

ФИЗИЧЕСКАЯ ХИМИЯ/PHYSICAL CHEMISTRY

DOI: <https://doi.org/10.60797/IRJ.2026.169.83> EDN: ICANOV

ИССЛЕДОВАНИЕ ВЛИЯНИЯ МЕТОТРЕКСАТА НА ФОРМИРОВАНИЕ НАНОЧАСТИЦ ЗОЛОТА В ХИМИЧЕСКОМ СИНТЕЗЕ

Научная статья

Козенкова Е.И.^{1,*}, Зозуля А.С.², Лятун И.И.³, Зюбин А.Ю.⁴¹ ORCID : 0000-0002-1636-7355;⁴ ORCID : 0000-0002-9766-1408;^{1, 2, 3, 4} Балтийский федеральный университет имени Иммануила Канта, Калининград, Российская Федерация

* Корреспондирующий автор (ekozenkova[at]kantiana.ru)

Предложена: 19.11.2025; Принята: 19.06.2026; Опубликовано: 17.07.2026

Аннотация

Метотрексат (MTX) является одним из популярных препаратов для лечения онкологических и аутоиммунных заболеваний, однако, может приводить к серьезным, потенциально опасным для жизни побочным эффектам. В связи с этим возникает проблема как терапевтического мониторинга концентраций препарата в органах и тканях, позволяющая подбирать оптимальную дозу препарата, так и задача адресной доставки метотрексата к мишени. Это влечет за собой исследование фундаментальных механизмов формирования комплекса MTX-наночастицы золота. Выбор золотых наночастиц (ЗНЧ) обусловлен их уникальными характеристиками такими как плазмонный резонанс, химическая инертность и эффективная сорбция. В данной работе исследовано влияние MTX на образование наночастиц золота при химическом осаждении. Методом химического синтеза в присутствии MTX и боргидрида натрия получены коллоидные растворы золота, показано влияние MTX на стабильность растворов. Физико-химические свойства ЗНЧ, исследованные с помощью спектрофотометрии (анализ спектров поглощения), электронной спектроскопии (морфология и размеры) и измерения гидродинамического радиуса и дзета-потенциала (оценка стабильности), подтвердили влияние метотрексата на формирование наночастиц золота. Полученные результаты демонстрируют потенциал для дальнейшего изучения комплексов метотрексата с кластерами золота с целью детального исследования образования композитных агрегатов, полученных при взаимодействии ЗНЧ и MTX.

Ключевые слова: золотые наночастицы, метотрексат, химический синтез, спектр поглощения, плазмонный резонанс.

A STUDY OF THE EFFECT OF METHOTREXATE ON THE DEVELOPMENT OF GOLD NANOPARTICLES IN CHEMICAL SYNTHESIS

Research article

Kozenkova E.I.^{1,*}, Zozulya A.S.², Lyatun I.I.³, Zyubin A.Y.⁴¹ ORCID : 0000-0002-1636-7355;⁴ ORCID : 0000-0002-9766-1408;^{1, 2, 3, 4} Immanuel Kant Baltic Federal University, Kaliningrad, Russian Federation

* Corresponding author (ekozenkova[at]kantiana.ru)

Suggested: 19.11.2025; Accepted: 19.06.2026; Published: 17.07.2026

Abstract

Methotrexate (MTX) is one of the most commonly used drugs for the treatment of cancer and autoimmune diseases; however, it can lead to serious, potentially life-threatening side effects. This raises the issue of both therapeutic monitoring of drug concentrations in organs and tissues, enabling the selection of the optimal dose, and the challenge of targeted delivery of methotrexate to the target site. This necessitates research into the fundamental mechanisms involved in the formation of the MTX–gold nanoparticle complex. The choice of gold nanoparticles (GNPs) is due to their unique traits, such as plasmon resonance, chemical inertness and effective sorption. In this work, the effect of MTX on the formation of gold nanoparticles during chemical precipitation was examined. Colloidal gold solutions were prepared by chemical synthesis in the presence of MTX and sodium borohydride, and the effect of MTX on the stability of the solutions was demonstrated. The physicochemical properties of the GNPs, examined by spectrophotometry (analysis of absorption spectra), electron spectroscopy (morphology and size) and measurements of the hydrodynamic radius and zeta potential (stability assessment), confirmed the influence of methotrexate on the formation of gold nanoparticles. The obtained results demonstrate the potential for further study of methotrexate complexes with gold clusters with a view to a detailed study of the formation of composite aggregates resulting from the interaction between gold nanoparticles and MTX.

Keywords: gold nanoparticles, methotrexate, chemical synthesis, absorption spectrum, plasmon resonance.

