

Evaluation of the Anti-cancer Effect of Nano-based Compound of Farnesiferol C on Cancerous Gastric Cell Lines

Received: 5 May 2015

Revised: 7 Jun 2015

Accepted: 13 Jun 2015

ABSTRACT

Esmail Babaei^{1*}
Manuchehr Ghojaie²
Zohre Aas³
Mohammadali Hosseinpour
Feizi⁴

¹Assistant Prof. in Molecular Genetics, Dept. of Animal Biology, School of Natural Sciences, University of Tabriz, Tabriz, Iran.

²Associate Prof. in Biochemistry, Dept. of Molecular Biology, School of Basic Sciences, Azad University of Bonab, Bonab, Iran.

³MSc in Genetics, Dept. of Animal Biology, School of Natural Sciences, University of Tabriz, Tabriz, Iran.

⁴Professor in Radiobiology, Dept. of Animal Biology, School of Natural Sciences, University of Tabriz, Tabriz, Iran.

*Corresponding Author:

Esmail Babaei
Tel: (+98)4133392686
e-mail: babaei@tabrizu.ac.ir

Background: Farnesiferol C, a sesquiterpene coumarin, is one of the biologically active compounds extracted from the roots of *Ferula Szowitziana* and shows different anti-cancer properties such as anti-proliferation and apoptosis induction. However, the solubility and bioavailability of this phytochemical is poor in vivo and in vitro. Dendrosome nanoparticles could improve the solubility of Farnesiferol C and hence its anti-cancer properties. The aim of current study was based on improving the solubility of Farnesiferol C by taking advantage of dendrosome nanoparticles; and subsequently evaluating its cytotoxic effect against gastric adenocarcinoma.

Materials and Methods: The cytotoxic effect of dendrosomal Farnesiferol C was investigated on AGS cells by MTT assay. The cells were then incubated with fresh medium containing serial concentrations of Farnesiferol C (0 to 150 μ M) in the form of dendrosomal and void Farnesiferol C for 24 and 48h. Afterward, the toxicity of this botanic compound and its IC₅₀ were measured. Data were analyzed by regression & t-test.

Results: The data illustrate a reverse and significant relation between dendrosomal Farnesiferol C and void Farnesiferol C variables ($P < 0.001$). Also, cytotoxic effect of dendrosomal Farnesiferol C on AGS cells was much more than free Farnesiferol C and affected in low concentrations ($P < 0.05$).

Conclusion: The results showed that dendrosomal Farnesiferol C could be an appropriate and safe anti-cancer phytochemical that demands molecular evaluation of its anti-tumor effect on different cancerous and normal cell lines.

Keywords: farnesiferol C, dendrosome, cancer, coumarin

بررسی اثر ضد سرطانی ترکیب نانویی فارنسیفرول C روی سلول‌های سرطانی معده

تاریخ دریافت: ۱۵ اردیبهشت ۱۳۹۴ تاریخ اصلاح: ۱۷ خرداد ۱۳۹۴ تاریخ پذیرش: ۲۳ خرداد ۱۳۹۴

چکیده

اسماعیل بابائی^{*۱}

منوچهر قوجائی^۲

زهره آس^۳

محمدعلی حسینیپورفیضی^۴

^۱استادیار گروه علوم جانوری، دکترای ژنتیک مولکولی، دانشکده علوم طبیعی، دانشگاه تبریز، تبریز، ایران.

^۲استادیار گروه زیست‌شناسی سلولی و مولکولی، دکترای بیوشیمی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه آزاد بناب، بناب، ایران.

^۳دانشجوی کارشناسی ارشد ژنتیک، گروه علوم جانوری، دانشکده علوم طبیعی، دانشگاه تبریز، تبریز، ایران.

^۴استاد گروه علوم جانوری، دکترای رادیوبیولوژی، دانشکده علوم طبیعی، دانشگاه تبریز، تبریز، ایران.

