

Received: 2009.12.03  
Accepted: 2010.02.25  
Published: 2010.03.16

## Molekularne mechanizmy działania partenolidu – stary lek z nową twarzą\*

### Molecular mechanisms of parthenolide's action: Old drug with a new face

Kamila Koprowska, Małgorzata Czyż

Zakład Biologii Molekularnej Nowotworów, Wydział Lekarski Uniwersytetu Medycznego w Łodzi

#### Streszczenie

Partenolid, seskwiterpenowy lakton występujący w liściach złocienia (wrotycza) maruna (*Tanacetum parthenium*), uważany jest za główny składnik decydujący o aktywności biologicznej ekstraktów z tej byliny. Napary ze złocienia lub preparaty doustne zawierające partenolid są stosowane w zapobieganiu bólom migrenowym i reumatycznym, w gorączce i dolegliwościach żołądkowo-jelitowych. Oprócz właściwości przeciwzapalnych i przeciwmigrenowych partenolid wykazuje aktywność przeciwnowotworową w wielu liniach komórkowych. Związek ten zawiera pierścień  $\alpha$ -metyleno- $\gamma$ -laktonowy, który może się wiązać z miejscami nukleofilowymi biologicznie ważnych cząsteczek. Partenolid oddziałuje z wieloma białkami różnych szlaków sygnałowych, czego wynikiem są rozmaite efekty *in vitro* i *in vivo*. Najlepiej poznany mechanizm partenolidu jest hamowanie aktywności czynnika transkrypcyjnego NF- $\kappa$ B, konstytutywnie aktywnego działania w wielu typach nowotworów. Hamowanie aktywności czynników transkrypcyjnych NF- $\kappa$ B i STAT, kinaz MAP, indukcja trwałej aktywacji JNK oraz aktywności p53 przez wpływ na poziom MDM2 i HDAC1, uwrażliwia komórki nowotworowe na chemo- i radioterapię. Na poziomie epigenetycznym, poza obniżaniem poziomu HDAC1, partenolid hamując DNMT2 indukuje hipometylację DNA, co prowadzi do ekspresji wyciszonych genów. Ponadto partenolid redukuje podwyższony poziom glutationu, co skutkuje akumulacją reaktywnych form tlenu oraz apoptozą komórek nowotworowych. Interesującą właściwością partenolidu jest jego zdolność do indukcji apoptozy w komórkach nowotworowych, bez wpływu na komórki prawidłowe. Co więcej, partenolid chroni komórki prawidłowe przed działaniem promieniowania UVB oraz stresem oksydacyjnym. Partenolid prawdopodobnie jest lekiem, którego celem mogą być komórki macierzyste niektórych nowotworów. Partenolid, charakteryzujący się wielokierunkowym działaniem oraz małą toksycznością wobec komórek prawidłowych, jest bardzo obiecującym związkiem o potencjale terapeutycznym w dużym stopniu zależnym od kontekstu komórkowego.

#### Słowa kluczowe:

partenolid • NF- $\kappa$ B • STAT • p53 • DNMT2 • HDAC1 • reaktywne formy tlenu • GSH  
• aktywność przeciwnowotworowa • aktywność przeciwmiażdżycowa • aktywność przeciwzapalna

#### Summary

Parthenolide, a sesquiterpene lactone derived from the leaves of feverfew (*Tanacetum parthenium*), is considered a main bioactive component of this herb. Feverfew has been used orally or as an infusion for the treatment of migraine, arthritis, fever, and stomachache. Besides its anti-inflammatory

\* Artykuł opracowano w ramach projektu nr N N401 020235 finansowanego przez Ministerstwo Nauki i Szkolnictwa Wyższego.

and anti-migraine properties, parthenolide also shows anticancer activities in a variety of cell lines. It contains an  $\alpha$ -methylene- $\gamma$ -lactone ring and an epoxide moiety which are able to interact with nucleophilic sites of biologically important molecules. Parthenolide modulates multiple targets, thereby contributing to its various *in vitro* and *in vivo* effects. Inhibition of NF- $\kappa$ B activity, constitutive in many types of cancers, via either interaction with IKK or more directly with the p65 subunit of NF- $\kappa$ B, is considered one of the main mechanisms of its action. In addition, inhibition of STAT and MAP kinase activities and the induction of sustained JNK activity as well as p53 activity via influencing MDM2 and HDAC1 levels lead to an increased susceptibility of cancer cells to chemo- and radiotherapy. At the epigenetic level, parthenolide reduces HDAC1 level and, by inhibiting DNMT2 activity, induces global hypomethylation of DNA, which can restore the expressions of some suppressor genes. Moreover, this compound reduces the cellular level of GSH in cancer cells, followed by ROS accumulation and apoptosis. A unique property of parthenolide is its ability to induce cell death mainly in cancer cells, while sparing healthy ones and it also protects normal cells from UVB and oxidative stress. More remarkably, it seems to have the potential to target some cancer stem cells. Its wide array of biological activity and low toxicity make parthenolide a very promising drug with multi-pharmacological potential, largely dependent on the cellular context.

