

УДК 633.8:582.23:544.7:543.4

ОПОСЕРЕДКОВАНИЙ *CHAENOMELES JAPONICA* СИНТЕЗ НАНОЧАСТИНОК СРІБЛА ТА ЇХ КОН'ЮГАТІВ ІЗ ЦЕФТРИАКСОНОМ, ХАРАКТЕРИСТИКА ТА АНТИБАКТЕРІАЛЬНИЙ ЕФЕКТ

Н.О. ХРОМИХ ^{*1}, Ю.В. ЛИХОЛАТ ¹, О.О. ДІДУР ¹, Т.В. СКЛЯР ¹,
О.К. БАЛАЛАЄВ ², М.М. БОРОВА ³, В.М. ДЖАГАН В.М. ⁴, А.І. ЄМЕЦЬ ³

¹ Дніпровський національний університет імені Олеся Гончара, просп. Науки, 72, Дніпро, 49010, Україна

² Інститут геотехнічної механіки ім. М.С. Полякова НАН України, вул. Симферопольська, 2а, Дніпро, 49005, Україна

³ Інститут харчової біотехнології та геноміки НАН України, вул. Байди-Вишневецького, 2а, Київ, 04123, Україна

⁴ Інститут фізики напівпровідників ім. В.Є. Лашкарьова НАН України, просп. Науки, 41, Київ, 03028, Україна

E-mail: * Khromykh2012@gmail.com, Lykholat2006@ukr.net, didur@ua.fm, microviro@ukr.net, ftirigtm@gmail.com, borova_mm@nas.gov.ua, volodymyrdzhagan@gmail.com, yemets.alla@nas.gov.ua

Автор для кореспонденції – Хромих Н.О., e-mail: Khromykh2012@gmail.com

Біосинтезовані металеві наночастинки мають унікальні властивості та активно вивчаються як потенційні антимікробні агенти. В даній роботі описано «зелений» синтез наночастинок срібла, здійснений із використанням водного екстракту з листя *Chaenomeles japonica* як біологічної матриці, а також отримання їх кон'югатів з антибіотиком цефтриаксоном. УФ-видимі спектри поглинання підтвердили формування біосинтезованих наночастинок срібла (*Ch-AgNPs*) та їх кон'югатів із цефтриаксоном (*Ch-AgNPs-Cfx*), що характеризують піками поглинання поверхневого плазмонного резонансу при 475 і 478 нм, відповідно. Аналіз інфрачервоних спектрів із перетворенням Фур'є виявив участь гідроксильних і карбоксильних функціональних груп фенольних і ароматичних сполук, флавоноїдів, терпеноїдів, спиртів і карбонових кислот рослинного екстракту в процесі біовідновлення Ag^+ до Ag^0 , а також участь карбонільних та аміних груп білків у стабілізації наночастинок срібла. Антимікробну активність *Ch-AgNPs*, *Ch-AgNPs-Cfx* та цефтриаксону оцінювали, використовуючи штам *Pseudomonas aeruginosa*, стійкий до деяких цефалоспоринов. Виявлено дозозалежне інгібування *P. aeruginosa* за дії *Ch-AgNPs* та *Ch-AgNPs-Cfx* у діапазоні 2,5–20 мкг/диск, яке перевищувало активність цефтриаксону у тих самих дозах, характеризуючи обидва типи біосинтезованих наночастинок як перспективні бактерицидні агенти. Подальші дослідження *Ch-AgNP* та *Ch-AgNPs-Cfx* можуть бути спрямовані на створення ефективних засобів для

зниження доз антибіотиків без втрати антибактеріальної активності проти стійких патогенів.

Ключові слова: наночастинки срібла, «зелений» синтез, *Chaenomeles japonica*, кон'югати з антибіотиками, цефтриаксон, поверхневий плазмонний резонанс, ІЧ-спектроскопія, *Pseudomonas aeruginosa*, антимікробна активність.

Вступ. Нанорозмірні матеріали відповідають сучасним потребам їх застосування в науці та техніці, зокрема, металеві наночастинки привернули увагу дослідників своїми унікальними оптичними, електронними і каталітичними властивостями (Elemike et al, 2019; Dzhan et al, 2022; Yemets et al, 2022). Синтез металевих наночастинок на основі біологічних матриць («зелений» синтез) впродовж останніх двох десятиліть засвідчив свої переваги як екологічно чистий, швидкий, відтворюваний та низьковитратний метод (Raj et al, 2018; Vus et al, 2021; Borovaya et al, 2021; Akhter et al, 2024). Отримані у такий спосіб наночастинки характеризуються високою біосумісністю (Singh et al, 2018; Hossain et al, 2019) та стабільністю (Sun et al, 2014; Ren et al, 2019), оскільки біологічні матриці, у тому числі рослинні екстракти, одночасно містять у собі відновники іонів металів та блокуючі і стабілізуючі агенти для створених металевих наночастинок (Hemmati et al, 2019; Borovaya et al, 2020).

© ІНСТИТУТ КЛІТИННОЇ БІОЛОГІЇ ТА ГЕНЕТИЧНОЇ ІНЖЕНЕРІЇ НАН УКРАЇНИ, 2025

Серед різноманітних напрямків використання біосинтезованих металевих наночастинок значні сподівання дослідників пов'язані з їх антимікробними властивостями (Yuan et al, 2018; Shah et al, 2019) та спроможністю подолати стійкість патогенів до антибіотиків (Mubeen et al, 2021; Adil et al, 2023). Найбільша увага в цьому сенсі приділена наночастинкам срібла (AgNPs), які мають велике співвідношення площі поверхні до об'єму, що підвищує їх біологічну активність і обумовлює відмінні антимікробні властивості (Yin et al, 2020). Механізм антибактеріальної дії AgNPs поки не повністю зрозумілий, оскільки він не реалізується в єдиному і специфічному напрямку (Smekalova et al, 2016). Досліджені шляхи інгібування бактерій включають адгезію AgNPs на поверхні клітинної стінки та мембрани бактерій; проникнення AgNPs всередину бактеріальної клітини та пошкодження клітинних структур (мітохондрій, вакуолей, рибосом) та біомолекул (білків, ліпідів та ДНК); окислювальний стрес, спричинений утворенням активних форм кисню і вільних радикалів; модуляцію бактеріальних шляхів передачі сигналів (Dakal et al, 2016; Sánchez-López et al, 2020). Крім того, вивільнені з наночастинок іони срібла можуть утворювати стабільні зв'язки з білками клітинної мембрани, що призводить до дезактивації білків, а також з нуклеїновими кислотами, що порушує зв'язки між ланцюгами ДНК та перешкоджає поділу клітин і розмноженню бактерій (Qing et al, 2018).

Поява патогенних бактерій, стійких до багатьох або більшості антибіотиків, доступних для клінічного використання, спостерігалась упродовж останніх десятиліть на фоні надмірного і часто невідповідного застосування препаратів (Cook, Wright, 2022). Наразі резистентність до антибіотиків становить серйозну світову загрозу ефективності лікувальних заходів (Mulani et al, 2019; Ghai, 2024), слугуючи причиною зростання летальності під час бактеріальних інфекцій (WHO, 2023). Серед найбільш небезпечних патогенів, що мають високу вірулентність і набули множинної стійкості до антибактеріальних препаратів, є грам-негативна бактерія *Pseudomonas aeruginosa* (Mulani et al, 2019). Попри те, що *P. aeruginosa* вважається

умовно-патогенним мікроорганізмом (Walsh et al, 2019), спричинені нею захворювання характеризуються значним рівнем смертності в осіб з важкими опіками та ослабленим імунітетом (Bahramian et al, 2019), отже винайдення ефективних засобів подолання стійкості цього патогену є надзвичайно актуальним завданням.