* نویسنده مسئول:

اسماعیل بابائی

تلفن: ۰۲۱۳۳۳۹۲۶۸۶ (+۹۸)

پست الکترونیک:

babaei@tabrizu.ac.ir

مقدمه: فارنسیفرول C یکی از ترکیبات بیولوژیکی فعال مستخرج از ریشه گیاه *Ferula szowitziana* می‌باشد که دارای اثرات ضدسرطانی متعددی از جمله مهار تکثیر سلولی و فعال‌سازی آپوپتوز است. با این حال، این ترکیب گیاهی محلولیت و زیست‌ماندگاری ضعیفی در محیط‌های *in vitro* و *in vivo* دارد. نانوذرات دندروزیومی قادر به بالا بردن پایداری ترکیبات هیدروفوب گیاهی از جمله کومارین و در نتیجه خواص ضدسرطانی آن‌ها می‌باشند. هدف از مطالعه حاضر، افزایش محلولیت و سمیت فارنسیفرول C از طریق به کارگیری نانوذرات دندروزوم و به دنبال آن ارزیابی اثرات سیتوتوکسیکی آن روی سلول‌های سرطانی آدنوکارسینومای معده می‌باشد.

مواد و روش‌ها: سمیت سلولی ترکیب دندروزیومی فارنسیفرول C در مقایسه با فرم آزاد آن روی سلول‌های AGS مورد بررسی قرار گرفت. بدین منظور، سلول‌های AGS در محدوده غلظتی $0-150 \mu\text{M}$ از فارنسیفرول C و در بازه‌های زمانی ۲۴ و ۴۸ ساعت تحت تأثیر قرار گرفتند و با استفاده از تست MTT میزان سمیت آن‌ها به صورت IC_{50} ارزیابی گردید. داده‌ها با استفاده از برنامه آماری رگرسیون و t-test تجزیه و تحلیل شدند.

یافته‌ها: داده‌های به دست آمده نشان داد که بین دو متغیر غلظت فارنسیفرول C و درصد سلول‌های زنده رابطه معکوس و معنی‌داری وجود دارد ($P \leq 0/001$). همچنین، اثر کشندگی نوع دندروزیومی فارنسیفرول C در مقایسه با فرم آزاد آن روی سلول‌های سرطانی AGS به مراتب بیشتر بوده و در دوزهای پایین‌تری باعث مرگ سلول‌ها شده است ($P \leq 0/05$).

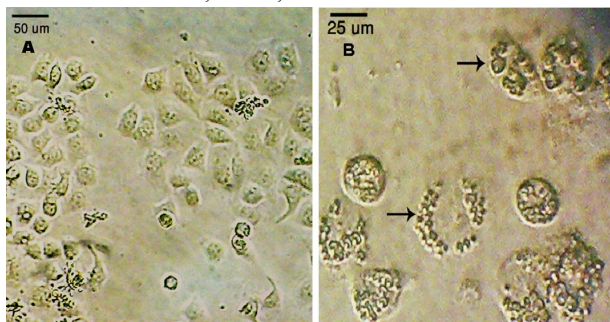
نتیجه‌گیری: نتایج اولیه به دست آمده از این تحقیق نشان می‌دهد که فارنسیفرول C می‌تواند کاندیدای دارویی مناسب و بی‌خطری در جهت از بین بردن سلول‌های سرطانی محسوب شود که نیازمند تأیید مولکولی سمیت آن در سطح سلول‌های مختلف سرطانی و نرمال می‌باشد.

کلید واژه‌ها: فارنسیفرول C، دندروزوم، سرطان، کومارین

مقدمه

ضد HIV و ضد توموری می‌باشند [۱]. گونه‌های مختلف *Ferula* از خانواده Apiaceae مانند آنقوزه و کوما که به‌عنوان داروهای بومی در درمان درد معده، تشنج و غیره استفاده می‌شوند منابع غنی از کومارین و سزکوئی‌ترین کومارین‌ها می‌باشند [۲]. در راستای تحقیق برای یافتن ترکیبات جدید ضدسرطان کومارین‌ها به‌عنوان خانواده بزرگی از ترکیبات طبیعی بسیار مورد توجه قرار گرفته‌اند. فارنسیفرول C یکی از سزکوئی‌ترین کومارین‌ها است که از ریشه

کومارین (۱ و ۲- بنزوپیرون) و همه ترکیبات مشتق از آن جزء ترکیبات فنلی و یکی از فراوان‌ترین متابولیت‌های ثانویه گیاهان می‌باشند که به علت داشتن عطر شیرین، از دوران عهد باستان به‌عنوان مواد معطر استفاده می‌شده‌اند. این ترکیبات طیف وسیعی از فعالیت‌های بیولوژیکی را در انسان نشان می‌دهند. از جمله، دارای فعالیت‌های ضد باکتریایی، ضد انعقادی، ضدالتهاپی، ضد اکسیدانی،



شکل ۱: مورفولوژی سلول‌های AGS (A) قبل از تیمار (بزرگ‌نمایی) (B) ۴۸ ساعت بعد از تیمار با ۸۰ میکرومولار فارنسیفرول (۲۰×) (C) دندروزی (بزرگ‌نمایی ۴۰×). علامت فلش وزیکوله شدن سلول‌ها و مرگ آنها را نشان می‌دهد.