**Key words:** parthenolid; NF- $\kappa$ B • STAT • p53 • DNMT2 • HDAC1 • reactive oxygen species • GSH • anti-cancer activity • anti-arteriosclerotic activity • anti-inflammatory activity

**Full-text PDF:** <http://www.phmd.pl/fulltxt.php?ICID=906932>

**Word count:** 6168

**Tables:** –

**Figures:** 5

**References:** 132

**Adres autorki:** prof. dr hab. Małgorzata Czyż, Zakład Biologii Molekularnej Nowotworów, Uniwersytet Medyczny w Łodzi, ul. Mazowiecka 6/8; 92-215 Łódź; e-mail: malgorzata.czyz@umed.lodz.pl

**Wykaz skrótów:** **Akt** – kinaza serynowo-treoninowa (PKB, protein kinase B); **AML** – ostra białaczka szpikowa (acute myeloid leukaemia); **AP-1** – czynnik transkrypcyjny (activating protein 1); **ARE** – element odpowiedzi antyoksydacyjnej (antioxidant response element); **ATM** – kinaza serynowo-treoninowa (ataxia telangiectasia mutated); **Bax** – proapoptotyczne białko z rodziny Bcl-2; **Bcl-2** – rodzina białek pro- i antyapoptotycznych (B-cell leukemia-2); **COX-2** – cyklooksigenaza 2 (cyclooxygenase 2); **DNMT** – metylotransferaza DNA (methyltransferase DNA); **EMSA** – test spowalniania w żelu poliakrylamidowym (electrophoretic mobility shift assay); **ER** – siateczka endoplazmatyczna; **Fos (c-Fos, FosB, Fra1, Fra2)** – podjednostki czynnika transkrypcyjnego AP-1; **GADD (GADD153, GADD45 $\alpha$ , GADD45 $\beta$ )** – grupa białek naprawczych (growth arrest and DNA damage-inducible); **GRP78** – białko szoku cieplnego (glucose regulated protein 78); **GSH** – zredukowany glutation; **HDAC** – deacetylaza histonowa (histone deacetylase); **HIN-1** – białko supresorowe (high in normal-1); **IKK (IKK $\alpha$ , IKK $\beta$ )** – kompleks kinaz białkowych I $\kappa$ B (I $\kappa$ B kinase complex); **IL** – interleukina; **I $\kappa$ B (I $\kappa$ B $\alpha$ , I $\kappa$ B $\beta$ )** – inhibitor czynnika transkrypcyjnego NF- $\kappa$ B (inhibitor of NF- $\kappa$ B); **JAK (JAK1, JAK2)** – rodzina kinaz tyrozynowych Janus (Janus kinases); **JNK** – kinaza białka c-Jun (c-Jun N-terminal kinase); **Keap1** – białko sensorowe (kelch-like ECH-associated protein 1); **LPS** – lipopolisacharyd (lipopolysaccharide); **MAPK** – kinazy aktywowane mitogenami (mitogen-activated protein kinases); **MDM2** – onkoproteina (murine double minute 2); **NF- $\kappa$ B** – czynnik jądrowy  $\kappa$ B (nuclear factor  $\kappa$ B); **NOX** – oksydaza NADPH; **Nrf2** – jądrowy czynnik 2 (nuclear erythroid 2 p45-related factor 2); **p21 (CDKN1A)** – białko (cyclin-dependent kinase inhibitor 1A); **p38** – kinaza białkowa aktywowana przez mitogeny; **p53** – białko o masie cząsteczkowej 53 kDa, supresor nowotworów; **PI3K** – kinaza fosfatydyloinozytolu (phosphoinositide 3-kinase); **PMA** – ester forbolu (phorbol 12-myristate 13-acetate); **RFT** – reaktywne formy tlenu; **SAM** – S-adenozylometionina; **STAT** – czynniki transkrypcyjne, transduktory sygnału i aktywacji (signal transducers and activators of transcription); **TCP** – karboksypeptydaza tubuliny (tubulin carboxypeptidase); **TTL** – ligaza tyrozynowa tubuliny (tubulin-tyrosine ligase); **TNF- $\alpha$**  – czynnik martwicy nowotworu  $\alpha$  (tumour necrosis factor- $\alpha$ ); **TNFR** – rodzina receptorów TNF- $\alpha$  (tumour necrosis factor receptors); **TRAF** – czynniki związane z receptorem TNF (TNF receptor-associated

factors); **uPa** – aktywator plazminogenu typu urokinazy (urokinase-type plasminogen activator); **VEGF** – czynnik wzrostu śródbłonna naczyń (vascular endothelial growth factor); **XIAP** – inhibitor apoptozy (X-linked inhibitor of apoptosis protein);  **$\gamma$ -GCS** – syntetaza  $\gamma$ -glutamyl-cysteiny ( $\gamma$ -glutamylcysteine synthetase).