Одним із перспективних підходів є поєднання антимікробного потенціалу наночастинок срібла і лікарських препаратів, особливо в інгібуванні мультирезистентних патогенів (Feizi et al, 2022), оскільки способи токсичної дії AgNPs відрізняються від механізмів дії антибіотиків. Селективність наночастинок срібла до клітинних мембран робить їх ефективними переносниками ліків, тоді як їх зв'язування з білками на поверхні бактеріальної мембрани призводить до підвищення її проникності, полегшуючи потрапляння антибіотиків у клітину. Комбіновані підходи знижують шанси патогенів на розвиток резистентності (Adil et al, 2019) і можуть сприяти зниженню лікувальних доз антибіотиків та відродженню ефективності препаратів, до яких виникла резистентність (Hassan et al, 2016; Adil et al, 2023).

Успішний «зелений» синтез AgNPs передбачає використання рослинних матриць, багатих на відновлюючі сполуки (флавоноїди, терпеноїди, вуглеводи тощо) і блокуючі агенти, такі як білки, що запобігають агрегації наночастинок (Singh et al, 2018; Karan et al, 2024). Рослини роду *Chaenomeles* Lindl добре відомі в етномедицині в Східній Азії через їх унікальний фітохімічний склад, однак лише вид *Chaenomeles sinensis* було застосовано для синтезу наночастинок срібла (Oh et al, 2018). Інтродуковані в степовому кліматі рослини *Chaenomeles* демонструють високий вміст фенольних сполук, які мають сильні антиоксидантні та відновлювальні властивості (Khromykh et al, 2018; Lykholat et al, 2021), що вказує на їх потенційну придатність як біологічних матриць для «зеленого» синтезу AgNPs. Отже, метою даної роботи було дослідження властивостей синтезованих на основі *Chaenomeles japonica* наночастинок срібла та їх кон'югатів із антибіотиком цефтриаксоном, а також порівняльна оцінка активності біосинтезованих наноматеріалів проти патогенної бактерії *P. aeruginosa*.

Матеріали та методи дослідження. Реагенти. В роботі використовували срібла нітрат (AgNO_3) («Sigma-Aldrich», США, чистота 99,9 %), цефт-тріаксон («Дарниця», Україна) та м'ясо-пептонний агар (МПА) RM1049 (HiMedia Laboratories Pvt. Limited, Індія).

Приготування рослинного екстракту. Листя рослин *Chaenomeles japonica* (Thunb.) Lindl. ex Sprach. збирали в першій декаді травня 2024 р. у ботанічному саду Дніпровського національного університету імені Олеся Гончара (48°26'7" N, 35°2'34" E, Дніпро, Україна). Рослинний матеріал промивали дистильованою водою, висушували за кімнатної температури в тіні, подрібнювали у ступці та просіювали крізь сито з діаметром пор 2 мм. Далі готували водний екстракт, для цього 1,0 г подрібненого рослинного матеріалу поміщали в конічну колбу (об'ємом 100 мл), додавали 40 мл дистильованої води, нагрівали до 60 °C на водяній бані і витримували за такої температури впродовж 30 хв. Після охолодження і відстоювання впродовж двох годин екстракт фільтрували через паперовий фільтр, потім центрифугували 15 хв при 12,000 rpm. Отриманий супернатант (матриця) використовували для подальшого «зеленого» синтезу наночастинок.

Синтез AgNPs та отримання кон'югатів. Для отримання наночастинок срібла на основі *Ch. japonica* (*Ch*-AgNPs) рослинну матрицю змішували з 0,025 М водним розчином AgNO_3 в пропорції 6:1 (за об'ємом). Утворення *Ch*-AgNPs супроводжувалось зміною кольору суміші від жовтого до коричневого, що спостерігали візуально. Кон'югати наночастинок срібла з цефтріаксоном (цефтріаксон-кон'юговані *Ch*-AgNPs, *Ch*-AgNPs-Cfx) отримували шляхом змішуванням рослинної матриці, 0,025 М AgNO_3 та водного розчину цефтріак-

сону (1 мг/мл) у пропорції 6 : 1 : 1 (за об'ємом). Далі отримані наночастинок і кон'югати очищали, для цього їх змішували з дистильованою водою (1 : 5, за об'ємом) і центрифугували 15 хв при 12,000 rpm, процедуру повторювали чотири рази. Отриманий осад, що містив *Ch*-AgNPs або *Ch*-AgNPs-Cfx, аналізували.

УФ-видима спектроскопія. Для підтвердження синтезу наночастинок та отримання їх кон'югатів вимірювали УФ-видимі спектри рослинної матриці, *Ch*-AgNPs і *Ch*-AgNPs-Cfx. Аліквоту відповідного зразка поміщали в кварцову кювету шириною 1 см та сканували в діапазоні довжин хвиль 400–800 нм, використовуючи спектрометр StellarNet Silver Nova 25 BW16.

Інфрачервона (ІЧ) спектроскопія з перетворенням Фур'є. ІЧ-спектри були отримані для ідентифікації функціональних груп рослинної матриці, які могли брати участь у синтезі і стабілізації *Ch*-AgNPs. ATR-FTIR спектри отримували з використанням спектрометра Nicolet iS10 («Thermo Scientific», США), поєднаного з приставкою Golden Gate («Specac», Великобританія), в діапазоні частот 3500–500 cm^{-1} при кімнатній температурі.

Дослідження антибактеріальної активності. Антибактеріальна активність *Ch*-AgNPs і *Ch*-AgNPs-Cfx, а також рослинної матриці і цефтріаксону була оцінена за допомогою стандартного диск-дифузного методу (EUCAST, 2015). Як бактеріальну тест-культуру використовували *Pseudomonas aeruginosa* (штам B907) з колекції культур кафедри мікробіології, вірусології та біотехнології Дніпровського національного університету імені Олеся Гончара. Для цього застосовували добову бактеріальну культуру з 10^9 КУО мл^{-1} , яку висівали на середовище МПА в чашках Петрі. Попередньо визначали стійкість штаму *P. aeruginosa* B907

Таблиця 1. Активність цефалоспоринів проти штаму *P. aeruginosa* B907

Зона інгібування (мм) росту бактерій, n = 3, x ± SD					
цефтріаксон	цефуросим	цефепим	цефтібутен	цефтазидим	цефокситин
7,02 ± 0,37 ^a	10,32 ± 0,73 ^b	НА	НА	НА	НА

Примітка. Різні літери в рядку вказують на статистично значущу різницю за критерієм Фішера ($P < 0,05$). НА – немає активності.

по відношенню до групи цефалоспоринів (β-лактамних антибіотиків, бактерицидна дія яких зумовлена пригніченням синтезу клітинної оболонки мікроорганізмів) різних поколінь: цефуроксим, цефокситин (II покоління), цефтріаксон, цефтібутен, цефтазидим (III покоління) та цефепим (IV покоління). Комерційні антибіотики використовували у вигляді стерильних дисків із дозуванням 30 мкг/диск (Диск-Аспект, Україна). У цілому, тести показали слабку ефективність цефалоспоринових антибіотиків проти штаму *P. aeruginosa* (табл. 1).

Враховуючи інгібуючий ефект цефтріаксону в дозі 30 мкг/диск, у подальших дослідженнях максимальна доза розчинів, які тестували, становила 20 мкг/диск. Синтезовані нами *Ch*-AgNPs і *Ch*-AgNPs-Cfx (концентрація стоківих розчинів яких була 10 мкг/мкл) наносили на паперові стерильні диски, отримуючи фінальні концентрації 20, 10, 5 і 2,5 мкг/диск. Диски з наночастинками, цефтріаксоном в тих самих концентраціях, а також з рослинною матрицею поміщали на поверхню живильного середовища. Далі чашки Петрі інкубували при 27 °C упродовж 24 год, після чого вимірювали зони інгібування (мм) навкруги паперових дисків (не враховуючи діаметр диска). Відсоток зростання зони інгібування наночастинками (D_1) порівняно з ефектом цефтріаксону (D_2) розраховували за формулою: $[(D_1 - D_2)/D_2] \times 100 \%$ (Hassan et al, 2016).