Введение

Наночастицы золота традиционно используются в тераностике из-за наличия установленных фототермических свойств, простоты функционализации поверхности различными органическими агентами, возможности индуцирования эффекта поверхностного плазмонного резонанса, который может модулироваться формой, размером,

составом и свойствами поверхности наночастиц [1]. Свойства локализованного поверхностного плазмонного резонанса золотых наночастиц используют при создании зондов [2]. Такой широкий спектр физических и химических свойств золотых наночастиц обусловлен различием в формах и размерах, которые легко варьируются при синтезе [3]. Наиболее распространенными побочными эффектами метотрексата являются желудочно-кишечные расстройства, в то время как легочная токсичность и гепатотоксичность вызывают серьезные осложнения [4]. Нефротоксичность, вызванная высокими дозами метотрексата, является серьезным осложнением и возникает из-за накопления МТХ и его метаболитов в почечных канальцах или прямого повреждения этих канальцев [5]. Это серьезная проблема, учитывая, что частота возникновения почечной токсичности составляет 9,1% у пациентов с лимфомами, в то время как у пациентов с саркомами она составляет 1,5% [6]. Кроме того, МТХ может вызывать нейротоксичность, влияя на центральную нервную систему посредством прямого повреждения и вмешательства в метаболические пути [7]. Кроме того, введение высоких доз метотрексата может привести к подавлению костного мозга и повышенному риску инфекции [8]. Токсичность и эффективность МТХ варьируется, и реакция пациентов на лечение различается даже при одинаковых дозах [9], [10]. Кроме того, токсичность сохраняется из-за меж- и внутрииндивидуальной вариабельности фармакокинетики этого препарата [11]. Эти эффекты подчеркивают важность терапевтического лекарственного мониторинга и профилактических мер при использовании высоких доз метотрексата для минимизации токсичности.

Ранее в литературе были описаны методы детекции МТХ с применением ЗНЧ, полученных как классическими методами восстановления в растворе (по Туркевичу и Френсу с различными модификациями [13], [14], [15]), так и методом криохимического синтеза из паров металла [16]. В данных работах включал стадию синтеза стабильных коллоидов золота с последующей их функционализацией молекулами МТХ. Полученные наноконпозиты были охарактеризованы в том числе и с помощью абсорбционной спектроскопии для подтверждения образования связи и оценки стабильности системы по смещению пика поверхностного плазмонного резонанса (ППР).

В настоящей работе проведен химический синтез ЗНЧ с непосредственным введением МТХ в реакционную смесь, исследованы физико-химических свойств МТХ и ЗНЧ, а также их комплексов. Оценены морфология, оптические свойства и стабильность таких систем.

Материалы и методы

2.1. Реагенты

Натрий гидроокись, хч, 1 кг, ГОСТ 4328-77, Натрий лимоннокислый 5,5 — водный, чда, 0,5 кг ГОСТ 2280-76, Натрий боргидрид, не менее 95%, 0,1 кг, ТУ 1-92-162-90, соляная кислота были приобретены в Ленреактив (Россия, Санкт-Петербург). Метотрексат (Methotrexate, Pharmaceutical Secondary Standard, PHR1396-1G) приобретен у Sigma-Aldrich. Кислота золотохлористоводородная водная приобретена в ОАО «Аурат» (Россия, Москва). Для всех процедур использовалась деионизированная вода (18,2 МОм). Все реактивы были аналитической чистоты и использовались без дополнительной очистки.

2.2. Синтез наночастиц золота с цитратом натрия (ЗНЧ-Цит)

Наночастицы были синтезированы с использованием цитрата натрия в качестве стабилизатора и боргидрида натрия как восстановителя. Смесь тетрахлораурата (III) (20 мл, $2,5 \cdot 10^{-4}$ М), цитрата натрия (200 мкл, 10^{-2} М) и боргидрида натрия (600 мкл, 10^{-2} М) перемешивали (600 об./мин) при комнатной температуре ($22 \pm 1^\circ$ С). Цвет раствора изменился с бесцветного на темно-малиновый, pH раствора составил 6,5. Через 5 минут раствор центрифугировали при 10 000 об/мин в течение 10 минут. Затем осадок промывали деионизированной водой, диспергировали в 5 мл воды и снова центрифугировали при 10 000 об/мин в течение 10 минут. Для разрушения агрегатов наночастиц был добавлен раствор соляной кислоты (500 мкл, 1 М) до значения pH равного 2,5.

2.3. Синтез наночастиц золота с метотрексатом (ЗНЧ-МТХ)

Наночастицы были синтезированы по методике, описанной выше, с одним отличием: заменой цитрата натрия на МТХ для одностадийного синтеза наночастиц, поверхность которых модифицирована молекулами МТХ. Остальные параметры синтеза: добавление боргидрида как восстановителя, температурный режим и скорость перемешивания, остались без изменения. Смесь тетрахлораурата (III) (20 мл, $2,5 \cdot 10^{-4}$ М), метотрексата (200 мкл, 10^{-2} М) и боргидрида натрия (600 мкл, 10^{-2} М) перемешивали (600 об./мин) при комнатной температуре ($22 \pm 1^\circ$ С). Цвет раствора изменился с бесцветного на темно-серый, pH раствора составил 7. Через 5 минут раствор центрифугировали при 10 000 об/мин в течение 10 минут. Затем осадок промывали деионизированной водой, диспергировали в 5 мл воды и снова центрифугировали при 10 000 об/мин в течение 10 минут. Для разрушения агрегатов наночастиц был добавлен раствор соляной кислоты (500 мкл, 1 М). При этом pH раствора составил 2,5.