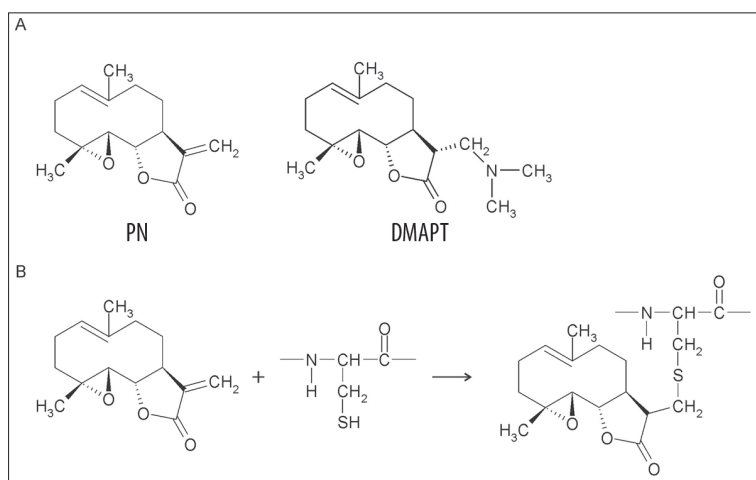
## WSTĘP

Według Światowej Organizacji Zdrowia (WHO) około 80% populacji ludzkiej stosuje leki pochodzenia roślinnego. Ziołolecznictwo jest tak stare jak nasza cywilizacja, a złocien maruna (*Tanacetum parthenium* znany także jako *Chrysanthemum parthenium*, *Leucanthemum parthenium*, *Matricaria parthenium*, lub *Pyrethrum parthenium*; ang. feverfew), należący do rodziny *Asteraceae*, jest tego najlepszym przykładem. Roślina ta rosnąca w Europie, Ameryce Północnej i Południowej, Azji (Chiny, Japonia), Australii i północnej Afryce, jest byliną silnie aromatyczną o charakterystycznym, korzennym zapachu i kwiatostanie przypominającym kwiatostan rumianka pospolitego. Pierwszy źródłowy opis zastosowań leczniczych złocienia na kontynencie europejskim znajdujemy w opracowaniu „O materii lekarskiej” („De materia medica”; ok. 50 r.n.e.) autorstwa Dioskuridesa, greckiego lekarza pozostającego na służbie u cesarza rzymskich. Podobno nazwa rośliny wywodzi się z greckiej historii o robotniku, który uległ wypadkowi, pracując przy budowie Partenonu i został wyleczony dzięki zastosowaniu rośliny, która w ten sposób otrzymała nazwę uwzględnioną po latach w drugim członie nomenklatury binominalnej *T. parthenium*. Inna historia wskazuje na pochodzenie nazwy rośliny od jej stosowania w zapobieganiu bólowi miesięczkowemu u dziewczyc (gr. *parthenos*) [30]. W medycynie ludowej, napary ze świeżych lub suszonych liści złocienia stosowane są nie tylko przeciw bólowi menstruacyjnym, ale także jako środek przeciwgorączkowy oraz w chorobach reumatycznych i migrenie [48]. W XVIII wieku podawanie wyciągu z tej rośliny było zalecaną metodą leczenia bólu głowy. Obecnie w ziołolecznictwie szczególnie rozpowszechnionym w Wielkiej Brytanii, Francji i Kanadzie, preparaty powstałe na bazie *Tanacetum parthenium* stosuje się jako środek przeciwbólowy (ból migrenowy, artretyczne, reumatyczne, zębów oraz dolegliwości żołądkowo-jelitowe) i przeciwgorączkowy oraz w regulacji cyklu miesięczkowego, a także w łagodzeniu

skutków ukąszeń przez owady [3,82,110]. W latach pięćdziesiątych ub.w. w Stanach Zjednoczonych preparaty otrzymane z *Tanacetum parthenium* należały do najlepiej sprzedających się farmaceutyków pochodzenia roślinnego. Przeprowadzono badania kliniczne, które miały na celu określenie toksyczności i skuteczności związków zawartych w preparatach przygotowanych na bazie *Tanacetum parthenium* [38,72,81]. Partenolid jest uważany za najbardziej bioaktywny składnik naziemnych części rośliny. Badania I fazy wykazały, że partenolid stosowany w dawce 4 mg dziennie nie daje żadnych objawów toksyczności [12]. Partenolid (ryc. 1A),  $C_{15}H_{20}O_3$ , (CAS nr 20554-84-1), jest nienasyconym laktonem seskwiterpenowym, należącym do klasy germakranolidów. Partenolid nie zawiera grup polarnych, co umożliwia jego wyodrębnienie z materiału roślinnego przez ekstrakcję rozpuszczalnikami niepolarnymi, takimi jak chloroform, aceton, octan etylu lub ekstrakcję dwutlenkiem węgla w stanie nadkrytycznym.

W lecznictwie partenolid nie jest stosowany w czystej postaci. Zawartość partenolidu w preparatach leczniczych (Herbat Headache Relief, Partenelle<sup>TM</sup>, Tanacet, Presselin Stoffwechselltee<sup>TM</sup>) przygotowywanych z *Tanacetum parthenium* jest bardzo różna. W Wielkiej Brytanii i Kanadzie, preparaty takie muszą zawierać przynajmniej 0,2% partenolidu, natomiast we Francji dopuszczana jest zawartość 0,1%. Stosowanie ekstraktów alkoholowych nie jest rekomendowane ze względu na potencjalną utratę aktywności biologicznej. Partenolid wyekstrahowany ze złocienia, przygotowany w stanie stałym lub w roztworze, jest stabilny w szerokim zakresie temperatury i pH, oraz w obecności wielu innych związków [37].

