Experimed 2020; 10(3): 128-34

DERLEME
REVIEW

DOI: 10.26650/experimed.2020.0048

Betülinik Asit ve Antikanser Etkileri

Betulinic Acid and its Anticancer Effects

Merve Nur Ataş[1], **Arzu Ergen**[1]

[1]İstanbul Üniversitesi, Aziz Sancar Deneysel Tıp Araştırma Enstitüsü, Moleküler Tıp Anabilim Dalı, İstanbul, Türkiye

ORCID ID: M.N.A. 0000-0001-5045-5095; A.E. 0000-0001-5736-8453

Cite this article as: Ataş MN, Ergen A. Betülinik asit ve antikanser etkileri. Experimed 2020; 10(3): 128-34.

ÖZ

Son yıllarda, bitkilerin yapısında doğal olarak bulunan bileşiklere duyulan ilgi giderek artmaktadır. Bu bileşiklerin sağladıkları faydalar nedeniyle günlük kullanımın yanı sıra kanser tedavisinde terapötik olarak kullanılmasına yönelik çeşitli çalışmalar yapılmaktadır. Bu çalışmalar, güncel kanser tedavilerinde kullanılan kemoterapötiklerin ortaya çıkardığı yan etkiler nedeniyle doğal kaynaklı ve apoptozu uyarabilen kemoterapötiklerin geliştirilmesini amaçlamaktadır. Bu bileşiklerden biri olan betülinik asit, lupan tipi pentasiklik triterpenoid olup çeşitli ağaçların kabuklarında bulunan bir sekonder metabolittir. Betülinik asit, antiviral ve antiinflamatuvar etkiler gibi biyolojik aktivitelerin yanı sıra güçlü bir antikanser aktiviteye sahiptir. Bu antikanser aktivitesini, mitokondriyal apoptozu teşvik ederek, hücre siklusunu ve anjiyogenezi düzenleyerek ve kanser gelişimi için önemli birçok yolağı aktive veya inaktive ederek gerçekleştirir. Betülinik asit gibi doğrudan mitokondriyi etkileyen moleküller, tedavi sürecinde oluşabilecek ilaç direncini engellemek için büyük umut vaad etmektedir. Ayrıca betülinik asidin kanser hücrelerini doğrudan etkileyip sağlıklı hücrelere karşı toksik etkisinin olmaması geliştirilmekte olan kemoterapi stratejilerinde onu potansiyel antikanser molekül haline getirmektedir.

Bu derlemede, betülinik asidin yapısal ve biyolojik özellikleri ile çeşitli kanser türlerindeki antikanser etkilerinin tartışılması amaçlanmaktadır.

Anahtar Kelimeler: Betülinik asit, kanser, apoptoz

ABSTRACT

In recent years, interest in naturally occurring compounds in plants has been increasing. Due to the benefits of these compounds, various studies have been carried out for their therapeutic use in cancer treatment as well as in daily use. These studies have aimed to develop chemotherapeutics that are natural and can stimulate apoptosis due to the side effects of chemotherapeutics used in current cancer treatments. One of these compounds, betulinic acid, is lupane-type pentacyclic triterpenoid, a secondary metabolite found in the bark of various trees. Betulinic acid has strong anticancer properties as well as antiviral and anti-inflammatory effects. It performs its anticancer functions by promoting the mitochondrial apoptosis, regulating cell cycle and angiogenesis, and activating or deactivating many pathways which are important for cancer development. Molecules that directly affect mitochondria such as betulinic acid, hold great promise in preventing drug resistance that may occur in the treatment process. In addition, the fact that betulinic acid directly affects cancer cells and has no toxic effect on healthy cells makes it a potential anticancer molecule in developing chemotherapy strategies.

This review aims to discuss the structural and biological properties of betulinic acid and the anticancer effects in various cancer types.

Keywords: Betulinic acid, cancer, apoptosis

GİRİŞ

Kanser, onkogenlerin aktivasyonu, tümör baskılayıcıların inaktivasyonu, epigenetik modifikasyonlar, kontrolsüz hücre büyümesi ve metastaz ile karakterize, dünya üzerinde insidansı ve mortalitesi giderek artmakta olan genetik bir hastalıktır (1,2). Kanseri etkileyen bu faktörlerin çoğu, kanser araştırmalarındaki tanı, prognostik ve tümöral belirteç ile, tedavi yaklaşımlarının oluşturulması için yol gösterici olmuştur.

Uzun yıllar boyunca geliştirilen tedaviler tümör ilerlemesinin, nüksünün ve mortalitenin azaltılması amacı ile geliştirilmiş sitotoksik kemoterapiye dayanmaktadır. Bu kemoterapiler, tüm mitotik hücreleri hedef aldığından kanser hücrelerinin yanında bazı normal doku hücrelerine de zarar verebilmektedir (3). Son yıllarda kanser vakalarındaki artış ve mevcut kemoterapilerin yan etkileri, normal hücreler üzerinde zararlı etkisi olmayan, sadece kanser hücrelerinde toksik etki gösteren yeni ilaçların araştırılmasına yol açmıştır (4).

Sorumlu Yazar/Corresponding Author: Arzu Ergen **E-posta:** aergen@istanbul.edu.tr
Başvuru/Submitted: 27.08.2020 **Kabul/Accepted:** 28.09.2020

Content of this journal is licensed under a Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 International License.

Experimed 2020; 10(3): 128-34

Etkili antikanser ajanlar geliştirmek için önemli bir strateji, bitkilerin, biyolojik olarak uyumlu ve daha az toksik etkileri olan ve bu nedenle potansiyel antikanser ajan haline gelen sekonder metabolitleri olmuştur. Sekonder metabolitler, çoğunlukla bir organizma tarafından üretilen ve büyümesi ve gelişmesi için gerekli olmayan, stres ve savunma yanıtı olarak üretildiği düşünülen küçük organik moleküllerdir (5). Bitkilerin yapısında bulunan sekonder metabolitler başlıca; fenolikler, alkaloidler, flavonoidler ve terpenoidlerdir (6).

Bitkiler tarafından üretilen sekonder metabolitler arasında yaklaşık 40.000 üyesi ile en büyük ve en çeşitli kimyasal sınıfı temsil eden terpenoidler, polimerik izopren türevleridir ve mevalonik asit yolağı ile asetattan sentezlenir (7). Bu bileşikler yapısındaki karbon ve izopren birimlerinin sayısına bağlı olarak monoterpenoidler, diterpenoidler ve triterpenoidler olarak sınıflandırılmaktadır.