2.4. Синтез наночастиц золота с цитратом натрия и метотрексатом (ЗНЧ-Цит-МТХ)

Наночастицы были синтезированы с использованием цитрата натрия в качестве стабилизатора и боргидрида натрия как восстановителя, так же в реакционную смесь добавлен МТХ. Смесь тетрахлораурата (III) (20 мл, $2,5 \cdot 10^{-4}$ М), цитрата натрия (200 мкл, 10^{-2} М), боргидрида натрия (600 мкл, 10^{-2} М) и МТХ (200 мкл, 10^{-2} М) перемешивали (600 об./мин) при комнатной температуре ($22 \pm 1^\circ$ С). Цвет раствора изменился с бесцветного на темно-зеленый, pH раствора составил 6,5. Через 5 минут раствор центрифугировали при 10 000 об/мин в течение 10 минут. Затем осадок промывали деионизированной водой, диспергировали в 5 мл воды. Далее раствор снова центрифугировали при 10 000 об/мин в течение 10 минут, сливали надосадочную жидкость и диспергировали в 5 мл деионизированной воды. Для разрушения агрегатов наночастиц был добавлен раствор соляной кислоты (200 мкл, 1 М), значение pH составило 3.

Полученные растворы наночастиц образовали коллоидный раствор, стабильный в течение одной недели. Раствор сразу же был отправлен на характеризацию.

2.5. Характеризация наночастиц золота

Спектры поглощения наночастиц и раствора МТХ регистрировали с помощью спектрофотометра Shimadzu UV-2600 (Shimadzu, Япония).

Гидродинамический размер и дзета-потенциал наночастиц в воде измеряли на установке Photocor Compact-Z (Фотокор, Россия). Для этого использовали термостабилизированный диодный лазер с длиной волны 659 нм (мощностью 25 мВт), универсальный адаптер из фторопласта со стекло-углеродными электродами.

Морфология и размерные характеристики синтезированных наночастиц исследовались методом сканирующей электронной микроскопии (СЭМ) высокого разрешения с использованием электронной колонны двухлучевой системы Zeiss Crossbeam 540 (Carl Zeiss AG, Германия). Для обеспечения максимальной достоверности визуализации наноструктур в их исходном состоянии был применен специализированный протокол подготовки образцов. С целью минимизации неконтролируемой агрегации наночастиц из-за капиллярных эффектов при испарении, удаление жидкой фазы проводилось методом контролируемой вакуумной сушки в шлюзовой камере микроскопа при давлении ~0,2 мбар в течение 5 минут. Исследование проводилось без нанесения токопроводящих покрытий (углерода или благородных металлов). СЭМ-микрофотографии были получены при ускоряющем напряжении 5 кВ и токе электронного зонда 150 пА. Данные параметры обеспечили оптимальный баланс между достижением высокого пространственного разрешения и предотвращением радиационно-стимулированной деградации образца. Для регистрации топографического контраста с высокой чувствительностью к деталям поверхности использовался внутрилинзовый детектор вторичных электронов (InLens SE) при малом рабочем расстоянии (WD = 3,0 мм). Отсутствие эффектов накопления поверхностного заряда в выбранном режиме позволило зафиксировать истинную геометрию наночастиц без искажений.

Результаты и их обсуждение

Морфология ЗНЧ была исследована с помощью сканирующей электронной микроскопии (СЭМ). Представленные СЭМ-микрофотографии (рис. 1) демонстрируют, что ЗНЧ-Цит обладают преимущественно квазисферической морфологией. Статистический анализ полученных изображений, проведенный на основе прямых измерений массива частиц из более чем 100 индивидуальных объектов, выявил полидисперсный характер распределения. Диаметр наночастиц варьируется в диапазоне от 10 до 60 нм. Математическая обработка данных показала, что средний размер основной фракции составляет ~30 нм, что свидетельствует о формировании достаточно однородной первичной структуры.

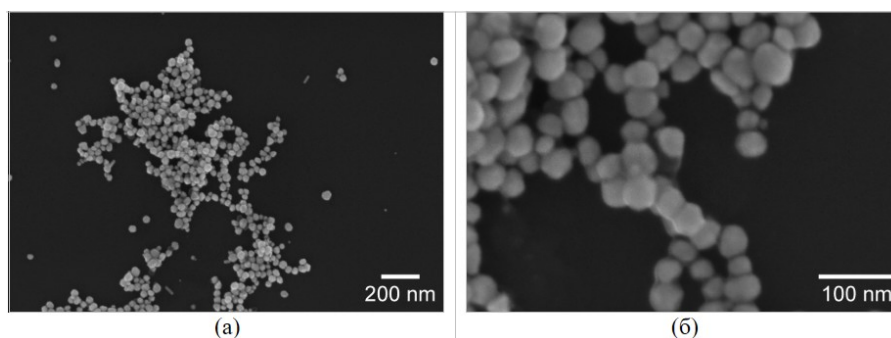


Рисунок 1 - СЭМ-изображения наночастиц золота, синтезированных с цитратом и боргидридом натрия, полученные в режиме детектирования вторичных электронов, при увеличении: а) 50KX; б) 200KX

DOI: <https://doi.org/10.60797/IRJ.2026.169.83.1>

На рисунке 2 представлены изображения наночастиц, синтезированных с метотрексатом (ЗНЧ-МТХ). В результате получены крупные частицы золота преимущественно макро размера без явной определенной морфологической структуры (Рис. 2а). После добавления раствора соляной кислоты (200 мкл, 0,01 М) образовывалась пористая структура губчатого типа, сформированная в результате специфической агрегации ЗНЧ-МТХ (Рис. 2б). Представленные на рис. 2 СЭМ-изображения указывают на быстрый темп формирования большого числа зародышей наночастиц под действием боргидрида натрия как сильного восстановителя. При этом молекулы МТХ препятствуют дальнейшему росту частиц золота из-за своего размера. В результате образуется рыхлая структура, состоящая из сетчатого полимера с вкраплением наночастиц золота малого размера. На рис. 3 представлено изображение ЗНЧ-Цит-МТХ с наиболее выраженной пористой структурой.