Статистичний аналіз. Дослідження проводили щонайменше у трьох повторностях, отримані результати опрацьовували з використанням пакету програм Microsoft Excel XP 2007, дані представлені як середнє $\pm$ стандартне відхилення ($\bar{x} \pm SD$). Розбіжності між середніми значеннями, оцінені за тестами Тьюкі і Фішера з використанням пакету програм Statgraphics Centurion XV Version 15.1.02, вважались статистично значущими при $P < 0.05$.

Результати та обговорення. Нами вперше за допомогою «зеленого» синтезу отримано наночастинки срібла (*Ch*-AgNPs) та їх кон'югати з цефтріаксоном (*Ch*-AgNPs-Cfx) за використання водного екстракту листя *Ch. japonica* як біологічної матриці. За останні роки екстракти з різних частин рослин використовували як біологічні матриці для біосинтезу наночастинок срібла, включаючи листя (Adil

et al, 2023; Das et al, 2024), плоди (Oh et al, 2018), квіти (Sahana et al, 2014; Kargar et al, 2024), коріння (Amina et al, 2020) і навіть калюси (Adil et al, 2019) різних видів рослин. Утворення наночастинок срібла візуально спостерігали за зміною кольору реакційної суміші від жовтого до коричневого протягом однієї години інкубації рослинної матриці з $AgNO_3$ (рис. 1). Така зміна вказувала, що отримана нами матриця на основі *Ch. japonica* здатна успішно відновлювати нітрат срібла (Ag^+) до (Ag^0).

Наявність біосинтезованих *Ch*-AgNPs і цефтріаксон-кон'югованих *Ch*-AgNPs у розчинах була підтверджена відповідними піками максимумів поглинання на УФ-видимих спектрах (рис. 2).

Формування металевих наночастинок підтверджується збудженням локалізованого поверхневого плазмонного резонансу (ЛППР), який дає пік поглинання в УФ-видимому спектрі та доводить наявність наночастинок (Hassan et al, 2016). Пік ЛППР для *Ch*-AgNPs був зареєстрований при довжині хвилі 475 нм, тоді як пік *Ch*-AgNPs-Cfx при 478 нм. ЛППР у разі утворення AgNPs з'являється біля 420 нм (Hossain et al, 2019), однак його точне положення залежить від діаметра, форми та розподілу наночастинок за розмірами. Наприклад, біосинтез AgNPs на основі екстрактів квітів *Cassia auriculata* був підтверджений піками ЛППР в діапазоні від 403 до 428 нм (Sahana et al, 2014). Пік ЛППР при 420 нм був зареєстрований для AgNPs, біосинтезованих з екстракту *Daucus carota* (Shanmuganathan et al, 2018). Пік ЛППР при 435 нм підтвердив утворення AgNPs з використанням екстракту листя *Argyrea nervosa* (Saratale et al, 2017). Формування AgNPs на основі екстракту коренів *Lathraea squamaria* засвідчив ЛППР при 440 нм (Dzhagan et al, 2022). «Зелений» синтез AgNPs на основі екстракту листя *Duabanga grandiflora* був підтверджений піком ЛППР при 453 нм (Das et al, 2024). Утворення AgNPs, опосередковане екстрактом *Aconitum lycoctonum*, було підтверджено піком ЛППР при 460 нм (Khan et al, 2023), і нарешті, пік ЛППР при 477 нм мали AgNPs, отримані за використання екстракту плодів *Ch. sinensis* (Oh et al, 2018). Таким чином, поверхневий плазмонний резонанс при 475 нм, зареєстрований для *Ch*-AgNPs, зна-

ходить в межах широкого діапазону ЛППР, повідомленого іншими авторами, і засвідчує успішність процесу синтезу наночастинок срібла фітосполуками, присутніми в екстракті листя *Ch. japonica*.

Пік ЛППР цефтриаксон-кон'югованих *Ch-AgNPs* був зафіксований при 478 нм. Подібний зсув максимуму ЛППР у бік більшої довжини хвилі спостерігався в УФ-видимих спектрах *AgNPs* (414 нм) і ципрофлоксацин-кон'югованих *AgNPs* (419 нм), отриманих з екстракту *Fagonia indica* (Adil et al, 2019), що автори пояснюють участю антибіотика в відновлюваних процесах. Протилежний напрям зсуву максимуму ЛППР виявлений у разі *AgNPs* (438 нм) і цефтриаксон-*AgNPs* (426 нм), синтезованих за використання екстракту листя *Mentha longifolia* (Adil et al, 2023). Інфрачервона спектроскопія з перетворенням Фур'є водного екстракту листя *Ch. japonica* показала найбільші смуги при 3300, 2932, 1691, 1601, 1516, 1372, 1266, 1172, 1033, 810, та 605 cm^{-1} (рис. 3).

Широка смуга при 3300 cm^{-1} відповідає валентним коливанням функціональної групи $\text{OH}-$ і вказує на присутність в екстракті фенольних сполук, флавоноїдів і тритерпеноїдів (Reddy et al, 2021; Adil et al, 2023). Пік в області 2932 cm^{-1} пов'язаний з $\text{C}-\text{H}$ асиметричним розтягуванням ароматичних або аліфатичних ланцюгів, тоді як смуга при 1073 cm^{-1} вказує на валентні коливання $\text{C}-\text{O}$ в спиртах, простих ефірах, карбонових кислотах і ангідридах (Hassan et al, 2016). Смугу при 1691 cm^{-1} можна віднести до карбонільної групи $\text{C}=\text{O}$ та $\text{C}-\text{N}$ групи амідів, а наявність піку при 1155 cm^{-1} пояснюється розтягуванням груп $\text{C}-\text{O}-\text{C}$ (Adil et al, 2023). Пік при 1601 cm^{-1} відповідає розтягуванню $\text{C}=\text{C}$ в ароматичному кільці флавоноїдів (Reddy et al, 2014; Singh, Mijakovic, 2022). Смуга при 1516 cm^{-1} пов'язана з наявністю нітрогруп у сполуках, тоді як пік при 1266 cm^{-1} відповідає згинальному коливанню зв'язків $\text{O}-\text{H}$ (Adil et al, 2019). Смуга в області 1372 cm^{-1} пояснюється валентними $\text{C}-\text{N}$ коливаннями ароматичних амінів (Reddy et al, 2021). Пік при 1038 cm^{-1} пояснюється розтягуванням $\text{C}-\text{OH}$ в спиртах, тоді як смуга при 810 cm^{-1} відповідає коливанням $\text{C}-\text{H}$ ароматичних кілець (Hossain et al, 2019) у сполуках, що містяться в екстракті листя *Ch. japonica*.