کشت کامل کشت داده شدند. سپس سلول‌ها در محدوده غلظتی $150-0 \mu\text{M}$ از فارنسیفرول C در دو فرم نانو و آزاد و در بازه‌های زمانی ۲۴ و ۴۸ ساعت تحت تیمار قرار گرفتند. پس از گذشت بازه‌های زمانی در نظر گرفته شده، به هر خانه $20 \mu\text{l}$ از محلول MTT (5mg/ml) اضافه گردید. به منظور متابولیزه شدن رنگ و ایجاد بلورهای فورمازان توسط سلول‌های زنده، پلیت‌ها به مدت چهار ساعت در انکوباتور CO_2 دار قرار داده شدند. سپس پلیت‌ها را از انکوباتور بیرون آورده و محیط حاوی MTT از خانه‌ها خارج گردید. در ادامه، به هر خانه مقدار 200cc از حلال DMSO اضافه گردید. شدت رنگ چاهک‌ها معیاری از زنده ماندن سلول‌ها می‌باشد. جذب خانه‌ها در طول موج 570nm توسط دستگاه ELISA reader (BioTek, U.S.A) اندازه‌گیری شد.

تجزیه و تحلیل آماری: برای آنالیز رابطه بین متغیرهای مقدار غلظت ترکیب فارنسیفرول C و درصد سلول‌های زنده، از آزمون رگرسیون استفاده گردید. همچنین برای تعیین قدرت سمیت فرم نانوئی فارنسیفرول نسبت به فرم آزاد آن، از آزمون t-test برای غلظت ۸۰ میکرومولار (غلظت IC_{50} فرم دندروزی) استفاده گردید. سطح معنی‌داری، کمتر از 0.05 در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

نتایج به‌دست‌آمده بیانگر اثر معنی‌دار نانوذره دندروزیوم در بالا بردن محلولیت، جذب و سمیت سلولی فارنسیفرول C می‌باشد. همان‌طور که شکل B-۱ نشان می‌دهد سلول‌های تیمار شده با فارنسیفرول C دندروزیومی بعد از ۲۴ ساعت شکل طبیعی خود را از دست داده و فرم ویزیکولی به خود گرفته‌اند که نشان از مرگ آن‌ها می‌باشد. درصد سلول‌های زنده، متأثر از مدت‌زمان تیمار و غلظت افزایشی فارنسیفرول C دندروزیومی می‌باشد (شکل ۲).

Ferula szowitziana استخراج شده است. خواص ضد توموری، ضد باکتریایی و ضد رگ زائی این ترکیب نشان داده شده است [۳]. با وجود اهمیت ترکیبات گیاهی در طب سنتی و استفاده گسترده از آن‌ها در درمان بیماری‌های مزمن از جمله سرطان، اغلب این ترکیبات در محیط‌های آبی و فیزیولوژیک بدن نامحلول بوده زیست ماندگاری و جذب ضعیفی دارند [۴-۶]. امروزه برای افزایش محلولیت داروهای گیاهی در مایعات بدن و به تبع آن افزایش اثرات درمانی‌شان، از ترکیبات مختلفی از جمله میسل‌ها و لیپوزوم‌ها استفاده می‌شود. دندروزیوم‌ها نسل جدیدی از ناقلین هم‌بسیار و خود متجمع هستند که در تحقیقات گذشته این گروه، برای بالا بردن پایداری و خاصیت ضد سرطانی کورکومین در سطح *in vitro* و *in vivo* مورد استفاده قرار گرفته‌اند [۷]. در مقایسه با سایر ناقلین دارویی، دندروزیوم‌ها از مزایای متعددی از قبیل پایداری، عدم سمیت و زیست‌تخریب‌پذیری برخوردارند [۸-۱۰]. هدف از مطالعه حاضر، افزایش محلولیت و سمیت فارنسیفرول C روی سلول‌های سرطانی از طریق به‌کارگیری نانوذرات دندروزیوم می‌باشد.