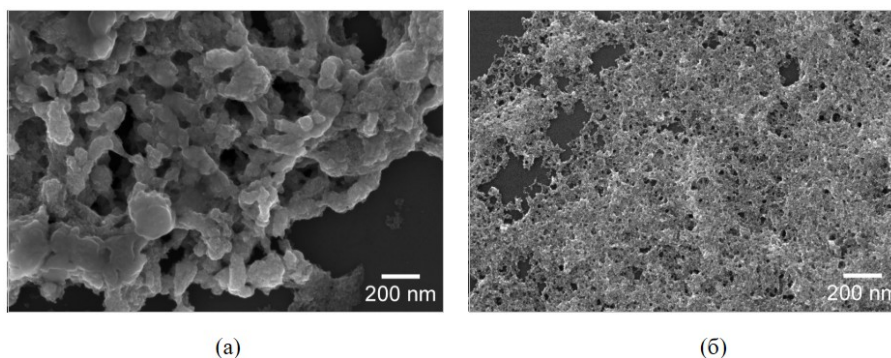


Рисунок 2 - СЭМ-изображения наночастиц золота, синтезированных в присутствии метотрексата до (pH - 7) (а) и после (pH - 2,5) (б) добавления раствора соляной кислоты, полученные при увеличении 50KX
DOI: <https://doi.org/10.60797/IRJ.2026.169.83.2>

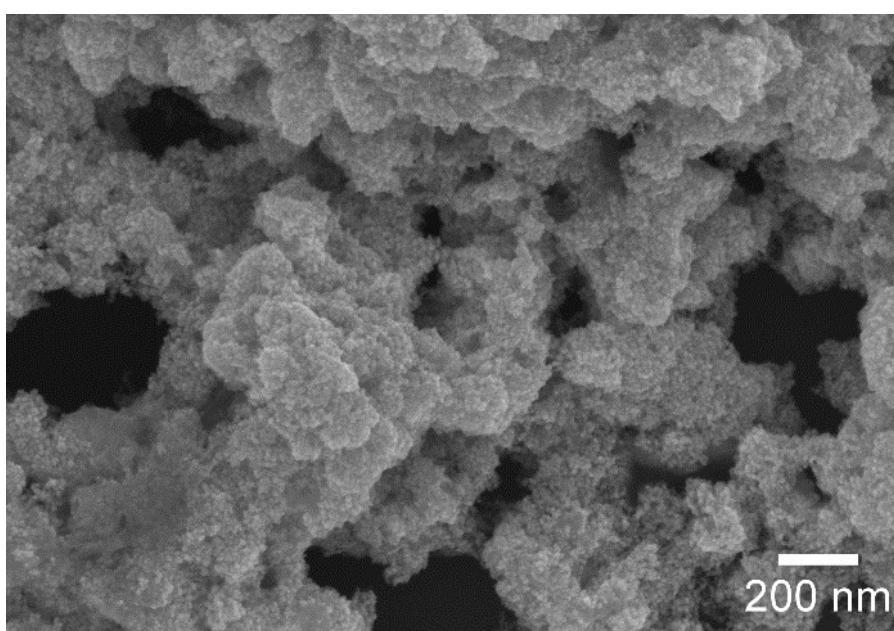


Рисунок 3 - СЭМ-изображение наночастиц золота, синтезированных в присутствии цитрата натрия и метотрексата, полученные при увеличении 50KX
DOI: <https://doi.org/10.60797/IRJ.2026.169.83.3>

Значение дзета-потенциала золотых наночастиц, полученных в присутствии цитрата и боргидрида натрия, составляет $-27,52 \pm 0,39$ мВ при pH 2,5. Для образца ЗНЧ-MTX при аналогичной кислотности среды (pH 2,5) данный показатель смещается до значения $-17,48 \pm 0,25$ мВ. Такое изменение свидетельствует о модификации поверхности наночастиц метотрексатом, что приводит к ослаблению электростатического отталкивания и снижению агрегативной устойчивости системы. Для ЗНЧ, синтезированных в совместном присутствии цитрата натрия и метотрексата, дзета-потенциал составил $-19,80 \pm 0,29$ мВ при pH 3,0.

