# Cytotoxic Effects of Green-Synthesized Selenium Nanoparticles Using Salvia Rosmarinus Plant Extract on Gastric Cancer Cells (MKN-45)

***Torabi Parizi P[1], Sayahi H[2], Aliyan Y[3], Amini N[4*], Ahmadi R[5]***

*1. BSc, Department of Biology, Faculty of Basic Sciences, Damghan Branch, Islamic Azad University, Damghan, Iran*

*2. MSc in Human Genetics, Department of Genetics, Zanjan University of Medical Sciences, Zanjan, Iran*

*3. BSc Student, Department of Biology, Faculty of Advanced Sciences and Technology, Tehran Medical Sciences Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran*

*4.PhD, Management Committee Member of Global Research, Education, and Event Network, Iran, amini.n.2486@gmail.com*

*5. Associate Professor, Department of Biology, Avicenna International College, Budapest, Hungary*

Received: *2024/11/22* Accepted: *2025/8/4*

## Abstract

***Background:*** Gastric cancer is one of the most common and lethal cancers worldwide. Due to its late-stage diagnosis, finding new therapeutic approaches is of significant importance. In this regard, the present study aimed to evaluate the cytotoxic effects of green-synthesized selenium nanoparticles using rosemary plant extract (Salvia rosmarinus) on gastric cancer cells (MKN-45).

***Materials and Methods:*** In this experimental-laboratory study, selenium nanoparticles were synthesized via a green synthesis method using Salvia rosmarinus extract. The MKN-45 gastric cancer cells were treated with specified concentrations of the nanoparticles. Cell viability and proliferation were assessed using the MTT assay. Following treatment and subsequent incubation, the cytotoxic effects of the nanoparticles were evaluated by measuring the optical absorbance of the formazan solution. Cell viability percentage and IC50 were calculated and analyzed using analysis of variance statistical tests.

***Results:*** The results showed that selenium nanoparticles at concentrations of 31.25, 62.5, 125, 250, and 500 µg/mL significantly reduced the viability of gastric cancer cells, and cytotoxicity increased with higher concentrations ($p < 0.001$). The IC50 analysis indicated that increased SeNP concentration led to decreased cancer cell survival. Physicochemical analyses, including Fourier Transform Infrared, Scanning Electron Microscopy, and Energy Dispersive X-ray, confirmed the successful synthesis of selenium nanoparticles with appropriate structural characteristics.

***Conclusion:*** Results of this study demonstrated that green-synthesized selenium nanoparticles exhibit significant cytotoxic effects on gastric cancer cells (MKN-45) and may serve as a promising candidate for the development of targeted therapies against gastric cancer.

***Keywords:*** Gastric cancer, Green synthesis, Selenium nanoparticles.

***Citation:*** Torabi Parizi P, Sayahi H, Aliyan Y, Amini N, Ahmadi R. Cytotoxic Effects of Green-Synthesized Selenium Nanoparticles Using Salvia Rosmarinus Plant Extract on Gastric Cancer Cells (MKN-45). Yafte. 2025; 27(3):35-49.

***Correspondence Address: Parnam Publication Co, Green Building, Baghcheh Poonak, Ashrafi Esfahani, Tehran**

**Email: amini.n.2486@gmail.com**

# اثرات سمیت سلولی نانوذرات سلنیوم سنتز شده به روش سبز با استفاده از عصاره گیاه *Salvia rosmarinus* بر سلول‌های سرطانی معده (MKN45)

**پرند ترابی پاریزی[1]، حمیده سیاحی[2]، یاسمن علی‌یان[3]، نوشین امینی[4*]، رحیم احمدی[5]**

۱- کارشناسی، گروه زیست شناسی، دانشکده علوم پایه، واحد دامغان، دانشگاه آزاد اسلامی، دامغان، ایران

۲- کارشناسی ارشد، گروه ژنتیک، کارشناسی ارشد ژنتیک انسانی، دانشگاه علوم پزشکی زنجان، زنجان، ایران

۳- دانشجوی کارشناسی، گروه زیست شناسی، دانشکده علوم و فناوری‌های نوین، علوم پزشکی تهران، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران

۴- دکترا، عضو کمیته مدیریت شبکه جهانی تحقیقات، آموزش و رویدادها (GREEN)، ایران

۵- دانشیار، گروه زیست شناسی، کالج بین المللی اویسینا، بوداپست، مجارستان

یافته / دوره ۲۷ / شماره ۳ / پاییز ۱۴۰۴ / مسلسل ۱۰۵

## چکیده

دریافت مقاله: ۱۴۰۳/۹/۲ پذیرش مقاله: ۱۴۰۴/۵/۱۳

**مقدمه:** سرطان معده یکی از رایج‌ترین و کشنده‌ترین انواع سرطان‌ها در سراسر جهان است که به دلیل تشخیص در مراحل پیشرفته، یافتن روش‌های درمانی جدید برای آن اهمیت زیادی دارد. هدف از این پژوهش، ارزیابی اثرات سمیت سلولی نانوذرات سلنیوم (**SeNPs**) سنتز شده به روش سبز با استفاده از عصاره گیاه رزماری (**Salvia rosmarinus**) بر سلول‌های سرطانی معده (**MKN45**) است.

**مواد و روش‌ها:** در این پژوهش تجربی-آزمایشگاهی، نانوذرات سلنیوم به روش سبز و با استفاده از عصاره گیاه **Salvia rosmarinus** سنتز شد و سلول‌های سرطانی **MKN45** با غلظت‌های تعیین شده از نانوذرات، مورد تیمار قرار گرفتند، و با استفاده از روش **MTT** ارزیابی بقا و تکثیر این سلول‌ها تعیین شد. پس از تیمار و به دنبال آن انکوباسیون، اثرات سمیت سلولی نانوذرات با اندازه‌گیری جذب نوری محلول فورمازان ارزیابی شد. درصد بقا و **IC50** محاسبه و با استفاده از آزمون‌های آماری **ANOVA** تحلیل شد.

**یافته‌ها:** نتایج نشان داد که نانوذرات سلنیوم در غلظت‌های ۳۱/۲۵، ۶۲/۵، ۱۲۵، ۲۵۰ و ۵۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر، باعث کاهش معنی‌دار زنده‌مانی سلول‌های سرطانی می‌شود و با افزایش غلظت میزان سمیت افزایش می‌یابد (**P<۰/۰۰۱**). بررسی مقدار **IC50** نشان داد که با افزایش غلظت نانوذره سلنیوم، میزان بقای سلول‌های سرطانی کاهش می‌یابد. تحلیل‌های فیزیکوشیمیایی شامل آزمون‌های **FTIR**، **SEM** و **EDX** نیز تأییدکننده‌ی ساخت موفق نانوذرات سلنیوم با ویژگی‌های ساختاری مناسب بودند.

**بحث و نتیجه‌گیری:** نتایج این مطالعه نشان داد که نانوذرات سلنیوم سنتز شده به روش سبز دارای اثرات سایتوتوکسیک قابل توجهی بر سلول‌های (**MKN45**) هستند و می‌توانند به‌عنوان گزینه‌ای نویدبخش در توسعه درمان‌های هدفمند سرطان معده مطرح شوند.