Rośnie zainteresowanie stosowaniem w medycynie naturalnych związków pochodzenia roślinnego. Nowoczesne technologie, takie jak HPLC i GC pozwalają na wydajne oczyszczanie i szybką analizę bioaktywnych składników ekstraktów roślinnych. Badane są nowe obszary



Ryc. 1. A – Wzory chemiczne partenolidu (PN) i dimetyloaminopartenolidu (DMAPT); B – Reakcja Michaela egzocyklicznej grupy metylenowej ( $\alpha$ -metyleno- $\gamma$ -laktonowej) partenolidu z grupą tiolową reszty L-cysteiny w łańcuchu białkowym

medycznych aplikacji pozyskiwanych związków oraz molekularne mechanizmy ich działania. Partenolid jest przykładem związku pozyskanego z rośliny, która od wieków stosowana jest w lecznictwie. W pracy przedstawiono krótki przegląd najnowszej literatury opisującej molekularne mechanizmy działania tego związku ze szczególnym naciskiem na udział partenolidu w indukcji stresu oksydacyjnego i oddziaływanie ze szlakami aktywującymi czynniki transkrypcyjne.

#### **AKTYWNOŚĆ PARTENOLIDU W UKŁADACH BIOLOGICZNYCH**

Uważa się, że za aktywność biologiczną seskwiterpenowych laktonów, w tym partenolidu, odpowiada egzocykliczna grupa metylenowa (alfa-metyleno-gamma-laktonowa), która wchodzi w reakcję Michaela (ryc. 1B) z biologicznie ważnymi nukleofilami np. L-cysteiną w białkach i glutationie oraz z innymi cząsteczkami zawierającymi grupę tiolową [27,91,127]. Powstają addukty kowalencyjne, które mogą powodować utratę aktywności cząsteczek związanych przez partenolid. Duże znaczenie zdaje się mieć również grupa epoksydowa, chociaż jej dokładna rola nie jest poznana. Stwierdzono, że pochodne partenolidu i inne seskwiterpenowe laktony pozbawione tej grupy wykazują niższą aktywność biologiczną [17]. Badania aktywności partenolidu prowadzono w różnych organizmach i w różnych stanach chorobowych. Badano aktywność tego związku na poziomie komórkowym i molekularnym. W ostatnich latach ukazało się kilka artykułów przeglądowych na temat biologicznej aktywności partenolidu [6,78,127]. Mimo obszernej literatury na temat działania partenolidu, ciągle trudno jednoznacznie łączyć molekularne mechanizmy działania tego związku z jego efektami na poziomie komórki w konkretnych stanach patofizjologicznych.

Prace na temat molekularnych mechanizmów działania partenolidu oraz możliwości stosowania tego leku w stanach chorobowych dotyczą migreny [103], rozwoju stanów zapalnych [18,51,57,89,94,120], odpowiedzi alergicznej [65,71], a ostatnio również chorób nowotworowych [1,8,14,22,23,24,43,45,47,54,62,68,74,79,85,86,96,98,99,113,114,115,121,123,125,126,128,129,132]. Są również doniesienia na temat przeciwniażdżycowych i kardioprotekcyjnych właściwości partenolidu [21,50,66,131], a także możliwości stosowania tego leku w prewencji np. w zapobieganiu starzeniu się skóry [101], czy też powstawaniu katarakty [119]. Partenolid wykazuje również aktywność przeciwbakteryjną [120], przeciwwirusową [32,76], a także może się okazać alternatywnym sposobem leczenia chorób wywołanych przez pierwotniaki [35,106].

Pierwsze prace na temat aktywności przeciwnowotworowej partenolidu pochodzą z lat siedemdziesiątych i osiemdziesiątych ub.w., w tym z polskiego ośrodka [116,117]. Od tego czasu ukazało się wiele artykułów na temat mechanizmów działania partenolidu w komórkach nowotworowych. Analizując te wyniki, należy wymienić: indukcję apoptozy [1,14,22,23,24,45,47,54,62,74,85,86,96,99,100,113,115,121,125,126,132], zatrzymanie cyklu komórkowego w fazie G2/M [84,115] lub G0/G1 [45,86], różnicowanie [41] oraz zmniejszenie inwazyjności [47] i migracji [33].

Niezwykle interesujące są wyniki badań wskazujące na wrażliwość macierzystych komórek nowotworowych na

działanie partenolidu [24,43,63,128]. Partenolid wydaje się jedynym niskocząsteczkowym związkiem toksycznym dla nowotworowych komórek macierzystych.

Szeroki zakres działania partenolidu wynika ze zdolności tego związku do wiązania białek, które wykazują wzmożoną aktywność w wielu różnych stanach patofizjologicznych. Do najlepiej poznanych należy wpływ partenolidu na białka szlaku sygnałowego IKK/NF- $\kappa$ B, czynniki transkrypcyjne STAT, a także białko MDM2 (murine double minute 2) regulujące aktywność p53, oraz na deacetylazę histonów 1 (HDAC1) i metylotransferazę DNA 1 (DNMT1), uczestniczące w regulacji epigenetycznej. Wiązanie partenolidu, zwykle powodujące obniżenie aktywności tych białek, wywołuje więc plejotropowe efekty komórkowe będące konsekwencją zmian w ekspresji wielu genów.