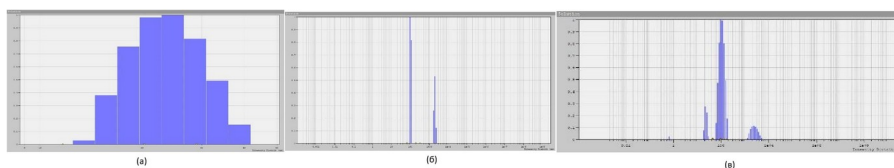


Рисунок 4 - Гистограмма распределения гидродинамического размера наночастиц золота, синтезированных в присутствии цитрата и боргидрида натрия (а), метотрексата и боргидрида натрия (б), цитрата натрия, боргидрида и метотрексата (в)
DOI: <https://doi.org/10.60797/IRJ.2026.169.83.4>

Результаты измерения гидродинамического размера наночастиц приведены на рисунке 4. В синтезе с боргидридом и цитратом натрия были получены наночастицы около 24 нм с узким распределением полидисперсности (0,18). В синтезе с МТХ наблюдаются две различные по размеру фракции: первая — 103 нм, вторая — микронного диапазона. Значение величины полидисперсности составило 0,44, что свидетельствует об умеренной неоднородности системы по размерам частиц (до 0,5). В синтезе с цитратом натрия и МТХ полидисперсность ЗНЧ составила 0,315. Сводные физико-химические характеристики образцов, включая значения pH, приведены в таблице 1.

Таблица 1 - Физико-химические характеристики золотых наночастиц, полученных в различных условиях синтеза

DOI: <https://doi.org/10.60797/IRJ.2026.169.83.5>

Образец	ЗНЧ-Цит	ЗНЧ-МТХ	ЗНЧ-Цит-МТХ
Дзета-потенциал	-27,52 ± 0,39 мВ	-17,48 ± 0,25 мВ	-19,80 ± 0,29 мВ
Гидродинамический размер	24 нм	103 нм – 1 мкм	107 нм
Полидисперсность	0,18	0,44	0,315
pH	2,5	2,5	3,0

Для идентификации специфических взаимодействий в системе был проведен сравнительный анализ спектров поглощения ЗНЧ-Цит, ЗНЧ-МТХ и ЗНЧ-Цит-МТХ. На рисунке 5 представлен спектр в видимой и ближней инфракрасной областях (диапазон длин волн от 200 до 800 нм). В спектре раствора ЗНЧ-МТХ (красная кривая) выделяются два пика на 277 нм и 558 нм. Пик на 558 нм характерен для поверхностного плазмонного резонанса золотых наночастиц. В районе 400 нм наблюдается локальный максимум низкой интенсивности. Схожий спектр поглощения у образца ЗНЧ-Цит, синтезированного без метотрексата (черная кривая) с выраженными пиками на длинах волн 299 и 528 нм (рис. 4б).

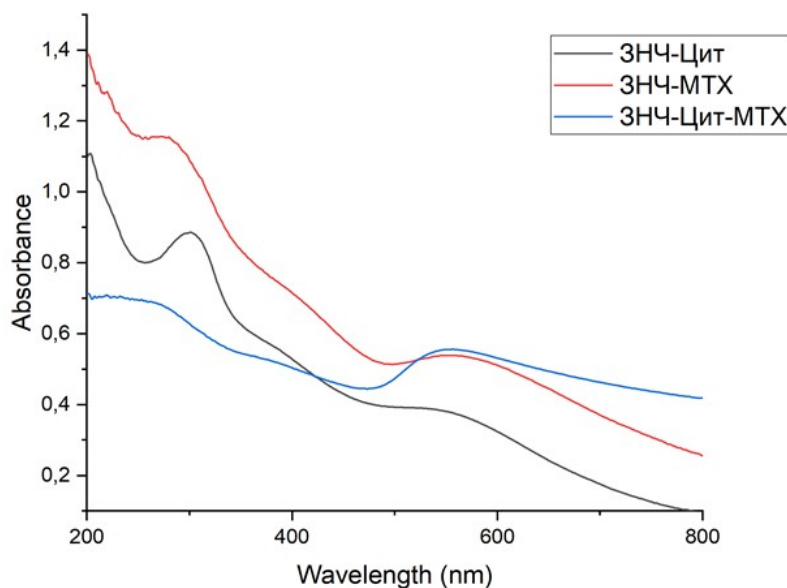


Рисунок 5 - Спектр поглощения наночастиц золота, синтезированных в присутствии цитрата и боргидрида натрия (черная кривая), метотрексата (красная кривая) и в присутствии цитрата натрия и метотрексата (синяя кривая)

DOI: <https://doi.org/10.60797/IRJ.2026.169.83.6>

После осаждения крупных наночастиц для образца ЗНЧ-MTX был получен спектр надосадочной жидкости (супернатанта) (рис. 6).

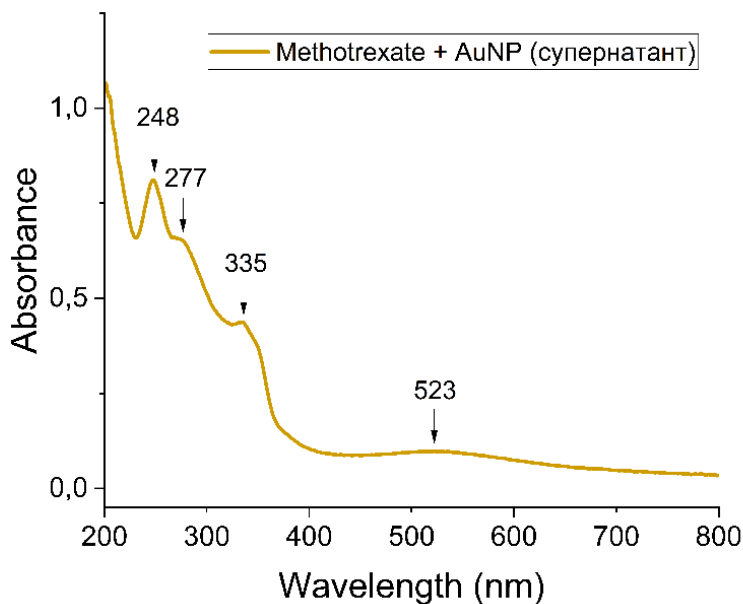


Рисунок 6 - Спектр поглощения супернатанта наночастиц золота, синтезированных в присутствии метотрексата