**واژه‌های کلیدی:** سرطان معده، نانوذرات سلنیوم، سنتز سبز.

***آدرس مکاتبه: تهران، اشرفی اصفهانی، باغچه پونک، ساختمان سبز، موسسه پرنام.**

**پست الکترونیک: amini.n.2486@gmail.com**

## مقدمه

سرطان معده یکی از شایع‌ترین بدخیمی‌ها در سراسر جهان است. اکثر بیماران به دلیل علائم خفیف اولیه و میزان پایین غربالگری منظم، در مراحل پیشرفته بیماری تشخیص داده می‌شوند (۱). حدود ۹۰٪ از سرطان‌های معده، آدنوکارسینوم‌هایی هستند که از غدد سطحی لایه معده به وجود می‌آیند. با این حال، انواع دیگری از سرطان معده شامل لنفوم‌های بافت لنفاوی مرتبط با مخاط (MALT) و لیومیوسارکوم وجود دارد. طبق طبقه‌بندی لورن، آدنوکارسینوم‌های GC به دو نوع بافت شناسی عمده، منتشر و روده‌ای، تقسیم می‌شوند که این دو نوع از نظر نسبت جنسیت، سن تشخیص و ویژگی‌های اپیدمیولوژیک متفاوت هستند (۲). درمان سیستمیک برای GC شامل شیمی درمانی، درمان هدفمند و ایمونوتراپی است. معده به دلیل ساختار ساکولار خود، رشد تومورها را در مراحل اولیه بدون علائم نگه می‌دارد که این امر باعث می‌شود بیشتر سرطان‌های معده در مراحل پیشرفته تشخیص داده شوند و پیش آگهی ضعیفی داشته باشند. هلیکوباکترپیلوری به عنوان عامل اصلی سرطان معده شناخته شده است، هر چند مکانیسم دقیق آن هنوز مشخص نشده است (۳). این بیماری چهارمین سرطان شایع و دومین علت مرگ و میر ناشی از سرطان است. درصد ابتلا در مردان ۲-۳ برابر زنان است و بالاترین میزان بروز در آسیای شرقی، اروپای شرقی و آمریکای جنوبی مشاهده می‌شود، درحالیکه کمترین میزان در آمریکای شمالی و بیشتر مناطق آفریقا ثبت شده است. بروز GC در ایالات متحده پایین است و اخیراً کاهش بروز سالانه ۱/۷٪ برای مردان و ۰/۸٪ برای زنان گزارش شده است (۲).

اخیراً نانوذرات سلنیوم (SeNPs) به عنوان درمان جدیدی برای سرطان معده (GC) مطرح شده‌اند. این نانوذرات به دلیل تنوع (معدنی، آلی، سرامیکی و مبتنی بر کربن) و همچنین داشتن خواص فیزیکوشیمیایی، بیولوژیکی و کاتالیزوری قابل توجه، پتانسیل زیادی برای ایجاد داروهای مدرن دارند (۴). SeNPs در سال‌های اخیر به دلیل ویژگی‌های برجسته ضدباکتریایی، ضدسرطانی و آنتی‌اکسیدانی خود مورد توجه زیادی قرار گرفته‌اند (۵، ۴). در گذشته سلنیوم به عنوان یک ماده سمی شناخته می‌شد، اما در سال ۱۹۵۷ مشخص شد که می‌تواند از میودیستروفی شدید و سیروز کبدی جلوگیری کند. بر اساس داده‌های WHOدر سال ۲۰۰۹، مصرف روزانه سلنیوم باید ۵۰ تا ۵۵ میکروگرم باشد (۴). SeNPs در مقایسه با سایر ترکیبات سلنیوم مانند سلنومتونین، سمّیت و اثرات زیرحاد کمتری از خود نشان می‌دهند و از این رو به عنوان جایگزین ایمن‌تری برای کاربردهای زیست‌پزشکی مطرح هستند (۶). مطالعات مقایسه‌ای نشان داده‌اند که SeNPs حتی در غلظت‌های مشابه با ترکیبات سلنیوم (IV) از انتخاب‌پذیری بیشتری نسبت به سلول‌های سرطانی برخوردار بوده و در عین حال سمّیت کمتری نسبت به سلول‌های نرمال دارند (۷). این انتخاب‌پذیری بسیار حائز اهمیت است، زیرا اثرات ضدسرطانی سلنیوم معمولاً در دوزهایی نزدیک به سطح سمی مشاهده می‌شود و نیاز به شناسایی یک محدوده درمانی ایمن را برجسته می‌سازد (۸). از طرفی سنتز سبز نانوذرات، که نیازی به هزینه‌های بالا یا استفاده از مواد سمی ندارد، مزایای بسیاری نسبت به روش‌های فیزیکی و شیمیایی دارد. بیوسنتز SeNPs یک فرآیند ساده و تک مرحله‌ای است که به مواد شیمیایی سمی، دماهای بالا یا تجهیزات پیچیده نیاز ندارد و با استفاده از باکتری‌ها، جلبک‌ها، قارچ‌ها و گیاهان انجام می‌شود (۴). SeNPs قادر به تنظیم پلاریزاسیون ماکروفاژها و تقویت پاسخ‌های ایمنی ضدتومور هستند، و می‌توانند با تنظیم تولید ROS، ژن‌های ضدآپوپتوز و فعالسازی کاسپازها، سلول‌های سرطانی را نابود کنند (۹).

رزماری (Salvia rosmarinus) که به خانواده نعناعیان (Lamiaceae) تعلق دارد، گیاهی معطر و همیشه

سبز است که مانند سایر گونه‌های این خانواده در بسیاری از مناطق جهان رشد می‌کند (۱۰-۱۲). رزماری در طب‌های سنتی مختلف برای درمان کولیک کلیوی، دیسمنوره و اسپاسم‌های عضلانی مورد استفاده قرار می‌گیرد (۱۳). این گیاه می‌تواند سطح بیلی‌روبین پلاسما را کاهش داده و محتوای گلیکوژن کبدی را کنترل کند (۱۴). تاکنون فعالیت‌های دارویی متعددی از رزماری، از جمله خواص ضد تومور، ضد قارچ، ضد ویروس، ضد باکتری، ضد التهاب، ضد زخم و آنتی‌اکسیدانی گزارش شده است (۱۳-۱۵). رزماری همچنین درمانی برای مشکلات عصبی، قلبی‌عروقی، گوارشی و ادراری-تناسلی محسوب می‌شود (۱۳).

وجود ترکیبات مختلف به عنوان متابولیت‌های ثانویه گیاه مانند پلی‌فنول‌ها، فلاونوئیدها و ترپنوئیدهای معطر مسئول تنوع گسترده خواص زیستی رزماری است. این گیاه سرشار از فنول‌هایی مانند اسید کارنوسیک، اسید رزماری، و اسید کافئیک و دی‌ترپن‌های فنولی مانند کارنوسول، اسید بتولینیک و اسید اورسولیک است (۱۷، ۱۶، ۱۵، ۱۳).

با توجه به اینکه رزماری گیاهی در دسترس است که در اقلیم‌های مختلف به خوبی رشد می‌کند، و با در نظر گرفتن کاربردهای متعدد رزماری در طب سنتی و وجود ترکیبات متعدد و خواص آن، در این پژوهش سنتز سبز SeNPs با استفاده از عصاره برگ رزماری و اثرات سمیت سلولی آن بر سلول‌های سرطانی MKN45 گزارش شده است.

## مواد و روش‌ها

### سنتز SeNPs به روش سبز

در طول پژوهش، تمامی قوانین بین‌المللی اخلاق در پژوهش کار با سلول، بر اساس استانداردهای بین‌المللی رعایت گردید. در این پژوهش تجربی آزمایشگاهی، SeNPs سنتز شده به روش سبز مورد بررسی قرار گرفته‌اند. SeNPs با استفاده از یک روش سبز و با بهره‌گیری از عصاره گیاهی به‌عنوان عوامل کاهنده و پایدارکننده سنتز شدند. برگ‌های تازه گیاه رزماری (Salvia rosmarinus) جمع‌آوری شده و برای حذف آلودگی‌ها به‌طور کامل با آب مقطر شسته شدند. سپس برگ‌ها در دمای محیط خشک شده و به صورت پودر ریز آسیاب شدند. ۱۰ گرم از پودر گیاهی با ۱۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر مخلوط و به مدت ۳۰ دقیقه در دمای ۷۰ درجه سانتی‌گراد حرارت داده شد تا عصاره گیاهی تهیه شود. عصاره به‌دست‌آمده از طریق کاغذ صافی واتمن شماره ۱ (Whatman No.1) فیلتر و محلول صاف‌شده برای سنتز نانوذرات جمع‌آوری گردید.

