

„BETULĪNA DAUDZVEIDĪGAIS FARMAKOLOGISKĀS POTENCIĀLS”

Konspekts no pētījuma

Priekšvārds

Šis tiešām ir apjomīgs pētījumu kopsavilkums, kas apkopo rezultātus no 182 zinātniskiem darbiem. Tas ir joti piesātināts ar zinātniskiem terminiem, kas ne visi pat man ir zināmi. Lai saprastu un izprastu šo pētījumu kopsavilkumu, man bija jāpatērē daudz laika, ik pa brīdim meklējot atbildes uz terminiem un saīsinājumiem. Lai pētījuma būtība daudz - maz būtu saprotama lasītājiem, kas ir tālu no zinātnes, galveno esmu „izkodis” un pasniedzu šeit saīsinātā un saprotamā veidā.

Jāsaka, ka šis pētījums ir izcils, tas dod atbildes uz to, kādā veidā betulīns mazina iekaisumu asinsvados un pazemina holesterīna līmeni, kā tas uzlabo glikozes vielu maiņu organismā diabēta gadījumā, kā atbalsta aknu darbību, kā darbojas pret audzēju, kāpēc tam ir antioksidantīva, šūnu novecošanos aizkavējoša dzrbība.

Uz pierādījumiem balstītās medicīnas kritērijiem atbilstošos betulīna pētījumos ir pierādīta izcila brūces dziedējoša darbība, kā arī izteikta palīdzība nekrotiskas herpes, bullozas epidermolīzes ārstēšanā, kas, īstenībā, ir dzīvību apdraudošas ādas slimības.

Jā, un man bija pārsteigums, ka tik daudzi augi, izrādās, satur betulīnu un, ka, piemēram, āmulim tieši tāpēc ir insulīna veidošanu veicinošas īpašības aizkuņga betta šūnās, bet tas jau ir atrodams references darbos, konkrēti, šis – [22].

Šīs pētījums nostiprina manu pārliecību, ka betulīnam ir, un nākotnē būs vēl izcilāka loma daudzu slimību ārstēšanā un profilaksē, kā arī to, ka mūsu ražotie betulīna preparāti ir pareizais ceļš, kā aizsargāt un kopt veselību.

Ar pētījuma pilnu tulkotu tekstu var iepazīties zemāk, zem konspekta izklāsta.

Originālu var lasīt <https://doi.org/10.3390/biom13071105>

Īsumā

Betulīns ir dabīgs triterpēns, ko parasti iegūst no bērza tāss, kas pazīstams ar savām potenciālajām brūču dziedinošajām īpašībām. Betulīnam piemīt aizsargājoša iedarbība pret sirds un asinsvadu un aknu slimībām, vēzi, diabētu, oksidatīvo stresu un iekaisumu. Tas samazina hiperglikēmiju, nomācot α -amilāzes un α -glikozidāzes aktivitāti, cīnās pret audzēja šūnām, izraisot apoptozi un kavējot metastātiskus proteīnus, kā arī modulē hronisku iekaisumu, bloķējot iekaisumu veidojošo citokīnu aktivāciju caur iedarbību uz NFKB (kodol faktors kappa B) un MAPK (mitozi - šūnu dališanos regulējoša proteīnkināze) Nemot vērā betulīna potenciālu ietekmēt dažādus bioloģiskos tīklus ar augstu mērķa specifiskumu, var pieņemt, ka betulīns var kļūt par jaunu vadlīniju zāļu izstrādē, jo tas var modificēt dažādus farmakoloģiskos mērķus. Apkopotais pētījums atklāja, ka betulīna daudzveidīgo labvēlīgo ietekmi uz dažādām slimībām vismaz dalēji var izskaidrot ar tā daudzveidīgo pretiekaisuma aktivitāti. Šajā pārskatā galvenā uzmanība pievērsta betulīna farmakokinētikai, farmakoloģiskajai aktivitātei un betulīna daudzveidīgai ietekmei uz tādiem signalizācijas ceļiem kā MAPK, NF- κ B un Nrf2 (proteīns, kas regulē antioksidantīvo izpaušanos), kas ir svarīgi organisma reakcijas regulatori attiecībā uz oksidatīvo stresu un iekaisumu.

Pētījumos pierādītas daudzas betulīna farmakoloģiskās īpašības:

1. Betulīns sirds slimību gadījumā:

- Samazina iekaisumu asinsvados un zema blīvuma lipoproteīdu līmeni asinīs, kas aizkavē aterosklerozes veidošanos un stabilizē aterosklerotiskās plātnītes. Ateroskleroze ir gandrīz visu sirds slimību cēlonis.
- Pētījumā, ar mākslīgi izsauktu infarktu pelēm, ir pierādīts, ka betulīns samazina miokarda infarkta zonu un uzlabo sirds muskuļa apasiņošanu.
- Betulīns efektīvi samazina holesterīna, īpaši ZBLP līmeni.

Terapeitiskā betulīna deva sirds slimību ārstēšanai, atkarībā no ķermeņa svara, ir 1-2 grami dienā, tas ir 20 mg/kg. 14 nedēļas ilgi. (*Mans novērojums*)

2. Pētījumā ar diabētu slimojosiem dzīvniekiem noskaidrots, ka:

- betulīns samazina glikozes, triglicerīdu un holesterīna līmeni asinīs,
- mazina insulīna rezistenci,
- veicina diabētisku ādas bojājumu dzīšanu.
- Pielietotā terapeitiskā betulīna deva dzīvniekiem diabēta ārstēšanai ir 20 - 30 mg/kg.

3. Betulīna aizsargājošā ietekme pret vēzi.

- Betulīnam nav tiešas citotoksiskas iedarbības uz vēža šūnām, bet tas pastiprina kīmijterapijas preparātu darbību.
- Pastāvīgi darbojoties, tas ierosina vēža šūnu apoptozi (dabīgo šūnu nāvi, kā tam būtu jānotiek veselā organismā).
- Kavē jaunu asinsvadu veidošanos audzējos, tādā veidā kavē to augšanu
- Samazina metastāzes ierosinātāju aktivitāti.
- Betulīns kavē prostatas, krūts, resnās zarnas, aknu, kuņģa, plaušu, dzemdes kakla vēža, gliomas, neiroblastomas šūnu līniju augšanu un izplatību.

Betulīna efektīvā deva, atkarībā no ķermeņa svara, ir 1.5 – 2.5 grami dienā (mans novērojums)

4. Betulīna hepatoprotektīvā (aknas aizsargājošā) darbība:

- Betulīns samazina tauku izgulsnēšanos aknās (steatozi),
- Mazina aknu šūnu iekaisumu, bojā eju un fibrozi, par ko liecina ALAT, ASAT, LDH līmeņa normalizēšanās asinīs, slimojot ar A,B,C hepatītu un pēc toksisku vielu, piemēram, alkoholisku dzērienu lietošanas. Pētījumā ar dzīvniekiem tika noskaidrots, ka, pielietojot betulīnu, pirms alkohola ievadīšanas, trīskārtīgi palielinājās alkohola letālās devas lielums.
- Veicina aknu šūnu reģenerāciju (atjaunošanos) un darbības uzlabošanos.

5. Betulīna pretiekaisuma īpašības

Pretiekaisuma darbība tiek novērota attiecībā arī uz aseptiskiem iekaisumiem asinsvados, locītavās, muskuļos u.c.. Pretiekaisuma darbībai ir vairāki mehānismi:

- 1) Iedarbība uz Nrf2 (bāzes leicīna rāvējslēdzēja (bZIP) transkripcijas faktors) signalizācijas ceļu,
- 2) NFkB (nukleārā faktora kappa B) modulācija,
- 3) iekaisumu veicinātāju – interlekīnu IL-1b, IL 6, TNF- α (tumor nekrotiskā faktora alfa) aktivitāties un citokīnu darbības nomākšana
- 4) Iedarbība uz MAPK (mitozi aktivējoša proteīn kināze) signalizācijas ceļu, to bremzējot.
MAPK signalizācijas ceļš regulē virkni šūnu procesu, tostarp proliferāciju, mitozi, iekaisuma reakcijas, šūnu kustīgumu un apoptozi, bet šo procesu kaskādes disregulācija ir saistīta ar dažādu slimību, piemēram, vēža, autoimūno slimību un diabēta, izraisīšanu un progresēšanu.
Atklāts arī, ka betulīns palielina osteoblastu attīstību un osteoinduktīvās darbības cilvēka osteoblastos. Interesanti, ka no bērza mizas izolēts betulīns inhibēja osteoklastogēzi kaulu smadzeņu makrofāgos. (Osteoklastu nekontrolēta aktivācija izraisa osteoporizi - mana piezīme).

Caur šiem mehānismiem betulīns pozitīvi ietekmē organismā daudzus procesus:

- 1) Izraisa T limfacītu un interferona gamma veidošanās stimulāciju, kas ir galvenie imunitātes nodrošinātāji,
- 2) Samazina brīvo radikāļu veidošanos, nomācot skābekļa superoksīda - ROS veidošanos (caur tirozilfosforilēšanas kavēšanas mehānismu)
- 3) Pastiprina keratocītu migrāciju uz ādas bojājuma vietu.
- 4) Pētījumā ar dzīvniekiem, izraisot tiem sepsi gremošanas trakta un nieru iekaisuma dēļ, tika noskaidrots, ka, pielietojot betulīnu, izdzīvošana palielinājās par 60%
- 5) Kavē kaulu blīvuma samazināšanos
- 6) Osteoartrīta gadījumā, tika konstatēts, ka betulīns mazina TNF- α un IL-1 β izraisītu iekaisumu.

6. Betulīna iedarbība uz organismā funkciiju līdzsvaru – homeostāzi.

Aktivizējot neaizvietojamās aminoskābes leicīna aktivitāti (Nrf2 signalizācijas ceļš), betulīns modulē un regulē organismā homeostāzi:

- 1) Vielu maiņas procesus muskuļos,
- 2) Mitohondriju darbību,
- 3) Iekaisumu, autofāgiju, imūnās atbildes reakcijas,
- 4) Šūnu diferenciāciju, apoptozi, hemopoēzi,
- 5) Aizsardzību pret vēzi, neirodegeneratīvām un autoimūnām slimībām,
- 6) Mazina prāta spēju pasliktināšanās iespēju

7. Betulīna metabolism (pārveidošanās) organismā

Iepriekš iegūtie dati par betulīna metabolismā ceļu, izmantojot cilvēka un žurku aknu mikrosomas, atklāja, ka divi II fāzes ceļi (glikuronidācija un sulfonēšana) ir galvenie tā metabolismā ceļi. Metabolisma procesi notiek aknās. Cilvēka aknās par galveno izoenzīmu, kas atbildīgs par betulīna sulfonēšanu, tika atzīta sulfotransferāze 2A1.

Cita autoru grupa noteica 34 betulīna metabolītus *in vitro* un *in vivo*, tostarp 32 pirmās fāzes metabolītus un 2 otrs fāzes metabolītus. Tāpat pēc betulīna perorālas lietošanas tika konstatēti 56 betulīna pirmās fāzes un 6 otrs fāzes metabolīti. Pētījuma autori pierādīja, ka galvenie betulīna biotransformācijas ceļi ir deoksidācija, dehidratācija, dehidroksilācija, demetylācija un konjugācija ar acetilcisteīnu, cisteīnu, taurīnu un sulfātu.

Iespējams, ka šie procesi palielina betulīna pieejamību un darbību organismā (mans secinājums).

8. Betulīna farmakokinētika

Hu et al. ierosināja, ka zāļu metabolismā izpratne var palīdzēt izskaidrot un prognozēt notikumu kaskādi, kas saistīta ar zāļu iedarbību un toksicitāti. Betulīna metabolismā izpēte *in vivo* ir izrādījusies sarežģīta, jo īpaši nemot vērā betulīna ķīmisko sastāvu, tā lipofilitāti un nešķidumu ūdens vidē. Turklat pašlaik pieejamajos datos var būt neatbilstības, jo ir ierobežots pētījumu skaits, kuros pētīta betulīna farmakokinētika, zema bioloģiskā pieejamība, lietošanas veids un devas. Attiecīgi Jäger un kolēgi novērtēja žurku tēviņu un mātīšu asins paraugus, kam 4 h intraperitoneāli ievadīts betulīns (60, 180 un 540 mg/kg), un tika novērots būtisks no laika atkarīgs betulīna līmeņa pieaugums plazmā 4 h laikā, sasniedzot no devas neatkarīgu līmeni serumā 0,13 µg/ml visās devu grupās. Turpretī suniem, ievadot betulīnu zemādas veidā, tika konstatēta atkarība no devas, un pēc 28 dienām maksimālais betulīna līmenis plazmā bija 0,33 µg/ml pie 300 mg/kg

Citā *in vivo* pētījumā, kurā tika pētīta betulīna nanosistēmas farmakokinētika žurkām, vienreizēja deva tika ievadīta endotraheāli, kā rezultātā betulīna maksimālā koncentrācija asins plazmā tika konstatēta 15 min ($C_{max} = 15,5 \mu\text{g}/\text{ml}$). Pētījumā arī atklāja, ka visaugstākā betulīna koncentrācija tika konstatēta plaušās un aknās, bet viszemākā koncentrācija – sirdī. Citā pētījumā pierādīja, ka betulīnam (500 mg/kg) žurkām bija neliela perorāla absorbcija un lēna eliminācija.

9. Secinājumi

Pieaug interese par dabas produktiem, jo to avoti un farmakoloģiskais potenciāls ir joti daudzveidīgi. Daudzi kliniskie pētījumi, kuros ādas apdegumu un epidermolīzes bulozes ārstēšanā izmantots betulīna oleogs (patentēts nosaukums Episalvan), liecina, ka viena no tā izcilākajām īpašībām ir brūču dzīšanas spēja. Šajā rakstā uzsvērta betulīna kardioprotektīvā, hepatoprotektīvā, pretdiabēta, pretvēža un pretiekaisuma un iekaisumu aizsargājošā iedarbība. Apkopotie pētījumi atklāja, ka betulīna daudzfunkcionālās pretiekaisuma īpašības varētu būt par iemeslu tā daudzajām labvēlgajām iedarbībām dažādus limību gadījumos. Pamatojoties uz apkopotajiem datiem, pirmskliniskajos pētījumos ir apstiprināts, ka betulīns iedarbojas uz dažādām iekaisuma izraisītām slimībām, kavējot ROS veidošanos, mazinot proiekaisuma citokīnus un uzlabojot pretiekaisuma citokīnu darbību. To pamatā esošie molekulārie mehāniemi ietver HO-1 un NQO1 ekspresijas palielināšanu, aktivizējot Nrf2, inhibējot NFκB un inaktivējot MAPK. Klinisko pētījumu apkopojums liecina, ka betulīns labvēligi iedarbojas uz ādas apdegumiem, aktīnisko keratozi un epidermolīzi bullozi. Ādas brūču gadījumā betulīns veicina brūču dzīšanas iekaisuma fāzes sākšanos, īslaicīgi regulējot proiekaisuma mediatorus un veicinot keratinocītu migrāciju. Visas šīs zināšanas veicina mūsu izpratni par betulīna lomu slimībās, kas var sniegt jaunus potenciālos terapeitiskos mērķus, taču ir nepieciešami turpmāki pētījumi un preklīniskie pētījumi, lai izpētītu visu tā farmakoloģisko īpašību spektru. Visbeidzot, jāizpēta arī betulīna farmakokinētiskie un toksikoloģiskie pētījumi, kā arī jāapsver uzlabotas metodes betulīna šķidības palielināšanai.

Betulīna daudzveidīgais farmakoloģiskais potenciāls

(pilns tulkots teksts)

(Pharmacological Potential of Betulin as a Multitarget Compound)

by Feyisayo O. Adepoju, Kingsley C. Duru, Erguang Li, Elena G. Kovaleva, Mikhail V. Tsurkan

Department of Technology for Organic Synthesis, Chemical Technology Institute, Ural Federal University, Mira 19, 620002 Yekaterinburg, Russia

Center for Advanced Biotechnology and Medicine, Rutgers University, Piscataway, NJ 08854-8021, USA

Medical School, Nanjing University, Nanjing, 22 Hankou Road, Nanjing 210093, China

Leibniz Institute of Polymer Research, 01069 Dresden, Germany

Biomolecules 2023, **13**(7), 1105; <https://doi.org/10.3390/biom13071105>

Submission received: 25 May 2023 / Revised: 5 July 2023 / Accepted: 5 July 2023 / Published: 12 July 2023

Abstrakts

Betulīns ir dabīgs triterpēns, parasti no bērza mizas, kas pazīstams ar savām potenciālajām brūču dziedinošajām īpašībām. Lai gan betulīnam ir plašs farmakoloģisko mērķu spektrs, nevienā pētījumā nav ierosināts izmantot betulīnu kā daudzfunkcionālu savienojumu. Betulīnam piemīt aizsargājoša iedarbība pret sirds un asinsvadu un aknu slimībām, vēzi, diabētu, oksidatīvo stresu un iekaisumu. Tas samazina postprandiālo hiperglikēmiju, inhibējot α -amilāzes un α -glikozidāzes aktivitāti, cīnās pret audzēja šūnām, izraisot apoptozi un inhibējot metastātiskus proteīnus, un modulē hronisku iekaisumu, bloķējot proiekaisuma citokīnu ekspresiju, modulējot NF_κB un MAPK ceļus. Nemot vērā betulīna potenciālu ietekmēt dažādus bioloģiskos tīklus ar augstu mērķa specifiskumu, var pieņemt, ka betulīns var kļūt par jaunu vadlīniju zāļu izstrādē, jo tas var modifīcēt dažādus farmakoloģiskos mērķus. Apkopotas pētījums atklāja, ka betulīna daudzveidīgo labvēlīgo ietekmi uz dažādām slimībām vismaz daļēji var izskaidrot ar tā daudzu mērķu pretiekaisuma aktivitāti. Šajā pārskatā galvenā uzmanība pievērsta betulīna dabiskajiem avotiem, farmakokinētikai, farmakoloģiskajai aktivitātei un betulīna daudzu mērķu ietekmei uz tādiem signalizācijas ceļiem kā MAPK, NF-_κB un Nrf2, kas ir svarīgi organismā reakcijas uz oksidatīvo stresu un iekaisumu regulatori.

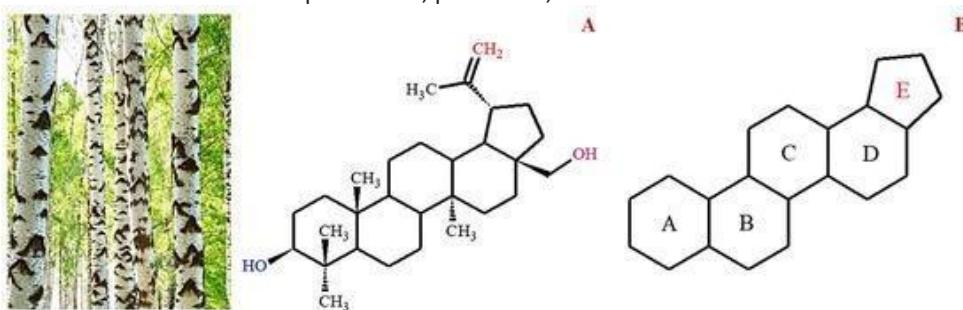
Atslēgas vārdi:

[betulīns](#); [iekaisums](#); [pretiekaisuma līdzekli](#); [pretiekaisuma līdzekli](#); [hepatoprotektīvie līdzekli](#); [dabiskie produkti \(MAPK, Nrf2, NF_κB\)](#)

1. Ievads

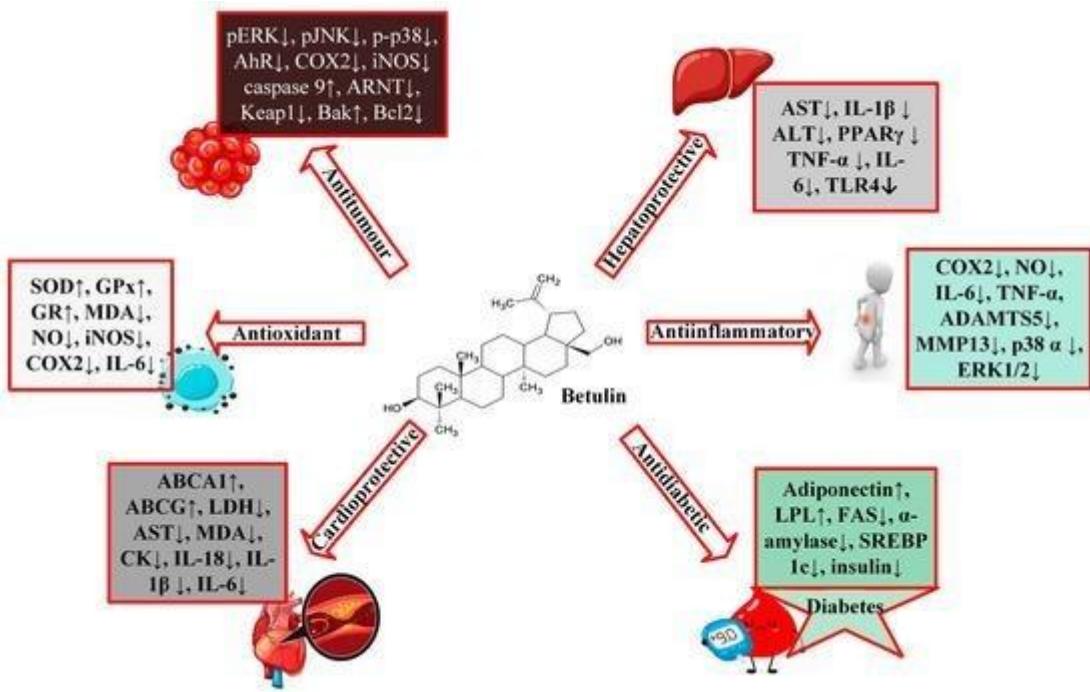
Dabas produkti jau sen tiek uzskatīti par pievilcīgu farmakoloģiski aktīvu vielu avotu, jo īpaši infekcijas slimību un vēža ārstēšanai. Neraugoties uz sintētiskās ķīmijas pieejas ieviešanu farmācijā, dabīgie produkti joprojām dod nozīmīgu ieguldījumu slimību profilaksē un ārstēšanā. Tas ir saistīts ar to dabas daudzveidību, sarežģītību, novitāti, zemo toksicitāti un plašo iedarbīgumu. Turklāt ir nepieciešams atklāt jaunus savienojumus, kas var efektīvi ārstēt slimības, lai uzlabotu terapeitiskās iespējas [1]. Triterpēni ir dabisko savienojumu klase, kas plaši izplatīta augos un kam piemīt potenciālas pretiekaisuma, hepatoprotektīvas, antioksidatīvas, pretvēža, pretvīrusu vai citotoksiskas īpašības. Tomēr parasti tie veido mazāk nekā 0,1 % no augu orgānu sausnas svara.