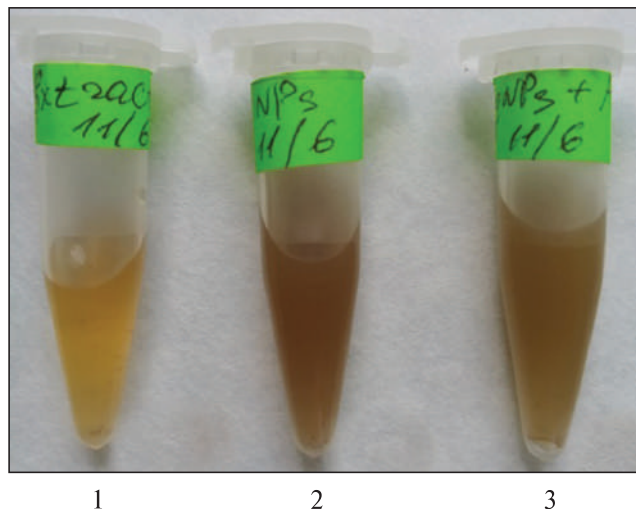


Рис. 1. Зміна кольору розчину внаслідок утворення наночастинок срібла: (1) екстракт листя *Ch. japonica*, (2) *Ch-AgNPs*, (3) *Ch-AgNPs-Cfx*

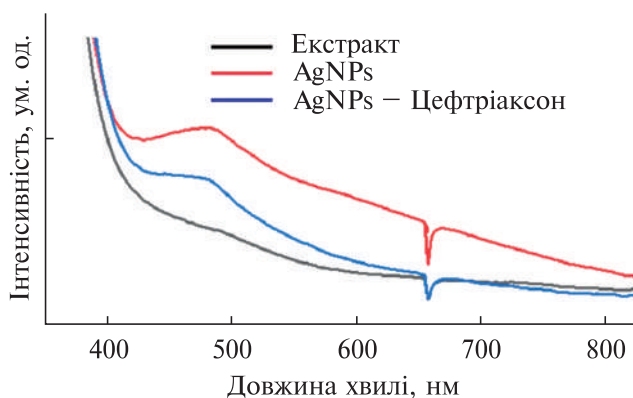


Рис. 2. УФ-видимі спектри *Ch-AgNPs* і *Ch-AgNPs-Cfx* порівняно з екстрактом листя *Ch. japonica*

ІЧ-спектр біосинтезованих *Ch-AgNPs* мав помітні смуги при 3270 cm^{-1} ($\text{OH}-$ поліфенолів), 2920 cm^{-1} ($\text{C}-\text{H}$ алканів), 1646 cm^{-1} ($\text{C}=\text{O}$ та $\text{C}-\text{N}$ групи), 1538 cm^{-1} (нітрогрупи), 1448 cm^{-1} ($\text{C}-\text{N}$ амідів), 1238 cm^{-1} ($\text{O}-\text{H}$), 1028 cm^{-1} ($\text{C}-\text{OH}$ спиртів). Вказані піки характеризуються зміщеним хвильовим числом і значно меншою інтенсивністю порівняно з ІЧ-спектром рослинного екстракту. Крім того, в ІЧ-спектрі *Ch-AgNPs* були відсутні деякі смуги, наявні в екстракті, а саме 1601 cm^{-1} (флавоноїди), 1372 cm^{-1} (аміди білків), 1172 cm^{-1} (спирти), 810 cm^{-1} (ароматичні сполуки). І зсув, і зменшення інтенсивності смуг свідчать про участь відповідних сполук у синтезі та стабілізації наночастинок срібла (Kathiravan

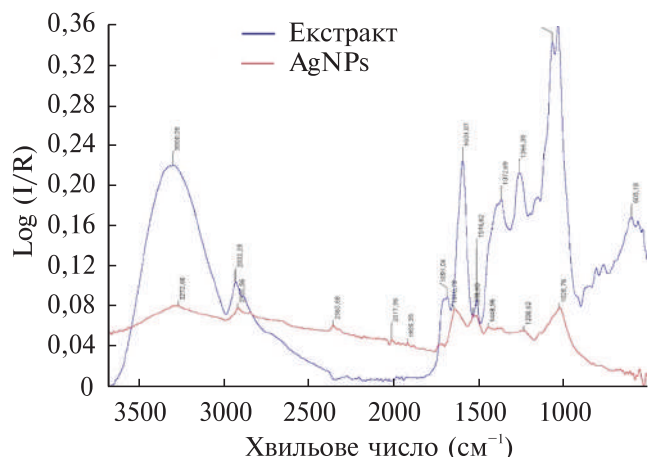


Рис. 3. ІЧ-спектри водного екстракту листа *Ch. japonica* (синя лінія) та біосинтезованих *Ch-AgNPs* (червона лінія)

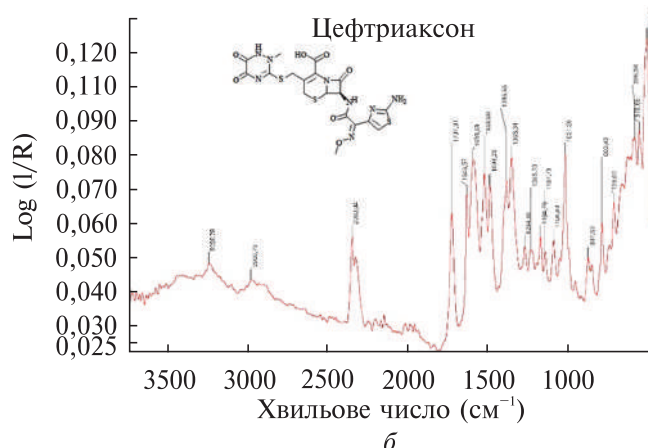
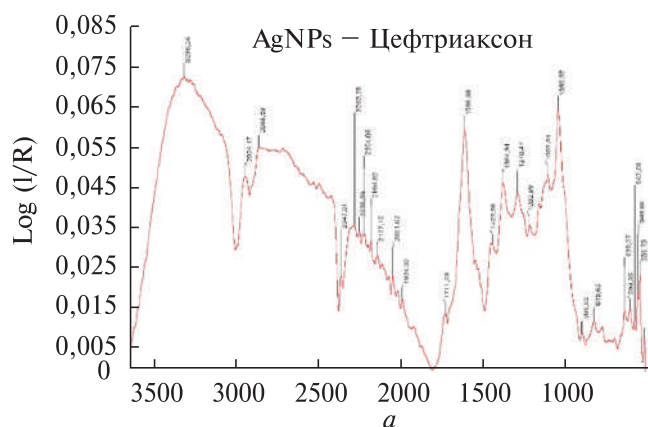


Рис. 4. ІЧ-спектри (а) *Ch-AgNPs-Cfx* та (б) цефтриаксону

et al, 2014; Reddy et al, 2021). З огляду на отримані результати можна зробити висновок, що найбільший внесок у відновлення Ag^+ до

Ag^0 та забезпечення утворення *Ch-AgNPs* внесли фенольні та терпенові сполуки, флавоноїди, спирти, карбонові кислоти та ароматичні сполуки екстракту листа *Ch. japonica*. Функціональні групи рослинних білків (карбонільні групи та амід), які зв'язуються з поверхнею наночастинок і запобігають їх агрегації (Amina et al, 2020), ймовірно могли бути відповідальними за стабілізацію синтезованих *Ch-AgNPs*. Отже, результати аналізу ІЧ-спектрів екстракту листа *Ch. japonica* та біосинтезованих *Ch-AgNPs* збігалися з даними (Adil et al, 2019; Reddy et al, 2021; Adil et al, 2023), що поліфеноли беруть участь у процесі відновлення, тоді як білки діють як блокуючі агенти та забезпечують стабільність утворених наночастинок.

В ІЧ-спектрі *Ch-AgNPs*, кон'югованих з цефтриаксоном (рис. 4, а), були виявлені деякі смуги, відсутні в спектрах рослинної матриці та *Ch-AgNPs*, що свідчить про наявність функціональних груп цефтриаксону у них (рис. 4, б).

Піки при 1711 і 1737 cm^{-1} , відповідно в ІЧ-спектрах *Ch-AgNPs-Cfx* і цефтриаксону, відповідають коливанню розтяжки $C=O$ β -лактамного кільця, а піки при 1202 cm^{-1} (у спектрі *Ch-AgNPs-Cfx*) і 1184 cm^{-1} (у спектрі цефтриаксону) можна віднести до розтягування $C-N$ амідів (Adil et al, 2023). Смуги при 1429 і 1499 cm^{-1} , виявлені в спектрах *Ch-AgNPs-Cfx* і цефтриаксону, відповідно, можуть бути пов'язані з розтягуванням $C-O$ амідів, $C=C$ бензолу і $C=O$ кетонів (Al-Zahrani et al, 2021). Спостережувані зсуви смуг поглинання, згідно з (Adil et al, 2023), підтверджують кон'югацію функціональних груп молекул цефтриаксону з наночастинами срібла.