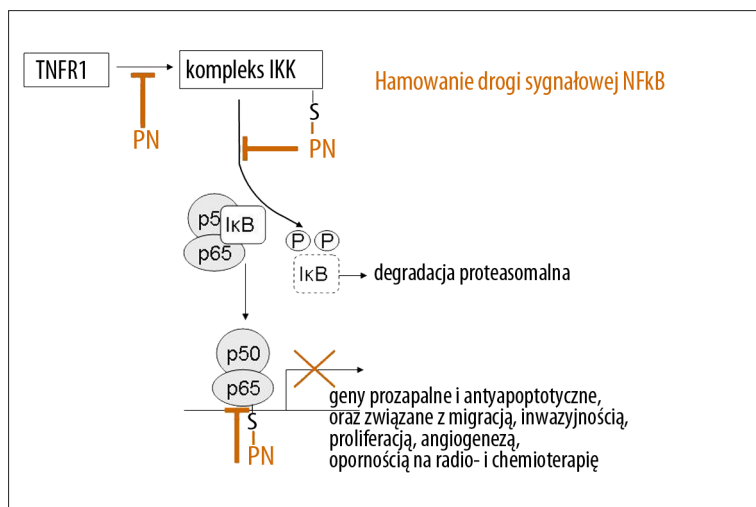
#### **PARTENOLID JAKO MODULATOR AKTYWNOŚCI CZYNNIKÓW TRANSKRYPCYJNYCH I EKSPRESJI GENÓW**

##### **Hamowanie aktywności czynnika transkrypcyjnego NF- $\kappa$ B**

NF- $\kappa$ B reguluje wiele procesów fizjologicznych, w tym odpowiedź immunologiczną, procesy zapalne, angiogenezę, a na poziomie komórkowym proliferację i apoptozę. Natomiast w stanach patofizjologicznych np. w wielu chorobach nowotworowych lub przewlekłych zapaleniach obserwuje się konstytutywną aktywność NF- $\kappa$ B, głównie heterodimeru p50/p65. Z tych powodów drogi sygnałowe prowadzące do aktywacji NF- $\kappa$ B stanowią przedmiot badań ukierunkowanych na potencjalną interwencję farmakologiczną [44]. Dotąd poznano ponad 750 inhibitorów NF- $\kappa$ B, z czego bardzo wiele należy do związków naturalnych [20]. Inhibitory NF- $\kappa$ B oddziałują z różnymi elementami szlaku kinaza inhibitora I $\kappa$ B (IKK)/czynnik transkrypcyjny NF- $\kappa$ B. Szlak ten rozpoczyna się od fosforylacji inhibitora NF- $\kappa$ B o nazwie I $\kappa$ B z udziałem IKK. Ufosforylowany inhibitor dysocjuje z kompleksu I $\kappa$ B/NF- $\kappa$ B, co skutkuje uaktywnieniem czynnika transkrypcyjnego NF- $\kappa$ B, czemu towarzyszą modyfikacje kowalencyjne, translokacja do jądra komórkowego i aktywacja ekspresji wielu genów. Stąd zahamowanie aktywności IKK oznacza brak degradacji białka I $\kappa$ B i w konsekwencji zmniejszenie puli aktywnych białek NF- $\kappa$ B.

Hamowanie drogi sygnałowej IKK/NF- $\kappa$ B jest istotnym mechanizmem odpowiedzialnym za przeciwzapalne właściwości partenolidu. Wykazano, że interakcja partenolidu -IKK $\beta$  jest odpowiedzialna za aktywność przeciwzapalną partenolidu *in vitro* i *in vivo* [51]. W makrofagach stymulowanych lipopolisacharydami (LPS), partenolid hamował ekspresję cyklooksygenazy 2 (COX-2), cytokin prozapalnych: czynnika martwicy nowotworu  $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ), interleukiny 1 (IL-1) [31] oraz interleukiny 12 (IL-12) [40]. Partenolid przez obniżenie aktywności NF- $\kappa$ B, hamował także osteolizę wywołowaną przewlekłą infekcją bakteriami Gram-ujemnymi, zarówno *in vitro* jak i *in vivo* [120]. Ponadto wykazano, że partenolid, blokując szlak NF- $\kappa$ B, chronił szczury przed szokiem septycznym wywołanym endotoksynami *Escherichia coli* [94]. Związek ten hamował również rozwój odpowiedzi zapalnej w płucach w mysim modelu mukowiscydozy oraz w liniach komórkowych z tym fenotypem, czemu towarzyszyło obniżenie aktywacji





Ryc. 2. Hamowanie aktywności NF-κB. Prawdopodobnie utworzenie wiązania kowalencyjnego między  $\alpha$ -metyleno- $\gamma$ -laktonową resztą partenolidu i cysteinami białek IKK i podjednostki p65 białka NF-κB jest odpowiedzialne za hamowanie aktywacji NF-κB i hamowanie wiązania czynnika NF-κB z DNA w regionach promotorowych wielu genów. Partenolid może również blokować interakcję kompleksu IKK $\alpha$  i IKK $\beta$  z receptorem TNF- $\alpha$  (TNFR1). W wyniku hamowania drogi sygnałowej IKK/NF-κB obniżaniu ulega ekspresja genów prozapalnych, antyapoptotycznych, genów związanych z migracją, inwazyjnością, proliferacją, angiogenezą, a więc genów szczególnie ważnych w rozwoju nowotworów i procesów zapalnych. Hamowanie aktywności NF-κB przez partenolid może również ograniczać oporność komórek nowotworowych na chemio- i radioterapię

NF-κB indukowanej TNF/IL-1 $\beta$  i LPS [89]. W szczurzym modelu uszkodzenia nerki wskutek rozwoju zapalenia indukowanego cisplatyną, partenolid zmniejszał nefrotoksyczność cisplatyny i poziom aktywnego NF-κB w różnych rejonach nerki [18].