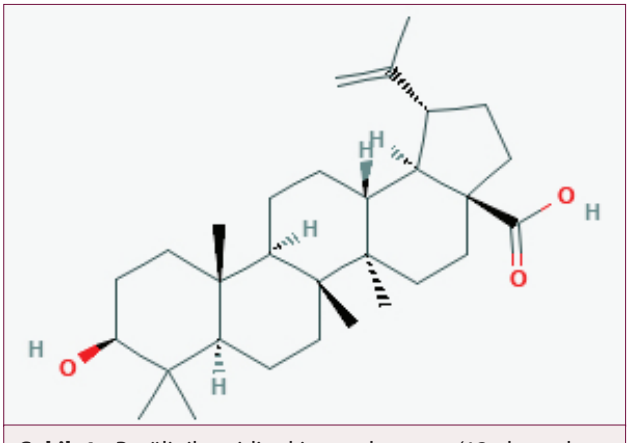
Triterpenoid grubunun bir üyesi olan betülinik asit, yapısında pentasiklik izopren birimleri bulunan lupan alt tipi bir bileşiktir. Başlıca *Betula sp., Betulaceae* bitkilerinin kabuklarından elde edilirken, *Platanus acerifolia, , Euphorbiacea Vochysia divergen, Ficus pandurata, Pterospermum heterophyllum ve Vitex negundo* gibi bitkilerin kabukları ve yaprakları da betülinik asit için kaynak oluşturur (8). Betülinik asidin antiinflamatuvar, antianjiyogenik, antiviral ve immünmodülatör etkilerinin yanında güçlü antikanser aktivitesi bulunur (9). Betülinik asidin antikanser aktivitesini, çeşitli kanser türlerinde yapılan çalışmalarda apoptozu tetikleyerek gerçekleştirdiği belirlenmiştir. Apoptozun mitokondri yolağını hedeflemek kanser hücrelerinin yaşam stratejilerinden biridir. Betülinik asit ve türevlerinin, pro-apoptotik Bcl-2 proteinlerinin ve kaspazların aktivasyonları ile apoptozun mitokondriyal yolunu aktive etmenin yanında, hücre siklusunu ve anjiyogenezi düzenleyerek potansiyel antikanser etki sergilediği bilinmektedir (10,11).

Bu derlemede, betülinik asidin biyokimyasal özellikleri, antikanser aktivitesi, hücreler üzerindeki etki mekanizması, mevcut durumda ve gelecekteki kanser tedavi seçeneklerine olası katkıları çeşitli kanser türlerinde yapılan güncel çalışmalar ile birlikte tartışılmıştır.

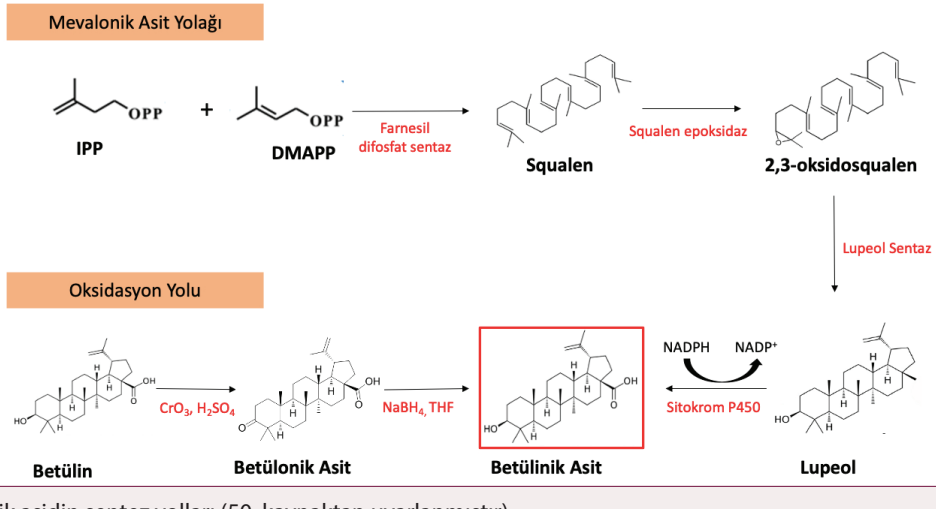
Betülinik Asidin Yapısı ve Sentezi

Sahip oldukları çeşitli biyolojik aktiviteler nedeniyle önemli bir terpenoid grubu olan triterpenoidler, 30 karbonlu, altı izopren birimine sahip bileşiklerdir ve yapılarındaki izopren birimleri asiklik (mono) veya polisiklik (mono, bi, tri, tetra, penta) yapıda bulunabilir. Bu bileşikler karmaşıklıklarına göre sentezlendikleri bitkilerin farklı bölgelerinde, farklı formlarda bulunabilirler (12).

Betülinik asit (3β-hidroksi-lup-20(29)-en-28-oik asit), temel olarak geleneksel tıpta yüzyıllardır kullanılan huş ağacından (*Betula sp)* ve *Ziziphus, Syzygium, Paeonia* cinslerinin çeşitli türlerinden izole edilebilen lupan tipi pentasiklik triterpenoid sınıfının bir üyesidir (Şekil 1) (13).



Şekil 1. Betülinik asidin kimyasal yapısı (13. kaynaktan uyarlanmıştır).



Şekil 2. Betülinik asidin sentez yolları (50. kaynaktan uyarlanmıştır).

Bitkiler, triterpenoid sentezinde gerekli olan öncül bileşenleri üretmek için mevalonik asit (MVA) yolağını tercih ederler. Betülinik asidin biyosentezi, tüm terpenoidlerin öncülleri olan ve mevalonik asit yolağından sentez edilen izopentenil difosfat (IPP) ve dimetil allil difosfat (DMAPP) molekülleri ile başlar. Bu biyosentezde iki önemli basamak bulunur: 1. Bitkilerde triterpeniodlerin ve steroidlerin ortak oncusu olan 2,3-oksidoskualen molekulunun oksidoskualen siklazlar tarafından halkasal forma donuşmesi ile lupeol sentezi; 2. Lupeol sentezlendikten sonra sitokrom P450 enzimleri ile C28 pozisyonundan oksidasyonu ile betulinik asit bileşiğinin oluşturulmasıdır (14,15) (Şekil 2).

