

Abstract

In this research, the apical buds or exudate collected from the apical buds of 3 species of Thai Gardenia including *G. obtusifolia*, *G. thailandica* and *G. collinsae* were chosen for isolation, purification and characterization of their triterpene constituents. The chromatographic separation of apical buds of *G. obtusifolia* led to the isolation of three new cycloartane triterpenes, namely gardenoins E-H (**41-44**), together with five known compounds, secaubryenol (**27**), dikamakiartanes A, C and D (**45-47**), and 5 α -cycloart-24-ene-3,16,23-trione (**48**). The similar treatment with *G. thailandica* yielded two additional new cycloartanes, namely gardenoins I and J (**49-50**), along with two known derivatives, sootepin E (**34**) and coronalolic acid (**51**), other than secaubryenol (**27**). Unlike other species, the isolation of *G. collinsae* apical buds provided two new dammarane triterpenes, (20*R*,24*R*)-epoxy-3-oxo-dammarane-25*E*,26-diol (**52**) and (20*R*,24*S*)-epoxy-3-oxo-dammarane-25*E*,26-diol (**53**), as well as one known compound (20*R*,24*R*)-ocotillone (**54**). All isolated compounds were evaluated for their cytotoxicity toward five cancer cell lines. Generally, 3,4-*seco*-cycloartane type triterpenes with exomethylene γ -lactone moiety displayed broad cytotoxicity on all cell lines tested. Chemical modification of C-1 and C-26 position of this type compound was further carried out. However, all semi-synthetic ester and amide analogs did not give any improved result, but they gave the better selectivity. In addition, some naturally occurring 3,4-*seco*-cycloartane triterpenes and semi-synthetic analogs were tested for their antiangiogenic activity on a rat aortic sprouting assay, an ex vivo model angiogenesis. Among these compounds, a naturally occurring 3,4-*seco*-cycloartane triterpene, sootepin B (**31**) obtained from *G. sootepensis*, displayed the most potent activity in terms of the inhibition of microvessel sprouting from rat aortic rings in a dose-dependent manner with IC₅₀ value of 4.46 μ M and the complete inhibition was observed at a dose of 20 μ M. Its angiogenic effect was found to occur via suppression of endothelial cell (HUVEC) proliferation and tube formation, and was likely mediated by regulation (inhibition) of the Erk1/2 signaling pathway.

Keywords : Gardenia, cycloartane triterpene, cytotoxicity, antiangiogenesis

บทคัดย่อ

ในงานวิจัยนี้ ได้ทำการสกัดแยกสารจากส่วนยอดหรือเรซินที่เก็บจากส่วนยอดของพืชสกุล *Gardenia* ที่พบในประเทศไทย 3 ชนิด ได้แก่ *G. obtusifolia*, *G. thailandica* และ *G. collinsae* พบสารไซโคลอาร์เทนไตรเทอร์พีนชนิดใหม่ 4 ชนิดจากส่วนยอดของ *G. obtusifolia* ซึ่งให้ชื่อว่า Gardenoin E-H (41-44) และสารกลุ่มเดียวกันที่มีการรายงานมาก่อนอีก 5 ชนิด คือ secaubryenol (27), dikamakiartane A, C และ D (45-47) และ 5α -cycloart-24-ene-3,16,23-trione (48) และยังได้สารไซโคลอาร์เทนชนิดใหม่จากเรซินที่เก็บจากส่วนยอดของ *G. thailandica* คือ Gardenoin I-J (49-50) และได้สารที่มีการรายงานมาก่อนเพิ่มอีก 2 ชนิด คือ sootepin E (34) และ coronalioic acid (51) อย่างไรก็ตามไม่พบสารไซโคลอาร์เทนจากส่วนยอดของ *G. collinsae* แต่สามารถแยกได้สารแดมมาเรนไตรเทอร์พีนชนิดใหม่ 2 ชนิดคือ (20*R*,24*R*)-epoxy-3-oxo-dammarane-25*E*,26-diol (52) และ (20*R*,24*S*)-epoxy-3-oxo-dammarane-25*E*,26-diol (53) ซึ่งเป็น epimer กัน และอนุพันธ์ที่มีการรายงานมาก่อนอีก 1 ชนิดคือ (20*R*,24*R*)-ocotillone (54) เมื่อนำสารที่แยกได้ทั้งหมดมาทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็ง 5 ชนิด พบว่าสารไซโคลอาร์เทนชนิด 3,4-seco-cycloartane ที่มีโครงสร้างส่วนที่เป็น exomethylene γ -lactone ring ให้ฤทธิ์ดีที่สุด จากนั้นจึงทำการสังเคราะห์อนุพันธ์เอสเทอร์และเอไมด์ที่ตำแหน่งที่ 1 และ 26 ของสารกลุ่มนี้เพื่อดูความสัมพันธ์ของโครงสร้างต่อการออกฤทธิ์ พบว่าอนุพันธ์ที่ได้ไม่มีฤทธิ์ดีกว่าสารตั้งต้นอย่างมีนัยสำคัญแต่มีความเลือกจำเพาะสูงขึ้น นอกจากนี้ยังได้นำสาร 3,4-seco-cycloartane ที่แยกได้และอนุพันธ์ทั้งสังเคราะห์ที่ได้มาทดสอบการยับยั้งการสร้างหลอดเลือดใหม่ซึ่งเป็นกระบวนการพื้นฐานที่สำคัญสำหรับการเจริญเติบโตและแพร่กระจายตัวของมะเร็งทุกชนิด พบว่า sootepin (31) ซึ่งเป็นสารผลิตภัณฑ์ธรรมชาติที่เคยแยกได้จาก *G. sootepensis* ให้ฤทธิ์การยับยั้งที่ดีที่สุดโดยสามารถยับยั้งการสร้างหลอดเลือดใหม่ใน ex vivo model ได้อย่างสมบูรณ์ที่ความเข้มข้น 20 μ M และมีค่า IC_{50} = 4.46 μ M โดยการยับยั้งนี้ พบว่าเกิดผ่านการยับยั้ง proliferation (IC_{50} = 1.20 μ M) และ tube formation (IC_{50} = 11.20 μ M) แต่แทบไม่มีผลต่อ migration ของ HUVEC เลย นอกจากนี้ยังพบว่า sootepin B แสดงการออกฤทธิ์ยับยั้งการสร้างหลอดเลือดใหม่โดยผ่านกลไกยับยั้งการ phosphorylation ของ Erk 1/2 เป็นหลัก