برای سنتز SeNPs، سدیم سلنیت ($Na_2SeO_3$) (CAS number: 10102-18-8، ساخت شرکت Merck، آلمان) به‌عنوان پیش‌ماده مورد استفاده قرار گرفت. ۲۰ میلی‌لیتر از عصاره گیاهی به صورت قطره‌قطره به محلول آبی سدیم سلنیت با غلظت ۲ میلی‌مولار، تحت هم‌زدن مداوم در دمای محیط اضافه شد. مخلوط واکنش به مدت ۶ ساعت به هم‌زدن ادامه داده شد تا تغییر رنگ (نشانه تشکیل نانوذرات) مشاهده گردید. SeNPs سنتز شده با استفاده از سانتریفیوژ (مدل Eppendorf 5810 R، ساخت آلمان) در سرعت ۱۰،۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۱۵ دقیقه خالص‌سازی شدند و سپس با آب مقطر شستشو داده شدند تا پیش‌ماده‌های واکنش‌نداده حذف شوند. نانوذرات نهایی در یک آون خلا (Binder FD53، ساخت آلمان) در دمای ۵۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۸ ساعت خشک و برای آنالیزهای بعدی در ظرفی دربسته نگهداری شدند (۱۸).

### شناسایی ماهیت (SeNPs)

برای بررسی اندازه و شکل SeNPs سنتز شده، از میکروسکوپ الکترونی روبشی با تفکیک بالا (FE-SEM) (مدل Zeiss Sigma 300 ساخت آلمان) استفاده شد. برای شناسایی گروه‌های شیمیایی موجود روی سطح نانوذرات، از طیف‌سنجی تبدیل فوریه مادون قرمز (FTIR) با دستگاه Thermo Scientific Nicolet iS50 (ساخت آمریکا) استفاده شد که نشان داد نانوذرات توسط

فیتوشیمیایی‌های گیاهی پوشش داده شده‌اند. همچنین برای تعیین عناصر تشکیل‌دهنده نانوذرات، طیف‌سنجی انرژی‌پراکنده پرتو ایکس (EDS) با سیستم EDS نصب شده روی میکروسکوپ FE-SEM انجام گردید.

**تست MTT**

برای سنجش و ارزیابی اثرات سایتوتوکسیک SeNPs سنتز شده به روش سبز بر روی سلول‌های سرطانی (MKN45)، ابتدا سلول‌ها در پلیت‌های ۹۶ چاهکی با تراکم ۵۰۰۰ سلول در هر چاهک، در محیط کشت DMEM (شرکتGibco ، آمریکا) حاوی ۱۰٪ سرم جنینی گاوی (FBS) و ۱٪ آنتی‌بیوتیک-آنتی‌مایکوتیک (Sigma-Aldrich، آمریکا) کشت داده شدند و به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد و در حضور ۵٪ CO2 انکوبه شدند. سپس سلول‌ها با غلظت‌های مختلف SeNPs (۰، ۷/۸۱۲۵، ۱۵/۶۲۵، ۳۱/۲۵، ۶۲/۵، ۱۲۵، ۲۵۰ و ۵۰۰ میکروگرم در میلی‌لیتر) (۱۹) تیمار شدند و به مدت ۲۴ ساعت دیگر انکوبه شدند. پس از زمان تعیین شده، به هر چاهک ۲۰ میکرولیتر محلول MTT (با غلظت ۵ میلی‌گرم در میلی‌لیتر، Sigma-Aldrich، آمریکا) اضافه شد و پلیت‌ها به مدت ۴ ساعت در انکوباتور قرار گرفتند. سپس محیط کشت حاوی MTT خارج و به هر چاهک ۱۵۰ میکرولیتر DMSO (Sigma-Aldrich، آمریکا) اضافه گردید تا کریستال‌های فورمازان تشکیل شده حل شوند.

جذب نوری محلول در طول موج ۵۷۰ نانومتر با استفاده از اسپکتروفتومتر BioTek Synergy H1 (ساخت آمریکا) خوانده شد. برای تعیین مقدار IC50 SeNPs، ابتدا سلول‌های MKN45 با غلظت‌های مختلف نانوذرات تیمار شدند و پس از ۲۴ ساعت، میزان بقای سلول‌ها با استفاده از آزمون MTT اندازه‌گیری شد. درصد بقای سلول‌ها در هر غلظت نسبت به کنترل محاسبه گردید. سپس داده‌های بدست آمده با نرم‌افزار GraphPad Prismنسخه ۹ تحلیل و منحنی دوز-پاسخ رسم شد. مقدار IC50 به عنوان غلظتی که ۵۰ درصد کاهش بقای سلولی را ایجاد می‌کند، از منحنی استخراج گردید. تمامی آزمایش‌ها به صورت سه‌گانه انجام شدند تا دقت و قابلیت بازتولید نتایج تضمین شود.

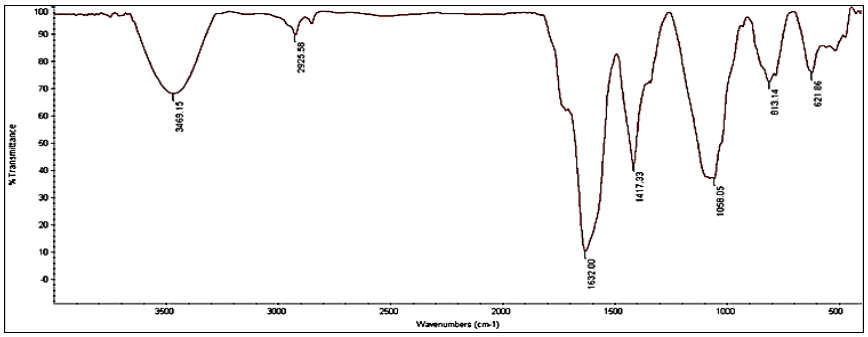
**آنالیز آماری**

جهت تجزیه و تحلیل داده‌ها از آزمون آماری تحلیل واریانس بین‌آزمودنی یکطرفه (ANOVA)، و برای مقایسه گروه‌ها با گروه کنترل از آزمون تعقیبی Dunnett استفاده شد. سطح معنی‌داری در این پژوهش $P < ۰/۰۵$ در نظر گرفته شد و نتایج به صورت میانگین ± انحراف معیار (Mean±Sd) گزارش شد.

## یافته‌ها

**ویژگی‌های SeNPs**

سنتز سبز SeNPs با استفاده از عصاره گیاه رزماری (Salvia rosmarinus) با موفقیت انجام شد که این موضوع توسط طیف‌سنجی FTIR تأیید شد (شکل ۱).




**شکل ۱. طیف FTIR نانوذرات سلنیوم سنتز شده به روش سبز با استفاده از عصاره گیاه رزماری (Salvia rosmarinus) که گروه‌های عاملی کلیدی را نشان می‌دهد و حاکی از نقش فیتوشیمیایی در پایداری نانوذرات است.**

طیف FTIR SeNPs سنتز شده به روش سبز چندین پیک مشخص را نشان داد که به گروه‌های عاملی مرتبط با فیتوشیمیایی‌هایی اشاره دارد که به تشکیل نانوذرات کمک می‌کنند.

یک پیک گسترده در $3469\ cm^{-1}$ به ارتعاشات کششی O–H مربوط است و نشان‌دهنده وجود گروه‌های هیدروکسیل در آب، الکل‌ها یا ترکیبات فنولی موجود در عصاره است.

پیک در $1632\ cm^{-1}$ به ارتعاشات کششی C=O اشاره دارد که احتمالاً از گروه‌های کربونیل موجود در پروتئین‌ها یا ترکیبات پلی‌فنولی نشأت می‌گیرد.

پیک در $1417\ cm^{-1}$ به ارتعاشات خمشی C–H در گروه‌های $-CH_2-$ یا $-CH_3$ مربوط است که احتمالاً حضور فلاونوئیدها یا ترپنوئیدها را نشان می‌دهد.