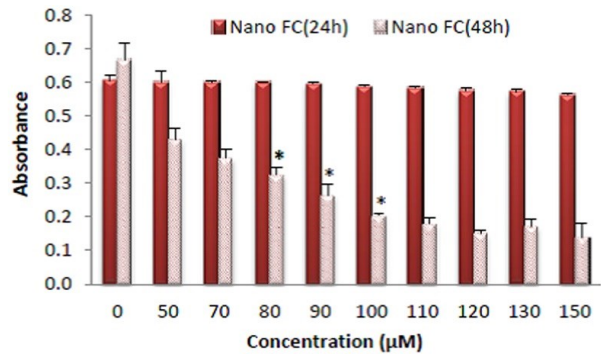
مواد و روش‌ها

کشت سلولی: رده سلولی AGS متعلق به آدنوکارسینومای معده و رده سلولی MEF یا سلول‌های فیروبیلاست جنینی موش به‌عنوان سلول نرمال از انستیتو پاستور ایران تهیه و در محیط کشت RPMI (Gibco, Germany) حاوی ۱۰ درصد سرم جنین گاوی (Gibco, Germany) (محیط کشت کامل) و انکوباتور (BIOBASE, Germany) با پنج درصد CO_2 و دمای 37°C درجه سانتی‌گراد انکوبه و کشت داده شد.

تهیه مواد مورد نیاز: فارنسیفرول C (کومارین) با درجه خلوص ۹۹ درصد مستخرج از گیاه فرولا زویتسیانا بومی آذربایجان غربی و نانوذره دندروزیوم O_{400} توسط همکاران در اختیار آزمایشگاه قرار گرفت. به‌منظور تهیه نانو کومارین دندروزیومی، طیف غلظتی از کومارین با مقدارهای متفاوتی از دندروزیوم ترکیب گردیده و چگالی نوری آن‌ها توسط اسپکتروفوتومتر (ENGLAND, JENWEY) اندازه‌گیری گردید. در نهایت، نسبت یک به ده کومارین به دندروزیوم در نظر گرفته شد [۷].

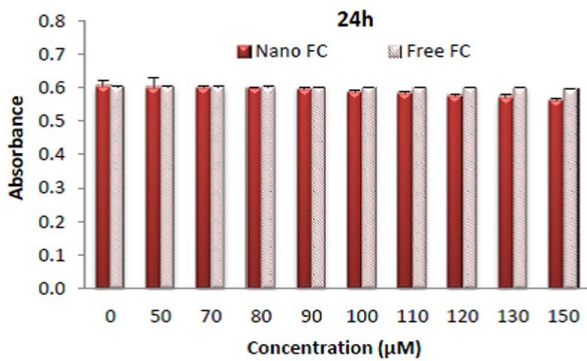
بررسی سمیت سلولی به روش MTT: سمیت فارنسیفرول C و میزان مرگ و میر سلولی، با استفاده از ماده MTT (3-(4,5-Dimethyl-2-Thiazolyl)-2-5-diphenyle-2-H-tetrazolium bromid) (Sigma, Germany) و بر اساس پروتکل ارائه‌شده توسط سایت پرومگا و به‌صورت IC_{50} ارزیابی شد. بدین منظور، ابتدا تعداد مناسبی از سلول‌های سرطانی و نرمال (12000 سلول در هر خانه) در شرایط کاملاً یکسان و در پلیت‌های ۹۶ خانه و $200 \mu\text{l}$ محیط

فارنسیفرول در غلظت ۴۸ ساعت، دارای $IC_{50} = 80 \mu M$ است این در حالی است که برای فرم آزاد و در محدوده مورد مطالعه IC_{50} مناسب به دست نیامد. آنالیز t-test برای دو متغیر فارنسیفرول C دندروزومی و فرم آزاد در غلظت $80 \mu M$ و مدت زمان اثر ۴۸، حاکی از تأثیر معنی دار فرم دندروزومی بود