Тести на резистентність *P. aeruginosa* B907 до цефалоспоринів показали, що лише цефтриаксон і цефуроксим виявили помітну антибактеріальну дію проти цього штаму. Встановлена у дослідженні низька чутливість *P. aeruginosa* до широко використовуваних цефалоспоринів II – IV поколінь узгоджується з даними (Breidenstein et al, 2011), що цей умовно-патогенний мікроорганізм виявляє стійкість до багатьох класів антибіотиків, таких як бета-лактами, фторхінолони та аміноглікозиди. Стійкість бактерій до антибіотиків має складні та різноманітні механізми (Ghai, 2024), один

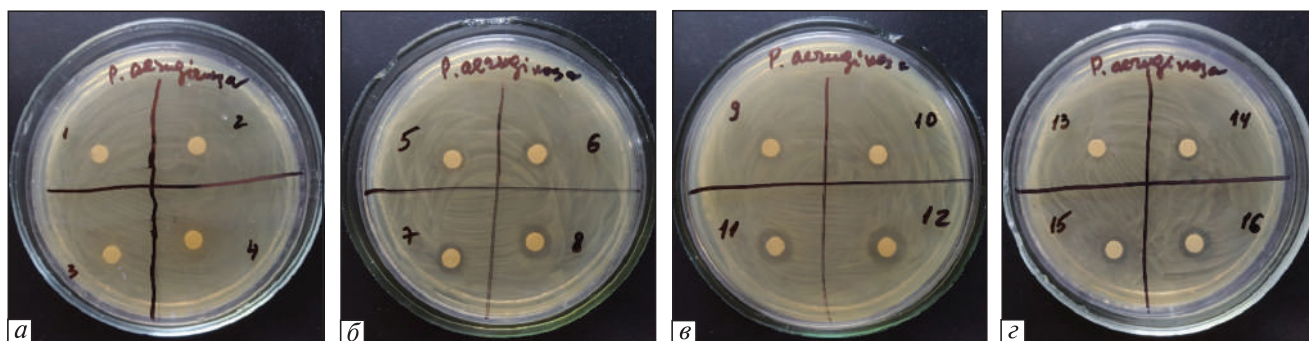


Рис. 5. Антибактеріальна активність (а) екстракту листя *Ch. japonica*, (б) *Ch-AgNPs*, (в) *Ch-AgNPs-Cfx*, (г) цефтриаксону проти *P. aeruginosa* у дозах 2,5 мкг/диск (секції 1, 5, 9 і 13), 5 мкг/диск (секції 2, 6, 10 і 14), 10 мкг/диск (секції 3, 7, 11 і 15) і 20 мкг/диск (секції 4, 8, 12 і 16)

із яких реалізується шляхом розкладання антибіотиків бактеріальними ферментами, зокрема β-лактамазами розширеного спектру дії. Найбільш клінічно значущим ферментом цього класу є цефалоспоринова *AmpC*, наявна в тому числі в *P. aeruginosa* (Munita, Arias, 2016). Можливо, саме з цієї причини деякі дослідники (Harshiny et al, 2015) визначили цефтриаксон як антибіотик із широким спектром дії проти грампозитивних і грамнегативних бактерій, але неефективний проти *P. aeruginosa*.

У диск-дифузійних аналізах вплив *Ch-AgNP* і *Ch-AgNPs-Cfx*, а також ефект цефтриаксону на ріст колоній *P. aeruginosa* мали дозо-залежний характер, тоді як екстракт листя *Ch. japonica* не мав антибактеріальної дії (рис. 5).

Зони пригнічення росту *P. aeruginosa*, визначені в діапазоні 3,95 – 6,50 мм за дії *Ch-AgNPs*, а також зони інгібування в діапазоні 4,50–8,95 мм за дії *Ch-AgNPs-Cfx* (в дозах 2,5–20 мкг/диск, відповідно) перевищували інгібуючий ефект цефтриаксону в аналогічних дозах (табл. 2).

Наближену зону інгібування ($8,33 \pm 1,53$ мм) росту музейного штаму *P. aeruginosa* спостерігали при тестуванні наночастинок срібла, біосинтезованих на основі бактеріального ізоляту (Hassan et al, 2016). Зони інгібування клінічного штаму *P. aeruginosa* в діапазоні 7,5–12,2 мм були досягнуті за впливу біогенних *AgNPs*, концентрація яких варіювала від 5,0 до 20,0 мкг/мл (Gopinath et al, 2017). Дія наночастинок срібла, біосинтезованих за використання екстракту листя *Mentha longifolia*, призводила до появи зон інгібування *P. aeruginosa* на рівні 8,57 мм (Adil et al, 2023), тоді, як *AgNPs*, біосинтезовані за використання екстракту плодів *Chaenomeles sinensis*, проявили дозо-залежну активність у діапазоні від 15 до 45 мкг/диск проти *E. coli* та *S. aureus* (Oh et al, 2018).

Посилене інгібування росту *P. aeruginosa*, продемонстроване *Ch-AgNPs*, могло бути результатом декількох способів антибактеріальної дії наночастинок срібла. Наприклад, відома здатність *AgNPs* зв'язуватись з поверхнею бак-

Таблиця 2. Антибактеріальна ефективність *Ch-AgNPs*, *Ch-AgNPs-Cfx* і цефтриаксону проти *P. aeruginosa*

Досліджувані наноматеріал/антибіотик	Зона інгібування (мм) росту бактерій n = 3, x ± SD				Приріст активності відносно дії цефтриаксону в відповідній дозі, %
	2,5 мкг/диск	5 мкг/диск	10 мкг/диск	20 мкг/диск	
<i>Ch-AgNPs</i>	3,95 ± 0,15 ^a	5,40 ± 0,34 ^b	5,77 ± 0,22 ^b	6,50 ± 0,45 ^c	70,35; 36,09; 12,07
<i>Ch-AgNPs-Cfx</i>	4,50 ± 0,26 ^a	5,21 ± 0,28 ^b	7,44 ± 0,35 ^c	8,95 ± 0,29 ^d	64,35; 75,47; 54,31
Цефтриаксон	НА	3,17 ± 0,24	4,24 ± 0,16	5,80 ± 0,21	—

Примітка. Різні літери в рядку вказують на статистично значущу різницю за критерієм Тьюкі ($P < 0,05$). НА – немає активності.

теріальних клітин і вивільняти іони срібла, збільшуючи таким чином проникність цитоплазматичної мембрани і порушуючи внутрішньоклітинні компоненти, що посилює антимікробний ефект (Ewunkem et al, 2023). Крім того, приєднавшись до поверхні бактерій, AgNPs можуть накопичуватись в клітинній стінці, що в подальшому призводить до її руйнування (Yin et al, 2020). Усередині бактеріальних клітин наночастинки срібла взаємодіють із ДНК і викликають її фрагментацію з наступною втратою здатності до реплікації; до того ж, приєднання AgNPs до бактеріальних ензимів спричинює їх інактивацію, що порушує життєдіяльність бактерій (Reddy et al, 2021). Підтверджені результатами скануючої електронної мікроскопії наслідки руйнівного впливу AgNPs, біосинтезованих на основі екстракту плодів горобини, показали повністю вкриті наночастинками бактеріальні клітини *P. aeruginosa* з порушеними мембранами, що призводило в подальшому до лізису клітин (Singh, Mijakovic, 2022).