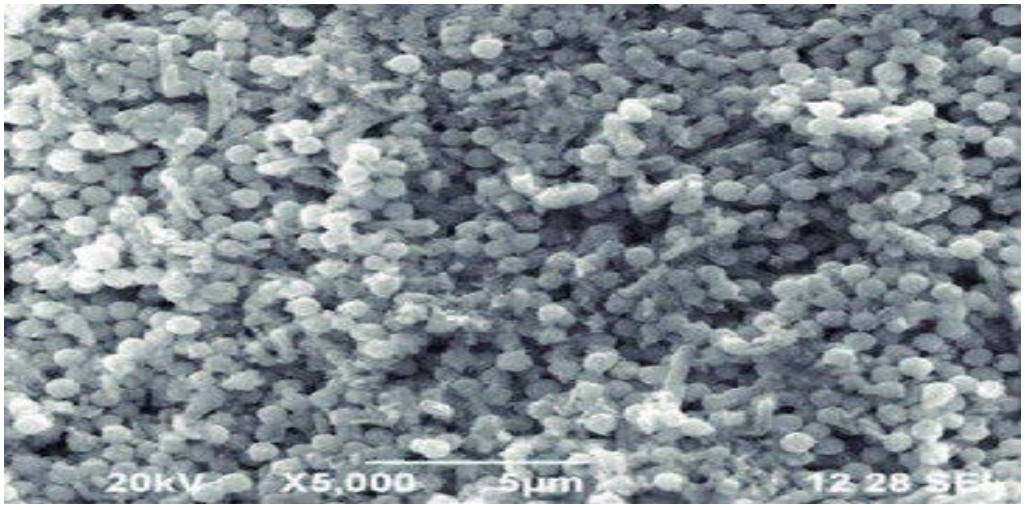
پیک در $1058\ cm^{-1}$ ارتعاش کششی C–O را نشان می‌دهد که معمولاً با الکل‌ها، اترها یا گروه‌های استری موجود در کربوهیدرات‌ها یا گلیکوزیدها مرتبط است.

ارتعاش خمشی آروماتیک C–H در $813\ cm^{-1}$ مشاهده شده است که حضور ترکیبات آروماتیک را تأیید می‌کند.

در نهایت، پیک در $621\ cm^{-1}$ به ارتعاش کششی Se–O اشاره دارد که پیوند سلنیوم-اکسیژن را تأیید می‌کند و تشکیل SeNPs را نشان می‌دهد.

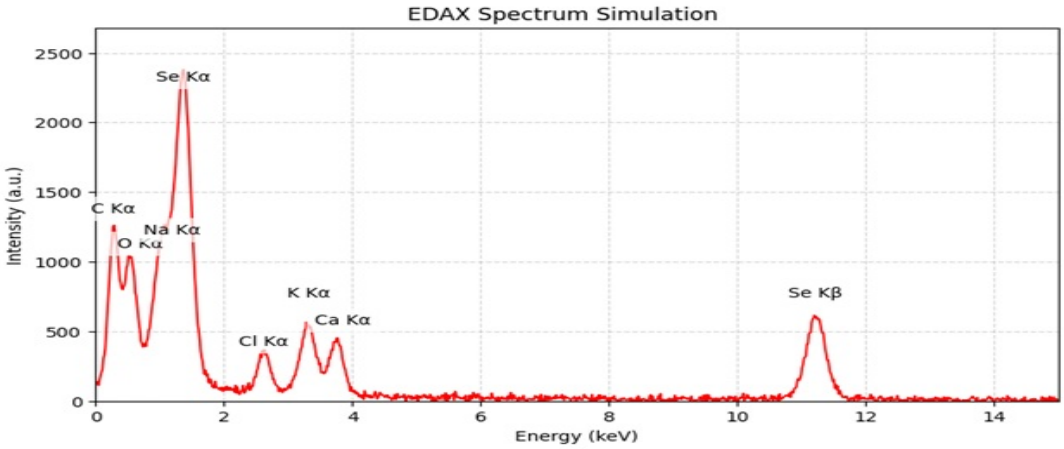
این گروه‌های عاملی نقش فیتوشیمیایی‌های موجود در عصاره گیاهی را به عنوان عوامل کاهنده و پایدارکننده در سنتز SeNPs برجسته می‌کند.

همچنین مورفولوژی SeNPs به‌صورت کروی(spherical) مشاهده می‌شوند و دارای پراکندگی نسبتاً یکنواختی هستند. این شکل کروی نشان‌دهنده سنتز موفق ذرات نانویی با روش زیستی است، که معمولاً به‌دلیل حضور ترکیبات پایدارکننده طبیعی (مثل پلی‌فنول‌ها یا پروتئین‌های گیاهی یا میکروبی) ایجاد می‌شود. با توجه به مقیاس‌سنج پایین تصویر و در نظر گرفتن اینکه تقریباً هر ذره کروی بین ۸۰ تا ۱۵۰ نانومتر قطر دارد، می‌توان نتیجه گرفت که اندازه نانوذرات در این تصویر به طور میانگین حدود ۱۰۰ نانومتر است (شکل ۲).




**شکل ۲. تصویر SEM از SeNPs سنتز شده به روش سبز که مورفولوژی یکنواخت و کروی را نشان می‌دهد.**

شناسایی SeNPs سنتز شده به روش سبز با استفاده از طیف‌سنجی انرژی‌پراکنده پرتو ایکس (EDS):




**شکل ۳. طیف EDS مربوط به SeNPs سنتز شده به روش سبز با استفاده از عصاره گیاه رزماری.**

برای تعیین ترکیب عنصری SeNPs سنتز شده به روش سبز، از آنالیز طیف‌سنجی انرژی‌پراکنده پرتو ایکس (EDS) استفاده شد که نتایج آن در شکل X نمایش داده شده است. در طیف حاصل، یک پیک بسیار قوی در حدود ۱/۳۷ کیلوالکترون‌ولت مشاهده شد که مربوط به خط Kα سلنیوم بوده و همچنین پیک دیگری در حدود ۱۱/۲ کیلوالکترون‌ولت مربوط به خط Kβ آن است که نشان‌دهنده حضور موفقیت‌آمیز عنصر سلنیوم در ساختار نانوذرات می‌باشد.

وجود پیک‌های با شدت کمتر در نواحی مربوط به اکسیژن (۰/۵۳ keV) و کربن (۰/۲۸ keV) می‌تواند نشان‌دهنده حضور ترکیبات آلی از جمله ترکیبات گیاهی حاصل از عصاره رزماری به عنوان پایدارکننده سطح باشد. همچنین، حضور عناصر سدیم، کلر، پتاسیم و کلسیم احتمالاً ناشی از ترکیبات معدنی موجود در عصاره گیاه یا یون‌های باقی‌مانده از محیط سنتز می‌باشد.

شدت بالای پیک‌های مربوط به سلنیوم، بیانگر خلوص مناسب و ترکیب موفق عنصر سلنیوم در نانوذرات تولیدشده به روش سبز بوده و مؤید کارایی بالای این روش زیست‌سازگار در تولید نانوذرات فلزی است.

## سنجش MTT

نمودار و جدول ۱ نشان‌دهنده‌ی اثر غلظت‌های مختلف SeNPs سنتز شده به روش سبز بر زنده‌مانی رده سلولی MKN45 در مقایسه با گروه کنترل است. همان‌طور که در این نمودار و جدول مشاهده می‌شود، با افزایش غلظت SeNPs ، تغییراتی در میزان زنده‌مانی سلول‌های MKN45 رخ داده است. در غلظت‌های پایین‌تر (۷/۸۱۲۵ و ۱۵/۶۲۵ میکروگرم بر میلی‌لیتر) از SeNPs، اختلاف معناداری نسبت به گروه کنترل مشاهده نشد ($P>0/05$)، به طوری که میزان زنده‌مانی سلول‌ها در این غلظت‌ها مشابه با گروه کنترل باقی مانده است. این عدم تغییر معنادار در غلظت‌های پایین‌تر ممکن است به دلیل دوز ناکافی نانوذرات برای ایجاد اثر سمی بر سلول‌ها باشد.