Betulīns, ķīmiski pazīstams kā lup-20(29)-en-3 β ,28-diols, ir dabā sastopams triterpēns, kam raksturīgs piecu loceļu gredzens un izopropilidēna grupa (**1. attēls**). Betulīns un citi tā atvasinājumi ir sastopami dažādās augu sugās, īpaši Betulaceae dzimtas augos, kas ir atbildīgi par bērzu sudrabaino krāsu [2]. Ir pierādīts, ka tādi faktori kā suga, ģeogrāfiskā atrašanās vieta, vecums un klimats ietekmē betulīna sausnas saturu (10-45 %) augos. Nemot vērā betulīna bagātību dabā, citas potenciāli bioloģiski aktīvās formas parasti sagatavo, izmantojot vienkāršus oksidēšanas un reducēšanas protokolus, piemēram, Džonsa oksidēšanu un Pinnika oksidēšanu.



1. attēls. Bērza, kas ir galvenais betulīna avots, attēls. Betulīna strukturālā formula (**A**) un betulīna pentacikliskais skelets (**B**).

Saskaņā ar pieejamo literatūru ir redzams, ka betulīnam ir plašs bioloģisko aktivitāšu spektrs (**2. attēls**), tostarp pret HIV, pretsēnišu, antibakteriāla, pretiekaisuma, pretvēža, pretvīža, preteleshmanijas un imūnregulējošā iedarbība [1,3,4]. Tomēr lielākā daļa šo pētījumu ir koncentrēti uz betulīna atvasinājumiem. Jaunākie pētījumi liecina, ka betulīnam ir nozīmīga farmakoloģiskā iedarbība, tīklīz ir novērsta tā nešķidība. Šie pētījumi liecina, ka betulīnam piemīt daudzfunkcionāla iedarbība dažādos orgānos un slimību stāvokļos. Betulīns inhibē proiekaisuma citokīnus (IL-6, IL-1 β , TNF α), HMGB-1, NF_κB un MAPK, kā rezultātā samazinās plaušu un aknu bojājumi septiskām žurkām [5]. Lai gan precīzs šo darbību molekulārais mehānisms joprojām nav zināms, pētījumi liecina, ka betulīna p r e t i e k a i s u m a īpašības ir tā dažādo bioloģisko funkciju pamatā [5]. Daudzas slimības, tostarp infekcijas, vēzi, alerģijas, diabētu, astmu, artrītu un aterosklerozi, raksturo hronisks iekaisums [6,7]. Tā kā iekaisums ir galvenais process daudzu hronisku slimību attīstībā un rašanās procesā, savienojumi ar daudzu mērķu īpašībām ir terapeitisko zāļu m e k l ē š a n a s virziens.



2. attēls Betulīna bioloģiskās aktivitātes shematisks attēlojums.

Neraugoties uz daudzveidīgo bioloģisko un terapeitisko aktivitāti, betulīna kā daudzfunkcionāla pretiekaisuma savienojuma molekulārie mehānismi joprojām nav skaidri. Tas ir tāpēc, ka iekaisuma inhibīcijā ir daudzi iespējamie farmakoloģiskie mērķi, tostarp ķīmokīni, citokīni un proiekaisuma transkripcijas faktori. Tāpēc šī pārskata mērkis ir apspriest attiecīgos pētījumus, kuros ierosinātas betulīna terapeitiskās iejaukšanās, tā molekulāros darbības mehānismus, kas iegūti pirmskliniskajos pētījumos, un pieejamos kliniskos pierādījumus, kas iegūti randomizētos kontrolētos pētījumos.

2. Dabīgie betulīna avoti

Vēsturiski betulīna izcelsme meklējama jau 1788. gadā, kad to pirmo reizi novēroja Lowitz [8], bet pirmo reizi tā nosaukumu 1831. gadā lietoja Mason [9]. Betulīns ir lupāna tipa triterpenoīds ar divām hidroksilgrupām 3 α un 28 pozīcijā (1. attēls). Viena no hidroksilgrupām ir primārā OH grupa 28. oglekļa pozīcijā, bet otra ir sekundārā OH grupa 3. oglekļa pozīcijā. Alķēna grupa tika novērota arī 20. oglekļa pozīcijā. Hidroksilgrupas un alķēna grupas kalpo kā vienkāršu modifikāciju piesaistes vietas, savukārt piecdalīgais lupāna skelets veicina betulīna lipofilitāti, kā rezultātā tas slikti šķīst ūdenī. Betulīnu izolē no bērza garozas, veicot sublimāciju vai ekstrakciju ar šķīdinātāju, un betulīna saturs ekstraktā ir atkarīgs no bērza sugars un koka daļas. Betulīns ir atrodams dažādos augu avotos, tomēr visizplatītākais tā avots ir *Betula* spp. Tomēr betulīnu var iegūt arī no citiem avotiem, kas nav augi, tostarp no sēnēm. **tabulā** uzskaitīti dažādi betulīna avoti, to ekstrakti un izdalīšanas metodes.

1. **tabula.** Dabiskie betulīna avoti, to ekstrakcijas šķīdinātāji un izdalīšanas metodes.

Betulīna izolēšanas metodes

Bērza miza ir primārais betulīna avots, un tai ir ievērojamas priekšrocības betulīna izolēšanā salīdzinājumā ar citiem avotiem, jo no bērza mizas ārējās daļas var iegūt lielu betulīna daudzumu (20-30 %), kā arī lielu daudzumu mizas, kas rodas no papīra un celulozes rūpniecības rūpnieciskajiem atkritumiem. Nemot vērā pieaugošo interesi par betulīnu, tā atvasinājumiem un to bioloģisko aktivitāti, ļoti svarīga ir betulīna izolēšanai izmantoto ekstrakcijas procedūru efektivitāte.

Iz publicēti daudzi pētījumi par betulīna izolēšanu no dažādiem avotiem

[10,11,12,13,14,15,16,17,18,19,20,21,22,23,24,25,26,27,28,29,30,31,32,33,34,35,36,37,38,39].

Daudzas no izmantotajām metodēm ir dažādu augu daļu ekstrakcija ar šķīdinātājiem (1. tabula), izmantojot tādus šķīdinātājus kā etanolu, metanolu, hloroformu, DES, heksānu, ūdeni, dihlormetānu un citus, un ekstrakcijas paņēmieni ir perkolācija, macerācija, enfleurāža un Soksletaekstrakcija, tomēr iegūtais iznākums bieži vien ir diezgan zems. Tāpēc betulīna attīrišanai tika izmantotas citas metodes, piemēram, superkritiskā CO_2 ekstrakcija, ekstrakcija ar mikroviļņu palīdzību, sonikācija un šķidrumi zem spiediena, bet hromatogrāfija kolonnās un rekrystalizācija [16,20,21]. Saskaņā ar Šiman et al. augstas tirības pakāpes betulīnu (> 99 %) var iegūt no citiem savienojumiem, izmantojot piecu posmu metodi, kas sastāv no skābes un piemaisījumu pirmās atdalīšanas ar kalcija hidroksīdu, benzola ekstrakcijas, lai atdalītu lupeolu, pārkristalizēšanas no etanola, atlikušo piemaisījumu atdalīšanas uz silikagela un galīgās pārkristalizēšanas no etanola [3].

3. Betulīna farmakoloģiskās aktivitātes

3.1. Betulīna aizsargājošā ietekme uz sirds un asinsvadu slimībām

Sirds un asinsvadu slimības (SAS) ir slimību grupa ar vairākiem pamatcēloņiem, kas saistīti ar sirdi un asinsvadiem, piemēram, sirds mazspēja, kardiomiopātija, aritmija, sirds išēmiskā slimība, iedzimtas sirds slimības u. c.; tomēr sirds un asinsvadu slimības, piemēram, sirds mazspēja, kardiomiopātija, aritmija, sirds išēmiskā slimība, iedzimtas sirds slimības u. c.

pamatā esošie mehānismi atšķiras atkarībā no slimības. Tiek lēsts, ka 2016. gadā no sirds un asinsvadu slimībām miruši 17,9 miljoni cilvēku, kas veido 31 % no visiem nāves gadījumiem pasaulē un ir lielākais nāves cēlonis visā pasaulē. Saskaņā ar Amerikas Sirds asociācijas datiem kardiomiopātija ir heterogēna sirds muskuļa slimību grupa, parasti ar neatbilstošu kambaru hipertrofiju vai dilatāciju, kam ir dažādi cēloņi un kas var būt vai nu ģenētiski, vai iegūti, t. i., attīstīties citu slimību ietekmē [40].

Tika konstatēts, ka betulīns inhibē SREBP aktivāciju, ievērojami samazinot endoplazmatiskā retikuluma stresa markierus (BIP, CHOP un PDI) žurku H9c2 kardiomioblasta šūnās, ievērojami uzlabojot sirds morfoloģiskās īpašības un mazinot patoloģiskos sirds stāvokļus (piemēram, muskuļu šķiedru degenerāciju, vaskulītu un imūno šūnu infiltrāciju); samazina sirds lipīdu (acetil CoA karboksilāzes (ACC), FAS un ZBL) līmeni un palielina sirds ABCA1 līmeni [41].

Nesen veiktā pētījumā, kurā tika izmantotas *C57BL/KsJ-db/db* peles un H9c2 šūnas, atklāja, ka betulīns ievērojami samazina elektrokardiogrammas ST- segmentu un miokarda infarkta laukumu; uzlabo miokarda funkciju un sirds patoloģiskās izmaiņas; palielina Sirt1 ekspresiju, vienlaikus samazinot ASC, IL-1 β , kaspāzes-1, NLRP3, p-NF κ B, CD68 un Gr-1 [42,43]. Turklat, perorāli lietojot betulīnu (30 mg/kg dienā 14 nedēļas) LDLR knockouettēm pelēm, samazinājās aortas loka un krūšu aortas bojājumi un palielinājās aterosklerotisko plākšņu stabilitāte [44]. Ateroskleroze ir galvenais sirds un asinsvadu slimību ierosinātājs, un HFD-apoE^{-/-} pelēm betulīns (20 un 40 mg/kg) inhibēja aterosklerotiskos bojājumus un palielināja holesterīna izplūdi, pārmērīgi palielinot ATP saistošo kasešu transportieru ABCA1 un ABCG1 līmeni. Autori arī parādīja, ka betulīna pastiprināto ABCA1 ekspresiju THP-1 un RAW264.7 šūnās nodrošina SREBPs nomākšana un tā mērķa gēnu (HMG-CR, FAS, LDLR) inhibīcija [45].

3.2. Betulīna aizsargājošā ietekme uz diabētu

Pasaulē ar diabētu dzīvo aptuveni 537 miljoni cilvēku, un paredzams, ka 2045. gadā to skaits pieauga līdz 783 miljoniem (www.idf.org; skatīts 2023. gada 22. maijā). Cukura diabēts ir ilgstošs vielmaiņas traucejums, kam raksturīga hiperglikēmija, hiperlipidēmija un disfunkcionāla insulīna sekrēcija [43]. Slimības stāvokli pavada smagas un novājinošas blakusslimības, tostarp mikrovaskulāras slimības: diabētiskā nefropātija, neiroptātija un retinopātija, kā arī makrovaskulāras slimības, piemēram, koronārā sirds slimība un perifēro asinsvadu slimības. Triterpenoīdi, jo īpaši lupāna tipa, var būt daudzsološas terapeitiskas zāles diabēta ārstēšanai, jo to daudzveidīgā bioloģiskā iedarbība ietver ietekmi uz glikozes uzņemšanu un uzsūkšanu, diabētisko asinsvadu disfunkciju un insulīna sekrēciju [46].

Saskaņā ar Wen et al. datiem, betulīns, 12 nedēļas ievadīts *C57BL/KsJ-db/db* peļu tēviņiem 20 un 40 mg/kg devās, ievērojami samazināja cukura, insulīna, kopējo triglicerīdu un kopējā holesterīna līmeni asinīs [43]. Citi pētnieki ir pierādījuši, ka betulīns atjauno insulīna rezistenci, uzlabojot glikozes toleranci, inhibējot lipīdu peroksidāciju hipokampusā, modifīcējot bazālo mācīšanās veikspēju, samazinot iekaisuma citokinu (IL-6, IL-1 β , TNF α) un inhibējot NF κ B signalizācijas asu diabēta žurkām [47]. Citā pētījumā betulīns pastiprināja insulīna stimulētu glikozes uzsūkšanos, palielinot PPAR-γ aktivitāti 3T3-L1 adipocītos [22], un būtiski samazināja glikozes līmeni laika atkarībā no laika veseliem un aloksāna izraisīta diabēta trūšiem (0,2 g/kg), tādējādi izrādot hipoglikēmisku iedarbību [48]. Turklat *in silico* pētījumā, izmantojot no *Ruellia tuberosa* L. izolētu betulīnu, tika pierādīts, ka tas ir nekonkurētīvs α -amilāzes inhibitoris [49,50].

Vairāki citi autori ir apstiprinājuši betulīna lielisko inhibējošo iedarbību uz α -amilāzi un α -glikozidāzi [34,51,52,53]. Ir terapeitiski pierādīts, ka alfa-amilāzes un alfa-glikozidāzes inhibitori uzlabo postprandiālo hiperglikēmiju diabēta pacientiem, aizkavējot glikozes metabolisma ātrumu [51,54]. Citā pētījumā ar *C57BL/6J* pelēm, kas barotas ar diētu ar augstu tauku saturu, pierādīts, ka ārstēšana ar betulīnu uzlabo insulīna jutību un glikozes toleranci. Turklat darbā tika ziņots, ka betulīns kavēja SREBP ekspresiju, pazemināja SREBP-2 mērķa gēnu (FAS, ACC un SREBP-1c) regulāciju un ievērojami palielināja adiponektīnu, LPL un PPAR-γ ekspresiju baltajos taukaudos, kur šo gēnu pārspīlēta ekspresija tika uzskatīta par pretdiabēta un pretiekaisuma darbību [44]. Traucēta brūču dzīšana ir svarīgs riska faktors, kas saistīts ar cukura diabētu. *In vitro* modelī ar fibroblastiem un keratinocītiem, kas iegūti no donoriem ar cukura diabētu un bez diabēta, novērtējot betulīna iedarbību uz brūču dzīšanu, tika konstatēts paaugstināts proiekaisuma citokinu, hemokīnu un brūču dzīšanai svarīgu mediatoru, piemēram, IL-6, TNF, IL-8 un RANTES, mRNS līmenis [55]. Betulīns kā SREBP inhibitoris dažādos eksperimentālos modeļos pierādīja virkni labvēlīgu ieguvumu, kas liecina, ka betulīns varētu būt daudzsološs terapeitiskais mērķis metabolisko slimību, īpaši cukura diabēta un aterosklerozes, ārstēšanai.

3.3. Betulīna aizsargājošā ietekme uz vēži

Mūsdienās vēža ārstēšanai klīniski izmanto dažādas terapijas, tostarp medikamentus vai zāļu kombinācijas, piemēram, cisplatīnu, doksorubicīnu, etopozīdu, temozolomīdu, 5-fluoruracīlu, gefitinibu, sorafenibu, tomēr šiem medikamentiem ir dažādas nevēlamas īpašbas. iedarbība , kas ievērojami ierobežo to pielietojumu.

(<https://www.cancerresearchuk.org/about-cancer/treatment/chemotherapy/side-effects>; <https://www.cancerresearchuk.org/about-cancer/cancer-in-general/treatment/cancer-drugs/drugs>)

Līdz ar to ir nepieciešams atklāt jaunus pretvēža medikamentus vai zāļu kombinācijas ar mazāku toksicitāti un blakusparādībām. Lai izstrādātu efektīvas vēža terapijas stratēģijas, loti svarīgi ir izprast saistību starp dabā sastopamajiem bioaktīvajiem savienojumiem un zināmajiem šunu mērķiem. Literatūrā ir ievērojams daudzums daudzām dabīgām vielām, kas vēža šūnas inducē iekšējo (mitohondriālo) un ārējo (Fas/FasL) apoptozi [56,57,58,59]. Citi iedarbības mehānismi izpaužas kā angiogēno un metastātisko proteīnu (matriks metaloproteināžu, MMP un VEGF) ekspresijas samazināšana un vairāku iekaisuma mediatoru, tostarp IL-6, iNOS, IL-8, COX2, IFN-γ un TNF-α, inhibēšana [60,61,62,63,64].

Dabas vielas vai sekundārie metabolīti, kas plaši izplatīti dažādos organismos, var izrādīt pretvēža iedarbību vai uzlabot parastās ķīmijterapijas efektivitāti. Pētījumi par betulīna pretvēža iedarbību ir labi dokumentēti (2.tabula); ir arī labi zināms, ka betulīns šo iedarbību ietekmēja ar vairākiem mehānismiem, piemēram: (1) izraisa mitohondriju bojājumus, kas izraisa citohroma c izdalīšanos un apoptozes indukciju, (2) inducē apoptozi, izmantojot kaspāzes 9 un 3 aktivizācijas ceļu, (3) inducē autofagiju, (4) izraisa PKC-δ hiperekspresiju, (5) inducē nāves receptorus, izmantojot kaspāzes 8 aktivitāti, (6) aptur šunu ciklu.

Daudzos pētījumos ir apstiprināts, ka betulīns efektīvi kavē prostatas, krūts, kolorektālā un plaušu vēža šūnu līniju augšanu [65,66]. Pētījums ar cilvēka šunu līnijām: epidermoīdā karcinoma (A431), dzemdes kakla vēzis (HeLa) un krūts adenokarcinoma (MCF-7) parādīja, ka betulīns (13,28 µg/ml), kas iegūts no *Betula pendula*, attiecīgi inhibēja 81,39 %, 70,30 % un 35,54 % [18]. Citā *in vitro* pētījumā, ko veica Dehelean un citi, betulīns inhibēja vēža šunu līniju augšanu atkarībā no devas (IC₅₀ vērtības: HeLa, 6,67 µM; A431, 6,76 µM; MCF7, 8,32 µM), parādot pakāpenisku kodola kondensāciju, fragmentāciju un kontrakciju, kas raksturo šunu apoptozi. Lai to vēl vairāk apstiprinātu, viņi veica *in vivo* pētījumu, izmantojot cāļa korioalantoisko membrānu, kurā betulīns demonstrēja antiangiogēnišķu aktivitāti, samazinot jaunizveidoto kapilāru skaitu, jo tāpāši mezenhīmā, nemainot stromas arhitektūru [67]. Turklat pētījumā ar cilvēka kuņģa vēži (SGC7901 šūnas) atklāja, ka betulīns novērš kuņģa vēža šunu proliferāciju un klonogēno augšanu, aktivizējot iekšējo apoptozes signalizācijas asi, pazeminot antiapoptozes proteīnu XIAP un Bcl-2 darbību [68].

Tika arī atklāts, ka betulīns būtiski nomāc vairāku cilvēka šunu līniju dzīvotspēju, tostarp dzemdes kakla vēža (HeLa), plaušu vēža (A549), aknu vēža (HepG2) un krūts vēža (MCF-7), ar IC₅₀ vērtībām 10-15 µg/ml, un izrāda mērenu pretvēža aktivitāti hepatomas (SK-HEP-1), prostatas vēža (PC-3) un plaušu vēža (NCI-H460) gadījumā, ar IC₅₀ vērtībām 20-60 µg/ml. Pētījumā arī atklājās, ka betulīns izraisa apoptozi, aktivizējot kaspāzi 9 un 3/7, bet ne kaspāzi 8 HeLa šūnas [69]. Mullauer et al. novērtēja betulīnskābes un betulīna iedarbību kombinācijā ar holesterīnu uz Jurkat T leikēmijas šūnām un aprakstīja, ka betulīna un holesterīna kombinācija bija efektīva vēža šunu nogalināšanā *in vitro* [70]. Autori uzskata, ka par betulīna un holesterīna izraisīto apoptozi Jurkat šūnās ir atbildīgi mitohondriju bojājumi. Šis bojājums izraisa apoptozi un citohroma c izdalīšanos, kas ir pilnīgi neatkarīga no Bcl-2 [70]. Cits pētījums par betulīna antiprofilitatīvo iedarbību uz vairākām vēža šūnām parādīja, ka betulīns nomāc nervu sistēmas audzēja šunu (SK-N-AS, C6 un TE671), perifēro audu (HT-29, T47D, FTC238 un A549), asins ļaundabīgo audzēju (RPMI8226 un Jurkat IE.6) un primārās kultūras (HPOC, HPCC un HPGBM) augšanu. Turklat betulīns efektīvi samazināja gliomas (C6), plaušu vēža (A549) un meduloblastomas (TE671) šunu migrāciju un ievērojami izraisīja A549 šunu apoptozētu šunu nāvi pīe mazas devas 5 µM [71]. Tas rada iespēju, ka betulīnu var izmantot kā ķīmopreventīvu līdzekli pacientiem ar paaugstinātu plaušu vēža metastāžu attīstības risku, nemot vērā, ka netoksiska betulīna koncentrācija var būtiski kavēt vairāku audzēja šunu migrāciju un ka tā pati deva var būtiski kavēt audzēja šunu proliferāciju [71].

Perorāla betulīna lietošana mazināja CT26 šūnu metastāzes Balb/c pelēm, izmantojot šūnu cikla apstāšanos, autofāziju un apoptozi, regulējot AMPK, PI3K/Akt/mTOR un MAPK signalizācijas ceļus [72]. Citos pētījumos arī pierādīts, ka betulīna nanoemulsijai ir relatīva antiangiogēniska iedarbība, zema citotoksicitāte un VEGF ekspresijas inhibīcija chorioalantoiskās membrānas asinsvadu līmenī cāju embrijiem, un ar histoloģiskajiem rezultātiem pierādīta ādas audzēju rašanās un veicināšanas inhibīcija [73]. Jaunākā pētījumā par neiroblastomu betulīns ar IC₅₀ 8 μM ievērojami palēnināja SK-N-SH šūnu augšanu. Turklāt tas palielināja PKC-δ aktivitāti, kas savukārt aktivizēja kaspāzes 3, 8 un 9, iedarbinot endogēnos apoptozes ceļus SK-N-SH šūnās, ko mediē mitohondriji [74]. Tāpat betulīnam bija ķīmopreventīva iedarbība pret kadmija izraisītu citotoksicitāti HepG2 šūnās. Betulīns novērš apoptozes procesus, kavējot ROS veidošanos, kadmija izraisītu Fas regulāciju, no kaspāzes-8 atkarīgu Bid aktivāciju un sekojošu mitohondriālā ceļa inhibīciju [75].