DOI: <https://doi.org/10.60797/IRJ.2026.169.83.7>

На изображении видны несколько пиков: 248 нм, 277 нм, 335 нм, 523 нм. При сравнении рис. 5 и 6 обнаружены два пика, находящиеся на одной длине волны 277 нм. Также в обоих спектрах наблюдаются небольшие пики в интервале 520–560 нм. Данные максимумы свидетельствуют о поверхностном плазмонном резонансе наночастиц золота. Сдвиг пика на рис. 6 на 35 нм в коротковолновую область обусловлен образованием агрегатов наночастиц.

Далее был получен спектр поглощения тех же наночастиц после добавления раствора соляной кислоты (рис. 7).

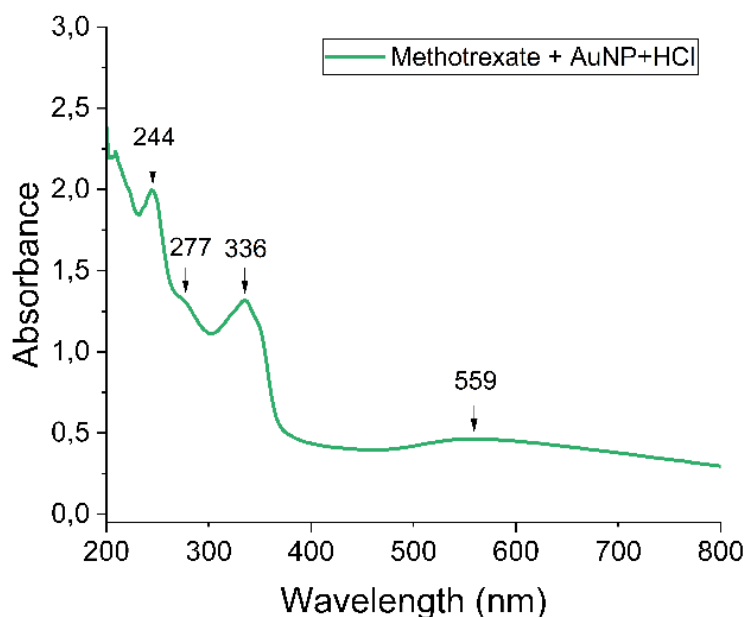


Рисунок 7 - Спектр поглощения наночастиц золота с метотрексатом после добавления раствора соляной кислоты
DOI: <https://doi.org/10.60797/IRJ.2026.169.83.8>

С целью разрушения агрегатов, раствор был подкислен до значения pH равного двум.

Полученный спектр соответствует представленному на рис. 6 в области до 400 нм по длинам волн пиков. Относительная интенсивность пиков изменилась под влиянием протонирования. Кроме того, сильноокислая среда приводит к гидролизу амидной связи в молекуле МТХ. Далее золь центрифугировали и промывали деионизированной водой для удаления надосадочной жидкости вместе с продуктами гидролиза.

Пик 277 нм, присутствующий на рисунках 5-7, нехарактерен для основных пиков поглощения МТХ или ЗНЧ [17], [18]. Возникновение данной полосы обусловлено двумя факторами: межзонными переходами в золоте (5d → 6SP) и перераспределением электронной плотности в птеридиновом кольце при хемосорбции МТХ на поверхность золота (красный сдвиг полосы 303–308 нм). С учетом изображения на СЭМ-фотографии, губчатая структура способствует многократному рассеянию света и формированию специфических электронных переходов на границе раздела фаз.

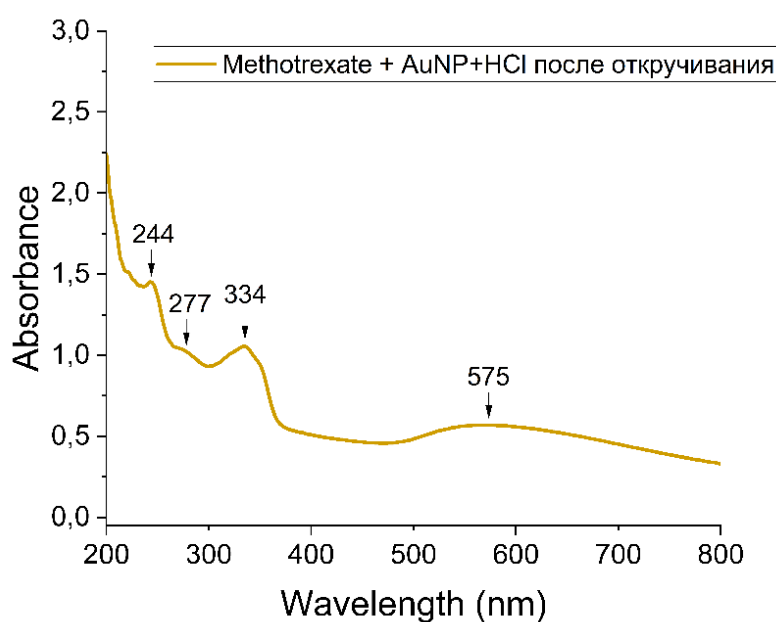


Рисунок 8 - Спектр поглощения наночастиц золота с метотрексатом после добавления раствора соляной кислоты и центрифугирования
DOI: <https://doi.org/10.60797/IRJ.2026.169.83.9>