Betülinik asit çok sayıda bitkinin içeriğinde bulunmasına rağmen ekstraksiyonda elde edilen betülinik asit oranı düşüktür (%3-4). Bu nedenle ekstraksiyon verimliliğini arttırmak için yarı-sentetik bir üretim şekli olarak, yine pentasiklik triterpenoid bir bileşik olan ve bitki kabuklarında betülinik aside kıyasla daha yüksek miktarda bulunan (%22-30) betülin'den oksidasyon yoluyla betülinik asit üretimi sağlanabilmektedir. Diğer bir üretim şekli olarak mayalardan mikrobiyal fermentasyon yolu kullanılmaktadır (8).

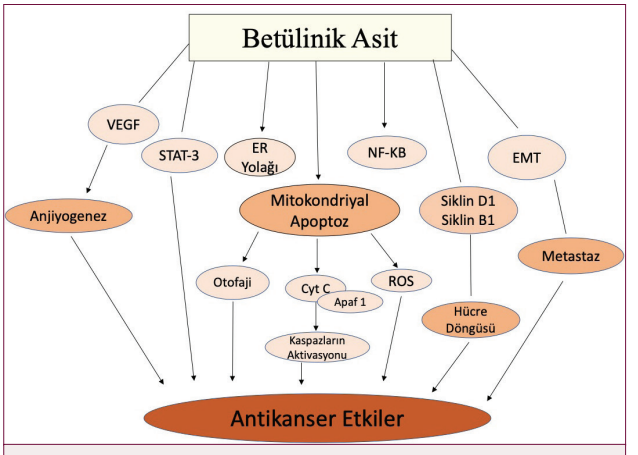
Betülinik Asidin Etki Mekanizması

Uzun yıllar bitkilerden elde edilen bileşikler, antikanser terapilerinin önemli bir kaynağı olarak ön plana çıkmışlardır ve kemoterapiye kıyasla düşük toksisite nedeniyle kanserin önlenmesi ve tedavisinde hayati bir rol oynamıştır. Bitki kaynaklı potansiyel antikanser ilaçların kanser hücreleri üzerinde çeşitli etki mekanizmaları bulunur. Bu mekanizmalar, çoğunlukla intrinsik, ekstrinsik, kaspaz ve / veya p53'e bağımlı veya bağımsız apoptotik hücre ölümü olmakla birlikte apoptotik olmayan hücre ölümü mekanizmalarını da içermektedir (16).

İntrinsik apoptoz yolağı, mitokondriyal yolak olarak bilinir ve hücre içerisinde meydana gelen DNA hasarı veya hücresel strese cevap olarak aktive olur. Bu yolağın aktivasyonu, dış mitokondri membranının permeabilizasyonu (MOMP) ile mitokondri membran potansiyelinin kaybolması ile başlar, mitokondriden sitokrom c ve apoptotik proteinlerin salınımı ve kazpazların aktivasyonu ile sonuçlanır. Hücrelerde, mitokondri membranlarının geçirgenliği, ölüm ve sağkalım arasındaki sınırı belirleyen faktördür (17). Diğer yandan mitokondri, hücrede biyoenerjetik metabolizmasının düzenlendiği ana merkezdir. Kanser hücrelerinin çeşitli stres koşulları altında metabolizmalarını modüle etmelerini sağlayarak, metastaz kapasitesinin elde edilmesi ve kemoterapötik ilaçlara direnç geliştirilmesi de dahil olmak üzere kanser gelişimi ve ilerlemesinin önemli belirleyicileri olarak ortaya çıkan hücre içi sinyal merkezinin kilit noktası mitokondridir. Bu nedenle, kanser hücrelerinin mevcut kemoterapilere karşı geliştirdiği direnç mekanizmalarının önüne geçilmesi ve mitokondri membran geçirgenliğini doğrudan etkileyerek hücre ölümünü tetikleyen ajanlar geliştirilmesi kemoterapi stratejilerinin nihai hedefidir (18).

Apoptozun indüksiyonu yolu ile kanser hücrelerinin hedeflenmesi, tedavi seçenekleri açısından etkili bir yöntemdir. Mevcut kemoterapiler çoğunlukla, hücresel stresin veya p53'ün aktifleştirilmesi yolu ile intrinsik apoptoz yolağının indüklenmesi veya ölüm reseptörleri ile ekstrinsik apoptoz yolağının indüklenmesini hedefler. Betülinik asit, mevcut kemoterapi ajanlarından farklı olarak kanser hücrelerinde doğrudan mitokondri membran potansiyelini etkileyebilen potansiyel antikanser bileşiklerden biridir (10). Mitokondri membran geçirgenliğini etkileyerek sitokrom C, Smac ve apoptoz indükleyici faktör (AIF) proteinlerinin sitozole salınmasına neden olur. Salınan bu proteinler sırasıyla kaspaz-9, kaspaz-3 ve kaspaz-7'nin aktivasyonuna yol açarak DNA fragmantasyonuna ve sonunda hücrenin apoptozuna neden olur (11). Bununla birlikte çeşitli çalışmalarla betülinik asidin farklı kanser türlerinde reaktif oksijen türlerinin (ROS) oluşumunu ve pro-apoptotik Bcl-2 proteinlerinin ekspresyonlarını arttırarak mitokondriyal apoptozu desteklediği görülmüştür (19,20). Ayrıca betülinik asit, ana etki mekanizması mitokondriyi etkilemek olsa da tümör nekroz faktörü-ilişkili apoptoz indükleyici ligand (TRAIL) ile birlikte FADD seviyelerinin ve p53 aktivitesinin artışına neden olarak ekstrinsik apoptoz yolağını da uyarabilmektedir (21).

Apoptotik hücre ölüm mekanizmalarını doğrudan uyarabilmesinin yanında betülinik asit, kanser gelişiminde etkili ve dolaylı olarak apoptoza neden olabilen hücresel yolaklar üzerinde düzenleyici etki göstermektedir (Şekil 3). Bu bağlamda, NF-κB'nin nukleusa transloke olmasını sağlayan proteinin aktivasyonunu baskılayarak (22) ve STAT3 proteininin negatif regülatörü olan proteinin ekspresyonunu arttırarak bu iki yolağın inhibisyonuna sebep olduğu görülmüştür (23). Bununla birlikte siklin D1 ve vasküler endotelyal büyüme faktörü (VEGF) (24) ekspresyonlarını baskılayarak hücre siklusunu ve anjiyogenezi düzenlediği ve metastatik süreçleri yönlendiren moleküller olan matriks metalloproteinazların (25) ekspresyonlarını azaltarak kanser metastazını baskıladığı bildirilmiştir.



Şekil 2: Betülik asidin antikanser etkisi (8. kaynaktan uyarlanmıştır).