شکل ۲: تأثیر فارنسیفرول C دندروزومی روی سلول‌های AGS زنده در ۲۴ و ۴۸ ساعت

یافته‌های به دست آمده از آنالیز رگرسیون نشان داد که بین غلظت فارنسیفرول C و درصد سلول‌های زنده رابطه معنی دار و معکوس وجود دارد به طوری که با افزایش غلظت ترکیب گیاهی فارنسیفرول، درصد سلول‌های کشته شده به طرز معنی داری افزایش می یابد (جدول ۱) ($P \leq 0.05$). همچنین نتایج نشان داد که فرم نانویی



شکل ۳: تأثیر فارنسیفرول C دندروزومی و آزاد روی سلول‌های AGS در ۲۴ ساعت

جدول ۱: شاخص‌های آماری رگرسیون چندگانه دوزهای مختلف بر میزان جذب

شاخص‌های آماری رگرسیون چندگانه دوزهای مختلف بر میزان جذب

نتایج تحلیل واریانس و مدل رگرسیون	معناداری	آماره آزمون (t)	ضرایب استاندارد	ضرایب غیراستاندارد		متغیرهای پیش بین
				B	انحراف معیار	
$F(1,28) = 102.692$ $Sig < 0.001$ $R^2 = 0.786$ $Adj-R^2 = 0.788$	< 0.001	55/876	Beta	0/0012	0/679	مقدار ثابت
	< 0.001	-10/134		0/000	-0/001	دوزهای مختلف
$F(1,28) = 422.554$ $Sig < 0.001$ $R^2 = 0.938$ $Adj-R^2 = 0.936$	< 0.001	35/032		0/018	0/625	مقدار ثابت
	< 0.001	-20/556		0/000	-0/004	دوزهای مختلف
$F(1,28) = 102.503$ $Sig = 0.001$ $R^2 = 0.709$ $Adj-R^2 = 0.784$	< 0.001	829/563	Beta	0/001	0/603	مقدار ثابت
	0/001	-3/536		0/000	-2/599	دوزهای مختلف
$F(1,28) = 258.243$ $Sig < 0.001$ $R^2 = 0.928$ $Adj-R^2 = 0.925$	< 0.001	120/043	Beta	0/005	0/655	مقدار ثابت
	< 0.001	-18/927		0/000	-0/001	دوزهای مختلف

نتایج حاصل از جدول ۱ نشان می دهد که در سطح اطمینان ۹۵ درصد، متغیرهای مقدار ثابت و دوز می توانند ۷۹ درصد از تغییرات موجود در میزان جذب را تبیین کنند. سهم دوزهای مختلف در تبیین این واریانس ۰/۸۹ می باشد که در سطح اطمینان ۹۹ درصد معنادار است.

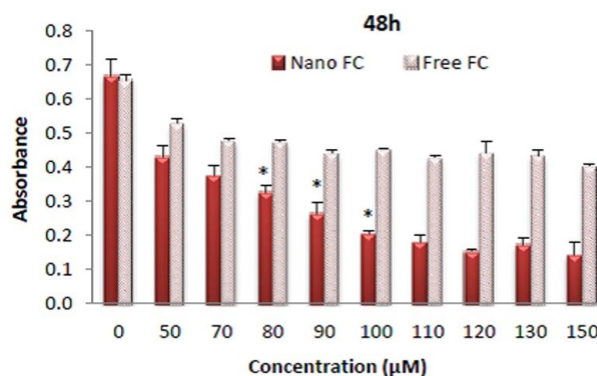
آزاد دارد که تأییدی بر پژوهش‌های قبلی است. مطالعات قبلی همکاران نیز نشان‌دهنده تأثیر معنی‌دار این نانو ذرات در بالا بردن پایداری و جذب ترکیبات گیاهی می‌باشد [۷]. در مجموع یافته‌های فوق حاکی از پتانسیل بالقوه بالای دارویی فارنسیفرول C دندروزومی است که می‌تواند به‌عنوان فاکتور دارویی مهم در کنار سایر روش‌های درمانی قلمداد شود و نیازمند مطالعات بیشتر از جمله تعیین نوع سمیت اعمال شده روی سلول‌های سرطانی، رمزگشایی مولکولی آن و بررسی تغییرات بیان ژن‌های آپوپتوزی در سلول‌های تحت تیمار فارنسیفرول C دندروزومی و آزاد است. بخشی از این مطالعات در آزمایشگاه ما در دست انجام است.