با این حال، با افزایش غلظت نانوذرات به ۳۱/۲۵، ۶۲/۵، ۱۲۵، ۲۵۰ و ۵۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر، میزان زنده‌مانی سلول‌ها به‌طور معناداری کاهش یافته است ($P<0/001$). این کاهش معنادار نشان می‌دهد که سلنیوم در غلظت‌های بالاتر، اثرات سمی قابل‌توجهی بر رده سلولی MKN45 دارد که منجر به کاهش قابل‌توجه زنده‌مانی سلول‌ها می‌شود. این نتایج می‌تواند به خاصیت سمیت سلنیوم بر سلول‌های سرطانی اشاره داشته باشد، این کاهش زنده‌مانی در غلظت‌های بالاتر ممکن است به دلیل اختلال در فرآیندهای سلولی خاص باشد. به‌ویژه، اثرات این نانوذرات به‌صورت وابسته به دوز مشاهده شد، به‌طوری که در غلظت‌های پایین‌تر (۷/۸۱۲۵ و ۱۵/۶۲۵ میکروگرم بر میلی‌لیتر) هیچ‌گونه اثر سمی معناداری مشاهده نشد، اما در غلظت‌های بالاتر از ۳۱/۲۵ میکروگرم بر میلی‌لیتر، کاهش قابل‌توجه زنده‌مانی سلول‌ها در مقایسه با گروه کنترل مشاهده شد. این

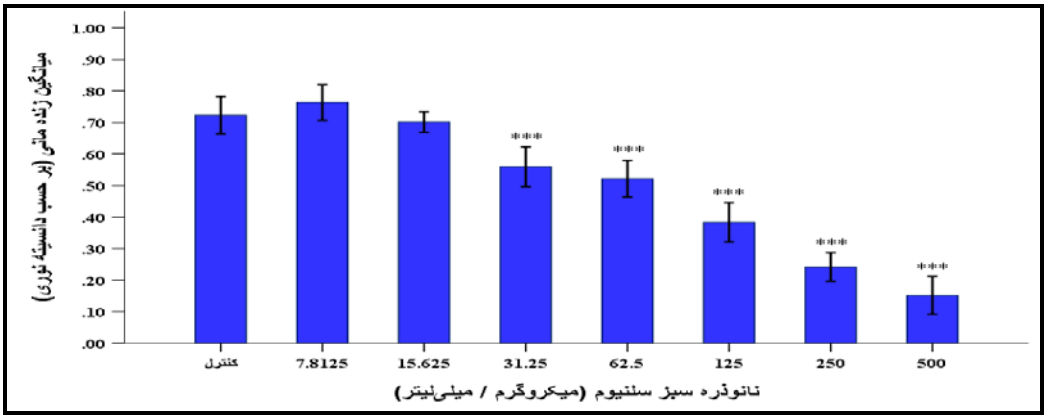
نشان می‌دهد که دوزهای بالاتر SeNPs به‌طور واضح اثرات سمی خود را بروز می‌دهند که ممکن است از طریق مکانیسم‌های مختلف باشد. از جمله اینکه SeNPs می‌تواند با افزایش تولید رادیکال‌های آزاد (ROS) و کاهش سطح آنتی‌اکسیدان‌ها در سلول‌های سرطانی، استرس اکسیداتیو ایجاد کنند. این امر می‌تواند منجر به آسیب به غشاهای سلولی، پروتئین‌ها و DNA شود و در نهایت منجر به مرگ سلولی گردد (۲۰) و یا اینکه ممکن است SeNPs با فعال‌سازی مسیرهای سیگنال‌دهی آپوپتوزی، مانند مسیرهای وابسته به کاسپاز، منجر به مرگ سلولی برنامه‌ریزی‌شده (آپوپتوز) شوند. این مسیرها می‌توانند شامل تغییرات در غشای میتوکندری، آزادسازی سیتوکروم c و فعال‌سازی کاسپازها باشند (۲۱)، و همچنین SeNPs ممکن است با تغییر در عملکرد سلولی مانند تقسیم سلولی، ساخت پروتئین‌ها و سایر فرآیندهای متابولیکی، منجر به اختلال در فرآیندهای حیاتی سلول‌ها شوند و در نهایت به کاهش زنده‌مانی آنها منتهی گردند (۲۲).

علاوه بر این، مقدار بقای سلولی با افزایش غلظت SeNPs سنتز شده به روش سبز به تدریج کاهش می‌یابد، که این روند در نمودار ۲ قابل مشاهده است. مقدار IC50 به عنوان غلظتی که منجر به ۵۰٪ مهار رشد سلول می‌شود، از منحنی دوز-پاسخ استخراج گردید و مقدار ثابتی است. این بدان معنی است که سلول‌های MKN45 در مواجهه با غلظت‌های بالاتر از نانوذرات، نسبت به سمیت نانوذره حساس‌تر شده و برای کاهش زنده‌مانی به نصف، غلظت کمتری از نانوذرات مورد نیاز است. کمترین مقدار IC50 در بالاترین غلظت نانوذره سلنیوم مشاهده شده، که بیانگر پتانسیل بالای این نانوذره در مهار رشد سلول‌های سرطانی در غلظت‌های بالا است. این یافته‌ها نشان‌دهنده‌ی تاثیر دوز-پاسخ SeNPs بر سلول‌های سرطانی بوده و کاربردهای بالقوه‌ی آن را در درمان‌های مبتنی بر نانوذرات برای مهار رشد سلول‌های سرطانی پیشنهاد می‌کند.

**جدول ۱. بررسی اثرات نانوذره سلنیوم سنتز شده به روش سبز بر میزان زنده‌مانی رده سلولی MKN45**

| نانوذره سبز سلنیوم (میکروگرم/میلی‌لیتر) | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| گروه | کنترل | (۷/۸۱۲۵) | (۱۵/۶۲۵) | (۳۱/۲۵) | (۶۲/۵) | (۱۲۵) | (۲۵۰) | (۵۰۰) |
| Mean±Sd (زنده‌مانی) | ۰/۷۲±۰/۰۵۹ | ۰/۷۶±۰/۰۵۶ | ۰/۷۰±۰/۰۳۳ | ۰/۵۶±۰/۰۶۳ | ۰/۵۲±۰/۰۵۸ | ۰/۳۸±۰/۰۶۳ | ۰/۲۴±۰/۰۴۵ | ۰/۱۵±۰/۰۶۰ |
| مقدار P | - | N.S | N.S | <۰/۰۰۱ *** | <۰/۰۰۱ *** | <۰/۰۰۱ *** | <۰/۰۰۱ *** | <۰/۰۰۱ *** |

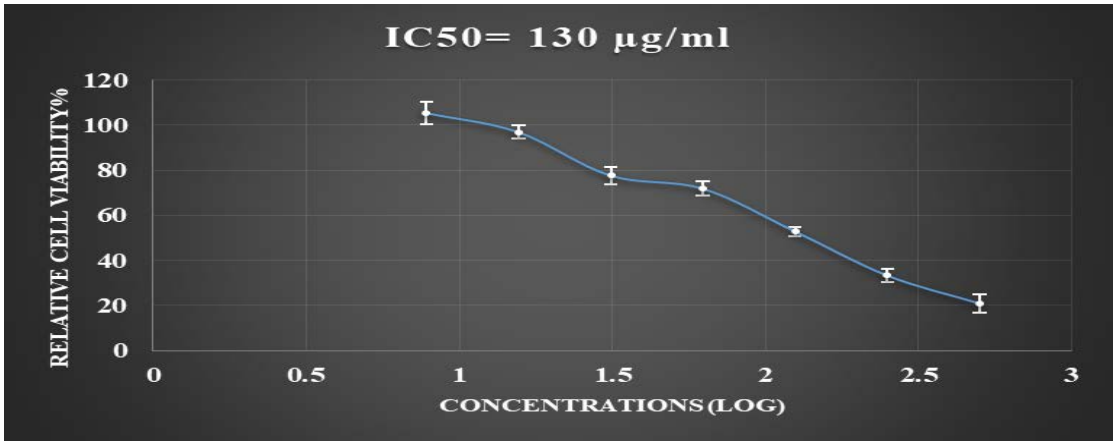
N.S نشاندهنده عدم وجود اختلاف معنادار در سطح ۵ درصد می‌باشد. مقادیر P (حاصل از آنالیز واریانس بین آزمودنی) در مقایسه با گروه کنترل بیان شده است. علامت *** بیانگر معناداری نسبت به گروه کنترل می‌باشد. (***:P<۰/۰۰۱)