Nemot vērā, ka ir veikti vairāki pētījumi par betulīnu kā ķīmijterapeitisku līdzekli, dažos citos pētījumos ir apsvērta betulīna kā kombinētās terapijas izmantošana. Cilvēka nieru karcinomas šūnu (RCC4) vienlaicīga apstrāde ar betulīnu (10 μM) un etopozīdu (10 μM) sinergiski palielina šķelto PARP līmeni un samazina MDR1 [76]. Citā pētījumā betulīna un cisplatīna kombinētā terapija izraisīja H460 šūnu 50 % inhibīciju pie koncentrācijas, kas mazāka par 5 μM, salīdzinot ar atsevišķām zālēm [27].

Tāpat citā pētījumā par hepatocelulārās karcinomas audzēju vienlaicīgu ārstēšanu ar betulīnu un sorafenibu atklājās, ka betulīns novērš HCC šūnu rezistenci pret sorafenibu [77]. Neraugoties uz visiem šiem nesen veiktajiem pozitīvajiem pētījumiem par betulīna ķīmijterapeitiskajām īpašībām, agrāk veiktie pētījumi par betulīna citotoksisko iedarbību liecina, ka tam nav citotoksiskas iedarbības uz vēža šūnu līnijām vai tā ir ierobežota [78,79].

2. tabula. Betulīna molekulārie mehānismi audzēju šūnās dažādos pirmsklīniskajos pētījumos.

Turklāt tika pierādīts, ka betulīns kavē dažu iekaisuma faktoru, kas palielina un uztur audzēja vidi, tostarp IL-6 un TNF-α, ekspresiju eksperimentālo un kontroldzīvnieku resnās zarnas audos [85]. Citos pētījumos arī pierādīts, ka betulīna lietošana inaktivē proteīnkināzes B (Akt)/mTOR signalizācijas aktivitāti, kas pastiprina citus proapoptozes mediatorus [72,83,84,86].

3.4. Betulīna aizsargājošā ietekme uz aknu slimībām

Ir simtiem aknu slimību, ko izraisa vīrusi, toksīni, ģenētiski faktori, alkohols, aptaukošanās, nezināmi iemesli un citi faktori. Aknu bojājumi ir klīniska izpausme, kas apdraud dzīvību un ir saistīta ar augstu mirstības līmeni. Arī hroniskas slimības, piemēram, diabēts, var pakāpeniski ietekmēt aknas, tādējādi pasliktinot aknu darbību. Daudz pierādījumu liecina par betulīna labvēlīgo ietekmi uz aknu bojājumiem, un tā darbības spektrs sniedzas no SREBP-1 inhibīcijas līdz Sirt1 regulācijai, NFkB signalizācijas samazināšanai utt.

Tā kā ilgstošā pārmērīga alkohola lietošana var pasliktināt aknu stāvokli, pētnieki ir modelējuši šo slimības patoloģiju, izraisot steatohepatītu, ievadot etanolu. Iepriekšējie pētījumi parādīja, ka betulīns (100 mg/kg ķermeņa masas) vājina steatoāzi, iekaisumu un fibrozi žurku aknās, kurās hroniski baroja ar etanolu. Pētījums arī parādīja, ka ārstēšana ar betulīnu var ievērojami uzlabot steatohepatīta histopatoloģiskās pazīmes, samazināt aknu funkcijas markierus (AST un ALT) un aknu un seruma triglicerīdu līmeni, kā arī atjaunot redoks nelīdzvarotību, palielinot GSH saturu un samazinot superoksīda anjonu un TBAR koncentrāciju [87,88]. Līdzīgi citā pētījumā pierādīts, ka betulīnam ir hepatoprotektīva ietekme uz alkohola izraisītiem aknu bojājumiem pelēm, izmantojot Sirt1/LKB1/AMPK signalizācijas ceļu, kavējot etanola izraisītu SREBP-1 un NFkB aktivāciju [89]. Szuster-Ciesielska et al. ziņoja, ka betulīna lietošana inhibē superoksīda anjonu, I tipa prokolagēna, MMP-2, TIMP-1 un -2, α-SMA un šūnu kustīgumu acetaldehīda izraisītas toksicitātes gadījumā žurku aknu stellātu šūnās (CFSC-2G šūnas) [90].

Turklāt citā pētījumā atklāja, ka betulīns samazināja ALT, AST un triglicerīdu līmeni serumā, inhibēja EtOH izraisīto acidofilo nekrozi, uzlaboja aknu histopatoloģiskās izmaiņas, ievērojami samazināja CYP2E1 aktivitāti un SREBP-1 ekspresiju, ievērojami mazināja TLR4 ekspresiju un uzlaboja STAT3 fosforilēšanu *in vitro* un *in vivo* [91]. Citur tika pētīta betulīna, betulīnskābes un oleānskābes (katrā 1 μM) hepatoprotektīvā aktivitāte pret etanola izraisītu citotoksicitāti HepG2 šūnās, un visaktīvāk HepG2 šūnas pret etanola izraisītu citotoksicitāti aizsargāja betulīns [92]. Citā pētījumā ierosināts, ka betulīns ierobežo fibrozes veidošanos un mazina cisplatīna stimulētus aknu bojājumus žurkām, iedarbojoties uz apoptozi un no NEK7 neatkarīgiem NLRP3 inflammasomu ceļiem [93,94]. Turklāt betulīns mazināja iekaisuma faktoru, tostarp IL-1α, IL-1β, IL-6, IL-18, TNF-α, TGF-β un MMP2, līmenā paaugstināšanos etanola inducētās aknu zvaigznveida šūnās un hroniski ar EtOH ārstētos grauzējos [87,88,94,95]. Betulīna hepatoprotektīvā iedarbība, kā arī tā potenciālie molekulārie ceļi ir ūsi izskaidroti **3. tabulā**, norādot betulīna koncentrāciju un ievadīšanas devu.

3.5. Betulīna aizsargājošā ietekme uz iekaisumu

Iekaisums ir daļa no saimnieka pirmās aizsardzības līnijas pret traumām un infekcijām. Tas ir bioloģisks process, kas rodas audu homeostāzes traucējumu rezultātā, ko izraisa dažādi fizikāli, ķīmiski vai bioloģiski faktori, tostarp toksīni, alkohols, patogēni u. c. [6] Iekaisums ir sarežģīts, dinamisks process, ko regulē vairāki signālu ceļi. Tam nepieciešama dažādu šūnu mijiedarbība, un tas modulē plašu šūnu reakciju un homeostāzi [7]. Tā ir adaptīva reakcija uz kaitīgiem stimuliem, piemēram, audu bojājumiem. Iekaisumu iedala akutā un hroniskā iekaisumā, kur akuts ir labvēlīgs saimniekam un tajā dominē neutrofilu infiltrācija, ko raksturo klasiskās pazīmes - apsārtums, karstums un pietūkums. Tomēr, ja iekaisums turpinās ilgstoši, galvenokārt ietverot makrofāgu un limfocītu šūnu infiltrāciju, tas kļūst hronisks, izraisot dažādu hronisku slimību attīstību [6].

Iekaisuma celš sastāv no četrām daļām: induktori, sensori, mediatori un efekti. Iekaisuma ierosinātāji, piemēram, PAMP, alergēni un AGEs, izraisa daudzu iekaisuma mediatoru veidošanos, kas maina iekaisuma ierosinātāju (orgānu un audu) funkcionalitāti [6]. I e k a i s u m a reakcijas laikā var rasties vairākas iekaisuma mediatoru grupas, no kurām plaši pētīti ir ķīmokīni, lipīdu mediatori (trombocītu aktivizējošie faktori un eikosanoīdi) un citokīni.

Tā kā iekaisums ir daudzu hronisku slimību raksturīga iezīme, ir nepieciešami dabiski savienojumi, kas var efektīvi kavēt iekaisumu un iedarboties uz vairākiem ar slimībām saistītiem signālu ceļiem. Tradicionāli iekaisuma ārstēšanai izmanto medikamentus, kas bloķē iekaisuma mediatorus un inhibē eikozanoīdu biosintēzi; tomēr tādu sarežģītu slimību gadījumā kā iekaisums ir vēlams mērķēt uz vairākiem, nevis tikai uz vienu mērķi. Turklat dabisko produktu pretiekaisuma potenciāla izpēte ir drošāka iespēja terapeitiskās efektivitātes, blakusparādību un negatīvo kompensējošo mehānismu ziņā [96].

3.5.1. Preklīniskie pierādījumi

Agrāk veiktie pētījumi par betulīna ietekmi uz *S. aureus* izraisītu iekaisuma bojājumu, ko izraisīja *S. aureus* mastīts BALB/c peļu mātītēm, parādīja, ka betulīns uzlaboja histopatoloģiskās izmaiņas un nomāca IL-1 β , TNF- α un IL-6 ekspresiju, ko izraisīja iekaisuma bojājums, darbojoties kā pretiekaisuma līdzeklis pret mastītu [97]. Turklat betulīns novērsa AML-12 vai RAW

264.7 šūnu P2X7r-NLRP3 aktivāciju, reaģējot uz EtOH vai lipopolisaharīda izraisītu iekaisumu [94]. Sepse ir sarežģīta slimība, kas izpaužas dažādos veidos, tostarp limfangīts, encefalopātija, nieru mazspēja, sirds mazspēja un aknu bojājums, kas visi rodas iekaisuma reakcijas rezultātā [5]. Pētījumā, kas veikts ar cekālās zarnas ligācijas un punkcijas (CLP) izraisītu sepsi, atklājās, ka intraperitoneāla betulīna (4 vai 8 mg/kg) ievadīšana palielināja slimo žurku izdzīvošanas rādītājus par 80 un 60 % 48 un 96 h laikā salīdzinājumā ar negatīvo kontroli. Turklat betulīna ievadīšana mazināja histopatoloģiskās izmaiņas, ALT un AST līmeni, TNF- α , IL-1 β un IL-6 līmeni serumā un HMGB-1 (high mobility group box 1) līmeni, bloķēja fosforilēta NF κ B/p65 veidošanos un paaugstināja IkBa regulāciju septiskām žurkām [5].

Jāatzīmē, ka līdzīga betulīna aizsargājošā iedarbība tika novērota arī pētījumā, kas tika veikts, lai novērtētu betulīna aizsargājošo ietekmi uz nierēm. Zhao et al. izvirzīja mērķi pierādīt betulīna terapijas renoaizsardzības ieguvumus *in vitro* un *in vivo*, jo iepriekšējie pētījumi ir pierādījuši pārmērīga iekaisuma citokīnu daudzuma nozīmi orgānu mazspējas patofizioloģijā sepses gadījumā [98]. Pētījuma rezultāti parādīja, ka betulīns būtiski samazināja kreatinīna un BUN koncentrāciju, nieru kanāliņu bojājumus un proiekaisuma citokīnu (TNF- α , IL-6 un IL-1 β) septisku žurku nierēs un LPS izraisītu glomerulāro mezangiālo šūnu sepsi. TLR4 un HMGB-1 mRNAs un olbaltumvielu ekspresijas līmeni inficēto žurku nierēs vienlaikus pazemina arī betulīns un nomāc NF κ B signalizācijas ceļu aktivāciju. Turklat Pfarr et al. atklāja, ka, lai gan betulīnam nav ietekmes uz IL-12p70, bet betulīnam ir unikāla imunostimulējoša ietekme uz BMDC, palielinot IL-12p35 mRNA ekspresiju [99]. Tas izraisa T-limfocītu stimulāciju, ko apliecina palielināta IL-2 un IFN- γ veidošanās citotoksiskajās T šūnās liesas šūnu kokultūras testos. Zīmīgi, ka betulīns inhibēja trušu locītavu hondrocītus, kas pakļauti interleikīna-1 β iedarbībai, samazināja matriksa metaloproteināzes-1, -3 un -13, ADAMTS-4 un -5 ekspresiju un *in vivo* palielināja II tipa kolagēna veidošanos, kā arī MMP-3 proteīna ekspresiju [100]. Betulīna ietekme uz iekaisuma mediatoriem ir apkopota **4. tabulā**.

3. tabula. Betulīna molekulārie mehānismi, kas ietekmē iekaisuma mediatorus dažādos pirmsklīniskajos pētījumos.

3.5.2. Molekulārie mehānismi: Betulīna vairāki mērķi

Betulīna pretiekaisuma iedarbība var izpausties, izmantojot vairāku mērķu mehānismu, tostarp ROS ražošanas inhibīciju, TNF- α inhibīciju, proiekaisuma citokīnu inhibīciju, ar Nrf2 saistītā signalizācijas ceļa aktivizāciju, iNOS pēc transkripcijas inhibīciju, NF κ B ceļa inhibīciju, PPAR- γ ekspresijas pastiprinātu regulāciju un STAT3 signalizācijas ceļa modulāciju.

- Iekaisuma citokīnu modulācija

Iekaisuma citokīni tiek producēti, reaģējot uz patogēnu invāziju, un tos galvenokārt izdala imūnās šūnas, lai piesaistītu leikocītus bojājuma vai infekcijas vietai. To vidū ir interleikīni (IL), interferoni (IFN), hemokīni, audzēju nekrozes faktori (TNF) u.

c. Ir pro- un pretiekaisuma citokīni, kur proiekaisuma mediatori veicina, bet pretiekaisuma citokīni kavē iekaisumu. Izmantojot sarežītu mijiedarbības tīklu, citokīni modulē imūnsistēmu. Tomēr pārmērīga iekaisuma citokīnu sintēze var izraisīt orgānu mazspēju, audu bojājumus, hemodinamikas traucējumus un, visbeidzot, nāvi [7].

Betulīns nomāca eksperimentāli izraisītas sepses izraisītu proiekaisuma citoķīnu (TNF- α , IL-6, IL-1 β) pārmērīgu ekspresiju, kas liecina par agrīnu sepsi [5]. Citos pētījumos pierādīts, ka betulīns samazina proiekaisuma mediatoru, piemēram, audzēja nekrozes faktora- α (TNF- α), matriksa metaloproteināžu (MMP-2 un 9) un interleikīnu (IL-1 β , IL-2, IL-

4, IL-5, IL-6, IL-13 un IL-17) [26,102,104,105,106,107]. Pretēji šiem rezultātiem tika pierādīts, ka betulīns palielinā proiekaisuma citokīnu daudzumu primāros keratinocītos un ex-vivo cūku brūču dzīšanas modelī un atkārtotā epitelizācijā. Saskaņā ar autoru sniegto informāciju betulīns ievērojami palielināja RANTES, TNF- α , IFNy, MIP-1 α un β un IP-10, kas visi ir proiekaisuma mediatori, kuri iesaistīti brūču dzīšanas procesa iekaisuma fāzē, un pastiprināja keratinocītu migrāciju, kas ir būtiska brūču dzīšanas otrajā fāzē [103].

- Reaktīvo skābekļa sugu (ROS) veidošanās kavēšana

ROS izraisa hronisku iekaisumu, inducējot proiekaisuma mediatorus, piemēram, COX2, IL-6, TNF- α , NF κ B, IL-8 u. c., un var arī apvienoties ar slāpeķļa oksīdu, veidojot reaktīvās slāpeķļa formas, kas var izraisīt nitrozačīvo stresu, kas var palielināt proiekaisuma slogu, ko rada reaktīvās skābekļa formas. Tādējādi, lai aizsargātos pret reaktīvajām skābekļa formām, šūnas ir aprīkotas ar spēcīgiem antioksidatīviem enzīmiem: glutationa reduktāzi, superoksīda dismutāzi, katalāzi, glutationa peroksidāzi un hema oksigenāzi; un neenzīmiskām aizsargvielām: glutationu, tioredoksīnu un melatonīnu, kur, superoksīda dismutāze un katalāze ir galvenās organismā antioksidatīvās aizsardzības sistēmas pret reaktīvajām skābekļa formām [108]. Patiesībā prekļīniskie pētījumi liecina, ka ārstēšana ar savienojumiem, kas darbojas kā antioksidanti helatori, detoksikācijas molekulās vai antioksidanti enzīmi, var novērst ROS mediētus bojājumus [109].

Lietojot betulīnu (10 M) HepG2 šūnām, ievērojami samazinājās superoksīda anjonu un ūdeņraža peroksīda daudzums, ko rada acetaminofēns un etanola izraisītais ROS [110]. Tāpat, novēršot

, betulīns nomāca superoksīda veidošanos cilvēka neutrofilos [10]. Bai et al. arī konstatēja, ka betulīnam piemīt antioksidanta īpašības, atdalot DPPH un hidroksila radikālus [20]. Tāpat betulīns uzrādīja inhibējošu aktivitāti (IC_{50} 6,88 μ g/ml) pret H2O2 inducētu citotoksicitati PC12 šūnās [11]. Ovalbumīna izraisītas astmas gadījumā pelēm (peļu mātītes BALB/c) betulīns inhibēja iekaisuma šūnu proliferāciju, samazināja ROS veidošanos un oksidatīvā stresa marķieru līmeni, palielināja antioksidatīvo enzīmu daudzumu, vājināja proiekaisuma citokīnu līmeni, paaugstināja interferona gamma (IFN- γ) līmeni, kā arī samazināja audu transglutamināzes (tTG), TGF- β 1 un MMP-9 ekspresiju [102]. Daži autori ir arī pierādījuši, ka betulīns ietekmē cilvēka nieru proksimālo tubulāro epitēlijā šūnu (RPTEC) dzīvotspēju, samazinot CAT un MDA līmeni un palielinot GPx un SOD enzīmu aktivitāti, tādējādi ietekmējot antioksidantu sistēmu [111].

- Iedarbība uz Nrf2 signalizācijas ceļu

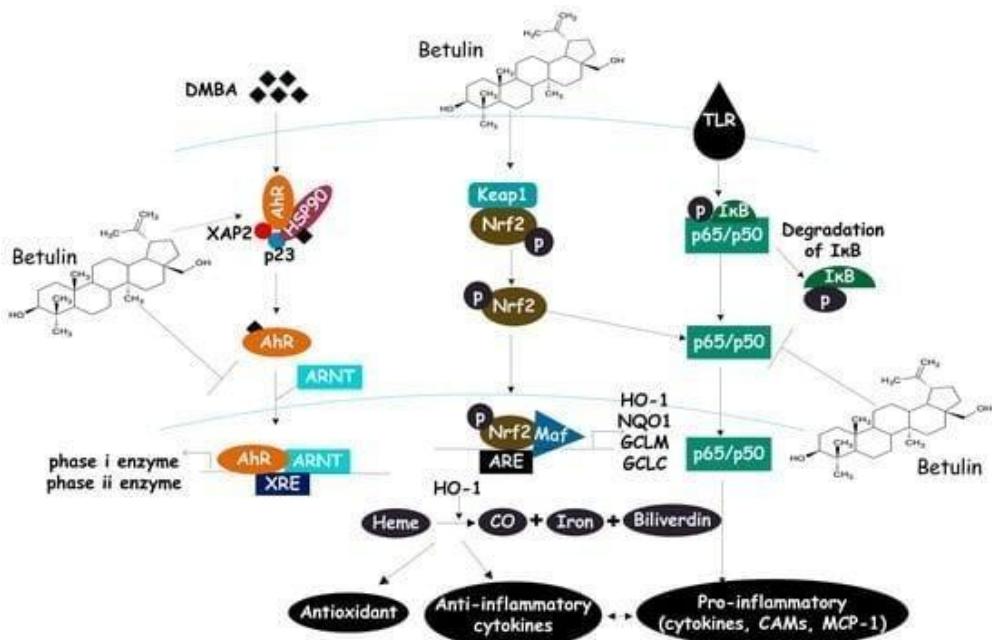
Nrf2 ir bāzes leicīna rāvējslēdzēja (bZIP) transkripcijas faktora (basic leucine zipper transcription) grupas cap 'n' collar ģimenes locekļi, kam ir būtiska nozīme šūnu homeostāzes regulēšanā. Nrf2 regulē antioksidantu olbaltumvielu ekspresiju, aizsargā pret negatīvu stimulu radītu oksidatīvo bojājumu, kā arī pleiotropi regulē vielmaiņas procesus, mitohondriju fizioloģiju, iekaisumu, autofāziju, imūnās atbildes reakcijas, vēža profilaksi, ārstēšanu u. c. [112]. Nrf2 regulē II fāzes citoprotektīvo enzīmu, piemēram, HO-1, SOD, GST, NQO1 (NAD[P]H: hinona oksidoreduktāze-1) un -GCL (-glutamila cisteīna ligāze) ekspresiju, kā arī bioloģiskos procesus, piemēram, šūnu attīstību, diferenciāciju, apoptozi, proliferāciju un hematopoēzi [113]. Nrf2 regulē dažādi faktori vairākos līmenos, tostarp transkripcijas līmenī (NF κ B, AhR-ARNT, ATF4 u. c.), pēc transkripcijas līmenī (miRNA, RBP, alternatīvais splicings), pēc translācijas līmenī (ERK, JNK, p38, PERK, CK2, GSk3, PKC), kā arī Nrf2 stabilitātes regulatori (keap1, β TrCP, HRD1, WDR23, CRIF1) [112]. Pētījumos arī atklāts, ka papildus keap-1 augšupējās kināzes, piemēram, proteīnkināze C, MAPK, proteīnkināze RNK līdzīgā endoplazmatiskā retikulumā kināze (PERK) un fosfatidilinozitol-3-kināze/Akt izraisa Nrf2 fosforilēšanu un tai sekojošu pārvietošanu, kas savukārt iedarbina antioksidatīvo kaskādi [109,114].

Nrf2 aktivizēšana ir saistīta ar aizsardzību pret dažādām slimībām, tostarp vēzi, iekaisumu, CVD, akūtu un hronisku plaušu bojājumu, kā arī neurodegeneratīvām un autoimūnām slimībām [115]. Galvenā terapeitiskā iejaukšanās vairāku patoloģisku stāvokļu gadījumā ir tādu mazu molekulu atklāšana, kas var modulēt Nrf2. Lai izprastu betulīna darbības mehānismu pretiekaisuma aktivitātes izpausmē, ir nepieciešams parādīt, kā betulīns regulē dažādus signālu ceļus proteīnu un transkripcijas līmenī.

Ir veikti vairāki pētījumi, izmantojot dažādus eksperimentālos modeļus, lai izpētītu betulīna modulējošo darbību uz Nrf2 signalizācijas ceļiem. Rezultāti liecina, ka betulīnam ir aizsargājoša iedarbība dažādu slimību gadījumos, modulējot Nrf2 signalizācijas ceļu un tā pakārtotos gēnus [59,109,116].