Betülinik Asidin Antikanser Etkileri

Bitkilerden elde edilen doğal bileşikler sağladıkları yararlar nedeniyle yüzyıllardır kullanılmaktadır. İyileştirici özellikleri nedeniyle bu bileşiklerin potansiyel terapötik özellikleri üzerine yapılan kapsamlı çalışmalar, bu bileşiklerden birçoğunun

Experimed 2020; 10(3): 128-34

kanser tedavisinde kullanılabilecek güçlü antikanser etkilere sahip olduğu ortaya koymuştur. Benzer şekilde, betülinik asit ve türevlerinin antikanser etkileri, çeşitli kanser türlerindeki hücre soylarında, primer tümör kültürlerinde ve tümör ksenograft modellerinde *in vivo* ve *in vitro* olarak kapsamlı bir şekilde incelenmiştir.

Birçok çalışma, betülinik asidin kanser hücrelerine etki ettiğini ancak sağlıklı hücreler üzerinde toksik etki göstermediğini bildirmiştir. Betülinik asidin bu seçici toksisite özelliği ilk olarak Pisha ve ark. tarafından 1995 yılında melanoma hücre soylarında yapılan bir çalışmada gösterilmiştir. Çalışmada, betülinik asidin melanoma hücrelerinin canlılığını ve melanoma fare modellerinde tümör büyümesini azalttığı gözlemlenmiştir (26). Betülinik asidin hücrelerdeki apoptotik etki mekanizmalarına yönelik Fulda S. ve ark. yaptıkları çalışmalar ile birlikte, betülinik asidin nöroblastoma hücrelerinde aşırı ROS üretimine, mitokondriyal membran potansiyelinin kaybına neden olduğunu ve bunu takiben mitokondriden sitokrom C ve AIF salınımını uyararak mitokondrial apoptozu tetiklediği belirlenmiştir (27,28). Bu çalışmalardan yola çıkılarak sonraki yıllarda betülinik asidin kolon, prostat, serviks, renal kanser, akciğer ve lösemi gibi diğer pek çok kanser türlerindeki hücresel toksisitesi ve kanser gelişiminde etkili yolaklar ve süreçler üzerindeki olası etkilerinin incelendiği birçok çalışma yapılmış ve bu çalışmalar günümüzde de devam etmektedir.

Geleneksel etnofarmakolojide sıkça kullanılan *Alstonia scholaris* bitkisinin yapraklarından izole edilen 13 farklı triterpenoid ve sterollerin arasından betülinik asidin, A549 akciğer adenokarsinoma hücrelerinin canlılığını azaltarak anti-proliferatif aktiviteye sahip majör bileşenlerden biri olduğu bulunmuştur (29). Akciğer adenokarsinoma hücre soylarında yapılan diğer bir çalışmada, akciğer kanserinde sıklıkla mutasyonu gözlenen endoteliyal büyüme faktörü reseptörünün (EGFR) tirozin kinaz inhibitörleri (TKI) Gefitinib ve Erlotinib'e dirençli H1975 ve EGFR mutant TKI duyarlı HCC827 hücre soylarında betülinik asidin, EGFR-TKI ile kombine tedavisi sonucu H1975 hücrelerinin canlılığını azalttığı, apoptotik hücre oranını arttırdığı ve hücre döngüsü ilişkili proteinlerin ekspresyonunu azalttığı gözlemlenmiştir. Ek olarak, otofaji ilişkili proteinlerin ekspresyonlarını arttırıp mitokondri membran potansiyelinin kaybına yol açmıştır (30). Son yıllarda ilaç etkinliğinin iyileştirilmesinde nanopartükül teknolojisi sıklıkla kullanılmaktadır. Zhao ve ark. bir çalışmasında akciğer kanseri hücre soylarında betülinik asit nanopartikülü uygulanması sonrası, hücrelerde kolesterol homeostazında görevli, bazı tümör hücrelerinde yüksek seviyelerde bulunan ve hücresel sağkalım ile ilişkili olduğu gösterilen ATP bağlayıcı kaset taşıyıcı G1 (ABCG1) seviyelerinin önemli ölçüde azaldığı görülmüştür. Aynı zamanda betülinik asit nanopartikülünün hücrelerde migrasyonu ve invazyonu inhibe ettiği ve p21, p53 ve c-Myc seviyelerini azalttığı gözlemlenmiştir (31). Nanopartikül teknolojisine yönelik yapılan diğer bir çalışmada, betülinik asit içeren poli laktik ko-glikolitik asit (PLGA) nanopartikülü hepatosellüler karsinoma rat modelinde tek başına betülinik asit uygulamasına kıyasla, kaspaz-3 ve kaspaz-9, pro-apoptotik Bcl-2 proteinlerinin ve i-NOS ve e-NOS seviyelerinde daha fazla artışa neden olmuştur. Ayrıca, sıçanlarda karsinojenik koşullarda ortaya çıkan karaciğer hasarı nedeniyle artmış trigliserit, total kolesterol, düşük dansiteli lipoprotein (LDL), çok düşük dansiteli lipoprotein (VLDL) ve azalmış yüksek dansiteli lipoprotein (HDL) seviyeleri betülülinik asit PLGA nanopartikülü tedavisi ile normal düzeylere gelmiştir (32).

Kanser hücrelerinin geliştirdiği ilaç dirençlerine yönelik olarak betülinik asidin, androjen reseptörü antagonisti direnci sıklıkla gözlenen prostat kanserinde androjen reseptör proteini seviyelerini azaltmış ve multiple deubikuitinaz aktivitesini baskılayarak prostat kanseri hücrelerini seçici olarak hücre canlılığını azalttığı belirlenmiştir (33). Bununla birlikte betülinik asit, hipoksik koşullara maruz bırakılmış PC-3 prostat kanseri hücrelerinde artmış HIF-1α ekspresyonunu ve hücrelerde HIF-1α artışına bağlı olarak artış gösteren STAT3 ekspresyonunu azaltmıştır. Ayrıca HIF-1α ve STAT3'ün hipoksik koşullarda cevap olarak aktive olan VEGF'nin promotor bölgesine bağlanmasını engelleyerek anti-anjiyogenik etki gösterdiği belirlenmiştir (34).

