинна композиція «Коагулокс» передбачала комбінування термообробленої глинистої мінеральної сировини (метакаолін, який через вплив на XII-фактор згортання крові активує механізм протромбіназоутворення та сприяє перетворенню протромбіну у тромбін), кремнезему й екстракту незрілих плодів горіха волоського (*Juglans regia* L., який містить речовини, що сприяють стимуляції судинно-тромбоцитарного гемостазу). Однак така композиція в повній мірі не забезпечує протидію ускладненням, що виникають як наслідок інфікування ран. З іншого боку, відомо, що наночастинки ряду металів (срібло, золото та ін.) мають значну антимікробну активність по відношенню як до грам-позитивних, так і грам-негативних патогенних мікроорганізмів [4, 5]. Більш того, такі наночастинки мають протизапальний і

регенеративний потенціал під час лікування інфекційних ускладнень у хірургії [6–8]. Це створює базис у комбінуванні наночастинок металів з цілим рядом медичних засобів, зокрема згаданою композицією «Коагулокс», з метою значного поліпшення їхніх ранозагоювальних властивостей.

Відповідно, важливим аспектом досліджень є виявлення особливостей і можливостей комбінування наночастинок металів з різними компонентами медичних композицій, які мають забезпечувати стабільність усіх складових та їхню безпечність. Аналіза літературних джерел показала, що за останній час інтерес до дослідження аналогічних нановмісних систем значно зріс [9–12] і має значний потенціал практичного використання, зокрема у медичній сфері.

У даній роботі досліджено можливості поєднання водно-спиртових екстрактів незрілих плодів горіха волоського (*Juglans regia* L.) з наночастинами срібла та золота з метою створення нової лікарської композиції «Коагулокс_N», а також проведено оцінку безпечності практичного використання наноформ зазначених металів.

2. МЕТОДИКА ЕКСПЕРИМЕНТУ

Синтеза наночастинок золота та срібла. Одержання наночастинок срібла та золота здійснювали в гідротермальних умовах за температури у 121°C та тиску в 1,04 атм. Як вихідні реагенти було використано AgNO_3 (> 99%, Sigma-Aldrich), $\text{HAuCl}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ ($\geq 99.9\%$, Sigma-Aldrich), танінову кислоту (фарм., Іспанія), цитрат Натрію («х.ч.») і K_2CO_3 (99,995%, Sigma-Aldrich). Синтезу водних розчинів наночастинок срібла з $C_{\text{Ag}} = 8,0$ мг/мл (за металом) проводили шляхом відновлення 149 мМ-розчину нітрату Аргентуму 4 мМ-розчином танінової кислоти у присутності 222 мМ-розчину карбонату Калію. Наночастинки золота з $C_{\text{Au}} = 154,4$ $\mu\text{г/мл}$ (за металом) одержували відновленням 29 мМ-розчину $\text{HAuCl}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ розчинами суміші 8 мМ-цитрату Натрію та 0,1 мМ-танінової кислоти в присутності 15 мМ-розчину K_2CO_3 . В обох випадках час взаємодії складав 15 хв.

Одержання водно-спиртових екстрактів незрілих плодів горіха волоського (*Juglans regia* L.) й одержання композитів з наночастинами. Незрілі плоди горіха волоського (*Juglans regia* L.) подрібнювали у ножовому млині, додавали 40% мас. водні розчини спирту етилового, герметично закорковували та зберігали впродовж 21 дня у темному місці з періодичним струшуванням, після чого фільтрували. Було виготовлено два типи екстрактів, які відповідали різній початковій частці незрілих плодів горіху: 23,0 і 37,5% мас., що в подальшому позначали як E-1 і E-2 відповідно.

Аналізу сумарного вмісту екстрагованих речовин в екстрактах здійснювали шляхом висушування їх до постійної маси (температура — 105°C, час — 90 хв.), що відповідало значенням 1,55% мас. (зразок Е-1) і 3,04% мас. (зразок Е-2).

Для порівняння також використовували комерційний зразок водно-спиртового екстракту незрілих плодів горіха волоського виробництва «ЧП Сільське господарство України». Залишок сухих речовин для цього екстракту знаходився у межах 0,1–0,2% мас.