**نمودار ۱. مقایسه‌ی اثرات غلظت‌های مختلف نانوذره سلنیوم سنتز شده به روش سبز بر میزان زنده‌مانی رده سلولی MKN45. (مقادیر نمودار و error bars به صورت میانگین ± انحراف معیار می‌باشد). علامت *** بیانگر معناداری نسبت به گروه کنترل می‌باشد. (***:P<۰/۰۰۱)**

**جدول ۲. غلظت IC50 محاسبه شده‌ی SeNPs سنتز شده به روش سبز در مواجهه با سلول‌های سرطانی MKN45**

| غلظت (Log) | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| غلظت | (۰/۸۹۲۸) | (۱/۱۹۳۸) | (۱/۴۹۴۹) | (۱/۷۹۵۹) | (۲/۰۹۶۹) | (۲/۳۹۷۹) | (۲/۶۹۹۰) |
| Mean±Sd | ۱۰۵/۳۷±۵/۰۲۵ | ۹۶/۹۱±۳/۰۳۰ | ۷۷/۶۲±۴/۰۲۷ | ۷۱/۸۴±۳/۰۵۲ | ۵۲/۸۴±۲/۰۵۷ | ۳۳/۳۰±۳/۰۲۳ | ۲۰/۹۰±۴/۰۳۹ |




**نمودار ۲. غلظت IC50 محاسبه شده‌ی SeNPs سنتز شده به روش سبز در مواجهه با سلول‌های سرطانی MKN45. (مقادیر نمودار و error bars به صورت میانگین ± انحراف معیار می‌باشد)**

## بحث و نتیجه‌گیری

سرطان معده یکی از چالش‌های بزرگ بهداشتی در سطح جهان است که به دلیل تشخیص در مراحل پیشرفته و نرخ بالای مرگ و میر، نیاز مبرمی به یافتن درمان‌های جدید و مؤثر دارد (۱). در این مطالعه، SeNPs که به روش سنتز سبز تولید شده‌اند، به‌عنوان یک رویکرد نوآورانه در مقابله با سلول‌های سرطانی MKN45 مورد ارزیابی قرار گرفتند. نتایج نشان‌دهنده اثرات سمیت سلولی قابل‌توجه این نانوذرات بر سلول‌های سرطانی MKN45 است، به ویژه در آدنوکارسینومای معده، که یکی از شایع‌ترین انواع این بیماری محسوب می‌شود. اهمیت این یافته در آن است که سنتز سبز SeNPs نه تنها به عنوان یک روش سازگار با محیط زیست شناخته می‌شود (۲)، بلکه امکان تولید مواد نانو با ویژگی‌های ضدسرطانی برجسته را نیز فراهم می‌آورد. استفاده از نانوذرات در درمان سرطان، به ویژه در سیستم‌هایی با توانایی هدف‌گیری سلول‌های سرطانی بدون آسیب به بافت‌های سالم، می‌تواند راهکار جدیدی در درمان‌های هدفمند باشد و اثرات جانبی ناشی از شیمی‌درمانی‌های سنتی را کاهش دهد (۳). این نتایج، مسیرهای جدیدی را برای توسعه درمان‌های نانوفناوری در سرطان معده ارائه می‌دهد و به بهبود نتایج درمانی بیماران کمک خواهد کرد.

نتایج حاصل از این مطالعه نشان داد که SeNPs سنتز شده به روش سبز، به دلیل داشتن ترکیبات فنولی و پلی-فنلی، فلاونوئیدها و همچنین ترکیبات آروماتیک دارای ماهیت و خواص آنتی‌اکسیدانی و ضدسرطانی می‌باشد. به طوریکه مطالعات مختلف نشان داده‌اند که سلنیوم خواص آنتی‌اکسیدانی دارد و می‌تواند از سلول‌ها در برابر استرس اکسیداتیو، که با پیشرفت سرطان مرتبط است، محافظت کند. علاوه بر این، سلنیوم فرآیندهای حیاتی سلولی مانند آپوپتوز، ترمیم DNA، و تنظیم سیستم ایمنی را تحت تأثیر قرار می‌دهد که همه برای حفظ یکپارچگی سلولی و جلوگیری از تغییرات بدخیم ضروری هستند و همچنین به دلیل ویژگی‌های ضدباکتریایی، ضدسرطانی، و آنتی‌اکسیدانی نقش حیاتی در نانوداروسازی دارند (۲۴، ۲۳).

در این مطالعه، اثرات سمیت سلولی SeNPs سنتز شده سبز بر سلول‌های سرطانی معده مورد بررسی قرار گرفت. نانوذرات با استفاده از روش سنتز سبز تولید شدند که هدف آن ایجاد ترکیبات زیست سازگار با خواص

ضدسرطان بود (۲۵). این رویکرد بر اثرات این نانوذرات بر رشد سلول‌های سرطانی معده، به ویژه آدنوکارسینوم معده، یکی از شایع‌ترین انواع سرطان معده متمرکز بود (۲۶). یافته‌ها نشان داد که این نانوذرات دارای اثرات سمیت سلولی قوی بر سلول‌های سرطانی معده هستند و می‌توانند به عنوان درمانی نوین و مؤثر در مراحل پیشرفته بیماری که درمان‌های رایج کمتر پاسخگو هستند، مطرح شوند. (۲۸، ۲۷).