Mesua ferrea bitkisinin kabuğundan elde edilen ve aralarında betülinik asidin bulunduğu biyoaktif alt fraksiyonu, HCT116 kolorektal karsinoma hücrelerinde kaspaz-9, 3 ve 7 seviyelerinin artışına, hücrelerin invasyon ve migrasyonunu azaltarak metastatik kapasitelerinin baskılanmasına neden olmuştur. Ek olarak, kanser gelişiminde etkili yolaklar ve moleküller olan Wnt, HIF-1α ve MAPK/ERK yolağının aşağı regülasyonuna neden olurken, p53 ve TGF-β'yı yukarı regüle etmiştir (35). Benzer şekilde, yine kolorektal adenokarsinoma HT-29 hücrelerinin dahil olduğu bir çalışmada betülinik asit, bu hücrelerde Bcl-2 ve siklin D1 ekspresyonlarını azaltıp Bax ekspresyonlarını arttırarak antikanser etki göstermiştir (36).

Melanoma hücrelerinde yapılan bir çalışmada betülinik asit, hücrelerde apoptotik hücre ölümünü tetiklemiş, mitokondrial membran potansiyelinin depolarizasyonunu sağlamıştır. Ayrıca, betülinik asit ROS üretimi ile bağlantılı olarak pro-apoptotik mitojen aktive protein kinaz (MAPK) proteinleri p38 ve JNK'nın fosforilasyonunu uyarmıştır (37).

Zeng ve ark. meme kanseri hücrelerinde betülinik asidin anti-metastatik etkileri üzerine yaptıkları bir çalışmada, metastatik sürecin majör molekülleri olan matriks metalloproteinazların (MMP-2, MMP-9) ekspresyonlarını azaltırken MMP-2 inhibitörü olan TIMP-2 eskpresyonlarını arttırmıştır. Bu veriler, farklı dozlarda betülinik asit uygulaması sonrası hücrelerin azalan migrasyon ve invazyon seviyeleri ile paralellik göstermiştir. Ek olarak, tümör taşıyan fare modelinde betülinik asit tümör büyümesini ve tümörün akciğer metastazını azaltmıştır. Yapılan immünohistokimyasal analizlerde matriks metalloproteinazlar, Ki67 ve STAT3 seviyelerinde azalma görülmüştür. Betülinik asidin fare modellerinde toksik etki gösterip göstermediğini belirlemek amacıyla yapılan hematolojik ve serum biyokimya analizlerinde ise patolojik bir değişime rastlanmamıştır (38).

Kanser hücrelerinin değiştirilmiş metabolizmalarının hedeflenmesinin tümör büyümesi ve metastazının baskılanması için faydalı bir strateji olduğu düşünülmektedir. Bununla bağlantılı

olarak, meme kanseri hücrelerinde betülinik asit, endoplazmik retikulumda hücresel stresin sensörü olan glikoz ilişkili protein 78 (GRP78) aracılığı ile laktat dehidrogenaz (LDH) ve pirüvat dehidrogenaz kinaz 1 (PDK1) gibi glikolitik proteinlerin seviyelerini azaltmıştır. Ayrıca betülinik asit tedavisine yanıt olarak, kanser hücrelerindeki birikimi metastatik ve metabolik değişimlere yol açan β-katenin ve c-Myc protein seviyelerinde azalma gözlemlenmiştir (39). Farklı bir çalışmada betülinik asit, triple negatif meme kanseri hücreleri, mikrovasküler endotel hücreler ile birlikte kültürlendiğinde VEGF ve temel fibroblast büyüme faktörü (bFGF) ekspresyonlarını azaltmış, farklı dozlarda uygulandığında TNF-α, TLR4, NF-κB1, IL-6, , HIF-1α, STAT3 ve i-NOS gibi inflamatuvar faktörlerin ve p21, p27, siklinD1, CDK-2 ve CDK-6 gibi hücre döngüsü ilişkili genlerin ekspresyonlarını azaltarak anti-inflamatuvar ve anti-anjiyogenik etki göstermiştir (40).

Betülinik asit, antikanser etkilerini hücresel sağkalım ile ilişkili farklı yolaklar üzerinden de gösterebilmektedir. Bu doğrultuda, Xu ve ark. servikal kanseri (HeLa) hücrelerinde yaptıkları bir çalışmaya göre, betülinik asit, doz ve zamana bağlı olarak fosfotidil inozitol 3 kinaz (PI3K) alt birimleri p110α ve p85 seviyelerini ve PI3K'ın akış aşağısında bulunan Akt'nin Ser473 ve Thr308 kalıntılarından fosforilasyonunu baskılayarak PI3K/Akt yolağı üzerinde inhibitör etki göstermiştir. Betülinik asit etkisi ile artan ROS üretiminin PI3K/Akt inhibisyonu üzerindeki doğrudan etkisini belirlemek amacı ile bir ROS antagonisti olan glutatyon ile birlikte uygulandığında, betülinik asidin yolak üzerindeki inhibitor etkisinin ve kaspaz-9 ve Bad üzerindeki stimülatör etkisinin ortadan kalktığı görülmüştür. Bu sonuçlar, ROS üretiminin betülinik asidin aracılık ettiği apoptoz sürecinde önemli bir faktör olduğunu desteklemiştir (41). Hepatosellüler karsinoma hücrelerinde yapılan bir çalışmada ise, betülinik asit pro-apoptotik proteinlerin ekspresyonlarını arttırmasının yanında, Beclin-1, LC3B-II ekspresyonlarını arttırarak diğer bir hücre ölüm şekli olan otofajiyi aktive etmiştir. Diğer yandan otofajik proteinler ile eş zamanlı olarak PI3K, Akt ve mTOR proteinlerinin fosforilasyonunda azalma gözlenmesi, betülinik asidin PI3K/Akt/mTOR yolağını baskılayarak otofaji ve apoptotik hücre ölümünü uyardığını göstermektedir (42).

Diğer bir çalışmada, hipoksik koşullar altında inkübe edilen HeLa hücrelerinde gözlenen HIF-1α birikimi, artan dozlarda betülinik asit uygulaması sonrası hücrelerde proteozom aktivitesinin artışını takiben azalma göstermiştir. Bu azalma ile birlikte, hipoksik koşullarda HIF-1α'nın hedef genleri olan VEGF, GLUT1, Hekzokinaz (HK) ve PDK1 ekspresyonlarında da azalma gözlenmiştir (43). Bununla birlikte farklı bir çalışmada, betülinik asit, akut miyeloid lösemi hücrelerinde aril hidrokarbon reseptörünün (AHR), promotorunun demetilasyonu yoluyla AHR gen ekspresyonunu önemli ölçüde arttırmıştır. Bu artış, AHR'nin aril hidrokarbon reseptörü nüklear translokatörünün (ARNT) HIF-1α ile etkileşimini rekabetçi bir şekilde inhibisyonuna ve bu sayede HIF-1α yolağının ve VEGF üretiminin baskılanmasına neden olmuştur (44).