Композиції наночастинок срібла й золота та водно-спиртових екстрактів незрілих плодів горіха волоського (*Juglans regia* L.) готували шляхом змішування їх. До 7,75 мл екстракту під час перемішування додавали 1 мл розчину наночастинок срібла ($C_{Ag} = 8,0$ мг/мл), 1,25 мл розчину наночастинок золота ($C_{Au} = 154,4$ мкг/мл) і доводили розчин до об'єму у 100 мл етиловим спиртом з часткою спирту у 35% мас. Остаточний вміст наночастинок у таких системах складав 0,8 мг/мл для срібла та 19,3 мкг/мл для золота.

Методи характеристизації. Водні розчини наночастинок срібла та золота, а також їхні композиції з екстрактами незрілих плодів горіха волоського досліджували з використанням UV–Vis-спектроскопії (спектрометр Shimadzu UV-1800, Японія) в діапазоні довжин хвиль 300–700 нм (крок сканування — 0,5 нм). Зображення сканувальної електронної мікроскопії (СЕМ) одержували за допомогою мікроскопа TESCAN Mira 3 LMU (Чеська Республіка).

Оцінка безпечности синтезованих наночастинок срібла та золота. Наночастинки обох типів оцінювали за параметрами генотоксичности та біохемічним маркером — вплив на Mg^{2+} -АТФазну активність мембранної фракції еукаріотичних клітин згідно з Методичними рекомендаціями «Оцінка безпеки лікарських нанопрепаратів» [13] і вимогами ТУ У 20.1-05402714-004-2014 Субстанція медико-біологічного призначення «Наночастинки золота».

Оцінку генотоксичности наночастинок металів *in vitro* здійснювали методом ДНК-комет у лужних умовах із застосуванням перещеплюваної культури клітин нирки ембріона зеленої мавпи *Cercopithecus aethiops* MA104 (MA-104 Clone 1, ATCC® CRL-2378.1).

Для виявлення впливу наночастинок срібла (AgNP) і золота (AuNP) на величину Mg^{2+} -АТФазної активности сумарної мембранної фракції еукаріотичних клітин як тестову було використано культуру клітин фібробластів мишей L929. Клітини нарощували у моношаровій культурі у пластикових флаконах з площею у 75 см² у поживному середовищі DMEM/F12 з додаванням 10% ембріональної сироватки телят (ЕСТ) та антибіотика-антимікотика за 37°C в умовах постійного рівня 5% CO₂. Клітини знімали з пожи-

вного середовища розчином версену, відмивали свіжим поживним середовищем, підраховували загальну кількість клітин і визначали відсоток живих клітин за допомогою фарбування 0,3%-розчином трипанового синього.

Мембранну фракцію клітин L929 одержували наступним чином: клітини відмивали від поживного середовища стандартним ФСБ-буфером двократним центрофугуванням із 2000 об/хв. упродовж 5 хв.; потім повторно суспендували у буфері для екстракції цитозоля: 250 мМ-сахароза, 70 мМ-KCl, 250 мкг/мл дигітонін, 1 мМ-ФМСФ, 5 мМ-ЕДТА на ФСБ-буфері (pH 7,4); інкубували впродовж 10 хв. за 4°C за умови постійного перемішування (водночас 80–90% клітин стають проникними для трипанового синього). Суспензію обробляли ультразвуком із охолодженням упродовж 1 хв. (дезінтегратор УЗДН-1, 22 кГц, сила анодного струму — 0,4–0,7 А, резонансні умови). Одержаний дезінтеграт осаджували центрофугуванням із 8000 об/хв. упродовж 10 хв. Осад (мембранну фракцію) знову суспендували у середовищі: 20 мМ-Трис-HCl, 3 мМ-MgCl₂ (pH 7,4).

Одержаний препарат мембранної фракції характеризували за вмістом білка по методу Лоурі. Визначення Mg²⁺-АТФазної активності сумарної мембранної фракції проводили згідно з [13]. Величину активності оцінювали у відносних одиницях A_e/A_0 , де A_0 — швидкість АТФазної реакції інтактних плазматичних мембран, а A_e — цей же показник для модифікованих наночастинками препаратів.

Як позитивний контроль, — токсичний вплив на Mg²⁺-АТФазну активність, — використовували раніше досліджений кон'югат AuNP-альбуцид в токсичній концентрації [14].

3. РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ

Фізико-хімічна характеристика синтезованих наночастинок срібла та золота. Розмір і форму синтезованих наночастинок срібла та золота оцінювали за результатами сканувальної електронної мікроскопії. Зображення СЕМ виявили (рис. 1), що в обох випадках формуються частинки у формі кульок з незначним ступенем деформації. Середній діаметер наночастинок срібла знаходиться в межах від 25 до 35 нм (рис. 1, а) і є достатньо рівномірним за фракційним складом. Відповідно, можна апроксимувати діаметер таких частинок як близько 30 нм. Наночастинок золота (рис. 1, б) мають подібний фракційний склад (близько 30 нм), але в більш широких межах. Як можна бачити, зустрічаються частинки більшого (аж до 50 нм) і меншого розміру (біля 20 нм).

Одержані результати СЕМ цілком корелюють з результатами UV-Vis-спектроскопії розчинів наночастинок. Так, у секторі на-

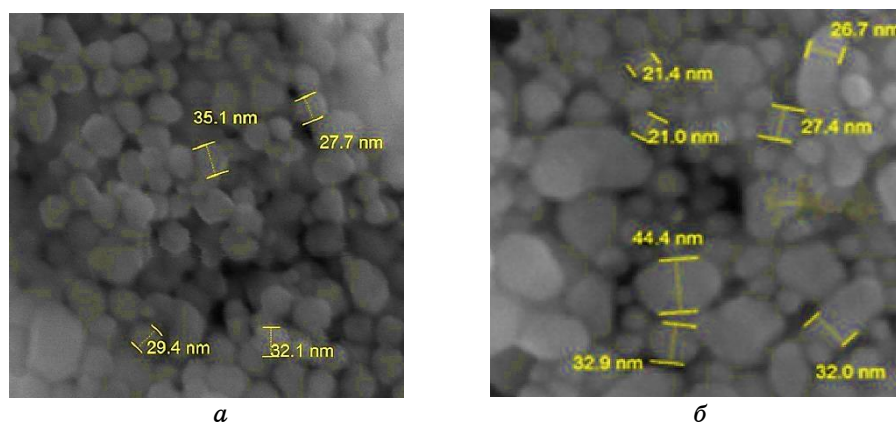


Рис. 1. СЕМ-зображення одержаних наночастинок (а) срібла та (б) золота.¹

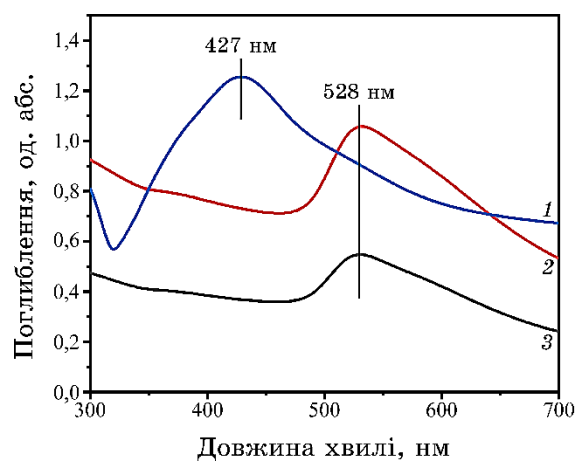


Рис. 2. UV-Vis-спектри для розчинів наночастинок: 1 — срібла (розбавлено дистильованою водою у 30 разів); 2 — золота (розбавлено дистильованою водою у 2 рази); 3 — золота (розбавлено дистильованою водою у 4 рази).²

наночастинок срібла чітко проявляється пік вбирання близько 427 нм (рис. 2, спектр 1).

Зазначимо, що положення піка вбирання у спектрів наночастинок срібла, який зумовлений характерним поверхневим плазмонним резонансом (ППР), залежить від багатьох чинників (розміру, форми, полідисперсності частинок) і зазвичай спостерігається для ділянки частот 400–410 нм [15]. Однак смуга ППР може істотно зміщатися у червоний бік спектру, що зумовлено змі-

ною діелектричного середовища на її поверхні завдяки процесам сорбції фрагментів органічного відновника. У роботі [16] продемонстровано, що для частинок срібла з середнім діаметром у 30 нм абсорбований шар спричиняє зміщення піка смуги вбирання до значень у 426–428 нм, яке й спостерігається у нашому випадку (рис. 2, спектр 1). Для розчинів наночастинок золота у UV–Vis-спектрах спостерігається смуга вбирання близько 528 нм, положення якої не залежить від ступеня розбавлення розчину (рис. 2, спектри 2 та 3). Згідно з [17], зазначене положення смуги корелює з наночастинами золота діаметром близько 30 нм.