Tādēļ betulīna lietošana palielināja HO-1 un Nrf2 proteīnu ekspresiju STZ inducētu diabēta žurku hipokampā un serumā salīdzinājumā ar diabēta kontrolgrupu un novērsa kognitīvo funkciju paslītināšanos diabēta žurkām [47]. Arivazhagan & Subramanian apgalvoja, ka AhR/Nrf2 signalizācijai ir liela nozīme ķīmiski izraisītu oksidatīvo audu bojājumu ārstēšanā un novēršanā [117]. Perorāla betulīna lietošana uzrādīja aizsargājošu iedarbību pret DMBA (7,12-dimetilbenzantracēna) izraisītu krūts vēzi, samazinot AhR, ARnT, CYP1A1 un keap1 ekspresiju, vienlaikus palielinot HO-1 un Nrf2 ekspresiju žurku audzēju krūts audos [81]. Citā pētījumā perorāla ārstēšana ar betulīnu novērsa DMH izraisītu resnās zarnas kancerogenēzi žurkām, ievērojami samazinot I fāzes enzīmu (Cyp 450 un Cyt-b5) un palielinot II fāzes detoksikācijas enzīmu (GST un GT) daudzumu [85]. Lai gan var būt vairāki mehānismi, kas regulē katru II fāzes gēnu, Keap1-Nrf2-ARE signalizācijas ceļā apvieno lielāko daļu II fāzes gēnu unir svarīgs vēža profilaksei.

Pētījumā *in vitro* arī pierādīts, ka no *Betula platyphylla* iegūtais betulīns aizsargā HT-22 hipokampa neironu šūnas pret TG izraisītu nāvi, samazinot reaktīvo skābekļa sugu veidošanos un palielinot HO-1 ekspresiju [116]. Turklāt Ci un līdzautori konstatēja, ka betulīns inducē NQO1, HO-1 un Nrf2 olbaltumvielu ekspresiju murzu makrofāgos no Nrf2^{+/+} (savvaļas tipa) pelēm. Tomēr šo olbaltumvielu ekspresija bija ievērojami nomākta šūnās, kas iegūtas no knock-out (Nrf^{-/-}) pelēm. Viņi arī parādīja, ka betulīns izraisīja no devas un laika atkarīgu Nrf2 mērķēto antioksidantu un detoksikācijas proteīnu palielināšanos: NADPH, GCLC, GCLM un HO-1 [109]. Ar betulīnu apstrādāti hondrocīti veicina HO-1 ekspresiju un Nrf2 kodola translokāciju, aktivizējot Nrf2 ceļu [107]. Pamatojoties uz šo pētījumu rezultātiem, šķiet, ka betulīna antioksidatīvo iedarbību izraisa HO-1 aktivizēšana ar Nrf2 starpniecību, kas pēc tam attīra brīvos radikālus. Tas ir iespējams, jo HO-1 katalizē hema pārvēršanos brīvajā dzelzī, oglekļa monoksīdā un biliverdīnā par bilirubīnu [118,119,120]. Rezultātā HO-1 darbības galaproducti ir citoprotektīvs līdzeklis, jo samazina apoptozes ātrumu un vājina iekaisuma reakciju [121]. **attēls** ilustrē betulīna iespējamo darbības veidu uz Nrf2 signalizācijas ceļu.



3. attēls. Kā betulīns modulē HO-1/Nrf2 signalizācijas ceļu. Antioksidācijas atbildes elementi (ARE) un Maf proteīni darbojas kopā, lai izveidotu heterodimēru ar Nrf2 pēc tam, kad betulīns to atbrīvo no Keap1:Nrf2 kompleksa. Tas veicina antioksidantu gēnu transkripciju, vienlaikus inhibējot AhR signalizācijas asi. Veicinot II fāzes citoprotektīvo enzīmu un hema oksigenāzes-1 veidošanos, betulīns iedarbojas šūnu antioksidatīvi.

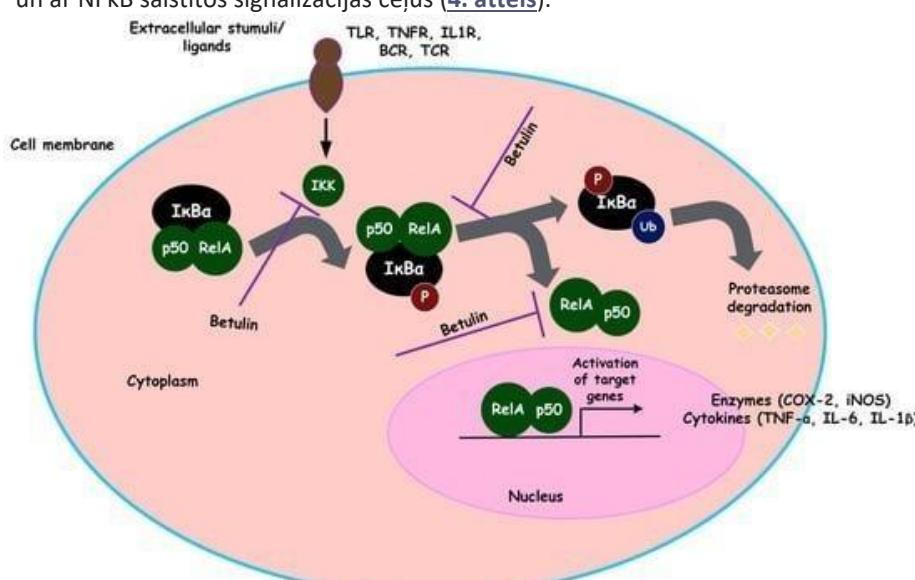
Iedarbība uz NFkB signalizācijas ceļu

Visur klātesošais transkripcijas faktors, kodola faktora kappa-gaismas ķēdes pastiprinātājs (NFkB), kas aktivizē B šūnas, kontrolē gēnu ekspresiju dažādos šūnu tipos, tostarp regulē gēnus ārpus imūnsistēmas, un tam ir dažāda ietekme gan uz normālu fizioloģiju, gan slimību patoloģiju [122,123]. Piemēram, NFkB var aktivizēt vairāki induktori, tostarp TNF, IL-1, dsRNA, LPS, vīrusi, ultravioletais starojums, fosfora esteri un proteīnu sintēzes inhibitori. Turklat NFkB ir nozīmīga loma imūnsistēmas atbildes reakcijas uz infekciju kontrolē, un tās disregulācija ir saistīta ar autoimūnām un iekaisuma slimībām, vēzi, vīrusu infekcijām utt. [59,124]. Turklat NFkB modulē augšanas faktorus, citokīnus un efektoros enzīmus, reagējot uz daudzu imunitātē iesaistīto receptoru, tostarp TNFR, BAFFR, T-šūnu receptoru (TCR), CD40, B-šūnu receptoru (BCR), LTR un Toll/IL-1R saimes, ligāciju [123]. NFkB, ko raksturo mijiedarbība starp NFkB dimēriem, I kB modulatoriem un IKK kompleksu, ir atvērtā dažādiem stimuliem, un pēc receptoru specifiskuma tiek iedarbināti vairāki šūnu rezultāti, kas pielāgoti individuālajam saņemtajam signālam [125].

Nemot vērā, ka NFkB regulē lielu skaitu ar iekaisumu saistītu gēnu, nav pārsteidzoši, ka pastāvīga NFkB aktivācija ir konstatēta daudzu iekaisuma slimību, piemēram, zarnu iekaisuma slimību, gastrītu, plaušu iekaisuma slimību, aterosklerozes, sepses, artrīta, astmas u.c., gadījumos. [126,127]. Tas ir tāpēc, ka NFkB lejupslīde ir saistīta ar apoptozi, savukārt NFkB aktivācija regulē antiapoptozes gēnus, proiekaisuma citokīnus, augšanas faktorus un adhēzijas molekulas. Tāpēc mehānisms, kas inhibē NFkB signalizāciju, ir iespējams terapeitiski pielietot iekaisuma un ar iekaisumu saistītu slimību ārstēšanā [128]. Agrāk pētījumā konstatēts, ka betulīns samazina fosforilētās NFkB un tās inhibitora I kB līmeni, vienlaikus maksimāli palielinot kopējo I kB līmeni, lai aizsargātu aknu stellātu šūnas no etanolā izraisītās toksicitātēs [95]. LPS inducētos makrofāgos un grauzējiem ar LPS izraisītu akūtu plaušu iekaisumu betulīns samazināja IL-6 un TNF- α ekspresiju, vienlaikus uzlabojot pretiekaisuma citokīna IL-10 ekspresiju. Pēc autoru domām, betulīns inhibēja proiekaisuma citokīnus, nomācot NFkB p65 proteīna un p-I kB fosforilēšanu, tādējādi deaktivizējot NFkB asi [129]. Kawai & Akira un Sharif et al. arī pierādīja, ka LPS, saistoties ar TLR4, aktivizē NFkB, kas regulē gēnu ekspresiju un atbalsta no makrofāgiem atkarīgu imūno atbildi [130,131]. Turklat, novēršot NFkB aktivāciju, betulīns var mazināt lipopolisaharīda izraisīto iekaisumu. Interesanti, ka līdzvērtīgus rezultātus El-Sherbiny un kolēģi atkārtoja etiķskābes izraisītā čūlas kolīta (UC) gadījumā. Pētījums parādīja, ka betulīns slāpē čūlainā kolīta izraisīto kolīta iekaisuma slodzi, modulējot TLR4-NFkB signalizācijas ceļu, kā arī samazinot tādu kolīta iekaisuma citokīnu kā TNF- α , IL-1 β un IL-6 līmeni [132]. Turklat Zhang un citi ir atklājuši, ka betulīns inhibē proiekaisuma citokīnu un NFkB ekspresiju cilvēka sirds šūnās [133].

Atbilstoši šiem rezultātiem betulīns mazināja niero bojājumus, apspiežot aktivēto NFkB CLP izraisītās sepses žurkām [98].

Pētījumi liecina, ka betulīns inhibē NFkB signalizācijas ceļu, izmantojot citus saistītus signalizācijas ceļus. Guo et al. pierādīja, ka PPAR γ aktivācija kavē NFkB aktivāciju, kam ir pretiekaisuma iedarbība [97], un līdzīgs darbības mehānisms tika novērots LPS/D-Gal stimulētā akūta aknu bojājuma gadījumā [87]. Iepriekšējie pētījumi liecina, ka PPAR γ ne tikai izpaužas pretiekaisuma iedarbībā, kavējot NF- κ B aktivāciju, bet arī piedalās monocītu diferenciācijā un aktivācijā [134,135]. Citi pētnieki atklāja, ka betulīns uzlaboja smēķēšanas izraisītu HOPS peļu organismā, iespējams, samazinot ROCK/NFkB ceļā iesaistīto olbaltumvielu līmeni [136]. Nesen Ren et al. veiktajā pētījumā secināts, ka, aktivizējot AKT/Nrf2/HO-1/NFkB signalizācijas asi, betulīns mazināja IL-1 β izraisīta osteoartrīta iekaisuma reakciju [107]. Literatūra par Nrf2 daudzos eksperimentālos pētījumos skaidri pierāda tā nozīmi NFkB izraisītās iekaisuma reakcijas mazināšanā, iespējams, tāpēc, ka gan Nrf2, gan NFkB ceļi kontrolē šūnu redoks homeostāzi un atbildes reakciju uz stresu un iekaisumu [137,138,139]. Nesenie atklājumi arī liecina, ka betulīna spēja mazināt neuroinflammation reakciju uz LPS var būt saistīta ar iNOS, JNK ceļa un NFkB daudzu mērķu inhibīciju [140]. Visi šie rezultāti kopā liecina, ka betulīns var kavēt iekaisumu *in vitro* un *in vivo*, modulējot NFkB un ar NFkB saistītos signalizācijas ceļus (4. attēls).



4.attēls. Betulīna ietekme uz NFkB signalizācijas ceļu. Citokīnu aktivizētā NFkB signalizācija izraisa I kB fosforilēšanu IKK, kas izraisa I kB degradāciju un pēc tam pārvieto p50/RelA uz kodolu, kur tas aktivizē NFkB mērķa gēnu transkripciju. Betulīna NFkB inhibīcija, šķiet, notiek, kavējot IKK fosforilēšanu un kavējot NFkB kodola translokāciju.

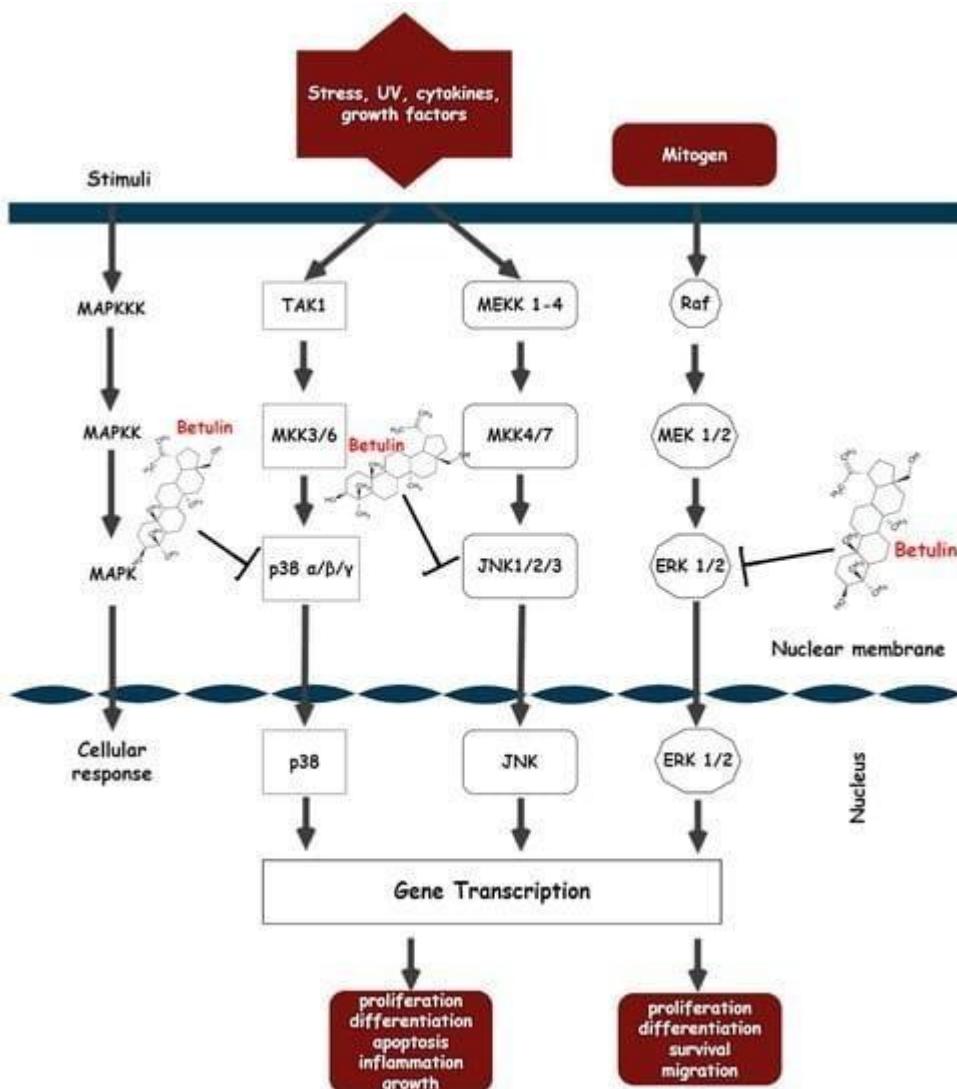
Iedarbība uz MAPK signalizācijas ceļu

MAPK signalizācijas ceļš regulē virkni šūnu procesu, tostarp proliferāciju, mitozi, iekaisuma reakcijas, kustīgumu un apoptozi, bet šo kaskāžu disregulācija ir saistīta ar dažādu slimību, piemēram, vēža, autoimūno slimību un diabētu, izraisīšanu un progresēšanu [141,142,143]. Soares-Silva et al. definē MAPK kā proteīnkināzes, kas fosforilē vai nu savas dubultās serīna un treonīna atliekas (autofosforilēšana), vai arī tās, kas atrodas uz substrātiem, lai ieslēgtu un izslēgtu savu mērķi. Savā pamatformā MAPK ir katalītiski neaktīvas un kļūst aktīvas tikai vairākkārtēji fosforilējot to aktivācijas cilpas [144]. MAPKs signalizācijas kaskādi galvenokārt veido trīs secīgi aktivētas proteīnkināzes (MAP3K, MAP2K un MAPK), un MAP3K aktivizē mijiedarbību ar nelielu GTPāzi un/vai aktivizācija ar proteīnkināzēm, kas atrodas lejpus šūnu virsmas receptoriem [145]. MAP2K tiek tieši fosforilēta un aktivizēta ar MAP3K, un MAP2K pēc tam dubulfosforilē konservatīvo tripeptīda TxY (treonīns-x-tirozīns) motīvu aktivācijas daļā, lai aktivizētu MAPK. Pēc aktivizēšanas MAPK fosforilē dažādus substrātus citoplasmā un kodolā, izraisot proteīnu aktivitātes un gēnu ekspresijas izmaiņas, lai īstenotu atbilstošas bioloģiskās atbildes reakcijas [146]. Turpretī MAPK fosforilēšanas kaskādi var inaktivēt ar MAPK proteīnu fosfatāzi (MKP), kas defosforilē TxY atliekas uz MAPK. Pašlaik par četrām atšķirīgām zīdītāju MAPK kaskādēm ir atzītas ERK1/2 (1. un 2. ekstracelulārā signāla regulētā kināze), JNK (c-Jun N-terminālā kināze), p38 MAPK un ERK5. I r atklātas arī citas kināzes, piemēram, ERK3/4 un ERK7/8, kuru sekvences ir saīdzināmas ar MAPK kaskādes sastāvdalju sekvencēm [147].

ERK-1, p38 un JNK pieder pie MAPK saimes, kam ir būtiska nozīme oksidatīvā stresa izraisīšanā, palielinot brīvo radikāļu daudzumu un samazinot antioksidantu daudzumu. Šiem trim klasiskajiem ceļiem (ERK, JNK un p38 MAPK) ir unikāla jutība, kad tie tiek pakļauti dažādiem stimuliem [148]. ERK1/2 var aktivizēt augšanas faktori, hormoni un proiekaisuma stimuli, savukārt proiekaisuma stimuli, šūnu un vides stressori var aktivizēt arī JNK1/2/3 un p38 [149].

Daudzos pētījumos ir pētīta betulīna terapeitiskā iedarbība uz iekaisuma izraisītām slimībām un konstatēts, ka MAPK olbaltumvielu inhibīcija ir efektīvs pretiekaisuma līdzeklis [150,151,152]. Vienā no pētījumiem atklājās, ka aknu stellātu šūnu pakļaušana klīniski nozīmīgai koncentrācijai (50 mM) aktivizē JNK un p38. Tika ierosināta aizsargājoša loma pret oksidatīvo stresu un iekaisumu signālu pārnesē, jo betulīns novērsa etanola izraisīto MAPK indukciju [95]. Turklat betulīns samazināja LPS radīto iekaisuma mediatoru, piemēram, iNOS un COX2, kā arī iekaisuma signālu ceļu (MAPK) līmeni [109]. No *Pyrola incarnata* iegūtajam betulīnam piemīt neiroprotektīva iedarbība, nomācot LPS veicināto JNK 46/54 ekspresijas fosforilēšanu BV-2 mikroglījas šūnās [140]. Atklāts arī, ka betulīns, izmantojot no JNK un ERK1/2 atkarīgus signalizācijas ceļus, palielina osteoblastu attīstību un osteoinduktīvās darbības cilvēka osteoblastos [153]. Interesanti, ka no bērza mizas izolēts betulīns inhibēja p38 fosforilēšanu un RANKL mediēto osteoklastogēzi kaulu smadzeņu makrofāgos, savukārt p-JNK un p-ERK būtiski nemainījās [154]. RANKL ir svarīgs osteoklastu diferenciācijas un proliferācijas kavēšanai, un MAPK (p38) kavē osteoklastu veidošanos pēc apstrādes ar betulīnu. Tā osteoartrīta sinoviālo fibroblastu gadījumā tika konstatēts, ka betulīns mazina TNF- α un IL-1 β izraisītu iekaisumu, inhibējot ERK/MEK signalizācijas asi [155].

MAPK signalizācija ir saistīta ar vēža šūnu izdzīvošanu, un daudziem MAPK inhibitoriem ir terapeitisks potenciāls vēža ārstēšanā, izraisot apoptozi [156,157]. Dažādās kolorektālā vēža šūnās no betulīna-kapsāzes atkarīga apoptoze tika mediēta caur MAPK signalizācijas ceļu [72]. Tādējādi ārstēšana ar betulīnu var būtiski kavēt ERK, JNK un p38 hiperfosforilēšanu metastātiska kolorektālā vēža šūnās, kas var būt saistīts arī ar betulīna farmakoloģisko mehānismu. Žurku, kas pakļautas DMBA iedarbībai, krūts audos novēroja JNK1, ERK1 un p38 hiperekspresiju, k o apspieda, ārstējot ar betulīnu [81]. *Acacia auriculiformis* stumbra miza kalpoja kā jauns betulīna sintēzes avots, un tālāki pētījumi *in vitro* ar doktorubicīnam rezistentām hroniskas mieloīdās leikēmijas šūnām atklāja, ka tas var modulēt MAPK ceļu, ar tādu pašu aktivitāti kā imatinibs mesilāts (zināms Abelsona murīnu leikēmijas vīrusa onkogēna homologa 1 kināzes (ABL1K) inhibitoris) [37]. Šo dažādo eksperimentālo modeļu rezultāti liecina, ka betulīns būtiski nomāc iekaisuma reakcijas, deregulējot MAPK olbaltumvielu ekspresiju, kas vēl vairāk pierāda, ka betulīnam piemīt nozīmīga pretiekaisuma iedarbība un to var izmantot kā drošu un efektīvu dabus līdzekli. Iespējamais betulīna molekulārais mehānisms attiecībā uz MAPK signalizācijas ceļu ir parādīts 5. attēlā. Iekaisuma patofizioloģiskās sarežģītības dēļ ir nepieciešama vairāku mērķu terapeitiska pieeja, un, iespējams, ka betulīna terapijai var būt vieta nākotnes terapijā, pateicoties tā terapeitiskajai iedarbībai un farmakoloģiskajam mērķim, padarot to par potenciālu kandidātu, kā tas ir pretvīrusu zāļu Bevirimat (betulīnskābes atvasinājums) gadījumā [158].