Zdolność partenolidu do hamowania degradacji IκB $\alpha$  może być odpowiedzialna za jego aktywność przeciwmiażdżycową [21,66]. W jednojądrzastych komórkach krwi obwodowej (PBMC) pobranych od 29 pacjentów ze stenozą tętnicy szyjnej stwierdzono podwyższony poziom białek COX-2, mikrosomalnej syntetazy prostaglandyny E (mPGES-1) oraz receptora prostaglandyny E<sub>2</sub> (PGE<sub>2</sub>). W badaniach *in vitro* na linii komórkowej monocytów THP-1 partenolid wydajnie obniżył ich ekspresję [21]. W komórkach mięśni gładkich naczyń (VSMC) i monocytach stymulowanych LPS, partenolid hamował degradację IκB $\alpha$  oraz aktywację NF-κB, a w konsekwencji ekspresję chemokiny MCP-1 [66]. W badaniach *in vivo*, na myszach doświadczalnych z wczesną fazą miażdżycy indukowaną dietą wysokotłuszczową, podawanie partenolidu (2 mg/kg m.c. przez 20 tygodni lub 10 mg/kg m.c. przez 10 tygodni) hamowało rozwój stanu zapalnego. Zaobserwowano również zmniejszenie patologicznych zmian w obrębie naczyń, zahamowanie gromadzenia się makrofagów oraz zwiększenie liczby komórek mięśni gładkich naczyń w miejscach uszkodzeń, a w konsekwencji zablokowanie dalszego rozwoju miażdżycy [66].

Pierwsze badania wpływu partenolidu na aktywność czynnika NF-κB w komórkach nowotworowych przeprowadzono z komórkami HeLa [8]. Stosując ester forbolu (PMA) jako czynnik stymulujący komórki oraz test spowalniania w żelu poliakrylamidowym (EMSA – Electrophoretic Mobility Shift Assay) wykazano, że partenolid w stężeniu 5  $\mu$ M zapobiegał aktywacji NF-κB. Preinkubacja z partenolidem hamowała również aktywność lucyferazy w komórkach HeLa transfekowanych plazmidem, w którym gen lucyferazy znajdował się pod kontrolą zależnego od NF-κB promotora interleukiny 6 (IL-6). W kolejnej pracy wykazano, że partenolid zapobiegał indukowanej przez kinazy NIK (NF-κB inducing kinase) i MEKK1 (mitogen-activated protein kinase kinase kinase) aktywacji kinaz IKK $\alpha$  i IKK $\beta$  [28], tym samym uniemożliwiając

degradację IκB [27]. Jako przyczynę zaproponowano powstawanie wiązania kowalencyjnego między  $\alpha$ -metyleno- $\gamma$ -laktonową resztą partenolidu i cysteiną w pozycji 179 w pętli aktywacji IKK $\beta$  [51]. To z kolei, w wyniku zmian konformacyjnych, może uniemożliwiać fosforylację dwóch seryn znajdujących się w bezpośrednim sąsiedztwie cysteiny 179. Inny mechanizm hamowania aktywności NF-κB przez partenolid zakłada alkilację cysteiny w pozycji 38 podjednostki p65 białka NF-κB, co może zapobiegać wiązaniu czynnika NF-κB z DNA, gdyż cysteina w tej pozycji uczestniczy w tworzeniu wiązań wodorowych między białkiem NF-κB i szkieletem DNA [19] (ryc. 2). Partenolid może również hamować aktywację NF-κB przez blokowanie interakcji kompleksu IKK $\alpha$  i IKK $\beta$  z receptorem TNF- $\alpha$  (TNFR1) [125].

Większość badań nad możliwością stosowania partenolidu w terapii przeciwnowotworowej opiera się na obserwacji, że w komórkach wielu nowotworów czynnik transkrypcyjny NF-κB jest konstytutywnie aktywny [4,42,73,100,112], a ponadto interwencja terapeutyczna w postaci radioterapii i chemioterapii dodatkowo aktywuje ten czynnik, co w konsekwencji może prowadzić do rozwoju oporności na terapię. Stosując linie komórek nowotworowych wykazano, że czynnik transkrypcyjny NF-κB, aktywowany przez wolne rodniki indukowane przez promieniowanie jonizujące, zmniejsza efektywność naświetlania [11,39], natomiast partenolid uwalnia komórki nowotworowe na radioterapię. Stosowany w stężeniu 5  $\mu$ M w hybrydowej linii komórkowej CGL1 (HeLa z fibroblastami skóry), charakteryzującej się konstytutywną aktywnością czynnika transkrypcyjnego NF-κB i natywną postacią białka p53, hamował aktywność NF-κB oraz indukował apoptozę przez stabilizację p53, aktywację proapoptotycznych białek z rodziny Bcl-2 (B-cell leukemia-2): Bax i Bid, a także wzmacniał cytotoksyczność wywołaną naświetlaniem promieniowaniem X [68]. Badania przeprowadzone na linii komórkowej raka gruczołu krokowego PC-3, w których czynnik transkrypcyjny NF-κB jest również konstytutywnie aktywny, ale które nie mają białka p53, wykazały, że partenolid hamował konstytutywną i indukowaną przez radioterapię aktywność czynnika transkrypcyjnego NF-κB