UV–Vis-спектри екстрактів незрілих плодів горіха волоського (*Juglans regia* L.) наведено на рис. 3, а. В зв'язку зі значним вбиранням вихідних екстрактів їх попередньо розбавляли розчином 35% мас. спирту етилового у пропорціях спирт:екстракт як 4:1, як для комерційного зразка, так і для зразків Е-1 та Е-2. У спектрі комерційного зразка екстракту у міру зменшення довжини хвилі (діапазон — 350–700 нм) спостерігається поступове наростання вбирання світла без виражених піків (рис. 3, а, спектр 1). В той же час, для одержаних екстрактів Е-1 та Е-2 в області довжин хвиль у 400–550 нм відбувається різке підвищення вбирання та формування плато (рис. 3, а, спектри 2 та 3). Таку поведінку слід пов'язувати з присутністю в екстрактах значних кількостей органічних речовин, для яких є характерним вбирання у видимій ділянці спектру.

Спектри UV–Vis вбирання композицій екстрактів з наночастинами срібла та золота (рис. 3, б) є подібними до спектрів екстрактів (рис. 3, а). Це зумовлено двома причинами. По-перше, в

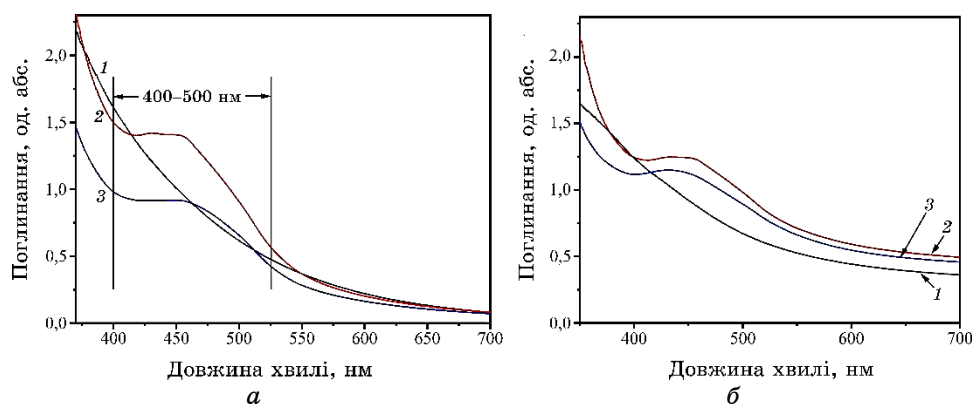


Рис. 3. UV–Vis-спектри (а) екстрактів незрілих плодів горіха волоського (1 — комерційний екстракт; 2 — екстракт Е-1; 3 — екстракт Е-2) та (б) композицій екстрактів з наночастинами срібла та золота (1 — комерційний екстракт; 2 — екстракт Е-1; 3 — екстракт Е-2).³

області 400–550 нм вбирання екстрактів вже є дуже істотним. По-друге, концентрація наночастинок металів у складі композицій є незначною, що унеможлиблює ідентифікувати їхні піки на фоні вбирання екстрактів.

Для перевірки стабільності наночастинок срібла та золота у композиціях було використано метод СЕМ. Одержані зображення СЕМ (рис. 4) свідчать про збереження загальної морфології наночастинок металів (форми й розміру) та принципову можливість формування зазначених композицій.

Оцінка безпечності синтезованих наночастинок срібла та золота. Результати дослідження наночастинок золота та срібла за показником генотоксичності *in vitro* наведено в табл.

Так, наночастинок золота та срібла не виявляли генотоксичної дії на культури клітин лінії МА 104. Показники генотоксичності « $I_{\text{ДНК}}$ » досліджуваних наночастинок золота та срібла є близькими до рівня негативного контролю.