5.attēls. Betulīna ietekme uz MAPK signalizācijas ceļiem. Betulīns bloķe p38, JNK un ERK pārmēriņu ekspresiju, reaģējot u z dažādiem stresoriem, tādējādi samazinot ar MAPK saistīto gēnu transkripciju.

4. Betulīna klīniskie pierādījumi

Papildus pirmsklīniskajiem pētījumiem ar betulīnu ir veikti arī vairāki klīniskie pētījumi, sākot no prethepatīta aktivitātes līdz brūču dziedinošai iedarbībai, kā parādīts **5. tabulā [159,160,161,162,163,164,165]**. Brūču dzīšana ir sarežģīts šūnu un molekulu process, kas ietver audu reģenerāciju un iekaisumu kā sākotnējo fāzi, savukārt pretiekaisuma ārstēšana samazina iekaisumu. Būtībā dabiskie produkti, kas veicina brūču dzīšanas procesu, ir izdevīgi, jo brūču atjaunošanās ietver trīs savstarpēji pārklājosās fāzes, tostarp iekaisumu, jaunu audu veidošanos jeb šūnu proliferāciju un remodelēciju, un tās sarežģītības dēļ var būt mērķtiecīgi iedarboties uz daudziem punktiem [103]. Pirmo brūču atjaunošanās fāzi raksturo homeostāze un kontrolētas iekaisuma reakcijas sākšanās. Tieki izdalīti dažādi proiekaisuma citokīni, tostarp hemokīni un augšanas faktori, lai koordinētu makrofāgu un granulocītu piesaisti brūces zonai fagocītisku un antimikrobiālu funkciju veikšanai. Otrajā fāzē notiek keratinocītu migrācija un proliferācija, fibroblastu granulācijas audu un ekstracelulārā matriksa veidošanās, kā arī angiogeneze. Pēdējo pārbūves fāzi raksturo kolagēna sintēze, apoptoze un rēta veidošanās [159]. Ebeling et al. apgalvoja, ka betulīns pastiprina brūču dzīšanas iekaisuma fāzes sākumu, īslaicīgi paaugstinot proiekaisuma mediatoru (citokīnu, hemokīnu un ciklooksigenāzes- 2) regulāciju; tomēr šī īslaicīgā pārspīlēšana neizraisa ilgstošu iekaisumu [103].

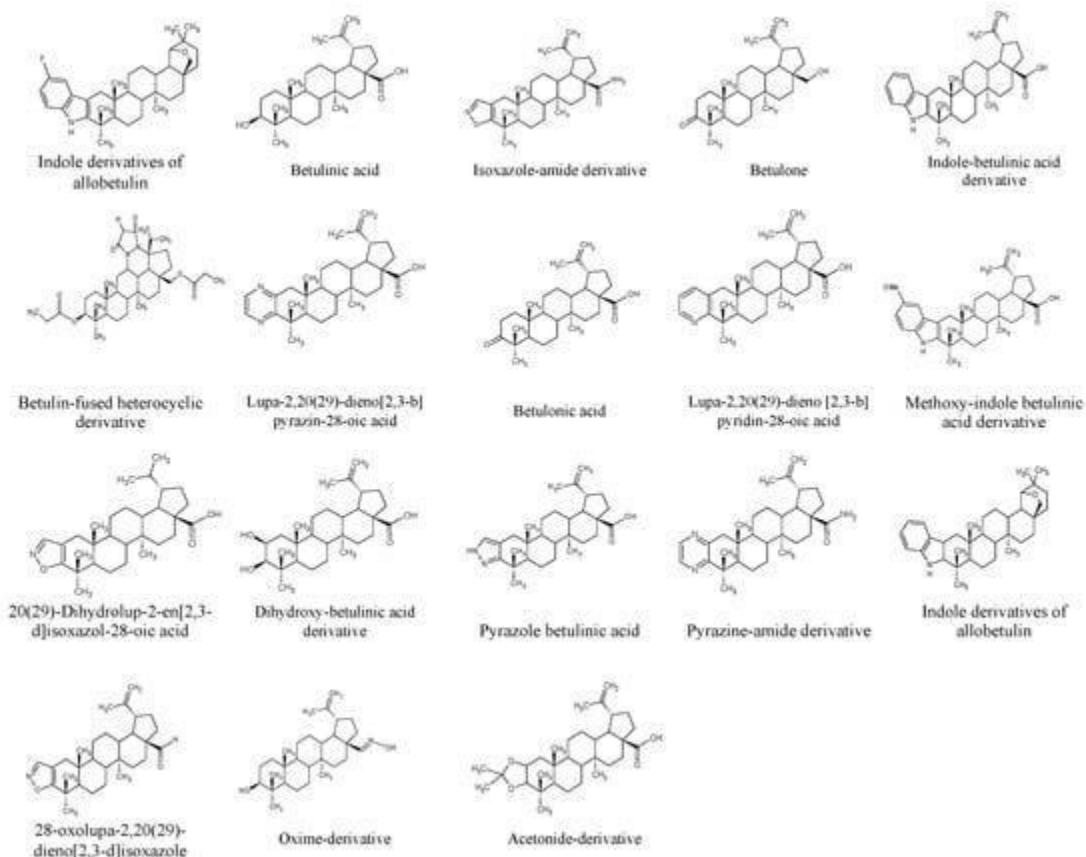
Saskaņā ar pētījumu par oleogēla preparātu iedarbību uz ādas ievainojumiem oleogēls uz betulīna bāzes ievērojami paātrināja brūču dzīšanu, veicinot imortizētu cilvēka keratinocītu migrāciju [159]. Arī Olegel-S10 (kas satur betulīnu saturošu triterpēnu ekstraktu) II fāzes izmēģinājuma klīniskā pētījumā uz akūtām un hroniskām brūcēm 10 pacientiem ar distrofisku epidermolīzi bullozi tika konstatēta ātrāka brūču dzīšana un reepitēlizācija nekā neārstētās grupās [160]. Citos klīniskajos pētījumos par aktīniskajām keratozēm, ādas transplantātiem un apdegumiem atklājās, ka betulīns uzlabo brūču dzīšanu un reepitēlizāciju [162,163,166,167].

5. Betulīna atvasinājumi

Lai labāk izprastu betulīna bioloģiskās aktivitātes pamatā esošās strukturālās īpašības un uzlabotu tā farmakokinētiku, ir mēģināts modifcēt tā sākotnējo oglekļa skeletu, lai palielinātu tā šķidību serumā un paplašinātu tā bioloģiskās aktivitātes spektru. Nesen veiktie darbi ir vērsti uz jaunu molekulu, piemēram, betulīnskābes, betulona un betulonskābes, sintēzi no betulīna, jo betulīns ir viegli ekstrahējams un izolējams [168]. Konkrēti, strukturālās izmaiņas galvenokārt tika veiktas pie C-3 un C-28, izmantojot divas metodes, proti, ķīmisko sintēzi un biotransformāciju, un lielākā daļa modifikāciju tika iedalīta hidrolīzē, izomerizācijā, redoksizācijā, kondensācijā, oglekļa-oglekļa saites veidošanā un funkcionālo grupu pievienošanā, kas var novest pie potenciāli farmakoloģiski aktīvu vielu veidošanās [169].

Policikliskie triterpenoīdi ir ērti prekursori jauniem pussintētiskiem atvasinājumiem, un ir pierādījumi, ka ir iegūti vairāki jauni atvasināti produkti ar dažādu farmakoloģisko potenciālu [2,9]. Chrobak et al. aprakstīja no jauna sintezētu betulīna atvasinājumu citotoksisko iedarbību pret dažādām šūnu līnijām (krūts audzējs, glioblastoma un melanoma) [170]. Alkinilestera atvasinājums, 29-dietoksifosforil-28-propiniloski-lup-20E(29)-en-3 β -ols, bija visvairāk citotoksisks krūts audzēja, glioblastomas un melanomas šūnām ar IC₅₀ vērtībām 0,44, 0,27, 0,38 $\mu\text{g}/\text{ml}$. Pēc autoru domām, pievienojot fosfonāta grupu betulīna izopropenildaļai, tas ir efektīvāks audzēju šūnu nogalināšanā salīdzinājumā ar citiem atvasinājumiem. Citā pētījumā tika pētīta betulīna un sešpadsmit tā pussintētisko atvasinājumu pretiekaisuma aktivitāte, un pētījuma rezultāti parādīja, ka jaunam atvasinājumam - pirazolobetulīnskābei - piemīt plašs pretiekaisuma iedarbības spektrs [4].

Citos pētījumos arī pierādīts, ka, acetilējot betulīnu un tā atvasinājumus, var iegūt dažādus betulīna atvasinājumus [171,172]. Turklat tika konstatēts, ka, modifcējot betulīnu ar GalNAc (N-acetil-D-galaktozamīnu), iegūst glikotriterpernoīdus, kas nav toksiski *in vitro* un kuriem ir augsta specifitāte attiecībā uz hepatocītu asialoglikoproteīna receptoru *in silico* [173]. Citā vietā betulons tika iegūts, oksidējot betulīnu pār sintezētiem Ru nanodalīju katalizatoriem [174]. Turklat nesen veikts pētījums arī parādīja, ka ar 2-hidroksipropil- β -ciklodekstrīnu (HP β CD) kompleksēts betulīns uzrāda labāku šķidību ūdenī un līdz ar to labāku biopieejamību *in vivo* [88]. attēls ilustrē dažus betulīna un betulīnskābes atvasinājumus.



6. attēls. Betulīna atvasinājumu strukturālā formula.

Singh uzskata, ka biotransformācija ietver mikrobu šūnu un fermentu izmantošanu reakciju katalizēšanai, kā rezultātā rodas savienojumi ar relatīvi lielāku polaritāti [169]. Salīdzinot ar ķīmisko sintēzi, tās priekšrocības ir labāka stereo- un reģioselektivitāte; ekonomija; sākotnējā oglēkļa skeleta integritāte; videi draudzīgāka sintēze; maigāki apstākļi; un reakciju vienkāršošana, kas nav iespējama ar ķīmiskām metodēm [168]. Piemēram, betulīna biokonversijas rezultātā, izmantojot betulīna biokonversiju 28. oglēkļa pozīcijā, betulīnskābi sintezēja viena soļa procesā, bet ieguve betulīnskābes bija zema [175]. Arī vairāki citi hidroksilēti/oksigenēti betulīna atvasinājumi ir iegūti, izmantojot mikrobioloģisko transformāciju, un tiek ziņots, ka tiem piemīt uzlabota polaritāte un farmakoloģiskā iedarbība. Pētījumā par betulīna pārveidošanu ar *Rhodococcus rhodochrous* IEGM 66 tika iegūts betulīna 3-okso atvasinājums, ko sauc par betulonu [176]. Līdzīgā pētījumā, kurā ar rauga celmu *Rhodotorula mucilaginosa*, izmantojot betulīnu, tika ziņots par betulona un aromātiskā savienojuma, kas pazīstams kā oktadeka-11,14-dienoāts, ražošanu [168].

Savukārt tika ziņots, ka sēne *Cunninghamella blakesleeana* AS 3.910 pārveido betulīnu par betulīnskābi [177]. Citā pētījumā jūras sēne *Dothideomycete* sp. HQ 316564 arī tika identificēta kā unikāls celms, kas reģio- selektīvi katalizēja betulīna oksidāciju par betulonu [178]. Cits sēnu celms, *Mucor subtilissimus* CGMCC 3.2456 kultūra, pārveidoja betulīnu devījos jaunos hidroksilētos savienojumos. Lielākajai daļai no šiem metabolītiem bija izteikta inhibījoša aktivitāte pret LPS inducētu NO veidošanos makrofāgos [179]. Kādā citā pētījumā sēne *Armillaria luteovirens* Sacc QH arī biokatalizēja betulīna pārveidi par betulīnskābi [180]. Turklāt iepriekš iegūtie dati par betulīna metabolisma ceļu, izmantojot cilvēka un žurku aknu mikrosomas, atklāja, ka divi II fāzes ceļi (glikuronidācija un sulfonēšana) ir galvenie tā metabolisma ceļi. Žurku modeļos UDP- glukuronosiltransferāzes 1. saimes locekļi A3 un A4, glikuronidācijas ceļa enzīmi, bija galvenie aknu enzīmi, kas atbildīgi par iespējamo C3-hidroksilbetulīna glikuronīda veidošanos, bet cilvēka aknās par galveno izoenzīmu, kas atbildīgs par betulīna sulfonēšanu, tika atzīta sulfotransferāze 2A1 citozolu [181]. Cita autoru grupa, izmantojot uhplc-q-tof-ms/ms sistēmu, noteica 34 betulīna metabolītus *in vitro* un *in vivo*, tostarp 32 I fāzes metabolītus un 2 II fāzes metabolītus [182]. Tāpat pēc betulīna perorālas lietošanas, izmantojot uhplc-q-tof- ms/ms sistēmu, tika konstatēti 56 betulīna I fāzes un 6 II fāzes metabolīti. Autori pierādīja, ka galvenie betulīna biotransformācijas ceļi ir deoksidācija, dehidratācija, dehidroksilācija, demetilācija un konjugācija ar acetilcisteīnu, cisteīnu, taurīnu un sulfātu [183].

6. Betulīna farmakokinētika

Hu et al. ierosināja, ka zāļu metabolismu izpratne var palīdzēt izskaidrot un prognozēt notikumu kaskādi, kas saistīta ar zāļu iedarbību un toksicitāti [184]. Betulīna metabolismu izpēte *in vivo* ir izrādījusies sarežģīta, jo īpaši nemanot vērā betulīna ķīmisko sastāvu, tā lipofilitāti un nešķidumu ūdens vidē. Turklāt pašlaik pieejamajos datos var būt neatbilstības, jo ir ierobežots pētījumu skaits, kuros pētīta betulīna farmakokinētika, zema bioloģiskā pieejamība, lietošanas veids un devas. Attiecīgi Jäger un kolēģi novērtēja žurku tēviņu un mātiņu asins paraugus, kam 4 h intraperitoneāli ievadīti betulīns (60, 180 un 540 mg/kg), un tika novērots būtisks no laika atkarīgs betulīna līmena pieaugums plazmā 4 h laikā, sasniedzot no devas neatkarīgu līmeni serumā 0,13 µg/ml visās devu grupās. Turpretī suņiem, ievadot betulīnu zemādas veidā, tika konstatēta atkarība no devas, un pēc 28 dienām maksimālais betulīna līmenis plazmā bija 0,33 µg/ml pie 300 mg/kg [185].

Citā *in vivo* pētījumā, kurā tika pētīta betulīna nanosistēmas farmakokinētika žurkām, vienreizēja deva tika ievadīta endotraheāli, kā rezultātā betulīna maksimālā koncentrācija asins plazmā tika konstatēta 15 min ($C_{max} = 15,5 \text{ } \mu\text{g/ml}$). Pētījumā arī atklāja, ka visaugstākā betulīna koncentrācija tika konstatēta plaušās un aknās, bet viszemākā koncentrācija - sirdī [186]. Citā pētījumā, izmantojot LC-ESI/MS/MS sistēmu, pierādīja, ka betulīnam (500 mg/kg) žurkām bija neliela perorāla absorbcija un lēna eliminācija ($C_{max} = 59,6 \pm 23,0 \text{ } \text{ng/ml}$, $t_{1/2} = 16,9 \pm 2,7 \text{ h}$ un $MRT = 26,3 \pm 7,6 \text{ h}$) [184]. Nesen veiktā pētījumā par betulīna metabolismu žurkām (100 mg/kg iekšķīgi) urīna, žults un plazmas paraugos identificēti 62 metabolīti, tostarp I un II fāzes metabolīti [183].

7. Ierobežojumi un nākotnes apsvērumi

Lai gan betulīnam piemīt dažādas farmakoloģiskās aktivitātes, sākot no pretvīrusu līdz antimikrobiālai iedarbībai, gan pirmsklīniskajos, gan klīniskajos pētījumos bieži novērotais trūkums ir betulīna nešķidība ūdens šķidumos. Visos šajos pētījumos ir izmantoti nesēji, tostarp eļjas, DMSO (dimetilsulfoksīds), nanonesēji, oleogēli u. c., kas apstiprina betulīna lipofīlo raksturu. Saskaņā ar farmakokinētisko pētījumu betulīns tikai daļēji uzsūcas suņu un žurku plazmā, un tā šķidība ir mazāka par 0,10 µg/ml [185]. Var apgalvot, ka pie vielas zemās biopieejamības un izplatības ir vairojams betulīna ķīmiskais sastāvs un struktūra, jo īpaši tā pentacikliskā lupāna oglekļa struktūra. Cenšoties palielināt betulīna šķidību un biopieejamību, ir rūpīgi pētīta betulīnskābe - šķidāks atvasinājums. Arī pēdējos gados pētījumi galvenokārt ir vērsti uz betulīna ķīmisko modifikāciju ar ligandiem, ūdeni šķistošu atvasinājumu sintēzi, mērķtiecīgu betulīna piegādi ar nanonesējiem, piemēram, nanoemulsiju, un holesterīnu saturošu betulīna liposomu sagatavošanu. Šīs metodes var būt paradigmas maiņa veiksmīgā vīrusu infekciju un hronisku slimību ārstēšanā klīniskajos pētījumos ar betulīnu un tā atvasinājumiem. Tas ir tāpēc, ka dažādu klīnisko pētījumu provizoriskie rezultāti, kas iegūti, veicot uz betulīna bāzes izgatavotu oleogēlu lietošanu pret aktīniskās keratozes slimību, liecina, ka betulīns ir efektīvs lokāli lietojams ādas slimību ārstēšanai [162,163]. Tādēļ ir nepieciešami papildu pētījumi par preklīniskajiem pētījumiem attiecībā uz šķidinātākām betulīna formām, šo šķidināmo atvasinājumu farmakoloģisko iedarbību un molekulārajiem mehānismiem, kā arī betulīna koncentrācijas standartizāciju un optimizāciju.

Betulīna atvasinājumi ir uzrādījuši daudzsolos pretvīrusu aktivitāti pret SARS-CoV, iedarbojoties uz tā galvenajām proteāzes aktivitātēm.

[187], kas kopā ar citiem dabīgiem savienojumiem ar labi zināmu pretvīrusu iedarbību, piemēram, kumarīniem [188]. Tomēr betulīna labi zināmā pretiekaisuma un antioksidatīvā aktivitāte varētu būt vērtīgs papildinājums ar COVID-19 saistītā iekaisuma un sekundāro slimību ārstēšanā kā kombinēta pieeja [189].

Nepieciešams arī veikt vairāk preklīnisko pētījumu par efektīvu vai inhibījošu devu vai koncentrāciju optimizāciju, jo īpaši ķemot vērā ierobežotos un nepietiekamos pieejamos resursus par betulīna farmakokinētiku, lai gan pētījumos apgalvots, ka betulīns nav toksisks *in vivo* pat pie 540 mg/kg devas [185]. Tāpat kā vairumā terapeitisko līdzekļu, dažādos pētījumos izmantotās devas un koncentrācijas būtiski ietekmē to rezultātus. Lai gan daudzos pētījumos ir aprakstīta betulīna potenciālā terapeitiskā iedarbība *in vitro* un *in vivo*, ir maz pētījumu par betulīna perorālu/intravenozu ievadīšanu hronisku slimību klīniskos pētījumos cilvēkiem. Turklat lielākā daļa klīnisko pētījumu par betulīnu (**3. tabula**) ir vērsti uz tā spēju ārstēt ādas slimības un dziedēt brūces, jo iekaisums ir galvenais process brūcu dziedēšanā. Turklat šķiet, ka tas, vai betulīnam piemīt iekaisuma vai pretiekaisuma īpašības, ir atkarīgs no koncentrācijas, inkubācijas laika, šūnu vai audu tipa (primārās vai vēža šūnas) un eksperimentālās iekārtas (stimulēta vai nestimulēta sistēma). Tāpēc papildus betulīna brūcu dziedinošajai spējai ir nepieciešami provizoriski klīniskie pētījumi, randomizētas lielas kohortu grupas un kontrolēti ilgtermiņa pētījumi specifiskiem klīniskiem betulīna pielietojumiem, jo ne visi preklīnisko pētījumu rezultāti ir piemērojami cilvēkiem. Turklat, tā kā tiek uzskatīts, ka iekaisuma reakcijai ir nozīme vairāku hronisku slimību patoloģijā, lielākajā daļā *in vivo* eksperimentālo modeļu izmanto dažādus eksperimentālos modeļus, kas var dot pretrunīgus rezultātus. Tas jo īpaši attiecas uz gadījumiem, kad dažādu eksperimentālo modeļu dati tiek apvienoti dažādos pētījumos, kuru ilgums ir atšķirīgs. Pētījumu modeļu, ilguma, šūnu līniju, vecuma, sugu un dzīvnieku dzimuma atšķirību dēļ šķiet neiespējami noteikt visu šo pētījumu rezultātus un tos savstarpēji salīdzināt.

8. Secinājumi

Pieaug interese par dabas produktiem, jo to avoti un farmakoloģiskais potenciāls ir ļoti daudzveidīgi. Daudzi klīniskie pētījumi, kuros ādas apdegumu un epidermolīzes bulozes ārstēšanā izmantots betulīna oleogs (patentēts nosaukums Episalvan), liecina, ka viena no tā izcilākajām īpašībām ir brūču dzīšanas spēja. Šajā rakstā uzsvērta betulīna kardioprotективā, hepatoprotективā, pretdiabēta, pretvēža un pretiekaisuma un iekaisumu aizsargājošā iedarbība. Apkopotie pētījumi atklāja, ka betulīna daudzfunkcionālās pretiekaisuma īpašības varētu būt par iemeslu tā daudzajām labvēlīgajām iedarbībām dažādu slimību gadījumos. Pamatojoties uz apkopotajiem datiem, pirmsklīniskajos pētījumos ir apstiprināts, ka betulīns iedarbojas uz dažādām iekaisuma izraisītām slimībām, kavējot ROS veidošanos, mazinot proiekaisuma citokīnus un uzlabojot pretiekaisuma citokīnu darbību. To pamatā esošie molekulārie mehānismi ietver HO-1 un NQO1 ekspresijas palielināšanu, aktivizējot Nrf2, inhibējot NFkB un inaktivējot MAPK. Klīnisko pētījumu apkopojums liecina, ka betulīns labvēlīgi iedarbojas uz ādas apdegumiem, aktīnisko keratozi un epidermolīzi bullozi. Ādas brūču gadījumā betulīns veicina brūču dzīšanas iekaisuma fāzes sākšanos, īslaicīgi regulējot proiekaisuma mediatorus un veicinot keratinocītu migrāciju. Visas šīs zināšanas veicina mūsu izpratni par betulīna lomu slimībās, kas var sniegt jaunus potenciālos terapeitiskos mērķus, taču ir nepieciešami turpmāki pētījumi un preklīniskie pētījumi, lai izpētītu visu tā farmakoloģisko īpašību spektru. Visbeidzot, jāizpēta arī betulīna farmakokinētiskie un toksikoloģiskie pētījumi, kā arī jāapsver uzlabotas metodes betulīna šķidības palielināšanai.