تشکر و قدردانی

نویسندگان مقاله مراتب تشکر و قدردانی خود را از آزمایشگاه کشت سلول دانشکده دامپزشکی دانشگاه تبریز ابراز می‌دارند. مقاله حاضر، مربوط به یافته‌های طرح تحقیقاتی مصوب در دانشگاه آزاد اسلامی بناب می‌باشد که در خور قدردانی از معاونت پژوهشی آن واحد می‌باشد.

منابع

1. Zquez R, Riveiro ME, Vermeulen MN, Mondillo C, Coombes PH, Crouch NR, et al. Toddaculin, a natural coumarin from *Toddalia asiatica*, induces differentiation and apoptosis in U-937 leukemic cells. *Phytomedicine*. 2012; 19(8): 737-46.
2. Dastan D, Salehi P, Reza Gohari A, Zimmermann S, Kaiser M, Hamburger M, et al. Disesquiterpene and sesquiterpene coumarins from *Ferula pseudalliacea*, and determination of their absolute configurations. *Phytochemistry*. 2012; 78: 170-78.
3. Choi SU, Kang SK, Kim YS, Kim SK, Lee CO, Park S, et al. Anticancer composition comprising sesquiterpenes isolated from *resina ferulae*. *Google patents*. 2004.
4. Shishodia S, Chaturvedi MM, Aggarwal BB. Role of curcumin in cancer therapy. *Curr Probl Cancer*. 2007; 31(4): 243-305.
5. Corson TW, Crews CM. Molecular understanding and modern application of traditional medicines: triumphs and trials. *Cell*. 2007; 130(5): 769-74.
6. Aggarwal BB, Sung B. Pharmacological basis for the role of curcumin in chronic diseases: an age-old spice with modern targets. *Trends Pharmacol. Sci*. 2009; 30(2): 85-94.
7. Babaei E, Sadeghizadeh M, Hassan ZM, Feizi MAH, Najafi F, Hashemi SM. Dendrosomal curcumin significantly suppresses cancer cell proliferation in vitro and in vivo. *Int. Immunopharmacol*. 2012; 12(1): 226-34.
8. Balenga NAB, Zahedifard F, Weiss R, Sarbolouki MN, Thalhamer J, Rafati S. Protective efficiency of dendrosomes as novel nano-sized adjuvants for



شکل ۴: مقایسه تأثیر فارنسیفرول C دندروزومی و آزاد روی سلول‌های AGS در ۴۸ ساعت

به‌طوری‌که در این غلظت ۵۰ درصد از سلول‌های سرطانی متأثر از فارنسیفرول C دندروزومی از بین رفته بودند (شکل ۳ و ۴) ($P \leq 0.05$, $IC_{95} = 0.31 - 0.21$)

همچنین، بررسی اثر کشندگی فارنسیفرول C دندروزومی روی سلول‌های نرمال فیبروبلاست جنینی موشی (MEF) به‌عنوان کنترل، اثر معنی‌داری از نقطه نظر رشد و تکثیر آن‌ها نشان نداد (نتایج به‌دلیل معنی‌دار نبودن، نشان داده نشده است).

بحث و نتیجه‌گیری

برای افزایش محلولیت ترکیبات گیاهی در محیط‌های آبی از حامل‌های دارویی مختلف استفاده می‌شود. در تحقیقات گذشته، دندروزوم‌ها به‌عنوان حامل‌های ژنی بی‌خطر، خنثی و زیست‌تخریب‌پذیر برای انتقال ژن به سیستم‌های یوکاریوتی به کار برده شده‌اند [۸-۱۰]. در تحقیق حاضر، برای افزایش محلولیت و در نتیجه سمیت فارنسیفرول C روی سلول‌های سرطانی AGS، از این ترکیبات پلیمری استفاده شد. زیرا که این ترکیب هیدروفوب گیاهی فاقد محلولیت و جذب کافی در سلول‌ها می‌باشد. کومارین‌ها گروه بزرگی از ترکیبات گیاهی هستند که طیف وسیعی از فعالیت‌های ضد سرطانی همچون مهار رشد سلول‌های سرطانی و متاستاز را از خود نشان می‌دهند [۱۱-۱۶]. اسکولتین^۱ با مهار فسفوریلاسیون پروتئین رتینوبلاستوما در سلول‌های لوکمی ۶۰- HL باعث توقف چرخه سلولی در فاز G₁ می‌گردد [۱۵]. استول^۲ به طور مؤثری پروموتور S- متالوپروتئیناز ماتریکسی^۳ را مهار می‌کند و از این طریق از مهاجرت و تهاجم سلول‌های سرطانی جلوگیری می‌کند [۱۶]. جی‌هو لی^۴ و همکارانش در سال ۲۰۱۰ نشان دادند که فارنسیفرول C با مهار فاکتور رشد آندوتلیوم، مانع رگ‌زایی و متاستاز می‌گردد [۱۷ و ۱۸]. یافته‌های ما بیانگر تأثیر فاحش دندروزوم در افزایش جذب و سمیت فارنسیفرول C روی سلول‌های AGS است چرا که فارنسیفرول C دندروزومی سمیت بیشتری بر روی سلول‌های سرطانی مورد مطالعه در مقایسه با فارنسیفرول C