Встановлене у нашій роботі інгібування росту *P. aeruginosa* цефтриаксон-кон'югованими наночастинками перевищувало в середньому на 13,5 % ефект *Ch*-AgNPs у майже всіх досліджуваних дозах (за виключенням 5 мкг/диск), що вказує на посилення їх антибактеріальної активності внаслідок комбінованої дії наночастинок срібла та антибіотика. Отримані результати співпадають з даними (Adil et al, 2019) щодо зростання на 13,2 % зони інгібування росту *E. coli* внаслідок дії ципрофлоксацин-кон'югованих AgNPs у порівнянні з ефектом не кон'югованих AgNPs, синтезованих на основі екстракту калюсу *Fagonia indica*. Цефтриаксон-кон'юговані AgNPs, біосинтезовані за допомогою екстракту *Daucus carota*, показали в 1,3 рази вищу інгібуючу активність проти резистентної до цефтриаксону *P. aeruginosa*, ніж не кон'юговані AgNPs (Shanmuganathan et al, 2018). Подібні результати вищого в 1,6 рази інгібування *P. aeruginosa* цефтриаксон-кон'югованими AgNPs у порівнянні з активністю не кон'югованих AgNPs, біосинтезованих за використання екстракту *M. longifolia*, були оцінені як синергічний ефект (Adil et al, 2023). Нещодавно було продемонстровано, що наночастинки срібла, синтезовані на основі екстрактів

Moringa oleifera та *Curcuma longa*, проявляли меншу антибактеральну активність по відношенню до *E. coli* і *S. aureus*, ніж подібні наночастинки, кон'юговані з антибіотиками ципрофлоксацин і левофлоксацин (U Din et al, 2024) .

Наведені вище дані підтверджують здатність біосинтезованих наночастинок срібла посилювати антибактеріальну ефективність антибіотиків, включно з тими, до яких патогени розвили резистентність. Одним із шляхів досягнення подібного результату в разі β -лактамних антибіотиків може бути інгібування наночастинками срібла бактеріальних гідролітичних β -лактамаз (Smekalova et al, 2016). Слід зазначити, що в нашому дослідженні як *Ch*-AgNPs, так і цефтриаксон-кон'юговані *Ch*-AgNPs, досягали значнішого перевищення антибактеріального ефекту цефтриаксону при малих і середніх дозах (5,0 та 10,0 мкг/диск), що вказує на перспективність застосування обох біосинтезованих наноматеріалів для зниження доз антибіотиків без втрати активності проти резистентного штаму *P. aeruginosa*. Необхідні подальші дослідження для з'ясування спектру антимікробної активності біосинтезованих *Ch*-AgNPs і *Ch*-AgNPs-Cfx та для оцінки ефективності кон'югації *Ch*-AgNPs з іншими антибіотиками проти резистентних патогенних штамів.

Таким чином, вперше здійснено «зелений» синтез наночастинок срібла (*Ch*-AgNPs) і цефтриаксон-кон'югованих наночастинок срібла (*Ch*-AgNPs-Cfx) за використання водного екстракту листя *Ch. japonica*, як рослинної матриці. Утворення *Ch*-AgNPs і *Ch*-AgNPs-Cfx підтверджували візуально за зміною кольору розчину та за піками поверхневого плазмонного резонансу на УФ-видимих спектрах, відповідно при 475 і 478 нм. Порівняльний аналіз ІЧ-спектрів біосинтезованих *Ch*-AgNPs та рослинної матриці дає можливість припускати, що рослинні метаболіти залучені до синтезу і стабілізації наночастинок срібла. Найбільший внесок у відновлення іонів срібла та формування *Ch*-AgNPs найвігорідніше зробили гідроксильні та карбоксильні функціональні групи фенольних, терпенових і ароматичних сполук, флавоноїдів, спиртів і карбоксильних кислот, тоді як стабілізацію *Ch*-AgNPs могли забезпечувати карбонільні та амінні групи білків, присутні в

екстракті *Ch. japonica*. ІЧ-спектр цефтриаксон-кон'югованих *Ch*-AgNPs містив смуги, відсутні в спектрах рослинного екстракту та *Ch*-AgNPs, вказуючи на їх походження від функціональних груп цефтриаксону. Зокрема, поява смуги, що відповідає валентним коливанням карбонільної групи β -лактамного кільця в молекулі цефтриаксону, підтвердила кон'югацію функціональної групи антибіотика з біосинтезованими наночастинами срібла. Антибактеріальна активність *Ch*-AgNPs і *Ch*-AgNPs-Cfx проти стійкого до багатьох цефалоспоринів штаму *P. aeruginosa*, досліджена диск-дифузним методом, мала дозо-залежний характер у діапазоні 2,5–20 мкг/диск. Підвищення антибактеріальної дії відносно ефекту цефтриаксону становило 12–70 % для *Ch*-AgNPs та 54–4 % у разі використання *Ch*-AgNPs-Cfx. Посилена антибактеріальна активність *Ch*-AgNPs і *Ch*-AgNPs-Cfx, досягнута за невисоких доз (5,0 та 10,0 мкг/диск), підтвердила придатність обох біосинтезованих наноматеріалів для подальшої розробки засобів контролю стійких бактеріальних штамів із застосуванням низьких доз антибіотиків, що може призвести до зменшення розвитку антибіотикорезистентності патогенів.

Дотримання стандартів біоетики. Ця стаття не містить жодних досліджень з використанням людей і тварин як об'єктів.

Конфлікт інтересів. Автори заявляють про відсутність конфлікту інтересів.

Фінансування. Дослідження виконано Хромих Н.О., Лихолат Ю.В., Дідуром О.О., Скляр Т.В. в межах науково-дослідної роботи «Застосування наночастинок на основі рослинних матриць для посилення антимікробних ефектів фітосполук проти стійких патогенів» як частини науково-технічної роботи «Виконання завдань перспективного плану розвитку наукового напрямку «Біологія та охорона здоров'я» (№ держреєстрації 0122U000059, 2021–2025 рр.) та Боровою М.М., Ємець А.І. частково за фінансової підтримки НАН України (бюджетна програма КПКВК 6541030, 2024–2028 рр., державний реєстраційний номер: 0124U002424).

CHAENOMELES JAPONICA MEDIATED
FABRICATION OF SILVER NANOPARTICLES
AND THEIR CONJUGATES WITH

CEFTRIAXONE, CHARACTERIZATION,
AND ANTIBACTERIAL EFFECT

N.O. Khromykh, Y.V. Lykholat, O.O. Didur,
T.V. Sklyar, O.K. Balalaiev, M.M. Borova,
V.M. Dzhagan, A.I. Yemets

Oles Honchar Dnipro National University,
72, Nauky Ave., Dnipro, 49010, Ukraine
M.S. Polyakov Institute of Geotechnical Mechanics
NAS of Ukraine, Simferopolska St. 2a,
Dnipro, 49005, Ukraine
Institute of Food Biotechnology
and Genomics NAS of Ukraine,
Baidy-Vyshnevetskoho Str., 2a, Kyiv, 04123, Ukraine
V.E. Lashkaryov Institute of Semiconductor Physics
NAS of Ukraine, 41, Nauky Ave.,
Kyiv, 03028, Ukraine

E-mail: Khromykh2012@gmail.com,
Lykholat2006@ukr.net, didur@ua.fm, microviro@ukr.net,
ftirigtm@gmail.com, borova_mm@nas.gov.ua,
volodymyrdzhagan@gmail.com,
yemets.alla@nas.gov.ua

Biosynthesized metal nanoparticles have unique properties and are being actively studied as potential antimicrobial agents against resistant pathogens. Here we report for the first time the “green” synthesis of silver nanoparticles and their conjugate with the antibiotic ceftriaxone, carried out using the aqueous extract of *Chaenomeles japonica* leaves as a biological matrix. UV-visible spectra confirmed the creation of biosynthesized silver nanoparticles (*Ch*-AgNPs) and their conjugates with ceftriaxone (*Ch*-AgNPs-Cfx), which were characterized by surface plasmon resonance absorption peaks at 475 nm and 478 nm, respectively. Fourier transform infrared spectrum analysis revealed the participation of hydroxyl and carboxyl functional groups of phenolic and aromatic compounds, flavonoids, terpenoids, alcohols, and carboxylic acids of the plant extract in the process of bioreduction of Ag^+ to Ag^0 , as well as the involvement of carbonyl and amine groups of proteins in blocking and stabilization silver nanoparticles. The antimicrobial activity of *Ch*-AgNPs, *Ch*-AgNPs-Cfx and ceftriaxone was evaluated using a disk diffusion assay against *Pseudomonas aeruginosa* strain resistant to some cephalosporins. Studies have shown a dose-dependent inhibition of *P. aeruginosa* by *Ch*-AgNPs and *Ch*-AgNPs-Cfx in the range of 2.5–20 $\mu\text{g}/\text{disk}$, which exceeded the activity of ceftriaxone at the same doses, which characterizes both types of biosynthesized nanoparticles as promising bactericidal agents. Further research on *Ch*-AgNPs and *Ch*-AgNPs-Cfx may be aimed at creating effective means to reduce the antibiotic doses without losing antibacterial activity against resistant pathogens.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