References

1. Amiri, S.; Dastghaib, S.; Ahmadi, M.; Mehrbod, P.; Khadem, F.; Behrouj, H.; Aghaonori, M.R.; Machaj, F.; Ghamsari, M.; Rosik, J.; et al. Betulin and its derivatives as novel compounds with different pharmacological effects. *Biotechnol. Adv.* **2020**, *38*, 107409. [[Google Scholar](#)] [[CrossRef](#)]
2. Hordyjewska, A.; Ostapiuk, A.; Horecka, A.; Kurzepa, J. Betulin and betulinic acid: Triterpenoids derivatives with a powerful biological potential. *Phytochem. Rev.* **2019**, *18*, 929–951. [[Google Scholar](#)] [[CrossRef](#)] [[Green Version](#)]
3. Šimánek, P.; Filipová, A.; Tichá, A.; Niang, M.; Bezrouk, A.; Havelek, R. Effective method of purification of betulin from birch bark: The importance of its purity for scientific and medicinal use. *PLoS ONE* **2016**, *11*, e0154933. [[Google Scholar](#)] [[CrossRef](#)] [[Green Version](#)]
4. Laavola, M.; Haavikko, R.; Hämäläinen, M.; Leppänen, T.; Nieminen, R.; Alakurtti, S.; Moreira, V.M.; Yli-Kauhaluoma, J.; Moilanen, E. Betulin Derivatives Effectively Suppress Inflammation *in vitro* and *in vivo*. *J. Nat. Prod.* **2016**, *79*, 274–280. [[Google Scholar](#)] [[CrossRef](#)]
5. Zhao, H.; Liu, Z.; Liu, W.; Han, X.; Zhao, M. Betulin attenuates lung and liver injuries in sepsis. *Int. Immunopharmacol.* **2016**, *30*, 50–56. [[Google Scholar](#)] [[CrossRef](#)]
6. Medzhitov, R. Origin and physiological roles of inflammation. *Nature* **2008**, *454*, 428–435. [[Google Scholar](#)] [[CrossRef](#)]
7. Chen, L.; Deng, H.; Cui, H.; Fang, J.; Zuo, Z.; Deng, J.; Li, Y.; Wang, X.; Zhao, L. Inflammatory responses and inflammation-associated diseases in organs. *Oncotarget* **2018**, *9*, 7204–7218. [[Google Scholar](#)] [[CrossRef](#)] [[Green Version](#)]
8. Hayek, E.W.H.; Jordis, U.; Moche, W.; Sauter, F. A bicentennial of betulin. *Phytochemistry* **1989**, *28*, 2229–2242. [[Google Scholar](#)] [[CrossRef](#)]
9. Tolstikov, G.A.; Flekhter, O.B.; Shultz, E.E.; Baltina, L.A.; Tolstikov, A.G. Betulin and Its Derivatives. Chemistry and Biological Activity. *Chem. Sustain. Dev.* **2005**, *13*, 1–29. [[Google Scholar](#)]
10. Yamashita, K.; Lu, H.; Lu, J.; Chen, G.; Yokoyama, T.A.; Sagara, Y.; Manabe, M.; Kodama, H. Effect of three triterpenoids, lupeol, betulin, and betulinic acid on the stimulus-induced superoxide generation and tyrosyl phosphorylation of proteins in human neutrophils. *Clin. Chim. Acta* **2002**, *325*, 91–96. [[Google Scholar](#)] [[CrossRef](#)]
11. Yang, X.; Peng, Q.; Liu, Q.; Hu, J.; Tang, Z.; Cui, L.; Lin, Z.; Xu, B.; Lu, K.; Yang, F.; et al. Antioxidant activity against h2o2-induced cytotoxicity of the ethanol extract and compounds from pyrola decorate leaves. *Pharm. Biol.* **2017**, *55*, 1843–1848. [[Google Scholar](#)] [[CrossRef](#)] [[Green Version](#)]
12. Patel, M.R.; Rajput, N.; Panchal, H.S.; Dalwadi, H.B. Quantification of Lupeol and Betulin in *Ougenia dalbergioides* Bark by Column Chromatography and TLC. *J. Pharm. Sci. Biosci. Res.* **2017**, *7*, 114–120. [[Google Scholar](#)]
13. Barakat, K.; Saleh, M. Bioactive Betulin produced by marine *Paeciliomyces WE3-F*. *J. Appl. Pharm. Sci.* **2016**, *6*, 34–40. [[Google Scholar](#)] [[CrossRef](#)] [[Green Version](#)]
14. Drag, M.; Surowiak, P.; Małgorzata, D.Z.; Dietel, M.; Lage, H.; Oleksyzyn, J. Comparison of the Cytotoxic Effects of Birch Bark Extract, Betulin and Betulinic Acid Towards Human Gastric Carcinoma and Pancreatic Carcinoma Drug-sensitive and Drug-Resistant Cell Lines. *Molecules* **2009**, *14*, 1639–1651. [[Google Scholar](#)] [[CrossRef](#)]
15. De Moraes, W.F.; Galdino, P.M.; Nascimento, M.V.M.; Vanderlinde, F.A.; Bara, M.T.F.; Costa, E.A.; De Paula, J.R. Triterpenes involved in the anti-inflammatory effect of ethanolic extract of *Pterodon emarginatus* Vogel stem bark. *J. Nat. Med.* **2012**, *66*, 202–207. [[Google Scholar](#)] [[CrossRef](#)]
16. Co, M.; Koskela, P.; Eklund-Akergren, P.; Srinivas, K.; King, J.W.; Sjöberg, P.J.R.; Turner, C. Pressurized liquid extraction of betulin and antioxidants from birch bark. *Green Chem.* **2009**, *11*, 668–674. [[Google Scholar](#)] [[CrossRef](#)]
17. Amol Singh, P.; Brindavanam, N.B.; Kimothi, G.P.; Verma, R.; Aer, V. A Validated HPLC method for the determination of betulin in the stem bark of *Tectona grandis* Linn. *Int. J. Pharm. Sci. Res.* **2016**, *7*, 719–723. [[Google Scholar](#)] [[CrossRef](#)]
18. Šoica, C.; Dehelean, C.; Peev, C.; Aluas, M.; Zupkó, I.; Kása, P., Jr.; Alexa, E. Physico-chemical comparison of betulinic acid, betulin and birch bark extract and *in vitro* investigation of their cytotoxic effects towards skin epidermoid carcinoma (A431), breast carcinoma (MCF7) and cervix adenocarcinoma (HeLa) cell lines. *Nat. Prod. Res.* **2012**, *26*, 968–974. [[Google Scholar](#)] [[CrossRef](#)]
19. Khan, M.J.; Saraf, S.; Saraf, S. Anti-inflammatory and associated analgesic activities of HPLC standardized alcoholic extract of known ayurvedic plant *Schleichera oleosa*. *J. Ethnopharmacol.* **2017**, *197*, 257–265. [[Google Scholar](#)] [[CrossRef](#)]
20. Bai, Y.H.; Feng, Y.Q.; Mao, D.B.; Xu, C.P. Optimization for betulin production from mycelial culture of *Inonotus obliquus* by orthogonal design and evaluation of its antioxidant activity. *J. Taiwan Inst. Chem. Eng.* **2012**, *43*, 663–669. [[Google Scholar](#)] [[CrossRef](#)]
21. Felföldi-Gáva, A.; Szarka, S.; Simándi, B.; Blazics, B.; Simon, B.; Kéry, Á. Supercritical fluid extraction of *Alnus glutinosa* (L.) Gaertn. *J. Supercrit. Fluids* **2012**, *61*, 55–61. [[Google Scholar](#)] [[CrossRef](#)]
22. Ko, B.S.; Kang, S.; Moon, B.R.; Ryuk, J.A.; Park, S. A 70% Ethanol Extract of Mistletoe Rich in Betulin, Betulinic Acid, and Oleanic Acid Potentiated β-Cell Function and Mass and Enhanced Hepatic Insulin Sensitivity. *Evid.-Based Complement. Altern. Med.* **2016**, *2016*, 7836823. [[Google Scholar](#)] [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)] [[Green Version](#)]
23. Penkov, D.; Dimitrova, S.; Andonova, V.; Milieva, E.; Murdjeva, M.; Stanimirova, I.; Draganov, M.; Kassarova, M. Biological activity of bulgarian folia betulae dry extract. *Int. J. Pharm. Pharm. Sci.* **2015**, *7*, 94–99. [[Google Scholar](#)]
24. Misra, T.N.; Singh, R.S.; Pandey, H.S.; Singh, B.K.; Pandey, R.P. Constituents of *Asteracantha longifolia*. *Fitoterapia* **2001**, *72*, 194–196. [[Google Scholar](#)] [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
25. Laiolo, J.; Barbieri, C.L.; Joray, M.B.; Lanza, P.A.; Palacios, S.M.; Vera, D.M.A.; Carpinella, M.C. Plant extracts and betulin from *Ligaria cuneifolia* inhibit P-glycoprotein function in leukemia cells. *Food Chem. Toxicol.* **2021**, *147*, 11922. [[Google Scholar](#)] [[CrossRef](#)]
26. Zhou, Y.; Weng, X.; Dou, R.; Tan, X.; Zhang, T.; Fang, J.; Wu, X. Betulin from *Hedysotis hedyotidea* ameliorates concanavalin A-induced and T cell-mediated autoimmune hepatitis in mice. *Acta Pharmacol. Sin.* **2017**, *38*, 201–210. [[Google Scholar](#)] [[CrossRef](#)] [[Green Version](#)]
27. Zehra, B.; Ahmed, A.; Sarwar, R.; Khan, A.; Farooq, U.; Ali, S.A.; Al-Harrasi, A. Apoptotic and antimetastatic activities of betulin isolated from *Quercus incana* against non-small cell lung cancer cells. *Cancer Manag. Res.* **2019**, *11*, 1667–1683. [[Google Scholar](#)] [[CrossRef](#)] [[Green Version](#)]
28. Kaur, P.; Arora, S.; Singh, R. Isolation, characterization and biological activities of betulin from *Acacia nilotica* bark. *Sci. Rep.* **2022**, *12*, 9370. [[Google Scholar](#)] [[CrossRef](#)]
29. Hridya, V.; Godson, P.; Chandrasekar, N. Chromatographic identification of two biologically important triterpenoids from the chloroform extract of *Rhizophora mucronata*. *Acta Chromatogr.* **2012**, *24*, 123–129. [[Google Scholar](#)] [[CrossRef](#)]
30. Azaat, A.; Babajanian, G.; Issa, N. Phytochemical Screening, Antioxidant and Anticancer Activities of *Euphorbia hyssopifolia* L. against MDA-MB-231 Breast Cancer Cell Line. *J. Turk. Chem. Soc. Sect. A Chem.* **2022**, *9*, 295–310. [[Google Scholar](#)] [[CrossRef](#)]
31. Radhakrishna, S.; Kumari, S.P. GCMS Analysis of total terpenoids from *Baliospermum montanum* and its antimicrobial activity. *IAETSD J. Adv. Res. Appl. Sci.* **2018**, *5*, 94–101. [[Google Scholar](#)]
32. Lee, S.O.; Lee, M.H.; Lee, K.R.; Lee, E.O.; Lee, H.J. *Fomes fomentarius* ethanol extract exerts inhibition of cell growth and motility induction of apoptosis via targeting AKT in human breast cancer MDA-MB-231 cells. *Int. J. Mol. Sci.* **2019**, *20*, 1147. [[Google Scholar](#)] [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)] [[Green Version](#)]
33. De Souza, M.T.; Buzzi, F.D.C.; Cechinel Filho, V.; Hess, S.; Delle Monache, F.; Niero, R. Phytochemical and antinociceptive properties of *Matayba elaeagnoides* Radlk. barks. *Z. Fur Naturforsch. Sect. C J. Biosci.* **2007**, *62*, 550–554. [[Google Scholar](#)] [[CrossRef](#)] [[Green Version](#)]
34. Qaisar, M.N.; Uzair, M.; Imran, M.; Chaudhary, B.A.; Hussain, S.N. New α-glucosidase inhibitors from *Croton bonplandianum* *Croton bonplandianum* Baill (Euphorbiaceae). *Trop. J. Pharm. Res.* **2016**, *15*, 319–326. [[Google Scholar](#)] [[CrossRef](#)] [[Green Version](#)]
35. Wang, L.; Hu, Y.; Guo, G.; Li, J.; Fang, X.; Zhao, L. Enhanced and green extraction betulin from *Celtis sinensis* leaves using hydrophobic deep eutectic solvent. *Biomass Convers. Biorefinery* **2022**, *12*, 1–11. [[Google Scholar](#)] [[CrossRef](#)]
36. Ishikawa, R.B.; Leitão, M.M.; Kassuya, R.M.; Macorini, L.F.; Moreira, F.M.F.; Cardoso, C.A.L.; Coelho, R.G.; Pott, A.; Gelfuso, G.M.; Croda, J.; et al. Anti-inflammatory, antimycobacterial and genotoxic evaluation of *Dollicarpus dentatus*. *J. Ethnopharmacol.* **2017**, *204*, 18–25. [[Google Scholar](#)] [[CrossRef](#)]
37. Ahmadu, A.A.; Delehouzé, C.; Haruna, A.; Mustapha, L.; Lawal, B.A.; Udobe, A.; Baratte, B.; Triscornia, C.; Autret, A.; Robert, T.; et al. Betulin, a newly characterized compound in *Acacia auriculiformis* bark, is a multi-target protein kinase inhibitor. *Molecules* **2021**, *26*, 4599. [[Google Scholar](#)] [[CrossRef](#)]
38. Ju, A.; Cho, Y.C.; Cho, S. Methanol extracts of *Xanthium sibiricum* roots inhibit inflammatory responses via the inhibition of nuclear factor-κB (NF-κB) and signal transducer and activator of transcription 3 (STAT3) in murine macrophages. *J. Ethnopharmacol.* **2015**, *174*, 74–81. [[Google Scholar](#)] [[CrossRef](#)]
39. Razviniani, M.; Motaung, K.S. The influence of friedelin, resinone, tingenone and betulin of compounds on chondrogenic differentiation of porcine adipose-derived mesenchymal stem cells (pADMSCs). *Biochimie* **2022**, *196*, 234–242. [[Google Scholar](#)] [[CrossRef](#)]
40. Wexler, R.; Elton, T.; Pleister, A.; Feldman, D. Cardiomyopathy: An Overview. *Am. Fam. Physician* **2009**, *79*, 778–784. [[Google Scholar](#)]
41. Ayyappan, P.; Lizardo, K.; Wang, S.; Yorkow, E.; Nagajothy, J.F. Inhibition of SREBP Improves Cardiac Lipidopathy, Improves Endoplasmic Reticulum Stress, and Modulates Chronic Chagas Cardiomyopathy. *J. Am. Heart Assoc.* **2020**, *9*, e014255. [[Google Scholar](#)] [[CrossRef](#)]
42. Yu, C.; Cai, X.; Liu, X.; Liu, J.; Zhu, N. Betulin Alleviates Myocardial Ischemia-Reperfusion Injury in Rats via Regulating the Siti1/NLRP3/NF-κB Signaling Pathway. *Inflammation* **2021**, *44*, 1096–1107. [[Google Scholar](#)] [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
43. Wen, Y.; Geng, L.; Zhou, L.; Pei, X.; Yang, Z.; Ding, Z. Betulin alleviates myocardial inflammation in diabetes mice via regulating Siti1/NLRP3/NF-κB pathway. *Int. Immunopharmacol.* **2020**, *85*, 106653. [[Google Scholar](#)] [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
44. Tang, J.J.; Li, J.G.; Qi, W.; Qiu, W.W.; Li, P.S.; Li, B.L.; Song, B.L. Inhibition of SREBP by a small molecule, betulin, improves hyperlipidemia and insulin resistance and reduces atherosclerotic plaques. *Cell Metab.* **2011**, *13*, 44–56. [[Google Scholar](#)] [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)] [[Green Version](#)]
45. Gui, Y.; Yan, H.; Gao, F.; Xi, C.; Li, H.; Wang, Y. Betulin attenuates atherosclerosis in apoE^{-/-} mice by up-regulating ABCA1 and ABCG1. *Acta Pharmacol. Sin.* **2016**, *37*, 1337–1348. [[Google Scholar](#)] [[CrossRef](#)] [[Green Version](#)]
46. Muceniece, R.; Namniece, J.; Nakurte, I.; Jekabsons, K.; Riekstina, U.; Jansone, B. Pharmacological research on natural substances in Latvia: Focus on lunasin, betulin, polypropenol and phlorizin. *Pharmacol. Res.* **2016**, *113*, 760–770. [[Google Scholar](#)] [[CrossRef](#)]
47. Ma, C.; Long, H. Protective effect of betulin on cognitive decline in streptozotocin (STZ)-induced diabetic rats. *Neurotoxicology* **2016**, *57*, 104–111. [[Google Scholar](#)] [[CrossRef](#)]
48. Alsaadi, J.H.H. Isolation, Purification and Identification of Active Chemical Compound Lup-20(29)-ene-3, 28-diol (Betulin) from *Tetradium daniellii* Leaves and Study the hypoglycemic Effect on Rabbits. *Univ. Thi-Qar J. Sci.* **2016**, *6*, 54–61. [[Google Scholar](#)] [[CrossRef](#)]
49. Ratnu Wulan, D.; Priyo Utomo, E.; Mahdi, C. Antidiabetic Activity of *Ruellia tuberosa* L., Role of α -Amylase Inhibitor: *In Silico*, *In Vitro*, and *In Vivo* Approaches. *Biochem. Res. Int.* **2015**, *2015*, 349261. [[Google Scholar](#)] [[CrossRef](#)] [[Green Version](#)]
50. Wulan, D.R.; Utomo, E.P.; Mahdi, C. Molecular modeling of *Ruellia tuberosa* L compounds as α-amylase inhibitor: An *in silico* comparison between human and rat enzyme model. *Bioinformation* **2014**, *10*, 209–215. [[Google Scholar](#)] [[CrossRef](#)] [[Green Version](#)]
51. Thengyai, S.; Thiantongin, P.; Sontimuang, C.; Ovatlarnporn, C.; Puttarak, P. α-Glucosidase and α-amylase inhibitory activities of medicinal plants in Thai antidiabetic recipes and bioactive compounds from *Vitex glabrata* R. Br. stem bark. *J. Herb. Med.* **2020**, *19*, 100302. [[Google Scholar](#)] [[CrossRef](#)]
52. Gurupriya, S.; Cathrine, L. Molecular docking studies of isolated compounds andrographolide and betulin from methanolic leaves extract of *Andrographis echiooides* as alpha-amylase and alpha-glucosidase activators. *Int. J. Appl. Pharm.* **2021**, *13*, 121–129. [[Google Scholar](#)] [[CrossRef](#)]