[114]. Zmniejszenie poziomu podjednostki p65 przez zastosowanie siRNA zwiększyło wrażliwość komórek PC-3 i CGL1 w sposób podobny do obserwowanego po zastosowaniu leku [114]. Efekt cytotoksyczny radioterapii w skojarzeniu z partenolidem był wyższy w komórkach raka gruczołu krokowego DU145, w których obecna była fosfataza kinazy PTEN (phosphatase and tensin homolog deleted on chromosome ten), co sugerowało, że zmniejszenie poziomu aktywnej kinazy serynowo-treoninowej Akt jest istotnym elementem procesu uwrażliwiania komórek nowotworowych na radioterapię oraz że partenolid poza hamowaniem NF- $\kappa$ B indukował również drogę sygnałową kinazy fosfatydyloinozytolu (PI3K)/Akt [98]. Obniżenie poziomu NF- $\kappa$ B pod wpływem partenolidu obserwowano również w chronicznej białaczce limfocytarnej (CLL) [96].

Indukcja trwałej aktywacji kinazy c-Jun (JNK) może być przykładem wpływu partenolidu na aktywność białek regulatorowych za pośrednictwem NF- $\kappa$ B. JNK odgrywa dwoistą rolę w procesie apoptozy: przejściowa aktywacja JNK ma charakter antyapoptotyczny podczas, gdy trwała aktywacja indukuje apoptozę [58]. Rodzaj aktywacji zależy od natury, intensywności i czasu działania bodźca oraz typu komórki i izoformy kinazy zaangażowanej w odpowiedź. Uważa się, że hamowanie aktywności NF- $\kappa$ B wiąże się z trwałą aktywacją JNK, co z kolei odgrywa istotną rolę w indukcji apoptozy w komórkach stymulowanych TNF- $\alpha$  [58]. Aktywacja NF- $\kappa$ B chroni w pewnym stopniu komórkę przed cytotoksycznością TNF- $\alpha$ , gdyż poprzez indukcję ekspresji białka naprawczego GADD45 $\beta$  (growth arrest and DNA damage-inducible) oraz inhibitora apoptozy XIAP (X-linked inhibitor of apoptosis protein) uniemożliwia trwałą aktywację JNK [13,102]. Stosując linie komórkowe różnych nowotworów wykazano, że partenolid hamował aktywację NF- $\kappa$ B przez blokowanie interakcji kompleksu IKK $\alpha$  i IKK $\beta$  z TNFR1, jednocześnie indukując zależną od TNF- $\alpha$  trwałą aktywację JNK i w konsekwencji apoptozę [125]. Zastosowanie swoistego inhibitora JNK (SP600125) znosiło ten efekt. W innych badaniach przeprowadzonych na linii komórkowej mysich embrionalnych fibroblastów pozbawionych podjednostki p65 NF- $\kappa$ B (p65<sup>-/-</sup>) stwierdzono, że partenolid może aktywować JNK niezależnie od hamowania aktywności NF- $\kappa$ B, przy czym niższe stężenie partenolidu było konieczne do aktywacji JNK w komórkach p65<sup>-/-</sup> niż w dzikim typie fibroblastów [74]. Wynika z tego, że aktywacja JNK może być również bezpośrednią konsekwencją działania partenolidu. Ponadto w aktywację JNK może być zaangażowanych aż 13 MAPKKK (mitogen-activated protein kinase kinase kinase) i 2 MAPKK (mitogen-activated protein kinase kinase), a zatem wpływ partenolidu na aktywność jednej lub kilku spośród tych kinaz może być odpowiedzialny za aktywację JNK i w konsekwencji indukcję apoptozy [74]. Hamujący wpływ partenolidu na aktywność p38 MAPK (mitogen-activated protein kinase) i drogę sygnałową p42/p44 MAPK został wykazany w komórkach nowotworowych [15] i prawidłowych [107]. Zależność aktywności JNK od NF- $\kappa$ B pozostaje nierozstrzygnięta i wydaje się w dużym stopniu zależeć od rodzaju komórek. W badaniach przeprowadzonych na liniach komórkowych raka piersi stwierdzono, że partenolid indukując aktywność JNK uwrażliwiał komórki na modulowaną przez cytokinę TRAIL (TNF-related apoptosis inducing ligand) degradację białek antyapoptotycznych [74]. To działanie

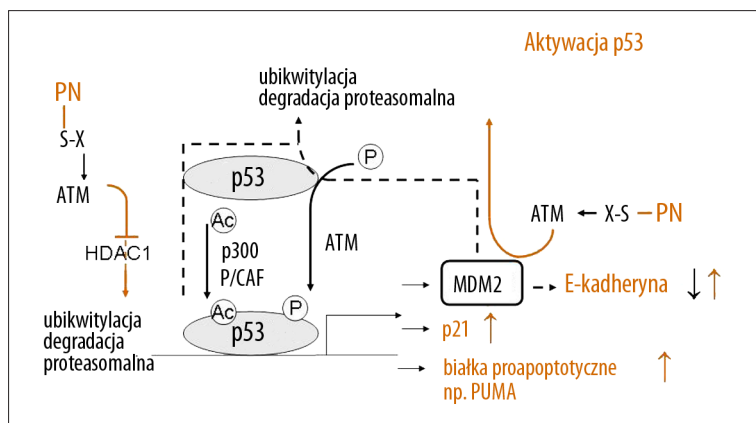
partenolidu wydaje się niezależne od białka p53, gdyż zastosowane w badaniach komórki raka piersi MDA-MB-231 mają zmutowaną postać p53.