- Adil M, Khan T, Aasim M et al (2019) Evaluation of the antibacterial potential of silver nanoparticles synthesized through the interaction of antibiotic and aqueous callus extract of *Fagonia indica*. *AMB Express* 9:75. <https://doi.org/10.1186/s13568-019-0797-2>
- Adil M, Alam S, Amin et al (2023) Efficient green silver nanoparticles-antibiotic combinations against antibiotic-resistant bacteria, *AMB Express* 13:115. <https://doi.org/10.1186/s13568-023-01619-7>
- Akhter S, Rahman A, Ripon et al (2024) A systematic review on green synthesis of silver nanoparticles using plants extract and their bio-medical applications. *Heliyon* 10(11): e29766. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2024.e29766>
- Al-Zahrani SA, Bhat RS, Al Rashed SA et al (2021) Green-synthesized silver nanoparticles with aqueous extract of green algae *Chaetomorpha ligustica* and its anticancer potential. *Green Process Synth* 10(1):711–721. <https://doi.org/10.1515/gps-2021-0067>
- Amina M, Al Musayeib NM, Alarfaj NA et al (2020) Antibacterial and immunomodulatory potentials of biosynthesized Ag, Au, Ag-Au bimetallic alloy nanoparticles using the *Asparagus racemosus* root extract. *Nanomaterials* 10:2453. <https://doi.org/10.3390/nano10122453>
- Bahramian A, Khoshnood S, Shariati A et al (2019) Molecular characterization of the pilS2 gene and its association with the frequency of *Pseudomonas aeruginosa* plasmid pKLC102 and PAPI-1 pathogenicity island. *Infect Drug Resist* 12:221–227. <https://doi.org/10.2147/IDR.S188527>
- Borovaya M, Naumenko A, Horiunova I et al (2020) «Green» synthesis of Ag₂S nanoparticles, study of their properties and bioimaging applications. *Appl Nanosci* 10(12):4931–4940. <https://doi.org/10.1007/s13204-020-01365-3>
- Borovaya M, Horiunova I, Plokhovska S et al (2021) Synthesis, properties and bioimaging applications of silver-based quantum dots. *Int J Mol Sci* 22(22):12202. <https://doi.org/10.3390/ijms222212202>
- Breidenstein EB, De La Fuente-Núñez C, Hancock RE (2011) *Pseudomonas aeruginosa*: all roads lead to resistance. *Trends Microbiol* 19(8):419–426. <https://doi.org/10.1016/j.tim.2011.04.005>
- Cook MA., Wright GD (2022) The past, present, and future of antibiotics. *Sci Transl Med* 14(657):eabo7793. <https://doi.org/10.1126/scitranslmed.abo7793>
- Dakal TC, Kumar A, Majumdar RS et al (2016) Mechanistic basis of antimicrobial actions of silver nanoparticles. *Front Microbiol* 7:1831. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2016.01831>
- Das P, Ashraf GJ, Baishya T et al (2024) Formulation of silver nanoparticles using *Duabanga grandiflora* leaf extract and evaluation of their versatile therapeutic applications. *Bioproc Biosyst Eng* 47:1139–1150. <https://doi.org/10.1007/s00449-024-02975-9>
- Dzhagan V, Smirnov O, Kovalenko M et al (2022) Spectroscopic study of phytosynthesized ag nanoparticles and their activity as SERS substrate, *Chemosensors* 10(4):129. <https://doi.org/10.3390/chemosens10040129>
- Elemike EE, Onwudiwe DC, Fayemi OE et al (2019) Green synthesis and electrochemistry of Ag, Au, and Ag–Au bimetallic nanoparticles using golden rod (*Solidago canadensis*) leaf extract. *Appl Phys A* 125:1–12. <https://doi.org/10.1007/s00339-018-2348-0>
- EUCAST disk diffusion method for antimicrobial susceptibility testing – version 5.0 (2015). http://www.infectioncontrol.org.ua/wp-content/uploads/2016/03/11-EUCAST_2015_Slide_show_v_5.0_EUCAST_Disk_Test.pdf. Accessed 10 July 2024
- Ewunkem AJ, Williams ZJ, Johnson NS et al (2023) Exploring the «Carpenter» as a substrate for green synthesis: Biosynthesis and antimicrobial potential. *GPD* 2(4):2155. <https://doi.org/10.36922/gpd.2155>
- Feizi S, Cooksley CM, Nepal R et al (2022) Silver nanoparticles as a bioadjuvant of antibiotics against biofilm-mediated infections with methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* and *Pseudomonas aeruginosa* in chronic rhinosinusitis patients. *Pathology* 54(4):453–459. <https://doi.org/10.1016/j.pathol.2021.08.014>
- Ghai I (2024) Electrophysiological insights into antibiotic translocation and resistance: the impact of outer membrane proteins. *Membranes* 14(7):161. <https://doi.org/10.3390%2Fmembranes14070161>
- Gopinath V, Priyadarshini S, Loke MF et al (2017) Biogenic synthesis, characterization of antibacterial silver nanoparticles and its cell cytotoxicity. *Arab J Chem* 10:1107–1117. <https://doi.org/10.1016/j.arabj.2015.11.011>
- Harshiny M, Matheswaran M, Arthanareeswaran G et al (2015) Enhancement of antibacterial properties of silver nanoparticles-ceftioxime conjugate through *Mukia maderaspatana* leaf extract mediated synthesis. *Ecotoxicol Environ Saf* 121:135–141. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2015.04.041>
- Hassan MHA, Ismail MA, Moharram AM et al (2016) Synergistic effect of biogenic silver-nanoparticles with β lactam cefotaxime against resistant *Staphylococcus arlettae* AUMC b-163 isolated from t3a pharmaceutical cleanroom, Assiut, Egypt. *Am J Microbiol Res* 4(5):132–137. <https://doi.org/10.12691/ajmr-4-5-1>
- Hemmati S, Rashtiani A, Zangeneh MM et al (2019) Green synthesis and characterization of silver nanoparticles using *Fritillaria* flower extract and their