Mg^{2+} -залежна АТФ-гідролазна (Mg^{2+} -АТФазна) активність мембран еукаріотичних клітин підтримує фізіологічний рівень їхнього енергетичного метаболізму через гідролізу основного енергети-

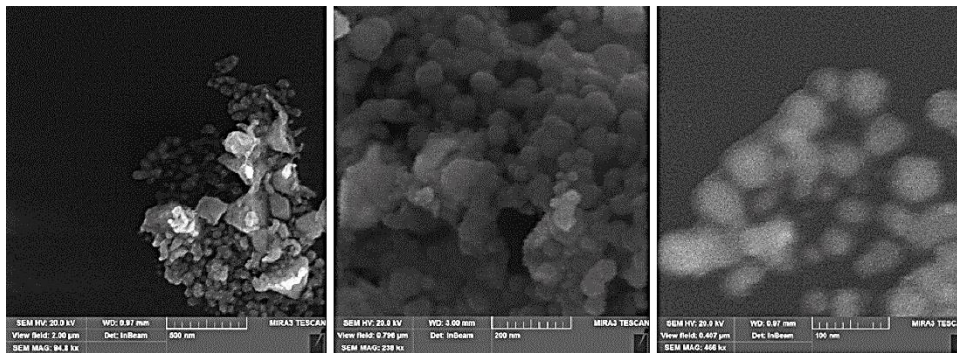


Рис. 4. СЕМ-зображення композицій екстрактів незрілих плодів горіха волоського (*Juglans regia* L.) і наночастинок срібла та золота за різних збільшень.⁴

ТАБЛИЦЯ. Оцінка генотоксичності синтезованих наночастинок срібла та золота.⁵

Зразок	Індекс «ДНК-комет», $I_{\text{ДНК}}$	Висновок про генотоксичність
Негативний контроль	$0,415 \pm 0,001$	Негенотоксичний
Позитивний контроль	$2,112 \pm 0,002$	Генотоксичний
AuNP	$0,418 \pm 0,001$	Негенотоксичний
AgNP	$0,421 \pm 0,001$	Негенотоксичний

чного субстрату АТФ. Ця ферментативна активність є достатньо чутливою до токсичного впливу речовин, що уможливорює розглядати її як біохімічний маркер токсичності чи то біобезпечності [13].

Результати оцінки впливу AuNP на величину Mg^{2+} -АТФазної активності мембранної фракції клітин L929 наведено на рис. 5. Як видно з діаграми, ферментативна активність, яка відображає рівень енергетичного обміну клітин L929, виявила високу чутливість до токсичної дії використаного в якості позитивного контролю кон'юганту AuNP-альбуцид. Отже, AuNP у досліджених концентраціях не впливали на рівень гідролізу АТФ мембранної фракції, що може свідчити про їхню біобезпечність.

AgNP у вивчених концентраціях у середньому на 10% понижували величину Mg^{2+} -АТФазної активності, тобто мали незначний токсичний вплив. Проте цей вплив не є критичним для рівня біобезпечності цих наночастинок (рис. 6).

Одержані результати дали змогу встановити, що за показниками генотоксичності та біохімічним маркером синтезовані наночастинок срібла та золота у вказаних діапазонах розмірів і формі є біобезпечними та можуть бути використані як складова компонента лікарського засобу «Коагулокс_N».

4. ВИСНОВКИ

Таким чином, методом гідротермальної синтези одержано наночастинок срібла та золота сферичної форми з розмірами близько 30 нм і показано їхню біобезпечність *in vitro*. Встановлено можливість поєднання вивчених наночастинок з водно-спиртовими

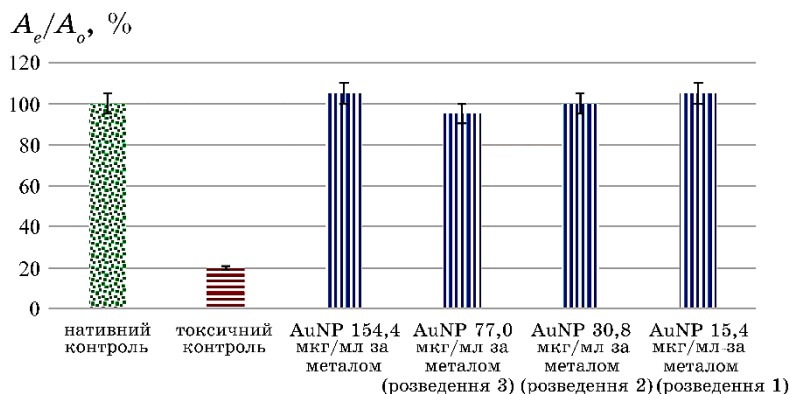


Рис. 5. Оцінка впливу наночастинок золота (AuNP) на величину Mg^{2+} -АТФазної активності мембранної фракції клітин L929.⁶