علیرغم نتایج امیدوار کننده‌ای که در مطالعه اثرات سمیت سلولی SeNPs سنتز شده سبز بر سلول‌های سرطانی معده به دست آمده است، برخی محدودیت‌ها و چالش‌هایی وجود دارد که نباید نادیده گرفته شوند. اولاً، سرطان معده، به ویژه آدنوکارسینوم معده، یک بیماری چند عاملی است. به دلیل تنوع بافت‌شناسی و تفاوت‌های اپیدمیولوژیک بین بیماران، اثربخشی SeNPs ممکن است در همه موارد به طور یکنواخت کار نکند. علاوه بر این، مکانیسم دقیق عمل هلیکوباکترپیلوری، علت اصلی سرطان معده، هنوز به طور کامل مشخص نشده است، که نشان دهنده پیچیدگی‌های بالقوه مرتبط با نقش SeNPs در مهار پیشرفت این عامل است. به هر حال، علیرغم کاهش شیوع سرطان معده در برخی مناطق، در میان جمعیت جوان، به ویژه در ایالات متحده، افزایش یافته است. این روند نشان می‌دهد که عوامل ناشناخته دیگر نیز ممکن است به شکل گیری و پیشرفت بیماری کمک کنند که ممکن است به درمان‌های مبتنی بر فناوری نانو متفاوت پاسخ دهند. بنابراین، در حالیکه SeNPs پتانسیل قابل توجهی در درمان سرطان معده دارند، مطالعات بیشتر برای درک بهتر اثربخشی و ایمنی آنها در شرایط مختلف و گروه‌های جمعیتی ضروری است (۲۹). SeNPs پتانسیل درمانی امیدوار کننده‌ای در درمان سرطان معده از طریق مکانیسم های متعدد نشان داده‌اند. یکی از اثرات کلیدی SeNPs، سیتوتوکسیسیت انتخابی آنها است، زیرا آنها می‌توانند آپوپتوز را به طور خاص در سلول‌های سرطانی ایجاد کنند در حالیکه سلول‌های طبیعی را نجات می‌دهند. این سمیت انتخابی عمدتاً به اختلال عملکرد میتوکندری در سلول‌های سرطانی نسبت داده می‌شود که گونه‌های اکسیژن واکنش پذیر (ROS) را تولید می‌کند و مسیرهای آپوپتوتیک را ایجاد می‌کند (۳۱، ۳۰). علاوه بر این، SeNPs نقش مهمی در تنظیم ایمنی با افزایش فعالیت سلول‌های ایمنی مانند ماکروفاژها و سلول‌های قاتل طبیعی (NK) بازی می‌کند و پاسخ ایمنی را که به طور مؤثر سلول‌های سرطانی معده را هدف قرار می‌دهد، ترویج می‌دهد (۳۲). مطالعات همچنین نشان می‌دهد که SeNPs می‌تواند باعث توقف چرخه سلولی شود، به ویژه در مرحله G2/M، و در نتیجه از تکثیر سلول‌های سرطانی جلوگیری کند (۳۳). اندازه و خواص سطحی SeNPs بیشتر بر اثربخشی آنها تأثیر می‌گذارد، با نانوذرات کوچکتر که جذب سلولی بالاتر و اثربخشی درمانی را نشان می‌دهند (۳۴). علاوه بر این، ترکیب SeNPs با سایر عوامل، مانند اسید فولیک، هدف گیری و اثرات سمیت سلولی آنها را بر روی سلول‌های سرطانی افزایش می‌دهد (۳۵). به‌طور کلی، ویژگی‌های منحصر به‌فرد SeNPs آنها را به گزینه‌ای امیدبخش برای درمان سرطان معده تبدیل می‌کند. تحقیقات آتی می‌توانند با تمرکز بر بهینه‌سازی فرمولاسیون این نانوذرات و بررسی دقیق‌تر مکانیسم‌های مولکولی دخیل در عملکرد آنها، راه را برای کاربردهای بالینی هموارتر سازند.

این مطالعه تجربی در محدوده آزمایشگاهی و بر روی سلول‌های سرطانی MKN45 انجام شده است، که SeNPs سنتز شده به روش سبز بر آنها تأثیر گذاشته‌اند. نانوذرات با استفاده از عصاره گیاهی سنتز شده و سپس اثرات سایتوتوکسیک آنها با روش MTT ارزیابی شد.

محدودیت‌های این مطالعه شامل این موارد است: اولاً، نتایج تنها بر اساس مدل‌های سلولی به دست آمده و ممکن

است در شرایط درون‌بدنی (in vivo) به طور مشابه مؤثر نباشد. ثانیاً، تنوع بافت‌شناسی و ویژگی‌های اپیدمیولوژیک در بیماران مبتلا به سرطان معده می‌تواند تأثیر نانوذرات را به طور متفاوتی نشان دهد و نتایج حاصل از این مطالعه قابل تعمیم به همه موارد نیست. همچنین، مکانیسم دقیق عمل هلیکوباکترپیلوری که به عنوان عامل اصلی سرطان معده شناخته می‌شود، هنوز به طور کامل روشن نیست و ممکن است با این نانوذرات به خوبی مهار نشود. علاوه بر این، اثرات جانبی و ایمنی SeNPs بر روی سلول‌های طبیعی بدن نیز نیاز به تحقیقات بیشتری دارد تا از ایمنی کامل آن اطمینان حاصل شود.

یافته‌های این مطالعه نشان داد که SeNPs سنتز شده به روش سبز دارای اثرات سمی قابل‌توجهی بر سلول‌های سرطانی MKN45 هستند. این نانوذرات در غلظت‌های مختلف، به‌ویژه در غلظت‌های بالا، توانستند به‌طور مؤثری بقای سلولی را کاهش داده و روند تکثیر سلول‌های آدنوکارسینوم معده را مهار کنند. سنتز این نانوذرات با استفاده از عصاره گیاهی منجر به تولید ترکیبات زیست‌سازگار با خواص ضدسرطانی شد که می‌توانند آپوپتوز را در سلول‌های سرطانی القا کرده و در عین حال سلول‌های طبیعی را حفظ کنند. همچنین، اثرات سایتوتوکسیک مشاهده‌شده با آزمون MTT تأیید شد. این نتایج بیانگر پتانسیل بالای SeNPs در طراحی داروهای هدفمند ضدسرطان معده است. با این وجود، برای استفاده بالینی از این نانوذرات، انجام مطالعات گسترده‌تر در مدل‌های حیوانی و انسانی برای بررسی اثربخشی و ایمنی آنها ضروری است.

## تشکر و قدردانی

بدین وسیله از همه کسانی که در اجرای این تحقیق یاریگر محققان این پژوهش بودند، تقدیر و تشکر به عمل می‌آید.

## تعارض منافع

نویسندگان اعلام می‌دارند که هیچگونه تعارض منافع مرتبط با این پژوهش ندارند.

## حمایت مالی

این پژوهش هیچگونه حمایت مالی از نهادهای دولتی و یا خصوصی نداشته است.

## مشارکت نویسندگان

طراحی مطالعه و ایده اولیه: رحیم احمدی؛ جمع‌آوری داده‌ها: پرند ترابی پاریزی؛ آنالیز آماری: نوشین امینی؛ نگارش دستنویس اولیه مقاله: پرند ترابی پاریزی، حمیده سیاحی، یاسمن علی‌یان، نوشین امینی؛ تایید نسخه نهایی مقاله: تمامی نویسندگان.

## ملاحظات اخلاقی

این مطالعه مورد تایید انجمن بین المللی دانشمندان قرار گرفته است و دارای کد اخلاق به شماره : Ref. IASRPGNPGCC.24.5) می باشد.

## References


1. Guan WL, He Y, Xu RH. Gastric cancer treatment: recent progress and future perspectives. J Hematol Oncol. 2023;16(1):57. DOI: 10.1186/s13045-023-01451-3
2. Karimi P, Islami F, Anandasabapathy S, Freedman ND, Kamangar F. Gastric cancer: descriptive epidemiology, risk factors, screening, and prevention. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev. 2014;23(5):700-13. DOI: 10.1158/1055-9965.epi-13-1057
3. Waldum H, Fossmark R. Gastritis, gastric polyps and gastric cancer. Int J Mol Sci. 2021;22(12):6548. DOI: 10.3390/ijms22126548
4. Mikhailova EO. Selenium nanoparticles: green synthesis and biomedical application. Molecules. 2023;28(24):8125. DOI: 10.3390/molecules28248125
5. Karthik KK, Cheriyan BV, Rajeshkumar S, Gopalakrishnan M. A review on selenium nanoparticles and their biomedical applications. Biomed Technol. 2024;6:61-74. DOI: 10.1016/j.bmt.2023.12.001
6. Chen T, Wong YS, Zheng W, Bai Y, Huang L. Selenium nanoparticles fabricated in Undaria pinnatifida polysaccharide solutions induce mitochondria-mediated apoptosis in A375 human melanoma cells. Colloids Surf B Biointerfaces. 2008;67(1):26-31. DOI 10.1016/j.colsurfb.2008.07.010
7. Duncan TV. Applications of nanotechnology in food packaging and food safety: barrier materials, antimicrobials and sensors. J Colloid Interface Sci. 2011;363(1):1-24. DOI: /10.1016/j.jcis.2011.07.017
8. Bissardon C, Proux O, Gazze SA, Filhol O, Toubhans B, Sauzéat L, et al. Intracellular fate of sub-toxic concentration of functionalized selenium nanoparticles in aggressive prostate cancer cells. Nanomaterials. 2023;13(23):2999. DOI: 10.3390/nano13232999
9. Lin W, Zhang J, Xu JF, Pi J. The advancing of selenium nanoparticles against infectious diseases. Front Pharmacol. 2021;12:682284. DOI: 10.3389/fphar.2021.682284
10. Risaliti L, Kehagia A, Daoultzi E, Lazari D, Bergonzi MC, Vergkizi-Nikolakaki S, et al. Liposomes loaded with Salvia triloba and Rosmarinus officinalis essential oils: In vitro assessment of antioxidant, antiinflammatory and antibacterial activities. J Drug Deliv Sci Technol. 2019;51:493-8. DOI: 10.1016/j.jddst.2019.03.034
11. Annemer S, Farah A, Stambouli H, Assouguem A, Almutairi MH, Sayed AA, et al. Chemometric investigation and antimicrobial activity of Salvia rosmarinus Spenn essential oils. Molecules. 2022;27(9):2914. DOI: 10.3390/molecules27092914
12. Leporini M, Bonesi M, Loizzo MR, Passalacqua NG, Tundis R. The essential oil of Salvia rosmarinus Spenn. from Italy as a source of health-promoting compounds: Chemical profile and antioxidant and cholinesterase inhibitory