Рисунок 8 демонстрирует отсутствие различий в пиках поглощения в диапазоне от 200 до 400 нм до и после центрифугирования и диспергирования. Однако при этом обнаружен сдвиг максимума с 559 нм до 575 нм, что, характеризует процесс образования агрегатов.

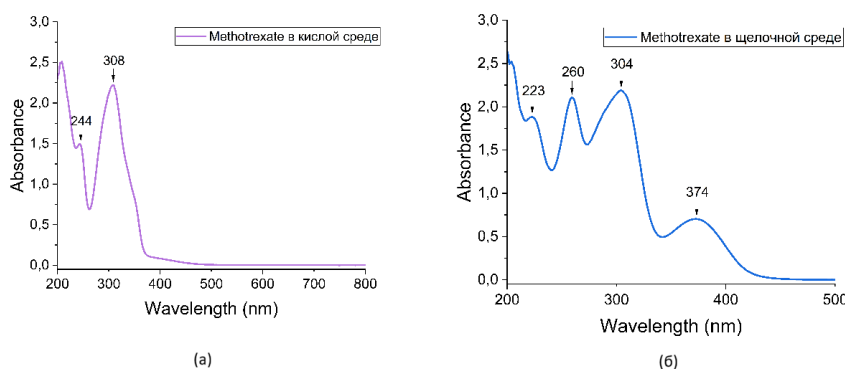


Рисунок 9 - Спектры поглощения метотрексата в кислой (а) и щелочной (б) средах
DOI: <https://doi.org/10.60797/IRJ.2026.169.83.10>

Для сравнения были получены спектры поглощения метотрексата в кислой и щелочной средах (рис. 9). Как видно из изображений, совпадения со спектром депротонированной формы метотрексата отсутствуют. Однако в спектре метотрексата в кислой среде (рис. 9а) присутствует характерный максимум на 244 нм, как и на предыдущих спектрах (рис. 6-8). В то же время в спектре присутствует пик на 308 нм, которого нет на других спектрах. Его наличие объясняется изменением конформации птеридинового кольца при протонировании [12].

Таким образом, возможности абсорбционной спектроскопии позволяют достоверно детектировать формирование химических связей молекул метотрексата с поверхностью наночастиц золота.

Заключение

В работе установлено, что метотрексат может быть использован в одноэтапном химическом синтезе наночастиц золота с целью формирования специфических губчатых наноструктур, где ЗНЧ являются центрами для связывания лекарственного препарата. Морфология полученных образцов подтверждена данными сканирующей электронной микроскопии, которая показала наличие пористой структуры за счет объединения зародышей золота в рыхлые агрегаты. Продemonстрирована эффективность абсорбционной спектроскопии для регистрации взаимодействий молекул метотрексата с поверхностью наночастиц золота. Зафиксирован сдвиг плазмонного резонанса в коротковолновую область (с 558 нм до 523 нм). Выявлены максимумы, характерные для протонированной формы метотрексата в спектре поглощения: 244 нм и 308 нм. Анализ электрокинетических свойств выявил снижение абсолютного значения дзета-потенциала с $-27,52 \pm 0,39$ мВ до $-17,48 \pm 0,25$ мВ, что указывает на уменьшение агрегативной устойчивости золя ЗНЧ-МТХ. Полученные структуры золота и метотрексата пористой морфологии обладают хорошей перспективой для дальнейшего применения как платформы для разработки средств направленной доставки метотрексата с целью повышения эффективности препарата и снижении побочных эффектов при лечении ревматоидного артрита [13], [19].

Финансирование

Работа выполнена при финансовой поддержке Министерства науки и высшего образования Российской Федерации (соглашение №075-02-2026-1311 от 20.02.2026 года).

Конфликт интересов

Не указан.

Рецензия

Все статьи проходят рецензирование. Но рецензент или автор статьи предпочли не публиковать рецензию к этой статье в открытом доступе. Рецензия может быть предоставлена компетентным органам по запросу.

Funding

The work was carried out with financial support from the Ministry of Science and Higher Education of the Russian Federation (Agreement No. 075-02-2026-1311 dated 20 February 2026).

Conflict of Interest

None declared.

Review

All articles are peer-reviewed. But the reviewer or the author of the article chose not to publish a review of this article in the public domain. The review can be provided to the competent authorities upon request.

Список литературы на английском языке / References in English

1. Huang H. Inorganic nanoparticles in clinical trials and translations / H. Huang, S. Cao, W. Ding [et al.] // Nano Today. — 2020. — Vol. 35. — P. 100972.