Over kanseri hücrelerinde son yıllarda yapılan bir çalışmada, betülinik asidin tümör hücrelerinde metastazın başlangıcı olarak kabul edilen, epitelyal karakterdeki hücrelerinin epitel özelliklerini kaybedip hareketli mezenkimal karakter kazandığı bir süreç olan epitelyal-mezenkimal geçiş (EMT) ile ilişkili proteinlerin seviyeleri üzerindeki etkisi incelenmiştir. Buna göre betülinik asit, mezenkimal protein N-kaderin ekspresyonunu azaltıp epitelyal protein olan E-kaderin ekspresyonunu arttırarak anti-metastatik etki göstermiştir (45). Benzer şekilde renal hücreli karsinoma hücre soylarında betülinik asit, MMP-2, MMP-9 ve mezenkimal protein Vimentin seviyelerini azaltırken E-kaderin ve TIMP-2 seviyelerinde artışa neden olmuştur (46).

Bir BCR-ABL tirozin kinaz inhibitörü olarak kullanılan imatinib Kronik miyeloid lösemi tedavisinde kullanılmaktadır. Histon deasetilazlar (HDAC) hücre proliferasyonu, farklılaşma ve apoptoz gibi hücresel fonksiyonlarda rol oynar ve İmatinib dirençli lösemilerde aşırı ekspresyonları görülür. Kronik miyeloid lösemi hücreleri K562 ve imatinib dirençli K562R hücrelerinin kullanıldığı ve imatinib ve betülinik asidin birlikte uygulandığı bir çalışmada betülinik asit, imatinib dirençli hücrelerdeki HDAC ekspresyonunu posttranskripsiyonel seviyede azaltarak hücrelerin imatinibe duyarlılığını arttırmıştır (47).

Oral skuamöz hücreli karsinoma (OSCC) için etkili tedavilerden biri de hücre döngüsünü baskılayan, apoptotik hücre ölümünü arttıran ve tümör büyümesini azaltan radyoterapilerdir. Ancak OSCC vakalarında radyoterapi direnci yaygın olarak gözlenir. NF-κB ve STAT3 yolaklarının yanında spesifik protein 1 (Sp1)'in; PTEN tümör baskılayıcı proteinin ekspresyonunu bastırarak radyoterapi direncinde etkili olduğu bilinmektedir. Bu bilgilerden yola çıkılarak radyoterapi direnci gösteren OSCC hücrelerinde yapılan bir çalışmaya göre betülinik asit, Sp1 ekspresyonunu azalıp ve dolayısıyla PTEN ekspresyonunun artmasına sebep olarak hücrelerdeki radyoterapi direncini ortadan kaldırmıştır (48).

Betülinik asit ve türevlerinin kanser de dahil birçok hastalığın tedavisinde ve önlenmesindeki yüksek potansiyeli bir çok çalışma ile aydınlatılmış olmasına rağmen bu konu ile ilgili yapılmış sınırlı sayıda klinik çalışma bulunmaktadır. Bu nedenle betülinik asidin uygulanabilecek tedavilerdeki gerçek etkinliği, tolere edilebilirliği ve güvenliği yeterince açık değildir (49).

SONUÇ

Kanser, tüm dünyada görülme sıklığı ve mortalitesi hızla artan, yaşam tarzı ve genetik faktörlerin etkili olduğu bir hastalıktır. Kanser oluşumunda ve gelişiminde, çevresel faktörler mutasyonlar ve farklı hücresel yolakların etkileşimleri gibi çeşitli patolojik faktörler etkilidir. Bu faktörlerin çeşitliliği, kanser tedavisini standart olmaktan uzaklaştırmakta ve dahası hastalık sürecinde dinamikleşen faktörler mevcut tedavileri de etkisiz hale getirmektedir. Bu nedenle kanser tedavilerinde yeni yaklaşımlar oluşturmaya yönelik çalışmalara duyulan ihtiyaç sürekli hale gelmiştir. Bu çalışmalar neticesinde geliştiren yeni tedavi ajanları, hedefe yönelik tedavi stratejileri ve ilaç kombinasyonları, gelişen klinik teknolojiler ile birlikte önemli bir başarı göstermiştir. Bununla birlikte, kimyasal ve sentetik ilaçların etkisizliği veya yan etkileri son yıllarda terapötik yaklaşımlar için

doğal bileşiklerin kullanılmasını gündeme getirmiştir. Bitkilerden elde edilen bileşiklerin kansere karşı terapötik etkilerinin incelenmesine yönelik çeşitli araştırmalar yapılmaktadır. Bu bağlamda, betülinik asit ve türevlerinin birçok kanser türünde seçici toksisite göstermesi, farklı yolak ve moleküller üzerinde etki göstermesi ve doğrudan mitokondriyi hedeflemesi, özellikle tedaviye dirençli ve agresif kanser türlerinde yararlı olabilecek sonuçlardır.

Bu derlemede özetlenen çalışmalar dikkate alındığında, betülinik asidin kanser tedavilerinde daha etkili kullanılabilmesi için moleküler mekanizmalarının daha iyi aydınlatılması, etkili ilaç iletim sistemlerinin geliştirilmesi ve biyoyararlanımın arttırılmasına yönelik yeni çalışmalara ihtiyaç duyulduğu görülmektedir.

Hakem Değerlendirmesi: Dış bağımsız.

Yazar Katkıları: Fikir - A.E., M.N.A.; Denetleme - A.E., M.N.A.; Gereçler - A.E., M.N.A.; Veri Toplanması ve/veya İşlemesi - A.E., M.N.A.; Analiz ve/veya Yorum - A.E., M.N.A.; Literatür Taraması - A.E., M.N.A.; Yazan - A.E., M.N.A.; Eleştirel İnceleme - A.E., M.N.A.

Çıkar Çatışması: Yazarlar çıkar çatışması bildirmemişlerdir.

Finansal Destek: Yazarlar bu çalışma da finansal destek almadıklarını beyan etmişlerdir.

Peer-review: Externally peer-reviewed.

Author Contributions: Concept - A.E., M.N.A.; Supervision - A.E., M.N.A.; Materials - A.E., M.N.A.; Data Collection and/or Processing - A.E., M.N.A.; Analysis and/or Interpretation - A.E., M.N.A.; Literature Search - A.E., M.N.A.; Writing - A.E., M.N.A.; Critical Reviews - A.E., M.N.A.