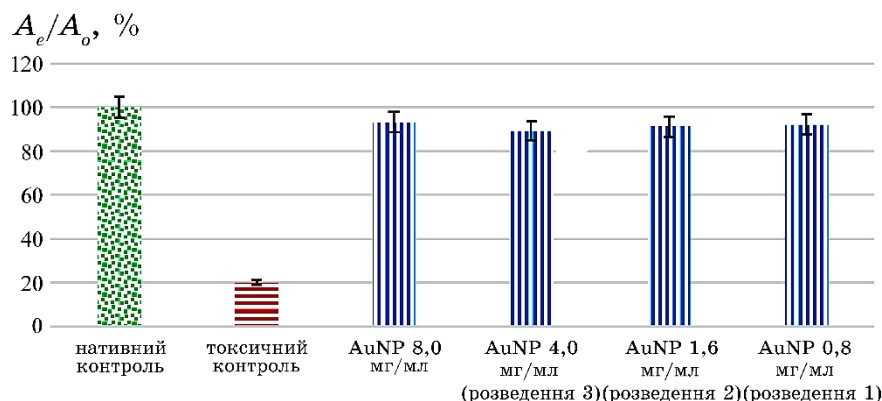


Рис. 6. Оцінка впливу наночастинок срібла (AgNP) на величину Mg^{2+} -АТФазної активності мембранної фракції клітин L929.⁷

екстрактами незрілих плодів горіха волоського (*Juglans regia* L.) із збереженням їхніх морфологічних характеристик. Одержані результати показали перспективу використання вивченої композиції для розробки рецептури лікарського засобу «Коагулокс_N».

ПОДЯКА

Роботу виконано за фінансової підтримки Національного фонду досліджень України (проект №2023.04/0041 «Розробка інноваційного лікарського засобу «Коагулокс_N» з антимікробними, кровоспинними та ранозагоювальними властивостями» за договором 163/0041).

ЦИТОВАНА ЛІТЕРАТУРА—REFERENCES

1. V. K. Lee, T. Lee, A. Ghosh, T. Saha, M. V. Bais, K. K. Bharani, M. Chag, K. Parikh, P. Bhatt, B. Namgung, G. Venkataramanan, A. Agrawal, K. Sonaje, L. Mavely, S. Sengupta, R. A. Mashelkar, and H. L. Jang, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **121**, No. 5: e2316170121 (2024); <https://doi.org/10.1073/pnas.2316170121>
2. V. S. Tarasiuk, M. V. Matviichuk, I. V. Palamar, N. D. Korolova, V. V. Poliarush, V. M. Podolian, V. V. Fishchuk, V. H. Hrynyshyn, N. V. Kryvetska, O. O. Dubovyi, and V. V. Chorna, *Visn. Vinnytskoho Nats. Med. Universytetu*, **21**, No. 1: 220 (2017); http://nbuv.gov.ua/UJRN/vvnmu_2017_21_1%282%29__7
3. S. V. Pakhovchyshyn, M. V. Sukhovii, O. O. Petrenko, A. V. Panko, Ye. V. Averianov, V. I. Semeniaka, O. F. Petrenko, D. V. Tarnavskiy, O. V. Smurna, V. S. Chukhno, and V. A. Prokopenko, *Patent na Vynakhid 'Ranozahoyuvalnyi Zasib dlya Likuvannya Khvorykh na Hemofiliyu'* [Patent