53. Yuca, H.; Özbek, H.; Demirezer, L.; Güvenalp, Z. Assessment of α -glucosidase and α -amylase inhibitory potential of *Paliurus spina-christi* Mill. and its terpenic compounds. *Med. Chem. Res.* **2022**, *31*, 1393–1399. [[Google Scholar](#)] [[CrossRef](#)]
54. Ilyina, A.; Arredondo-Valdés, R.; Farkhutdinov, S.; Segura-Cenicerros, E.P.; Martínez-Hernández, J.L.; Zaynulina, R.; Kunakova, R. Effect of Betulin-containing Extract from Birch Tree Bark on α -Amylase Activity *In vitro* and on Weight Gain of Broiler Chickens *In vivo*. *Plant Foods Hum. Nutr.* **2014**, *69*, 65–70. [[Google Scholar](#)] [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
55. Wardecki, T.; Werner, P.; Thomas, M.; Templin, M.F.; Schmidt, G.; Brandner, J.M.; Merfort, I. Influence of Birch Bark Triterpenes on Keratinocytes and Fibroblasts from Diabetic and Nondiabetic Donors. *J. Nat. Prod.* **2016**, *79*, 1112–1123. [[Google Scholar](#)] [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
56. Shafabakhsh, R.; Asemi, Z. Quercetin: A natural compound for ovarian cancer treatment. *J. Ovarian Res.* **2019**, *12*, 55. [[Google Scholar](#)] [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)] [[Green Version](#)]
57. Esposito, S.; Bianco, A.; Russo, R.; Di Maro, A.; Isernia, C.; Pedone, P.V. Therapeutic Perspectives of Molecules from *Urtica dioica* Extracts for Cancer Treatment. *Molecules* **2019**, *24*, 2753. [[Google Scholar](#)] [[CrossRef](#)] [[Green Version](#)]
58. Imran, M.; Salehi, B.; Sharifi-Rad, J.; Gondal, T.A.; Saeed, F.; Imran, A.; Shahbaz, M.; Foukou, P.V.T.; Arshad, M.U.; Khan, H.; et al. Kaempferol: A key emphasis to its anticancer potential. *Molecules* **2019**, *24*, 2277. [[Google Scholar](#)] [[CrossRef](#)] [[Green Version](#)]
59. Tuli, H.S.; Sak, K.; Gupta, D.S.; Kaur, G.; Aggarwal, D.; Parashar, N.C.; Choudhary, R.; Yerer, M.B.; Kaur, J.; Kumar, M.; et al. Anti-inflammatory and anticancer properties of birch bark-derived betulin: Recent developments. *Plants* **2021**, *10*, 2663. [[Google Scholar](#)] [[CrossRef](#)]
60. Novio, S.; Cartea, M.E.; Soengas, P.; Freire-Garabal, M.; Núñez-Iglesias, M.J. Effects of Brassicaceae isothiocyanates on prostate cancer. *Molecules* **2016**, *21*, 626. [[Google Scholar](#)] [[CrossRef](#)] [[Green Version](#)]
61. Peng, Y.; Ao, M.; Dong, B.; Jiang, Y.; Yu, L.; Chen, Z.; Hu, C.; Xu, R. Anti-Inflammatory Effects of Curcumin in the Inflammatory Diseases: Status, Limitations and Countermeasures. *Drug Des. Dev.* **2012**, *15*, 4503–4525. [[Google Scholar](#)] [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
62. Barboza, J.N.; da Silva Maia Bezerra Filho, C.; Silva, R.O.; Medeiros, J.V.R.; de Sousa, D.P. An overview on the anti-inflammatory potential and antioxidant profile of eugenol. *Oxid. Med. Cell. Longev.* **2018**, *2018*, 3957262. [[Google Scholar](#)] [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
63. Azab, A.; Nassar, A.; Azab, A.N. Anti-inflammatory activity of natural products. *Molecules* **2016**, *21*, 1321. [[Google Scholar](#)] [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)] [[Green Version](#)]
64. Man, S.; Gao, W.; Zhang, Y.; Huang, L.; Liu, C. Chemical study and medical application of saponins as anti-cancer agents. *Fitoterapia* **2010**, *81*, 703–714. [[Google Scholar](#)] [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
65. Pyo, J.S.; Si, H.R.; Dae, K.K.; Jin, G.L.; Yong, Y.L.; Soon, S.H.; Sung, W.K.; Jeong, H.P. Anti-cancer effect of betulin on a human lung cancer cell line: A pharmacoproteomic approach using 2 D SDS PAGE coupled with nano-HPLC tandem mass spectrometry. *Planta Med.* **2009**, *75*, 127–131. [[Google Scholar](#)] [[CrossRef](#)]
66. Gauthier, C.; Legault, J.; Lavoie, S.; Rondeau, S.; Tremblay, S.; Pichette, A. Synthesis and cytotoxicity of bidesmosidic betulin and betulinic acid saponins. *J. Nat. Prod.* **2009**, *72*, 72–81. [[Google Scholar](#)] [[CrossRef](#)]
67. Dehelean, C.A.; Feflea, S.; Molnár, J.; Zupko, I.; Soica, C. Betulin as an antitumor agent tested *in vitro* on A431, HeLa and MCF7, and as an angiogenic inhibitor *in vivo* in the CAM assay. *Nat. Prod. Commun.* **2012**, *7*, 981–985. [[Google Scholar](#)] [[CrossRef](#)] [[Green Version](#)]
68. Li, Y.; Liu, X.; Jiang, D.; Lin, Y.; Wang, Y.; Li, Q.; Liu, L.; Jin, Y.H. Betulin induces reactive oxygen species-dependent apoptosis in human gastric cancer SGC7901 cells. *Arch. Pharm. Res.* **2016**, *39*, 1257–1265. [[Google Scholar](#)] [[CrossRef](#)]
69. Li, Y.; He, K.; Huang, Y.; Zheng, D.; Gao, C.; Cui, L.; Jin, Y.H. Betulin induces mitochondrial cytochrome c release associated apoptosis in human cancer cells. *Mol. Carcinog.* **2010**, *49*, 630–640. [[Google Scholar](#)] [[CrossRef](#)]
70. Mullauer, F.B.; Kessler, J.H.; Medema, J.P. Betulin is a potent anti-tumor agent that is enhanced by cholesterol. *PLoS ONE* **2009**, *4*, e1. [[Google Scholar](#)] [[CrossRef](#)] [[Green Version](#)]
71. Rzeski, W.; Stepluk, A.; Szymański, M.; Juszczak, M.; Grabarska, A.; Sifiringer, M.; Kaczor, J.; Kandefer-Szerszeń, M. Betulin Elicits Anti-Cancer Effects in Tumour Primary Cultures and Cell Lines in vitro. *Basic Clin. Pharmacol. Toxicol.* **2009**, *105*, 425–432. [[Google Scholar](#)] [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
72. Han, Y.H.; Mun, J.G.; Jeon, H.D.; Kee, J.Y. Betulin inhibits lung metastasis by inducing cell cycle arrest, autophagy, and apoptosis of metastatic colorectal cancer cells. *Nutrients* **2020**, *12*, 66. [[Google Scholar](#)] [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)] [[Green Version](#)]
73. Dehelean, C.A.; Feflea, S.; Gheorghescu, D.; Ganta, S.; Cimpean, A.M.; Muntean, D.; Amiji, M.M. Anti-angiogenic and anti-cancer evaluation of betulin nanoemulsion in chicken chorioallantoic membrane and skin carcinoma in Balb/c mice. *J. Biomed. Nanotechnol.* **2013**, *9*, 577–589. [[Google Scholar](#)] [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
74. Feng, J.H.; Duan, X.Z.; Pan, J.Y.; Li, W.M.; Zhang, X.D.; Zhang, Y.S. Involvement of protein kinase C- δ activation in betulin-induced apoptosis of neuroblastoma. *Trop. J. Pharm. Res.* **2017**, *16*, 2097–2105. [[Google Scholar](#)] [[CrossRef](#)] [[Green Version](#)]
75. Oh, S.-H.; Choi, J.-E.; Lim, S.-C. Protection of betulin against cadmium-induced apoptosis in hepatoma cells. *Toxicology* **2006**, *220*, 1–12. [[Google Scholar](#)] [[CrossRef](#)]
76. Yim, N.H.; Jung, Y.P.; Kim, A.; Kim, T.; Ma, J.Y. Induction of apoptotic cell death by betulin in multidrug-resistant human renal carcinoma cells. *Oncol. Rep.* **2015**, *34*, 1058–1064. [[Google Scholar](#)] [[CrossRef](#)] [[Green Version](#)]
77. Yin, F.; Feng, F.; Wang, L.; Wang, X.; Li, Z.; Cao, Y. SREBP-1 inhibitor Betulin enhances the antitumor effect of Sorafenib on hepatocellular carcinoma via restricting cellular glycolytic activity. *Cell Death Dis.* **2019**, *10*, 672. [[Google Scholar](#)] [[CrossRef](#)] [[Green Version](#)]
78. Kvasnicka, M.; Sarek, J.; Klinotova, E.; Dzubak, P.; Hajduch, M. Synthesis of phthalates of betulinic acid and betulin with cytotoxic activity. *Bioorganic Med. Chem.* **2005**, *13*, 3447–3454. [[Google Scholar](#)] [[CrossRef](#)]
79. Gao, H.; Wu, L.; Kuroyanagi, M.; Harada, K.; Kawahara, N.; Nakane, T.; Umehara, K.; Hirasawa, A.; Nakamura, Y. Antitumor-promoting constituents from *Chamaemeles sinensis* Koehne and their activities in JB6 mouse epidermal cells. *Chem. Pharm. Bull.* **2003**, *51*, 1318–1321. [[Google Scholar](#)] [[CrossRef](#)] [[Green Version](#)]
80. Taiyi, S.J. Caspase-9 activation-critical for betulin-induced apoptosis of human hepatoma cells. *Chem. Res. Chin. Univ.* **2010**, *26*, 792–797. [[Google Scholar](#)]
81. Zhang, J.; Zhou, B.; Sun, J.; Chen, H.; Yang, Z. Betulin ameliorates 7,12-dimethylbenz(a)anthracene-induced rat mammary cancer by modulating MAPK and AhR/Nrf-2 signaling pathway. *J. Biochem. Mol. Toxicol.* **2021**, *35*, e22779. [[Google Scholar](#)] [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
82. Zhou, Z.; Zhu, C.; Cai, Z.; Zhao, F.; He, L.; Lou, X.; Qi, X. Betulin induces cytochrome c release and apoptosis in colon cancer cells via NOXA. *Oncol. Lett.* **2018**, *15*, 7319–7327. [[Google Scholar](#)] [[CrossRef](#)]
83. Cheng, W.; Ji, S.; Zhang, H.; Han, Z.; Liu, Q.; Wang, J.; Ping, H. mTOR activation is critical for betulin treatment in renal cell carcinoma cells. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **2017**, *482*, 1030–1036. [[Google Scholar](#)] [[CrossRef](#)]
84. Lin, Y.C.; Chen, H.Y.; Hsieh, C.P.; Huang, Y.F.; Chang, I.L. Betulin inhibits mTOR and induces autophagy to promote apoptosis in human osteosarcoma cell lines. *Environ. Toxicol.* **2020**, *35*, 879–887. [[Google Scholar](#)] [[CrossRef](#)]
85. Yu, J.; Li, M.; Zhan, D.; Shi, C.; Fang, L.; Ban, C.; Zheng, W.; Veeraraghavan, V.; Mohan, S.; Tang, X. Inhibitory effects of triterpenoid betulin on inflammatory mediators inducible nitric oxide synthase, cyclooxygenase-2, tumor necrosis factor-alpha, interleukin-6, and proliferating cell nuclear antigen in 1,2-dimethylhydrazine-induced rat colon carcinogenesis. *Pharmacogn. Mag.* **2020**, *16*, 836. [[Google Scholar](#)] [[CrossRef](#)]
86. Yang, Q.; Fei, Z.; Huang, C. Betulin terpenoid targets OVCAR-3 human ovarian carcinoma cells by inducing mitochondrial mediated apoptosis, G2/M phase cell cycle arrest, inhibition of cell migration and invasion and modulating mTOR/PI3K/AKT signalling pathway. *Cell. Mol. Biol.* **2021**, *67*, 14–19. [[Google Scholar](#)] [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
87. Xu, G.M.; Zan, T.; Li, H.Y.; Han, J.F.; Liu, Z.M.; Huang, J.; Dong, L.H.; Zhang, H.N. Betulin inhibits lipopolysaccharide/D-galactosamine-induced acute liver injury in mice through activating PPAR- γ . *Biomed. Pharmacother.* **2018**, *106*, 941–945. [[Google Scholar](#)] [[CrossRef](#)]
88. Buko, V.; Kuzmitskaya, I.; Kirkó, S.; Belonovskaya, E.; Naruta, E.; Lukivskaya, O.; Shlyahnt, A.; Ilyich, T.; Zakreska, A.; Zavodnik, I. Betulin attenuated liver damage by prevention of hepatic mitochondrial dysfunction in rats with alcoholic steatohepatitis. *Physiol. Int.* **2019**, *106*, 323–334. [[Google Scholar](#)] [[CrossRef](#)]
89. Bai, T.; Yang, Y.; Yao, Y.-L.; Sun, P.; Lian, L.-H.; Wu, Y.-L.; Nan, J.-X. Betulin alleviated ethanol-induced alcoholic liver injury via SIRT1/AMPK signaling pathway. *Pharmacol. Res.* **2016**, *105*, 1–12. [[Google Scholar](#)] [[CrossRef](#)]
90. Szuster-Ciesielska, A.; Plewka, K.; Kandefer-Szerszeń, M. Betulin, betulinic acid and betuine are inhibitors of acetaldehyde-induced activation of liver stellate cells. *Pharmacol. Rep.* **2011**, *63*, 1109–1123. [[Google Scholar](#)] [[CrossRef](#)]
91. Wan, Y.; Jiang, S.; Lian, L.H.; Bai, T.; Cui, P.H.; Sun, X.T.; Jin, X.J.; Wu, Y.L.; Nan, J.X. Betulinic acid and betulin ameliorate acute ethanol-induced fatty liver via TLR4 and STAT3 *in vivo* and *in vitro*. *Int. Immunopharmacol.* **2013**, *17*, 184–190. [[Google Scholar](#)] [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
92. Szuster-Ciesielska, A.; Kandefer-Szerszeń, M. Protective effects of betulin and betulinic acid against ethanol-induced cytotoxicity in HepG2 cells. *Pharmacol. Rep.* **2005**, *57*, 588–595. [[Google Scholar](#)] [[PubMed](#)]
93. Eisa, N.H.; El-Sherbiny, M.; Abo El-Magd, N.F. Betulin alleviates cisplatin-induced hepatic injury in rats: Targeting apoptosis and Nek7-independent NLRP3 inflammasome pathways. *Int. Immunopharmacol.* **2021**, *99*, 107925. [[Google Scholar](#)] [[CrossRef](#)]
94. Dou, J.Y.; Jiang, Y.C.; Hu, Z.H.; Yao, K.C.; Yuan, M.H.; Bao, X.X.; Zhou, M.J.; Liu, Y.; Li, Z.X.; Lian, L.H.; et al. Betulin Targets Lipin1/2-Mediated P2X7 Receptor as a Therapeutic Approach to Attenuate Lipid Accumulation and Metaflammation. *Biomol. Ther.* **2022**, *30*, 246–256. [[Google Scholar](#)] [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
95. Szuster-Ciesielska, A.; Plewka, K.; Daniłuk, J.; Kandefer-Szerszeń, M. Betulin and betulinic acid attenuate ethanol-induced liver stellate cell activation by inhibiting reactive oxygen species (ROS), cytokine (TNF- α , TGF- β) production and by influencing intracellular signaling. *Toxicology* **2011**, *280*, 152–163. [[Google Scholar](#)] [[CrossRef](#)]
96. Koerberle, A.; Werz, O. Multi-target approach for natural products in inflammation. *Drug Discov. Today* **2014**, *19*, 1871–1882. [[Google Scholar](#)] [[CrossRef](#)]
97. Guo, M.Y.; Li, W.Y.; Zhang, Z.; Qiu, C.; Li, C.; Deng, G. Betulin suppresses *S. aureus*-induced mammary gland inflammatory injury by regulating PPAR- γ in mice. *Int. Immunopharmacol.* **2015**, *29*, 824–831. [[Google Scholar](#)] [[CrossRef](#)]
98. Zhao, H.; Zheng, Q.; Hu, X.; Shen, H.; Li, F. Betulin attenuates kidney injury in septic rats through inhibiting TLR4/NF- κ B signaling pathway. *Life Sci.* **2016**, *144*, 185–193. [[Google Scholar](#)] [[CrossRef](#)]
99. Pfarr, K.; Danciu, C.; Arlt, O.; Dehelean, C.; Pfeilschifter, J.M.; Radek, H.H. Simultaneous and dose dependent melanoma cytotoxic and immune stimulatory activity of betulin. *PLoS ONE* **2015**, *10*, e0118802. [[Google Scholar](#)] [[CrossRef](#)]
100. Ra, H.J.; Lee, H.J.; Jo, H.S.; Nam, D.C.; Lee, Y.B.; Kang, B.H.; Moon, D.K.; Kim, D.H.; Lee, C.J.; Hwang, S.C. Betulin suppressed interleukin-1 β -induced gene expression, secretion and proteolytic activity of matrix metalloproteinase in cultured articular chondrocytes and production of matrix metalloproteinase in the knee joint of rat. *Korean J. Physiol. Pharmacol.* **2017**, *21*, 19–26. [[Google Scholar](#)] [[CrossRef](#)] [[Green Version](#)]
101. Lin, W.Y.; Sadhasivam, S.; Lin, F.H. The dose dependent effects of betulin on porcine chondrocytes. *Process Biochem.* **2009**, *44*, 678–684. [[Google Scholar](#)] [[CrossRef](#)]
102. Kamarak, J.; Dhayalan, S.; Chinnaiyan, U.; Kumaresan, V.; Subramanyan, S.; Kumar, D.; Muniandy, K.; Punamalai, G. Triterpenoid compound betulin attenuates allergic airway inflammation by modulating antioxidants, inflammatory cytokines and tissue transglutaminase in ovalbumin-induced asthma mice model. *J. Pharm. Pharmacol.* **2021**, *73*, 968–978. [[Google Scholar](#)] [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
103. Ebeling, S.; Naumann, K.; Pollok, S.; Wardecki, T.; Vidal-y-Sy, S.; Nascimento, J.M.; Boerries, M.; Schmidt, G.; Brandner, J.M.; Merfort, I. From a traditional medicinal plant to a rational drug: Understanding the clinically proven wound healing efficacy of birch bark extract. *PLoS ONE* **2014**, *9*, e86147. [[Google Scholar](#)] [[CrossRef](#)] [[Green Version](#)]
104. Ren, L.; Niu, S.; Sun, Y.; Liang, Y.; Zhao, J.; Zhang, T.; Zhang, J. Anti-inflammatory action of betulin and its potential as a dissociated glucocorticoid receptor modulator. *Food Chem. Toxicol.* **2021**, *157*, 112539. [[Google Scholar](#)] [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
105. Lin, W.-Y.; Lin, F.-H.; Sadhasivam, S.; Savitha, S. Antioxidant effects of betulin on porcine chondrocyte behavior in gelatin/C6S/C4S/HA modified tricopolymer scaffold. *Mater. Sci. Eng. C* **2010**, *30*, 597–604. [[Google Scholar](#)] [[CrossRef](#)]

