CO45 Auraptene inhibited migration of human colon cancer cells *in vitro*

Hanieh Khoubanfar[1], Shahin Gharedaghi[1], Milad Iranshahy[2], Maryam M. Matin[1,3*], Fatemeh B. Rassouli[3*]- *1 Department of Biology, Faculty of Science, Ferdowsi University of Mashhad 2. Biotechnology Research Center, Pharmaceutical Technology Institute, Mashhad University of Medical Sciences 3. Novel Diagnostics and Therapeutics Research Group, Institute of Biotechnology, Ferdowsi University of Mashhad. E-mail: matin@um.ac.ir; behnam3260@um.ac.ir*

More than 90% of cancer mortality is due to metastasis of malignant cells, as local or distance migration of cells makes their eradication by surgery or conventional chemotherapy and/or radiation therapy very difficult. Regarding colorectal cancer, approximately 20% of patients have metastases at diagnosis, most often to the liver, lung or peritoneum. Auraptene, 7-geranyloxycoumarin, is a *monoterpene coumarin* with numerous pharmacological properties such as antibacterial, antigenotoxic and cancer preventive activities. The present study was designed to investigate effects of auraptene on migration of human colon cancer cells *in vitro*.

After auraptene was synthesized using 7-hydroxycoumarin and transgeranyl bromide, its purification was done by column chromatography and ^{1}H- and ^{13}C-NMR experiments were used to confirm its structure. For wound healing migration assay, LoVo and HT-29 cells were seeded in 24 well plates and after 24 h, a straight scratch was made by a sterile pipette tip to create a gap with constant width. After washing the cells with PBS, they were treated with 20 and 40 µM auraptene and incubated at 37˚C in the presence of 5% CO_2 for several days. To note, untreated cells and cells treated with 0.4% DMSO, as auraptene solvent, were considered as control. Finally, cells migrated to the gap were photographed and analyzed by Image J software.

Obtained finding indicated that auraptene inhibited the migration of both cell lines in a dose dependent manner. For LoVo cells, 20 µM auraptene reduced the number of migrated cells after 48 h, while the optimum time point for 40 µM auraptene was 24 h. In case of HT-29 cells, which have lower migration ability, 20 and 40 µM auraptene inhibited cell migration upon 144 h and 72 h of incubation, respectively. Taken together, our results suggest auraptene as a potential anti-migratory agent in colon cancer cells, although its effect needs to be further investigated *in vivo*.

Key words: auraptene, colon cancer, cell migration, *in vitro* assessment

اوراپتن در شرایط آزمایشگاهی از مهاجرت سلولهای سرطانی روده بزرگ در انسان جلوگیری کرد

هانیه خوبان فر[۱]، شاهین قره داغی[۱]، میلاد ایرانشاهی[۲]، مریم مقدم متین[۱و۳*]، فاطمه بهنام رسولی[۳*]– *۱. گروه زیست شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه فردوسی مشهد، ۲. مرکز تحقیقات بیوتکنولوژی، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی مشهد، ۳. گروه پژوهشی روش‌های تشخیص و درمان‌های نوین، پژوهشکده فناوری زیستی، دانشگاه فردوسی مشهد*

بیش از ۹۰٪ مرگ و میر ناشی از سرطان به دلیل متاستاز سلول های بدخیم است ، زیرا مهاجرت محلی یا از راه دور سلول ها ریشه کن کردن آنها را با جراحی یا شیمی درمانی معمولی و یا پرتودرمانی بسیار دشوار می کند. در مورد سرطان روده بزرگ ، تقریباً ۲۰درصد بیماران در هنگام تشخیص متاستاز دارند که اغلب در کبد ، ریه یا صفاق مشاهده می شود. اوراپتن ، ۷–ژرانیل اوکسی کومارین ، یک کومارین مونوترپن است که دارای خواص دارویی متعددی مانند فعالیت های ضد باکتری ، آنتی ژنوتوکسیک و پیشگیری از سرطان است. مطالعه حاضر برای بررسی اثرات اوراپتن در مهاجرت سلولهای سرطانی روده بزرگ انسان در شرایط آزمایشگاهی طراحی شده است .پس از سنتز اوراپتن با استفاده از ۷–هیدروکسی کومارین و ترانس ژرانیل بروماید ، تصفیه آن با کروماتوگرافی ستونی انجام شد و آزمایش های H-1و C-NMR برای تأیید ساختار آن انجام شد. برای روش مهاجرت ترمیم زخم ، سلولهای LoVo و HT-29 در ۲۴ چاهک کشت شدند و پس از ۲۴ ساعت ، یک خراش مستقیم توسط نوک پیپت استریل ایجاد شد تا شکافی با عرض ثابت ایجاد شود. پس از شستن سلول ها با PBS ، آنها با ۲۰ و ۴۰ میکرومولار اوراپتن تحت درمان قرار گرفتند و در حضور پنج در صد CO2 به مدت چند روز در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد انکوبه شدند. لازم به ذکر است ، سلولهای درمان نشده و سلولهای تحت درمان با 0.4 درصد DMSO، که به عنوان حلال اوراپتن و به عنوان شاهد در نظر گرفته شد. سرانجام ، سلول های مهاجرت شده به شکاف با استفاده از نرم افزار Image J عکس گرفته و تجزیه و تحلیل شدند .یافته های به دست آمده نشان داد که اوراپتن به روش وابسته به دوز ، مهاجرت هر دو رده سلول را مهار می کند. برای سلولهای LoVo ، ۲۰ میکرومولار اوراپتن تعداد سلولهای مهاجر پس از ۴۸ ساعت را کاهش می دهد ، در حالی که زمان مطلوب برای ۴۰ میکرومولار اوراپتن ۲۴ ساعت بود. در مورد سلولهای HT-29 ، که توانایی مهاجرت کمتری دارند ، به ترتیب ۱۴ و ۴۰ میکرومولار اوراپتن به ترتیب بر روی ۱۴۴ ساعت و ۷۲ ساعت انکوباسیون ، مهاجرت سلولی را مهار می کنند. روی هم رفته ، نتایج ما نشان می دهد که اوراپتن به عنوان یک عامل ضد مهاجر بالقوه در سلولهای سرطانی روده بزرگ است ، اگرچه اثر آن نیاز به بررسی بیشتر در داخل بدن دارد

کلمات کلیدی: اوراپتن ، سرطان روده بزرگ ، مهاجرت سلولی ، ارزیابی آزمایشگاهی