activity. Plants. 2020;9(6):798. DOI: 10.3390/plants9060798
13. de Macedo LM, Santos ÉM, Militão L, Tundisi LL, Ataide JA, Souto EB, et al. Rosemary (Rosmarinus officinalis L., syn Salvia rosmarinus Spenn.) and its topical applications: A review. Plants. 2020;9(5):651. DOI: 10.3390/plants9050651
14. Bahri S, Ben Ali R, Abdennabi R, Ben Said D, Mlika M, Ben Fradj MK, et al. Comparison of the protective effect of Salvia officinalis and Rosmarinus officinalis infusions against hepatic damage induced by hypotermic-ischemia in Wistar rats. Nutr Cancer. 2020;72(2):283-92. DOI: 10.1080/01635581.2019.1631359
15. Flamini G, Najar B, Leonardi M, Ambryszewska KE, Cioni PL, Parri F, et al. Essential oil composition of Salvia rosmarinus Spenn. wild samples collected from six sites and different seasonal periods in Elba Island (Tuscan Archipelago, Italy). Nat Prod Res. 2022;36(7):1919-25. DOI: 10.1080/14786419.2020.1824229
16. Veenstra JP, Johnson JJ. Rosemary (Salvia rosmarinus): Health-promoting benefits and food preservative properties. Int J Nutr. 2021;6(4):1-10. Link
17. Brindisi M, Bouzidi C, Frattaruolo L, Loizzo MR, Tundis R, Dugay A, et al. Chemical profile, antioxidant, anti-inflammatory, and anti-cancer effects of Italian Salvia rosmarinus Spenn. methanol leaves extracts. Antioxidants. 2020;9(9):826. DOI: 10.3390/antiox9090826
18. Torabi PP, Hamidzade MS, Ahmadi R, Amini N. The synthesis of selenium nanoparticles using green methods and their cytotoxic effects on non-cancerous embryonic kidney cells. Int J BioMed Insights. 2024;1(3):56-63. Link
19. Beigi S, Salehzadeh A, Habibbollahi H, Shandiz SA, Safa F. The effect of ZnO nanoparticles functionalized with glutamic acid and conjugated with thiosemicarbazide on the expression of bax, caspase-3, and bcl-2 genes in adenocarcinoma gastric (AGS) cell line. J Animal Biol. 2022;14(4):37-50. Link
20. Mehrbakhsh Bandari MA, Asadpour L, Pourahmad A. Antibacterial effect of synthetized selenium nanoparticles and ampicillin-selenium nanoparticles against clinical isolates of methicillin resistant staphylococcus aureus. Iranian J Med Microbiol. 2018;11(6):184-91. Link
21. Hasani S, Sadat Shandiz SA, Pakpour B. Cytotoxicity and apoptotic effects of selenium nanoparticles toward HT29 colon cancer cells. J Cell Tissue. 2024;15(3):190-202. DOI: 10.61186/JCT.15.3.190
22. Rasouli Shouraki M. Biosynthesis of selenium nanoparticles and investigation of their biological properties. [Thesis]. Kerman: Shahid Bahonar University of Kerman; 2016.
23. Tian J, Wei X, Zhang W, Xu A. Effects of selenium nanoparticles combined with radiotherapy on lung cancer cells. Front

Bioeng Biotechnol. 2020;8:598997. DOI: 10.3389/fbioe.2020.598997

24. Varlamova EG, Goltyaev MV, Mal'tseva VN, Turovsky EA, Sarimov RM, Simakin AV, et al. Mechanisms of the cytotoxic effect of selenium nanoparticles in different human cancer cell lines. Int J Mol Sci. 2021;22(15):7798. DOI: 10.3390/ijms22157798
25. Hnamte M, Pulikkal AK. Biocompatible polymeric nanoparticles as carriers for critical anticancer phytochemicals. European Polymer J. 2024;202:112637. DOI: 10.1016/j.eurpolymj.2023.112637
26. Malik MA, Hashmi AA, Al-Bogami AS, Wani MY. Harnessing the power of gold: advancements in anticancer gold complexes and their functionalized nanoparticles. J Mater Chem B. 2024;12(3):552-76. DOI: 10.1039/d3tb01976d
27. Qi L, Pan T, Ou L, Ye Z, Yu C, Bao B, et al. Biocompatible nucleus-targeted graphene quantum dots for selective killing of cancer cells via DNA damage. Communications Biol. 2021;4(1):214. DOI: 10.1038/s42003-021-01713-1
28. Shrihastini V, Muthuramalingam P, Adarshan S, Sujitha M, Chen JT, Shin H, et al. Plant derived bioactive compounds, their anti-cancer effects and in silico approaches as an alternative target treatment strategy for breast cancer: An updated overview. Cancers. 2021;13(24):6222. DOI: 10.3390/cancers13246222
29. Keshtmand Z, Khademian E, Jafroodi PP, Abtahi MS, Yaraki MT. Green synthesis of selenium nanoparticles using Artemisia chamaemelifolia: toxicity effects through regulation of gene expression for cancer cells and bacteria. Nano-Struct Nano-Objects. 2023;36:101049. DOI: 10.1016/j.nanoso.2023.101049
30. Wang R, Ha KY, Dhandapani S, Kim YJ. Biologically synthesized black ginger-selenium nanoparticle induces apoptosis and autophagy of AGS gastric cancer cells by suppressing the PI3K/Akt/mTOR signaling pathway. J Nanobiotechnology. 2022;20(1):441. DOI: 10.1186/s12951-022-01576-6
31. Liu W, Li X, Wong YS, Zheng W, Zhang Y, Cao W, et al. Selenium nanoparticles as a carrier of 5-fluorouracil to achieve anticancer synergism. ACS nano. 2012;6(8):6578-91. DOI: 10.1021/nn202452c
32. Chen G, Yang F, Fan S, Jin H, Liao K, Li X, et al. Immunomodulatory roles of selenium nanoparticles: Novel arts for potential immunotherapy strategy development. Front Immunol. 2022;13:956181. DOI: 10.3389/fimmu.2022.956181
33. Almanghadim HG, Nourollahzadeh Z, Khademi NS, Tezerjani MD, Sehrig FZ, Estelami N, et al. Application of nanoparticles in cancer therapy with an emphasis on cell cycle. Cell Biol Int. 2021;45(10):1989-98. DOI: 10.1002/cbin.11658

therapy by folic acid-modified selenium nanoparticles. Int J Mol Sci. 2018;19(11):3582. DOI: 10.3390/ijms19113582

34. Yu B, Zhang Y, Zheng W, Fan C, Chen T. Positive surface charge enhances selective cellular uptake and anticancer efficacy of selenium nanoparticles. Inorg Chem. 2012;51(16):8956-63. DOI: 10.1021/ic301050v
35. Xia Y, Xu T, Zhao M, Hua L, Chen Y, Wang C, et al. Delivery of doxorubicin for human cervical carcinoma targeting