Conflict of Interest: The authors have no conflict of interest to declare.

Financial Disclosure: The authors declared that this study has received no financial support.

KAYNAKLAR

1. Bray F, Ferlay J, Soerjomataram I, Siegel RL, Torre LA, Jemal A. Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. CA Cancer J Clin 2018; 68: 394-424. [CrossRef]
2. de Castro Sant' Anna C, Junior AGF, Soares P, Tuji F, Paschoal E, Chaves LC, et al. Molecular biology as a tool for the treatment of cancer. Clin Exp Med 2018; 18: 457-64. [CrossRef]
3. Francia R, Monaco A, Saggese M, Iaccarino G, Crisci S, Frigeri F, et al. Pharmacological profile and Pharmacogenomics of anti-cancer drugs used for targeted therapy. Curr Cancer Drug Targets 2018; 18(5): 499-511.
4. Lichota A, Gwozdzinski K. Anticancer activity of natural compounds from plant and marine environment. Int J Mol Sci 2018; 19(11): 3533. [CrossRef]
5. Delgoda R, Murray JE. Evolutionary Perspectives on the Role of Plant Secondary Metabolites. In: Badal S, Delgoda R, editors. Pharmacognosy, Academic Press, 2017. p. 93-100. [CrossRef]
6. Kabera JN, Semana E, Mussa AR, He X. Plant Secondary Metabolites: Biosynthesis, Classification, Function and Pharmacological Properties. J Pharm Pharmacol 2014; 2: 377-92.
7. Tholl D. Biosynthesis and biological functions of terpenoids in plants. Adv Biochem Eng Biotechnol 2015; 148: 63-106. [CrossRef]
8. Zhang X, Hu J, Chen Y. Betulinic acid and the pharmacological effects of tumor suppression. Mol Med Rep 2016; 14: 4489-95. [CrossRef]
9. Csuk R. Betulinic acid and its derivatives: A patent review (2008-2013). Expert Opin Ther Pat 2014; 24: 913-23. [CrossRef]
10. Kumar P, Bhadauria AS, Singh AK, Saha S. Betulinic acid as apoptosis activator: Molecular mechanisms, mathematical modeling and chemical modifications. Life Sci 2018; 209: 24-33. [CrossRef]
11. Fulda S, Kroemer G. Targeting mitochondrial apoptosis by betulinic acid in human cancers. Drug Discov Today 2009; 14: 885-90. [CrossRef]
12. Cháirez-Ramírez M, Moreno-Jiménez M, González-Laredo R, Gallegos-Infante J, Rocha-Guzmán N. Lupane-type triterpenes and their anti-cancer activities against most common malignant tumors: A review. EXCLI J 2016; 15: 758-71.
13. Ríos J, Máñez S. New Pharmacological Opportunities for Betulinic Acid. Planta Med 2018; 84: 8-19. [CrossRef]
14. An T, Zha W, Zi J. Biotechnological production of betulinic acid and derivatives and their applications. Appl Microbiol Biotechnol 2020; 104: 3339-48. [CrossRef]
15. Hordyjewska A, Ostapiuk A, Horecka A, Kurzepa J. Betulin and betulinic acid: triterpenoids derivatives with a powerful biological potential. Phytochem Rev 2019; 18: 929-51. [CrossRef]
16. Gali-Muhtasib H, Hmadi R, Kareh M, Tohme R, Darwiche N. Cell death mechanisms of plant-derived anticancer drugs: Beyond apoptosis. Apoptosis 2015; 20: 1531-62. [CrossRef]
17. Debatin K-M. Apoptosis pathways in cancer and cancer therapy. Cancer Immunol Immunother 2004; 53: 153-9. [CrossRef]
18. Zhang X, Zhang S, Zhu S, Chen S, Han J, Gao K, et al. Identification of mitochondria-targeting anticancer compounds by an in vitro strategy. Anal Chem 2014; 86: 5232-7. [CrossRef]
19. Lee D, Lee SR, Kang KS, Ko Y, Pang C, Yamabe N, et al. Betulinic Acid Suppresses Ovarian Cancer Cell Proliferation through Induction of Apoptosis. Biomolecules 2019; 9: 257. [CrossRef]
20. Wang X, Lu X, Zhu R, Zhang K, Li S, Chen Z, et al. Betulinic Acid Induces Apoptosis in Differentiated PC12 Cells Via ROS-Mediated Mitochondrial Pathway. Neurochem Res 2017; 42: 1130-40. [CrossRef]
21. Xu Y, Li J, Li Q-J, Feng Y-L, Pan F. Betulinic acid promotes TRAIL function on liver cancer progression inhibition through p53/Caspase-3 signaling activation. Biomed Pharmacother 2017; 88: 349-58. [CrossRef]
22. Shankar E, Zhang A, Franco D, Gupta S. Betulinic Acid-Mediated Apoptosis in Human Prostate Cancer Cells Involves p53 and Nuclear Factor-Kappa B (NF-κB) Pathways. Molecules 2017; 22. [CrossRef]
23. Pandey MK, Sung B, Aggarwal BB. Betulinic acid suppresses STAT3 activation pathway through induction of protein tyrosine phosphatase SHP-1 in human multiple myeloma cells. Int J Cancer 2010; 127: 282-92. [CrossRef]
24. Chintharlapalli S, Papineni S, Ramaiah SK, Safe S. Betulinic acid inhibits prostate cancer growth through inhibition of specificity protein transcription factors. Cancer Res 2007; 67: 2816-23. [CrossRef]
25. Zeng A, Hua H, Liu L, Zhao J. Betulinic acid induces apoptosis and inhibits metastasis of human colorectal cancer cells in vitro and in vivo. Bioorg Med Chem 2019; 27(12): 2546-52. [CrossRef]
26. Pisha E, Chai H, Lee IS, Chagwedera TE, Farnsworth NR, Cordell GA, et al. Discovery of betulinic acid as a selective inhibitor of human melanoma that functions by induction of apoptosis. Nat Med 1995; 1: 1046-51. [CrossRef]