- antibacterial activity against some human pathogens. *Polyhedron* 158:8–14. <https://doi.org/10.1016/j.poly.2018.10.049>
- Hossain MM, Polash SA, Takikawa M et al (2019) Investigation of the antibacterial activity and in vivo cytotoxicity of biogenic silver nanoparticles as potent therapeutics. *Front Bioeng Biotechnol* 7:239. <https://doi.org/10.3389/fbioe.2019.00239>
- Karan T, Gonulalan Z, Erenler R et al (2024) Green synthesis of silver nanoparticles using *Sambucus ebulus* leaves extract: Characterization, quantitative analysis of bioactive molecules, antioxidant and antibacterial activities. *J Mol Struct* 1296(1):136836. <https://doi.org/10.1016/j.molstruc.2023.136836>
- Kargar PG, Shafiei M, Bagherzade G (2024) Transformation of 5-hydroxymethylfurfural to 5-hydroxymethyl-2-furan carboxylic acid mediated by silver nanoparticles biosynthesized from *Spartium junceum* flower extract. *Mater Today Sustain* 25:100622. <https://doi.org/10.1016/j.mtsust.2023.100622>
- Kathiravan V, Ravi S, Ashokkumar S (2014) Synthesis of silver nanoparticles from *Melia dubia* leaf extract and their in vitro anticancer activity. *Spectrochim Acta A Mol Biomol Spectrosc* 130:116–121. <https://doi.org/10.1016/j.saa.2014.03.107>
- Khan ZR, Assad N, Naeem-ul-Hassan M et al (2023) *Aconitum lycocotum* L. (Ranunculaceae) mediated biogenic synthesis of silver nanoparticles as potential antioxidant, anti-inflammatory, antimicrobial and antidiabetic agents. *BMC Chemistry* 17:128. <https://doi.org/10.1186/s13065-023-01047-5>
- Khromykh NO, Lykholat YV, Shupranova LV et al (2018) Interspecific differences of antioxidant ability of introduced *Chaenomeles* species with respect to adaptation to the steppe zone conditions. *Biosyst Divers* 26(2):132–138. <https://doi.org/10.1542/011821>
- Lykholat YV, Khromykh NO, Didur OO et al (2021) *Chaenomeles speciosa* fruit endophytic fungi isolation and characterization of their antimicrobial activity and the secondary metabolites composition. *BJBAS* 10:83. <https://doi.org/10.1186/s43088-021-00171-2>
- Mubeen B, Ansar AN, Rasool R et al (2021) Nanotechnology as a novel approach in combating microbes providing an alternative to antibiotics. *Antibiotics* 10(12):1473. <https://doi.org/10.3390/antibiotics10121473>
- Mulani MS, Kamble EE, Kumkar SN et al (2019) Emerging strategies to combat ESKAPE pathogens in the era of antimicrobial resistance: A review. *Front microbiol* 10:539. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.00539>
- Munita JM, Arias CA (2016) Mechanisms of antibiotic resistance. *Microbiol Spectr* 4(2). <https://doi.org/10.1128/microbiolspec.vmbf-0016-2015>
- Oh KH, Soshnikova V, Markus J et al (2018) Bio-synthesized gold and silver nanoparticles by aqueous fruit extract of *Chaenomeles sinensis* and screening of their biomedical activities. *Artif Cells Nanomed Biotechnol* 46(3):599–606. <https://doi.org/10.1080/21691401.2017.1332636>
- Qing Y, Cheng L, Li R et al (2018) Potential antibacterial mechanism of silver nanoparticles and the optimization of orthopedic implants by advanced modification technologies. *Int J Nanomed* 13:3311–3327. <https://doi.org/10.2147/IJN.S165125>
- Raj S, Mali SC, Trivedi R (2018) Green synthesis and characterization of silver nanoparticles using *Enicostemma axillare* (Lam.) leaf extract. *BBRC* 503(4):2814–2819. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2018.08.045>
- Reddy NJ, Vali DN, Rani M et al (2014) Evaluation of antioxidant, antibacterial and cytotoxic effects of green synthesized silver nanoparticles by *Piper longum* fruit. *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl* 34:115–122. <https://doi.org/10.1016/j.msec.2013.08.039>
- Reddy NV, Li H, Hou T et al (2021) Phytosynthesis of silver nanoparticles using *perilla frutescens* leaf extract: characterization and evaluation of antibacterial, antioxidant, and anticancer activities. *Int J Nanomedicine* 16:15–29. <https://doi.org/10.2147/IJN.S265003>
- Ren Y-Y, Yang H, Wang T et al (2019) Bio-synthesis of silver nanoparticles with antibacterial activity. *Mater Chem Phys* 235:121746. <https://doi.org/10.1016/j.matchemphys.2019.121746>
- Sahana R, Kiruba Daniel SCG, Sankar SG et al (2014) Formulation of bactericidal cold cream against clinical pathogens using *Cassia auriculata* flower extract-synthesized Ag nanoparticles. *Green Chem Lett Rev* 7(1):64–72. <https://doi.org/10.1080/17518253.2014.895859>
- Sánchez-López E, Gomes D, Esteruelas G et al (2020) Metal-based nanoparticles as antimicrobial agents: An overview. *Nanomaterials* 10(2):292. <https://doi.org/10.3390/nano10020292>
- Saratale GD, Saratale RG, Benelli G et al (2017) Antidiabetic potential of silver nanoparticles synthesized with *Argyrea nervosa* leaf extract high synergistic antibacterial activity with standard antibiotics against foodborne bacteria. *J Clust Sci* 28:1709–1727. <https://doi.org/10.1007/s10876-017-1179-z>
- Shah S, Gaikwad S, Nagar S et al (2019) Biofilm inhibition and anti-quorum sensing activity of phyto-synthesized silver nanoparticles against the nosocomial pathogen *Pseudomonas aeruginosa*. *Biofouling* 35(1):34–49. <https://doi.org/10.1080/08927014.201.1563686>
- Shanmuganathan R, MubarakAli D, Prabakar D et al (2018) An enhancement of antimicrobial efficacy

- of biogenic and ceftriaxone-conjugated silver nanoparticles: green approach. *Environ Sci Pollut Res Int* 25(11):10362–10370. <https://doi.org/10.1007/s11356-017-9367-9>
- Singh J, Dutta T, Kim K-H et al (2018) «Green» synthesis of metals and their oxide nanoparticles: applications for environmental remediation. *J Nanobiotechnol* 16(84):1–24. <https://doi.org/10.1186/s12951-018-0408-4>
- Singh P, Mijakovic I (2022) Rowan berries: a potential source for green synthesis of extremely monodisperse gold and silver nanoparticles and their antimicrobial property. *Pharmaceutics* 14(1):82. <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics14010082>
- Smekalova M, Aragon V, Panacek A et al (2016) Enhanced antibacterial effect of antibiotics in combination with silver nanoparticles against animal pathogens. *Vet J* 209:174–179. <https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2015.10.032>
- Sun Q, Cai X, Li J et al (2014) Green synthesis of silver nanoparticles using tea leaf extract and evaluation of their stability and antibacterial activity. *Colloids Surf A Physicochem Eng Asp* 444:226–231. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfa.2013.12.065>
- U Din MM, Batool A, Ashraf RS et al (2024) Green synthesis and characterization of biologically synthesized and antibiotic-conjugated silver nanoparticles followed by post-synthesis assessment for antibacterial and antioxidant applications. *ACS Omega* 9 (17):18909–18921. <https://doi.org/10.1021/acsomega.3c08927>
- Vus K, Tarabara U, Danylenko I et al (2021) Silver nanoparticles as inhibitors of insulin amyloid formation: A fluorescence study. *J Molec Liq* 342:117508. <https://doi.org/10.1016/j.molliq.2021.117508>
- Walsh DJ, Livinghouse T, Goeres DM et al (2019) Antimicrobial activity of naturally occurring phenols and derivatives against biofilm and planktonic bacteria. *Front Chem* 7:653. <https://doi.org/10.3389/fchem.2019.00653>
- WHO, World Health Organization (2023) Antibiotic resistance. <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/antimicrobial-resistance>. Assessed 08, March 2024
- Yin IX, Zhang J, Zhao IS et al (2020) The antibacterial mechanism of silver nanoparticles and its application in dentistry. *Int J Nanomed* 15:2555–2562. <https://doi.org/10.2147/IJN.S246764>
- Yuan P, Ding X, Yang YY et al (2018) Metal nanoparticles for diagnosis and therapy of bacterial infection. *Adv Healthc Mater* 7(13):1701392. <https://doi.org/10.1002/adhm.201701392>
- Yemets A, Plokhovska S, Pushkarova N et al (2022) Quantum dot-antibody conjugates for immunofluorescence studies of biomolecules and subcellular structures. *J Fluoresc* 32(5):1713–1723. doi: 10.1007/s10895-022-02968-5

Надійшла в редакцію 20.10.2024
Після доопрацювання 01.11.2024
Прийнята до друку 18.01.2025