2. Kesharwani P. Gold nanoparticles and gold nanorods in the landscape of cancer therapy / P. Kesharwani, R. Ma, L. Sang [et al.] // *Molecular Cancer*. — 2023. — Vol. 22. — № 1. — P. 98.
3. Bharadwaj K.K. Green synthesis of gold nanoparticles using plant extracts as beneficial prospect for cancer theranostics / K.K. Bharadwaj, B. Rabha, S. Pati [et al.] // *Molecules*. — 2021. — Vol. 26. — № 21. — P. 6389.
4. Almalki R.S. The protective effect of roflumilast against acute hepatotoxicity caused by methotrexate in Wistar rats: In vivo evaluation / R.S. Almalki // *Drug Design, Development and Therapy*. — 2024. — P. 453–462.
5. Issaad G. Protective Effect of Chlorella, Spirulina, and Astaxanthin Against Methotrexate-Induced Oxidative Biochemical Alterations in Liver and Kidney of Mice / G. Issaad, S. Chibani, L. Labdi [et al.] // *Polish Journal of Environmental Studies*. — 2024.
6. Yang Y. Renal function and plasma methotrexate concentrations predict toxicities in adults receiving high-dose methotrexate / Y. Yang, L. Chen, M. Zhang [et al.] // *Medical Science Monitor: International Medical Journal of Experimental and Clinical Research*. — 2018. — Vol. 24. — P. 7719.
7. Vezmar S. Biochemical and clinical aspects of methotrexate neurotoxicity / S. Vezmar, A. Becker, U. Bode [et al.] // *Chemotherapy*. — 2003. — Vol. 49. — № 1-2. — P. 92–104.
8. Hamed K.M. Overview of methotrexate toxicity: a comprehensive literature review / K.M. Hamed, I.M. Dighriri, A.F. Alharbi [et al.] // *Cureus*. — 2022. — Vol. 14. — № 9.
9. Giletti A. Genetic markers in methotrexate treatments / A. Giletti, P. Esperon // *The Pharmacogenomics Journal*. — 2018. — Vol. 18. — № 6. — P. 689–703.
10. Song Z. Medication therapy of high-dose methotrexate: An evidence-based practice guideline of the Division of Therapeutic Drug Monitoring, Chinese Pharmacological Society / Z. Song, Y. Hu, H. Lin [et al.] // *British Journal of Clinical Pharmacology*. — 2022. — Vol. 88. — № 5. — P. 2456–2472.
11. Nadia J. Pharmacokinetic population of methotrexate in Tunisian population with acute lymphoblastic leukemia / J. Nadia, B. Ghada, B. Riadh [et al.] // *Tunis Med.* — 2015. — Vol. 93. — № 12. — P. 760–765.
12. Meloun M. The thermodynamic dissociation constants of methotrexate by the nonlinear regression and factor analysis of multiwavelength spectrophotometric pH-titration data / M. Meloun, J. Havel, J. Chytil // *Central European Journal of Chemistry*. — 2010. — Vol. 8. — P. 494–507.
13. Rafik. Methotrexate conjugated gold nanoparticles improve rheumatoid vascular dysfunction in rat adjuvant-induced arthritis: gold revival / Rafik, A. Moussa, H. Mohamed [et al.] // *Inflammopharmacology*. — 2023. — Vol. 31. — P. 321–335.
14. Álvarez-González B. Methotrexate Gold Nanocarriers: Loading and Release Study: Its Activity in Colon and Lung Cancer Cells / B. Álvarez-González, R. González-Rodríguez, M.A. Ruiz [et al.] // *Molecules*. — 2020. — Vol. 25. — P. 6049–6067.
15. Cerra S. Insights about the interaction of methotrexate loaded hydrophilic gold nanoparticles: Spectroscopic, morphological and structural characterizations / S. Cerra, T.A. Taha, M.A. El-Mokhtar [et al.] // *Materials Science and Engineering: C*. — 2020. — Vol. 117. — P. 111337.
16. Vasil'kov A. Evolution of Gold and Iron Oxide Nanoparticles in Conjugates with Methotrexate: Synthesis and Anticancer Effects / A. Vasil'kov, A. Naumkin, V. Sadykov [et al.] // *Materials*. — 2023. — Vol. 16. — P. 3238.
17. Tran N.T.T. Synthesis of methotrexate-conjugated gold nanoparticles with enhanced cancer therapeutic effect / N.T.T. Tran, A.A. Saeed, D.T.C. Nguyen [et al.] // *Biochemical Engineering Journal*. — 2013. — Vol. 78. — P. 175–180.
18. Bostog D.-I. Multi-shell gold nanoparticles functionalized with methotrexate: a novel nanotherapeutic approach for improved antitumoral and antioxidant activity and enhanced biocompatibility / D.-I. Bostog, L. Lupu, A. Fudulu [et al.] // *Drug Delivery*. — 2024. — Vol. 31. — № 1. — P. 2388624.
19. Fan J. Synthesis and biological evaluation of gold nanoparticles drug delivery system for anti-rheumatoid arthritis agents / J. Fan, R. Wu, Y. Wang [et al.] // *Journal of Drug Delivery Science and Technology*. — 2024. — Vol. 102. — Article 106402.