- for the Invention ‘Wound-Healing Agent for Treatment of Patients with Hemophilia’].
4. M. Murphy, K. Ting, X. Zhang, C. Soo, and Z. Zhong, *Journal of Nanomaterials*, **12**: 696918 (2015); <https://doi.org/10.1155/2015/696918>
 5. R. D. Sakthi, A. Girigoswami, M. Siddharth, and K. Girigoswami, *Appl. Biochem Biotechnol*, **194**: 4187 (2022); <https://doi.org/10.1007/s12010-022-03963-z>
 6. J. M. Carvalho-Silva and A. C. D. Reis, *Heliyon*, **10**, No. 14: e34564 (2024); <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/39113960/>
 7. D. D. Bella, J. P. S. Ferreira, R. d. O. Silva, C. Echtm, A. Milan, E. H. Akamine, M. H. Carvalho, and S. F. Rodrigues, *J. Nanobiotechnol.*, **19**: 52 (2021); <https://doi.org/10.1186/s12951-021-00796-6>
 8. Y. Yin, B.-M. Tian, X. Li, Y.-C. Yu, D.-K. Deng, L.-J. Sun, H.-L. Qu, R.-X. Wu, X.-Y. Xu, H.-H. Sun, Y. An, X.-T. He, and F.-M. Chen, *Biomaterials*, **288**: 121743 (2022); <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2022.121743>
 9. A. Awadallah and A. H. Al-Nadaf, *Pak. J. Biol. Sci.*, **26**, No. 9: 493 (2023); <https://doi.org/10.3923/pjbs.2023.493.503>
 10. A. Jahanban-Esfahlan, A. Ostadrahimi, M. Tabibiazar, and R. Amarowicz, *Int. J. Mol. Sci.*, **20**: 3920 (2019); <https://doi.org/10.3390/ijms20163920>
 11. Z. Izadiyan, K. Shameli, H. Hara, S. Husnaa, and M. Taib, *Journal of Molecular Structure*, **1151**: 97 (2018); <https://doi.org/10.1016/j.molstruc.2017.09.039>
 12. A. H. Al-Nadafa, A. Awadallah, and S. Thiab, *Heliyon*, **10**, No. 2: e24473 (2024); <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2024.e24473>
 13. *Metodychni Rekomendatsii ‘Otsinka Bezpeky Likarskykh Nanopreparativ’* [Guidelines ‘Safety Assessment of Medical Nanopreparations’] (approved by the Scientific Expert Council of the State Expert Centre of the Ministry of Health of Ukraine (protocol No. 8, 09.26.2013) (Kyiv: 2013) (in Ukrainian).
 14. V. I. Podolska, L. S. Rieznichenko, L. M. Yakubenko, T. G. Gruzina, N. M. Zholobak, Yu. M. Samchenko, and S. M. Dybkova, *Him. Fiz. Technol. Poverhni*, **15**, No. 3: 349 (2024); <https://doi.org/10.15407/hftp15.03.349>
 15. A. A. Becaro, C. M. Jonsson, F. C. Puti, M. C. Siqueira, L. H. C. Mattoso, D. S. Correa, and M. D. Ferreira, *Environ. Nanotechnol. Monit. Manag.*, **3**: 22 (2015); <https://doi.org/10.1016/j.enmm.2014.11.002>
 16. M. Mlambo, P. S. Mdluli, P. Shumbula, A. Skepu, R. Tshikhudo, and N. Moloto, *J. Mater. Res.*, **30**, No. 12: 1934 (2015); <https://doi.org/10.1557/jmr.2015.158>
 17. V. Borse and A. N. Konwar, *Sensors International*, **1**: 100051 (2020); <https://doi.org/10.1016/j.sintl.2020.100051>

F. D. Ovcharenko Institute of Biocolloid Chemistry, N.A.S. of Ukraine,
42, Academician Vernadsky Blvd.,
UA-03142 Kyiv, Ukraine

¹ Fig. 1. SEM image of prepared nanoparticles of (a) silver and (б) gold.

² Fig. 2. UV–Vis spectra for solutions of nanoparticles: 1—silver (dilution with distilled water of sample:H₂O = 1:30); 2—gold (dilution with distilled water of sample:H₂O = 1:2); 3—gold (dilution with distilled water of sample:H₂O = 1:4).

³ Fig. 3. UV–Vis spectra of (a) extracts of unripe walnut fruits (1—commercial extract; 2—extract E-1; 3—extract E-2) and (б) compositions of extracts with nanoparticles of silver and gold (1—commercial extract; 2—extract E-1; 3—extract E-2).

⁴ **Fig. 4.** SEM images of compositions of extracts of unripe walnut fruits (*Juglans regia* L.) and nanoparticles of silver and gold at different magnifications.

⁵ **TABLE.** Assessment of genotoxicity of synthesized silver and gold nanoparticles.

⁶ **Fig. 5.** Evaluation of the effect of gold nanoparticles (AuNP) on the value of Mg^{2+} -ATPase activity of the membrane fraction of L929 cells.

⁷ **Fig. 6.** Evaluation of the effect of gold nanoparticles (AgNP) on the value of Mg^{2+} -ATPase activity of the membrane fraction of L929 cells.