106. Ouyang, T.; Yin, H.; Yang, J.; Liu, Y.; Ma, S. Tissue regeneration effect of betulin via inhibition of ROS/MAPKs/NF- κ B axis using zebrafish model. *Biomed. Pharmacother.* **2022**, *153*, 113420. [\[Google Scholar\]](#) [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
107. Ren, C.; Jin, J.; Hu, W.; Chen, Q.; Yang, J.; Wu, Y.; Zhou, Y.; Sun, L.; Gao, W.; Zhang, X.; et al. Betulin Alleviates the Inflammatory Response in Mouse Chondrocytes and Ameliorates Osteoarthritis via AKT/Nrf2/HO-1/NF- κ B Axis. *Front. Pharmacol.* **2021**, *12*, 754038. [\[Google Scholar\]](#) [\[CrossRef\]](#)
108. Bhattacharyya, A.; Chattopadhyay, R.; Mitra, S.; Crowe, S.E. Oxidative stress: An essential factor in the pathogenesis of gastrointestinal mucosal diseases. *Physiol. Rev.* **2014**, *94*, 329–354. [\[Google Scholar\]](#) [\[CrossRef\]](#) [\[Green Version\]](#)
109. Ci, X.; Zhou, J.; Lv, H.; Yu, Q.; Peng, L.; Hua, S. Betulin exhibits anti-inflammatory activity in lps-stimulated macrophages and endotoxin-shocked mice through an ampk/akt/nrf2-dependent mechanism. *Cell Death Dis.* **2017**, *8*, e2798. [\[Google Scholar\]](#) [\[CrossRef\]](#) [\[Green Version\]](#)
110. Szuster-Ciesielska, A.; Pilipów, K.; Kandefer-Szczęsni, M. Protective effect of betulin and betulinic acid on acetaminophen and ethanol-induced cytotoxicity and reactive oxygen species production in HepG2 cells. *J. Pre-Clin. Clin. Res.* **2010**, *4*, 96–100. [\[Google Scholar\]](#)
111. Kruszniewska-Rajs, C.; Strzałka-Mrozik, B.; Kimsa-Dudek, M.; Synowiec-Wojtarowicz, A.; Chrobak, E.; Bębenek, E.; Boryczka, S.; Gluszek, S.; Gola, J.M. The Influence of Betulin and Its Derivatives EBS and ECH147 on the Antioxidant Status of Human Renal Proximal Tubule Epithelial Cells. *Int. J. Mol. Sci.* **2022**, *23*, 2524. [\[Google Scholar\]](#) [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
112. He, F.; Ru, X.; Wen, T. Nrf2, a transcription factor for stress response and beyond. *Int. J. Mol. Sci.* **2020**, *21*, 4777. [\[Google Scholar\]](#) [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
113. Keum, Y.S.; Choi, B.Y. Molecular and chemical regulation of the keap1-Nrf2 signaling pathway. *Molecules* **2014**, *19*, 10074–10089. [\[Google Scholar\]](#) [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#) [\[Green Version\]](#)
114. Tu, W.; Wang, H.; Li, S.; Liu, Q.; Sha, H. The anti-inflammatory and anti-oxidant mechanisms of the keap1/Nrf2/ARE signaling pathway in chronic diseases. *Aging Dis.* **2019**, *10*, 637–651. [\[Google Scholar\]](#) [\[CrossRef\]](#) [\[Green Version\]](#)
115. Zhang, D.D. Mechanistic studies of the Nrf2-Keap1 signaling pathway. *Drug Metab. Rev.* **2006**, *38*, 769–789. [\[Google Scholar\]](#) [\[CrossRef\]](#)
116. Lee, P.J.; Park, H.J.; Yoo, H.M.; Cho, N. Betulin Protects HT-22 Hippocampal Cells against ER Stress through Induction of Heme Oxygenase-1 and Inhibition of ROS Production. *Nat. Prod. Commun.* **2019**, *14*, 1934578X19896684. [\[Google Scholar\]](#) [\[CrossRef\]](#) [\[Green Version\]](#)
117. Arivazhagan, L.; Subramanian, S.P. Tangeretin, a citrus flavonoid attenuates oxidative stress and protects hepatocellular architecture in rats with 7, 12-dimethylbenz(a)anthracene induced experimental mammary carcinoma. *J. Funct. Foods* **2015**, *15*, 339–353. [\[Google Scholar\]](#) [\[CrossRef\]](#)
118. Zhu, Y.; Yang, Q.; Liu, H.; Song, Z.; Chen, W. Phytochemical compounds targeting on Nrf2 for chemoprevention in colorectal cancer. *Eur. J. Pharmacol.* **2020**, *887*, 173588. [\[Google Scholar\]](#) [\[CrossRef\]](#)
119. Ahmed, S.M.U.; Luo, L.; Namani, A.; Wang, X.J.; Tang, X. Nrf2 signaling pathway: Pivotal roles in inflammation. *Biochim. Biophys. Acta-Mol. Basis Dis.* **2017**, *1863*, 585–597. [\[Google Scholar\]](#) [\[CrossRef\]](#)
120. Loboda, A.; Rojczyk-Golebiowska, E.; Bednarczyk-Cwynar, B.; Zaprutko, L.; Jozkowicz, A.; Dulak, J. Targeting Nrf2-mediated gene transcription by triterpenoids and their derivatives. *Biomol. Ther.* **2012**, *20*, 499–505. [\[Google Scholar\]](#) [\[CrossRef\]](#) [\[Green Version\]](#)
121. Loboda, A.; Jazwa, A.; Grochot-Przeczek, A.; Rutkowski, A.J.; Cisowski, J.; Agarwal, A.; Jozkowicz, A.; Dulak, J. Heme oxygenase-1 and the vascular bed: From molecular mechanisms to therapeutic opportunities. *Antiox. Redox Signal.* **2008**, *10*, 1767–1812. [\[Google Scholar\]](#) [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
122. Shi, X.Z.; Lindholm, P.F.; Sarra, S.K. NF- κ B activation by oxidative stress and inflammation suppresses contractility in colonic circular smooth muscle cells. *Gastroenterology* **2003**, *124*, 1369–1380. [\[Google Scholar\]](#) [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
123. Hayden, M.S.; Ghosh, S. Signaling to NF- κ B. *Genes Dev.* **2004**, *18*, 2195–2224. [\[Google Scholar\]](#) [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#) [\[Green Version\]](#)
124. Gilmore, T.D. Introduction to NF- κ B: Players, pathways, perspectives. *Oncogene* **2006**, *25*, 6680–6684. [\[Google Scholar\]](#) [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#) [\[Green Version\]](#)
125. Mitchell, S.; Vargas, J.; Hoffmann, A. Signaling via the NFKB system. *Wiley Interdiscip. Rev. Syst. Biol. Med.* **2016**, *8*, 227–241. [\[Google Scholar\]](#) [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#) [\[Green Version\]](#)
126. Monaco, C.; Andreakos, E.; Kirakiidis, S.; Mauri, C.; Bicknell, C.; Foxwell, B.; Cheshire, N.; Paleolog, E.; Feldmann, M. Canonical pathway of nuclear factor κ B activation selectively regulates proinflammatory and prothrombotic responses in human atherosclerosis. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2004**, *101*, 5634–5639. [\[Google Scholar\]](#) [\[CrossRef\]](#)
127. Liu, T.; Zhang, L.; Joo, D.; Sun, S.C. NF- κ B signaling in inflammation. *Signal Transduct. Target. Ther.* **2017**, *2*, 17023. [\[Google Scholar\]](#) [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#) [\[Green Version\]](#)
128. Sethi, G.; Sung, B.; Aggarwal, B.B. Nuclear factor- κ B activation: From bench to bedside. *Exp. Biol. Med.* **2008**, *233*, 21–31. [\[Google Scholar\]](#) [\[CrossRef\]](#)
129. Wu, Q.; Li, H.; Qiu, J.; Feng, H. Betulin protects mice from bacterial pneumonia and acute lung injury. *Microb. Pathog.* **2014**, *75*, 21–28. [\[Google Scholar\]](#) [\[CrossRef\]](#)
130. Sharif, O.; Bolshakov, V.N.; Raines, S.; Newham, P.; Perkins, N.D. Transcriptional profiling of the LPS induced NF- κ B response in macrophages. *BMC Immunol.* **2007**, *8*, 1. [\[Google Scholar\]](#) [\[CrossRef\]](#) [\[Green Version\]](#)
131. Kawai, T.; Akira, S. Signaling to NF- κ B by Toll-like receptors. *Trends Mol. Med.* **2007**, *13*, 460–469. [\[Google Scholar\]](#) [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
132. El-Sherbiny, M.; Eisa, N.H.; Abo El-Magd, N.F.; El-Sherbiny, N.M.; Said, E.; Khodir, A.E. Anti-inflammatory/anti-apoptotic impact of betulin attenuates experimentally induced ulcerative colitis: An insight into TLR4/NF- κ B/caspase signalling modulation. *Environ. Toxicol. Pharmacol.* **2021**, *88*, 103750. [\[Google Scholar\]](#) [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
133. Zhang, S.Y.; Zhao, Q.F.; Fang, N.N.; Yu, J.G. Betulin inhibits pro-inflammatory cytokines expression through activation STAT3 signaling pathway in human cardiac cells. *Eur. Rev. Med. Pharmacol. Sci.* **2015**, *19*, 455–460. [\[Google Scholar\]](#)
134. Clark, R.B. The role of PPARs in inflammation and immunity. *J. Leukoc. Biol.* **2002**, *71*, 388–400. [\[Google Scholar\]](#) [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
135. Simonin, M.A.; Bordji, K.; Bouyalt, S.; Bianchi, A.; Gouze, E.; Bécuwe, P.; Dauça, M.; Netter, P.; Terlain, B. PPAR- γ ligands modulate effects of LPS in stimulated rat synovial fibroblasts. *Am. J. Physiol.-Cell Physiol.* **2002**, *282*, C125–C133. [\[Google Scholar\]](#) [\[CrossRef\]](#)
136. Chunhua, M.; Long, H.; Zhu, W.; Liu, Z.; Jie, R.; Wang, Y. Betulin inhibited cigarette smoke-induced COPD in mice. *Biomed. Pharmacother.* **2017**, *85*, 679–686. [\[Google Scholar\]](#) [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
137. Bellezza, I.; Mierla, A.L.; Minelli, A. Nrf2 and NF- κ B and their concerted modulation in cancer pathogenesis and progression. *Cancers* **2010**, *2*, 483–497. [\[Google Scholar\]](#) [\[CrossRef\]](#)
138. Bellezza, I.; Grottelli, S.; Gatticchi, L.; Mierla, A.L.; Minelli, A. α -Tocopheryl succinate pre-treatment attenuates quinone toxicity in prostate cancer PC3 cells. *Gene* **2014**, *539*, 1–7. [\[Google Scholar\]](#) [\[CrossRef\]](#)
139. Sandberg, M.; Patil, J.; D'Angelo, B.; Weber, S.G.; Mallard, C. NRF2-regulation in brain health and disease: Implication of cerebral inflammation. *Neuropharmacology* **2014**, *79*, 298–306. [\[Google Scholar\]](#) [\[CrossRef\]](#) [\[Green Version\]](#)
140. Liu, Q.; Liu, J.P.; Mei, J.H.; Li, S.J.; Shi, L.Q.; Lin, Z.H.; Xie, B.Y.; Sun, W.G.; Wang, Z.Y.; Yang, X.L.; et al. Betulin isolated from *Pyrola incarnata* Fisch. inhibited lipopolysaccharide (LPS)-induced neuroinflammation with the guidance of computer-aided drug design. *Bioorganic Med. Chem. Lett.* **2020**, *30*, 127193. [\[Google Scholar\]](#) [\[CrossRef\]](#)
141. Shaul, Y.D.; Seger, R. The MEK/ERK cascade: From signaling specificity to diverse functions. *Biochim. Biophys. Acta-Mol. Cell Res.* **2007**, *1773*, 1213–1226. [\[Google Scholar\]](#) [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#) [\[Green Version\]](#)
142. Raman, M.; Chen, W.; Cobb, M.H. Differential regulation and properties of MAPKs. *Oncogene* **2007**, *26*, 3100–3112. [\[Google Scholar\]](#) [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#) [\[Green Version\]](#)
143. Pimienta, G.; Pascual, J. Canonical and alternative MAPK signaling. *Cell Cycle* **2007**, *6*, 2628–2632. [\[Google Scholar\]](#) [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#) [\[Green Version\]](#)
144. Soares-Silva, M.; Diniz, F.F.; Gomes, G.N.; Bahia, D. The mitogen-activated protein kinase (MAPK) pathway: Role in immune evasion by trypanosomatids. *Front. Microbiol.* **2016**, *7*, 183. [\[Google Scholar\]](#) [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#) [\[Green Version\]](#)
145. Cuevas, B.D.; Abell, A.N.; Johnson, G.L. Role of mitogen-activated protein kinase kinase kinases in signal integration. *Oncogene* **2007**, *26*, 3159–3171. [\[Google Scholar\]](#) [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#) [\[Green Version\]](#)
146. Morrison, D.K. MAP kinase pathways. *Cold Spring Harb. Perspect. Biol.* **2012**, *4*, a11254. [\[Google Scholar\]](#) [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#) [\[Green Version\]](#)
147. Plotnikov, A.; Zehorai, E.; Procaccia, S.; Seger, R. The MAPK cascades: Signaling components, nuclear roles and mechanisms of nuclear translocation. *Biochim. Biophys. Acta-Mol. Cell Res.* **2011**, *1813*, 1619–1633. [\[Google Scholar\]](#) [\[CrossRef\]](#) [\[Green Version\]](#)
148. Yang, Z.; Zhang, Q.; Yu, L.; Zhu, J.; Cao, Y.; Gao, X. The signaling pathways and targets of traditional Chinese medicine and natural medicine in triple-negative breast cancer. *J. Ethnopharmacol.* **2021**, *264*, 113249. [\[Google Scholar\]](#) [\[CrossRef\]](#)
149. Yue, J.; López, J.M. Understanding MAPK signaling pathways in apoptosis. *Int. J. Mol. Sci.* **2020**, *21*, 2346. [\[Google Scholar\]](#) [\[CrossRef\]](#) [\[Green Version\]](#)
150. Zong, X.; Song, D.; Wang, T.; Xia, X.; Hu, W.; Han, F.; Wang, Y. LFP-20, a porcine lactoferrin peptide, ameliorates LPS-induced inflammation via the MyD88/NF- κ B and MyD88/MAPK signaling pathways. *Dev. Comp. Immunol.* **2015**, *52*, 123–131. [\[Google Scholar\]](#) [\[CrossRef\]](#)
151. O'Sullivan, A.W.; Wang, J.H.; Redmond, H.P. NF- κ B and P38 MAPK Inhibition Improve Survival in Endotoxin Shock and in a Cecal Ligation and Puncture Model of Sepsis in Combination With Antibiotic Therapy. *J. Surg. Res.* **2009**, *152*, 46–53. [\[Google Scholar\]](#) [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
152. Wang, Y.; Shan, X.; Chen, G.; Jiang, L.; Wang, Z.; Fang, Q.; Liu, X.; Wang, J.; Zhang, Y.; Wu, W.; et al. MD-2 as the target of a novel small molecule, L6H21, in the attenuation of LPS-induced inflammatory response and sepsis. *Br. J. Pharmacol.* **2015**, *172*, 4391–4405. [\[Google Scholar\]](#) [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#) [\[Green Version\]](#)
153. Mizerska-Kowalska, M.; Ślawińska-Brych, A.; Kalawaj, K.; Zurek, A.; Pawinska, B.; Rzeski, W.; Dzidzińska, B. Betulin promotes differentiation of human osteoblasts *in vitro* and exerts an osteoinductive effect on the HO1-19 cell line through activation of JNK, ERK1/2, and mTOR kinases. *Molecules* **2019**, *24*, 2637. [\[Google Scholar\]](#) [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#) [\[Green Version\]](#)
154. Kim, K.J.; Lee, Y.; Hwang, H.G.; Sung, S.H.; Lee, M.; Son, Y.J. Betulin suppresses osteoclast formation via down-regulating NFATc1. *J. Clin. Med.* **2018**, *7*, 154. [\[Google Scholar\]](#) [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#) [\[Green Version\]](#)
155. Su, C.H.; Lin, C.Y.; Tsai, C.H.; Lee, H.P.; Lo, L.C.; Huang, W.C.; Wu, Y.C.; Hsieh, C.L.; Tang, C.H. Betulin suppresses TNF- α and IL-1 β production in osteoarthritis synovial fibroblasts by inhibiting the MEK/ERK/NF- κ B pathway. *J. Funct. Foods* **2021**, *86*, 104729. [\[Google Scholar\]](#) [\[CrossRef\]](#)
156. Johnson, G.L.; Lapatat, R. Mitogen-activated protein kinase pathways mediated by ERK, JNK, and p38 protein kinases. *Science* **2002**, *298*, 1911–1912. [\[Google Scholar\]](#) [\[CrossRef\]](#) [\[Green Version\]](#)
157. Cicenas, J.; Zalyte, E.; Rimkus, A.; Dapkus, D.; Noreika, R.; Urbanavicius, S. JNK, p38, ERK, and SGK1 inhibitors in cancer. *Cancers* **2018**, *10*, 1. [\[Google Scholar\]](#) [\[CrossRef\]](#) [\[Green Version\]](#)
158. Martin, D.E.; Salzwedel, K.; Allaway, G.P. Bevirimant: A Novel Maturation Inhibitor for the Treatment of HIV-1 Infection. *Antivir. Chem. Chemother.* **2008**, *19*, 107–113. [\[Google Scholar\]](#) [\[CrossRef\]](#)
159. Părvănescu, R.D.; Watz, C.G.; Moacă, E.A.; Vlaia, L.; Marcovici, I.; Macăsoi, I.G.; Borcan, F.; Olariu, I.; Coneac, G.; Drăghici, G.A.; et al. Oleogel formulations for the topical delivery of betulin and lupeol in skin injuries—Preparation, physicochemical characterization, and pharma-toxicological evaluation. *Molecules* **2021**, *26*, 4174. [\[Google Scholar\]](#) [\[CrossRef\]](#)
160. Schwieger-Briel, A.; Kiritsi, D.; Schempf, C.; Has, C.; Schumann, H. Betulin-based oleogel to improve wound healing in dystrophic epidermolysis bullosa: A prospective controlled proof-of-concept study. *Dermatol. Res. Pract.* **2017**, *2017*, 5068969. [\[Google Scholar\]](#) [\[CrossRef\]](#) [\[Green Version\]](#)
161. Shikov, A.N.; Djachuk, G.I.; Sergeev, D.V.; Pozharitskaya, O.N. Birch bark extract as therapy for chronic hepatitis C—A pilot study. *Phytomedicine* **2011**, *18*, 807–810. [\[Google Scholar\]](#) [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
162. Huyke, C.; Laszczyk, M.; Scheffler, A.; Ernst, R.; Schempf, C.M. Treatment of actinic keratoses with birch bark extract: A pilot study. *JDDG-J. Ger. Soc. Dermatol.* **2006**, *4*, 132–136. [\[Google Scholar\]](#) [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
163. Huyke, C.; Reuter, J.; Rödig, M.; Kersten, A.; Laszczyk, M.; Scheffler, A.; Nashan, D.; Schempf, C. Treatment of actinic keratoses with a novel betulin-based oleogel. A prospective, randomized, comparative pilot study. *JDDG-J. Ger. Soc. Dermatol.* **2009**, *7*, 128–133. [\[Google Scholar\]](#) [\[CrossRef\]](#)
164. Kern, J.S.; Schwieger-Briel, A.; Löwe, S.; Sumaray, M.; Davis, C.; Martinez, A.E. Oleogel-S10 Phase 3 study “EASE” for epidermolysis bullosa: Study design and rationale. *Trials* **2019**, *20*, 350. [\[Google Scholar\]](#) [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#) [\[Green Version\]](#)
165. Martinez, A.; Murrell, D.F.; Bruckner, A.L.; Kern, J.; Maher, L.; Cunningham, T. BG01: Safety and efficacy of oleogel-S10 (birch triterpenes) for epidermolysis bullosa: Results of a 12-month interim analysis of the open-label phase from the EASE study. *Br. J. Dermatol.* **2022**, *187*, 89. [\[Google Scholar\]](#) [\[CrossRef\]](#)

166. Metelmann, H.-R.; Brandner, J.M.; Schumann, H.; Bross, F.; Fimmers, R.; Böttger, K.; Scheffler, A.; Podmelle, F. Accelerated reepithelialization by triterpenes: Proof of concept in the healing of surgical skin lesions. *Ski. Pharmacol. Physiol.* **2015**, *28*, 1–11. [[Google Scholar](#)] [[CrossRef](#)]
167. Frew, Q.; Rennekampff, H.O.; Dziewulski, P.; Moiemen, N.; Zahn, T.; Hartmann, B. Betulin wound gel accelerated healing of superficial partial thickness burns: Results of a randomized, intra-individually controlled, phase III trial at 12-months follow-up. *Burns* **2019**, *45*, 876–890. [[Google Scholar](#)] [[CrossRef](#)]
168. Mao, D.B.; Feng, Y.Q.; Bai, Y.H.; Xu, C.P. Novel biotransformation of betulin to produce betulone by *Rhodotorula mucilaginosa*. *J. Taiwan Inst. Chem. Eng.* **2012**, *43*, 825–829. [[Google Scholar](#)] [[CrossRef](#)]
169. Singh, R. Microbial Biotransformation: A Process for Chemical Alterations. *J. Bacteriol. Mycol. Open Access* **2017**, *4*, 47–51. [[Google Scholar](#)] [[CrossRef](#)] [[Green Version](#)]
170. Chrobak, E.; Bebenek, E.; Kadela-Tomanek, M.; Latocha, M.; Jelsch, C.; Wenger, E.; Boryczka, S. Betulin phosphonates; synthesis, structure, and cytotoxic activity. *Molecules* **2016**, *21*, 1123. [[Google Scholar](#)] [[CrossRef](#)] [[Green Version](#)]
171. Król, S.K.; Bebenek, E.; Śląwińska-Brych, A.; Dmoszyńska-Graniczka, M.; Boryczka, S.; Stepulak, A. Synthetic betulin derivatives inhibit growth of glioma cells in vitro. *Anticancer Res.* **2020**, *40*, 6151–6158. [[Google Scholar](#)] [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
172. Boryczka, S.; Bebenek, E.; Wietrzyk, J.; Kempinska, K.; Jastrzebska, M.; Kusz, J.; Nowak, M. Synthesis, structure and cytotoxic activity of new acetylenic derivatives of betulin. *Molecules* **2013**, *18*, 4526–4543. [[Google Scholar](#)] [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)] [[Green Version](#)]
173. Yamansarov, E.Y.; Skvortsov, D.A.; Lopukhov, A.V.; Kovalev, S.V.; Evteev, S.A.; Petrov, R.A.; Klyachko, N.L.; Zytk, N.V.; Beloglazkina, E.K.; Ivanenkov, Y.A.; et al. New ASGPR-targeted ligands based on glycoconjugated natural triterpenoids. *Russ. Chem. Bull.* **2019**, *68*, 2331–2338. [[Google Scholar](#)] [[CrossRef](#)]
174. Shcherban, N.D.; Mäki-Arvela, P.; Aho, A.; Sergienko, S.A.; Skoryk, M.A.; Kolobova, E.; Simakova, I.I.; Eränen, K.; Smeds, A.; Hemming, J.; et al. Preparation of Betulone Via Betulin Oxidation Over Ru Nanoparticles Deposited on Graphitic Carbon Nitride. *Catal. Lett.* **2019**, *3*, 723–732. [[Google Scholar](#)] [[CrossRef](#)] [[Green Version](#)]
175. Kumar, D.; Dubey, K.K. An efficient process for the transformation of betulin to betulinic acid by a strain of *Bacillus megaterium*. *3 Biotech* **2017**, *7*, 157. [[Google Scholar](#)] [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)] [[Green Version](#)]
176. Grishko, V.V.; Tarasova, E.V.; Ivshina, I.B. Biotransformation of betulin to betulone by growing and resting cells of the actinobacterium *Rhodococcus rhodochrous* IEGM 66. *Process Biochem.* **2013**, *48*, 1640–1644. [[Google Scholar](#)] [[CrossRef](#)]
177. Feng, Y.; Li, M.; Liu, J.; Xu, T.Y.; Fang, R.S.; Chen, Q.H.; He, G.Q. A novel one-step microbial transformation of betulin to betulinic acid catalysed by *Cunninghamella blakesleeana*. *Food Chem.* **2013**, *136*, 73–79. [[Google Scholar](#)] [[CrossRef](#)]
178. Liu, H.; Lei, X.L.; Li, N.; Zong, M.H. Highly regioselective synthesis of betulone from betulin by growing cultures of marine fungus *Dothideomycete* sp. HQ 316564. *J. Mol. Catal. B Enzym.* **2013**, *88*, 32–35. [[Google Scholar](#)] [[CrossRef](#)]
179. Li, J.; Jiang, B.; Chen, C.; Fan, B.; Huang, H.; Chen, G. Biotransformation of betulin by *Mucor subtilissimus* to discover anti-inflammatory derivatives. *Phytochemistry* **2019**, *166*, 112076. [[Google Scholar](#)] [[CrossRef](#)]
180. Chen, Q.H.; Liu, J.; Zhang, H.F.; He, G.Q.; Fu, M.L. The betulinic acid production from betulin through biotransformation by fungi. *Enzym. Microb. Technol.* **2009**, *45*, 175–180. [[Google Scholar](#)] [[CrossRef](#)]
181. Hu, Z.; Wang, Z.; Luo, S.; James, M.O.; Wang, Y. Phase II metabolism of betulin by rat and human UDP-glucuronosyltransferases and sulfotransferases. *Chem. Biol. Interact.* **2019**, *302*, 190–195. [[Google Scholar](#)] [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
182. Zhang, W.; Jiang, H.; Yang, J.; Jin, M.; Du, Y.; Sun, Q.; Cao, L.; Xu, H. Safety assessment and antioxidant evaluation of betulin by LC-MS combined with free radical assays. *Anal. Biochem.* **2019**, *587*, 113460. [[Google Scholar](#)] [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
183. Zhang, W.; Jiang, H.; Jin, M.; Wang, Q.; Sun, Q.; Du, Y.; Cao, L.; Xu, H. UHPLC-Q-TOF-MS/MS based screening and identification of the metabolites *in vivo* after oral administration of betulin. *Fitoterapia* **2018**, *127*, 29–41. [[Google Scholar](#)] [[CrossRef](#)]
184. Hu, Z.; Guo, N.; Wang, Z.; Liu, Y.; Wang, Y.; Ding, W.; Zhang, D.; Wang, Y.; Yan, X. Development and validation of an LC-ESI/MS/MS method with precolumn derivatization for the determination of betulin in rat plasma. *J. Chromatogr. B Anal. Technol. Biomed. Life Sci.* **2013**, *939*, 38–44. [[Google Scholar](#)] [[CrossRef](#)]
185. Jäger, S.; Laszczyk, M.; Scheffler, A. A Preliminary Pharmacokinetic Study of Betulin, the Main Pentacyclic Triterpene from Extract of Outer Bark of Birch (*Betulae alba cortex*). *Molecules* **2008**, *13*, 3224–3235. [[Google Scholar](#)] [[CrossRef](#)] [[Green Version](#)]
186. Pozharitskaya, O.N.; Karlina, M.V.; Shikov, A.N.; Kosman, V.M.; Makarov, V.G.; Casals, E.; Rosenholm, J.M. Pharmacokinetics and Tissue Disposition of Nanosystem-Entrapped Betulin After Endotracheal Administration to Rats. *Eur. J. Drug Metab. Pharmacokinet.* **2017**, *42*, 327–332. [[Google Scholar](#)] [[CrossRef](#)]
187. Alhadrami, H.A.; Sayed, A.M.; Sharif, A.M.; Azhar, E.I.; Rateb, M.E. Olive-derived triterpenes suppress SARS-CoV-2 main protease: A promising scaffold for future therapeutics. *Molecules* **2021**, *26*, 2654. [[Google Scholar](#)] [[CrossRef](#)]
188. Sharapov, A.D.; Fatykhov, R.F.; Khalymbadzha, I.A.; Zyryanov, G.V.; Chupakhin, O.N.; Tsurkan, M.V. Plant Coumarins with Anti-HIV Activity: Isolation and Mechanisms of Action. *Int. J. Mol. Sci.* **2023**, *24*, 2839. [[Google Scholar](#)] [[CrossRef](#)]
189. Pokharkar, O.; Lakshmanan, H.; Zyryanov, G.; Tsurkan, M. *In Silico* Evaluation of Antifungal Compounds from Marine Sponges against COVID-19-Associated Mucormycosis. *Mar. Drugs* **2022**, *20*, 215. [[Google Scholar](#)] [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]