27. Fulda S, Friesen C, Los M, Scaffidi C, Mier W, Benedict M, et al. Betulinic Acid Triggers CD95 (APO-1/Fas)- and p53-independent Apoptosis via Activation of Caspases in Neuroectodermal Tumors. Cancer Res 1997; 57(21): 4956-64.
28. Fulda S, Scaffidi C, Susin SA, Krammer PH, Kroemer G, Peter ME, et al. Activation of mitochondria and release of mitochondrial apoptogenic factors by betulinic acid. J Biol Chem 1998; 273: 33942-8. [CrossRef]
29. Wang CM, Yeh KL, Tsai SJ, Jhan YL, Chou CH. Anti-proliferative activity of triterpenoids and sterols isolated from Alstonia scholaris against non-small-cell lung carcinoma cells. Molecules 2017; 22(12): 2119. [CrossRef]
30. Ko JL, Lin CH, Chen HC, Hung WH, Chien PJ, Chang HY, et al. Effects and mechanisms of betulinic acid on improving EGFR TKI-resistance of lung cancer cells. Environ Toxicol 2018; 33: 1153-9. [CrossRef]
31. Zhao H, Mu X, Zhang X, You Q. Lung cancer inhibition by betulinic acid nanoparticles via adenosine 5'-Triphosphate (ATP)-binding cassette transporter G1 gene downregulation. Med Sci Monit 2020; 26: e922092-1.
32. Kumar P, Gautam AK, Kumar U, Bhadauria AS, Singh AK, Kumar D, et al. Mechanistic exploration of the activities of poly(lactic- co -glycolic acid)-loaded nanoparticles of betulinic acid against hepatocellular carcinoma at cellular and molecular levels. Arch Physiol Biochem 2020; 1-13. [CrossRef]
33. De las Pozas A, Reiner T, De Cesare V, Trost M, Perez-Stable C. Inhibiting Multiple Deubiquitinases to Reduce Androgen Receptor Expression in Prostate Cancer Cells. Sci Rep 2018; 8: 13146 . [CrossRef]
34. Shin J, Lee HJ, Jung DB, Jung JH, Lee HJ, Lee EO, et al. Suppression of STAT3 and HIF-1 Alpha mediates Anti-Angiogenic activity of Betulinic acid in Hypoxic PC-3 prostate cancer cells. PLoS One 2011; 6(6): e21492. [CrossRef]
35. Asif M, Shafaei A, Abdul Majid AS, Ezzat MO, Dahham SS, Ahamed MBK, et al. Mesua ferrea stem bark extract induces apoptosis and inhibits metastasis in human colorectal carcinoma HCT 116 cells, through modulation of multiple cell signalling pathways. Chin J Nat Med 2017; 15: 505-14. [CrossRef]
36. Rzeski W, Stepulak A, Szymański M, Sifringer M, Kaczor J, Wejksza K, et al. Betulinic acid decreases expression of bcl-2 and cyclin D1, inhibits proliferation, migration and induces apoptosis in cancer cells. Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol 2006; 374: 11-20. [CrossRef]
37. Tan YM, Yu R, Pezzuto JM. Betulinic acid-induced programmed cell death in human melanoma cells involves mitogen-activated protein kinase activation. Clin Cancer Res 2003; 9: 2866-75.
38. Zeng AQ, Yu Y, Yao YQ, Yang FF, Liao M, Song LJ, et al. Betulinic acid impairs metastasis and reduces immunosuppressive cells in breast cancer models. Oncotarget 2018; 9: 3794-804. [CrossRef]
39. Zheng Y, Liu P, Wang N, Wang S, Yang B, Li M, et al. Betulinic Acid Suppresses Breast Cancer Metastasis by Targeting GRP78-Mediated Glycolysis and ER Stress Apoptotic Pathway. Oxid Med Cell Longev 2019; 2019. [CrossRef]
40. Weber D, Zhang M, Zhuang P, Zhang Y, Wheat J, Currie G, et al. The efficacy of betulinic acid in triple-negative breast cancer. SAGE Open Med 2014; 2: 205031211455197. [CrossRef]
41. Xu T, Pang Q, Wang Y, Yan X. Betulinic acid induces apoptosis by regulating PI3K/Akt signaling and mitochondrial pathways in human cervical cancer cells. Int J Mol Med 2017; 40: 1669-78. [CrossRef]
42. Liu W, Li S, Qu Z, Luo Y, Chen R, Wei S, et al. Betulinic acid induces autophagy-mediated apoptosis through suppression of the PI3K/AKT/mTOR signaling pathway and inhibits hepatocellular carcinoma. Am J Transl Res 2019; 11: 6952-64.
43. Kim HJ, Cho HS, Ban HS, Nakamura H. Suppression of HIF-1α accumulation by betulinic acid through proteasome activation in hypoxic cervical cancer. Biochem Biophys Res Commun 2020; 523: 726-32. [CrossRef]
44. Zhang H, Li L, Li M, Huang X, Xie W, Xiang W, et al. Combination of betulinic acid and chidamide inhibits acute myeloid leukemia by suppression of the HIF1α pathway and generation of reactive oxygen species. Oncotarget 2017; 8: 94743-58. [CrossRef]
45. Liao L, Liu C, Xie X, Zhou J. Betulinic acid induces apoptosis and impairs migration and invasion in a mouse model of ovarian cancer. J Food Biochem 2020; 44: e13278. [CrossRef]
46. Yang C, Li Y, Fu L, Jiang T, Meng F. Betulinic acid induces apoptosis and inhibits metastasis of human renal carcinoma cells in vitro and in vivo. J Cell Biochem 2018; 119: 8611-22. [CrossRef]
47. Lu T, Wei D, Yu K, Ma D, Xiong J, Fang Q, et al. Betulinic acid restores imatinib sensitivity in BCR-ABL1 kinase–independent, imatinib-resistant chronic myeloid leukemia by increasing HDAC3 ubiquitination and degradation. Ann N Y Acad Sci 2020; 1467: 77-93. [CrossRef]
48. Yuan DY, Meng Z, Xu K, Li QF, Chen C, Li KY, et al. Betulinic acid increases radiosensitization of oral squamous cell carcinoma through inducing Sp1 sumoylation and PTEN expression. Oncol Rep 2017; 38: 2360-8. [CrossRef]
49. Amiri S, Dastghaib S, Ahmadi M, Mehrbod P, Khadem F, Behrouj H, et al. Betulin and its derivatives as novel compounds with different pharmacological effects. Biotechnol Adv 2020; 38: 107409. [CrossRef]
50. D'Adamo S, Schiano di Visconte G, Lowe G, Szaub-Newton J, Beacham T, Landels A, et al. Engineering the unicellular alga Phaeodactylum tricornutum for high-value plant triterpenoid production. Plant Biotechnol J 2019; 17: 75-87. [CrossRef]