- DNA vaccination against birch pollen allergy. *J Biotechnol.* 2006; 124(3): 602-14.
9. Sadeghizadeh M, Ranjbar B, Damaghi M, Khaki L, Sarbolouki MN, Najafi F, et al. Dendrosomes as novel gene porters-III. *J. Chem. Technol. Biotechnol.* 2008; 83(6): 912-20.
 10. Sarbolouki MN, Sadeghizadeh M, Yaghoobi MM, Karami A, Lohrasbi T. Dendrosomes: a novel family of vehicles for transfection and therapy. *J. Chem. Technol. Biotechnol.* 2000; 75(10): 919-22.
 11. Kim HH, Sik Bang S, Seok Choi J, Han H, Kim I-H. Involvement of PKC and ROS in the cytotoxic mechanism of anti-leukemic decursin and its derivatives and their structure activity relationship in human K562 erythroleukemia and U937 myeloleukemia cells. *Cancer lett.* 2005; 223(2): 191-201.
 12. Fong WF, Zhang JX, Wu JYC, Tse KW, Wang C, Cheung HY, et al. Pyranocoumarin(+/-)-4'-O-acetyl-3'-O-angeloyl-cis-khellactone induces mitochondrial-dependent apoptosis in HL-60 cell. *Planta Med.* 2004; 70(06): 489-95.
 13. Thati B, Noble A, Creaven BS, Walsh M, McCann M, Kavanagh K, et al. RETRACTED: In vitro anti-tumour and cyto-selective effects of coumarin-3-carboxylic acid and three of its hydroxylated derivatives, along with their silver-based complexes, using human epithelial carcinoma cell lines. *Cancer lett.* 2007; 248(2): 321-31.
 14. Thati B, Noble A, Creaven BS, Walsh M, McCann M, Kavanagh K, et al. RETRACTED: A study of the role of apoptotic cell death and cell cycle events mediating the mechanism of action of 6-hydroxycoumarin-3-carboxylatosilver in human malignant hepatic cells. *Cancer lett.* 2007; 250(1): 128-39.
 15. Lacy A, O'Kennedy R. Studies on coumarins and coumarin-related compounds to determine their therapeutic role in the treatment of cancer. *Curr. Pharm. Des.* 2004; 10(30): 3797-811.
 16. Venuopala KN, Rashmi V, Odhav B. Review on natural coumarin lead compounds for their pharmacological activity. *Biomed Res Int.* 2013;2013.
 17. Zare Karizi AR, Omidi M, Fallah Hoseyni H, Yazdani D, Reza zade SH, Irvani N, et al. Review of pharmacological effect of ferula assa foetida. *J. Med. Plants.* 1390; (40): 17-25, (Persian).
 18. Lee JH, Choi S, Lee Y, Lee HJ, Kim KH, Ahn KS, et al. Herbal compound farnesiferol C exerts antiangiogenic and antitumor activity and targets multiple aspects of VEGFR1 (Flt1) or VEGFR2 (Flk1) signaling cascades. *Mol. Cancer Ther.* 2010; 9(2): 389-99.
 19. Mashinchian O, Salehi R, Dehghan G, Aganejad A, Davaran S, Omidi Y. Novel thermosensitive poly (N-isopropylacrylamide-co- vinylpyrrolidone-co-methacrylic acid) nanosystems for delivery of natural products. *Int. J. Drug Delivery.* 2010; 2(4): 278-86.