Wpływ partenolidu na aktywność NF- $\kappa$ B przekłada się na zmiany w ekspresji genów zależnych od tego czynnika transkrypcyjnego i efekty komórkowe oraz efekty *in vivo* tych zmian. W linii komórkowej szpiczaka mnogiego MM.1S, w której obserwowano wzrost aktywności NF- $\kappa$ B po stymulacji TNF- $\alpha$  [99], partenolid hamował aktywność NF- $\kappa$ B, indukował apoptozę, czemu towarzyszyła zależna od kaspaz proteoliza Mcl-1 (myeloid cell leukemia-1) i XIAP oraz obniżenie ekspresji m.in. TRAF1 (TNF receptor-associated factor 1) i c-FLIP (cellular Flice-like inhibitory protein). Badania przeprowadzone w naszym laboratorium wykazały, że hamowaniu aktywności czynnika transkrypcyjnego NF- $\kappa$ B przez partenolid w komórkach czerniaka linii A375 i 1205Lu towarzyszyło hamowanie ekspresji cykliny D1, białek antyapoptotycznych Bcl-X<sub>L</sub> i surwiwiny, oraz interleukiny 8 (IL-8) i metaloproteiny 9 (MMP9) [Czyż i wsp., Br. J. Pharmacol., 2010; w druku]. Skutkiem zmian w poziomie ekspresji tych genów była indukcja apoptozy, obniżenie potencjału proliferacyjnego, zahamowanie cyklu komórkowego w fazie G<sub>0</sub>/G<sub>1</sub> oraz zmniejszenie migracji i inwazyjności komórek. Przeprowadzono również mikromacierzową analizę zmian w ekspresji genów po zastosowaniu partenolidu w keratynocytach i komórkach nabłonkowych stymulowanych TNF- $\alpha$  [5,60], oraz w komórkach inicjujących nowotwór gruczołu krokowego izolowanych z linii komórkowych lub z guza pobranego od pacjentów [43]. Ekspresja wielu genów zależnych od NF- $\kappa$ B ulegała zmianie w komórkach traktowanych partenolidem.

Stosując mysy model metastazy wykazano, że partenolid hamował kolonizację płuca myszy przez komórki mięsaka kostnego linii LM8 oraz że proces ten był przynajmniej częściowo zależny od hamowania przez partenolid aktywności NF- $\kappa$ B [47]. Hamowanie aktywacji NF- $\kappa$ B indukowało apoptozę i obniżało ekspresję czynnika wzrostu śródbłonna naczyń (VEGF) w komórkach LM8 *in vitro*, oraz zmniejszało przerzuty do płuc *in vivo* [47].

Wpływ partenolidu na aktywność NF- $\kappa$ B został udowodniony w różnych komórkach nowotworowych za pomocą bardzo wielu metod, w tym: techniką western blotting oraz testem EMSA lub transfekcją plazmidem z genem reporterowym pod kontrolą promotora zależnego od NF- $\kappa$ B do oceny zmian w poziomie aktywnego czynnika transkrypcyjnego w jądrze komórkowym, techniką analizy ekspresji genów w czasie rzeczywistym (real-time PCR) oraz techniką mikromacierzy do oceny wpływu partenolidu na poziom ekspresji genów zależnych od NF- $\kappa$ B oraz techniką western blotting do oceny zmian w poziomie ich produktów białkowych. W niektórych pracach wykazano korelację między zmianami w poziomie/aktywności czynnika transkrypcyjnego NF- $\kappa$ B a zmianami w procesach komórkowych zależnych od NF- $\kappa$ B, takich jak: apoptoza, proliferacja, zahamowanie cyklu komórkowego, migracja i inwazyjność.

Mając na względzie znaczenie zaburzeń w szlaku sygnałowym IKK/NF- $\kappa$ B w rozwoju nowotworów, a także w innych szlakach, podejmowane są próby stosowania partenolidu w skojarzeniu z różnymi lekami przeciwnowotworowymi.



Ryc. 3. Aktywacja p53. Partenolid reguluje poziom białka MDM2 oraz HDAC1, kierując je na drogę proteasomalnej degradacji. W komórkach traktowanych partenolidem zaobserwowano wyraźny wzrost ilości p53 w jądrze komórkowym oraz akumulację ubikwitylowanego MDM2 w cytoplazmie. Towarzyszy temu nadekspresja białka p21 oraz proapoptycznego białka PUMA. Również hamowanie aktywności HDAC1 przez partenolid jest jednym z mechanizmów inicjujących rozpad kompleksu p53-MDM2. Obserwowane zmiany mogą być skutkiem oddziaływania partenolidu z białkiem aktywującym kinazę ATM, która fosforyluje zarówno p53 jak i MDM2 oraz HDAC1, co może prowadzić do stabilizacji p53 oraz ubikwitylacji i proteasomalnej degradacji MDM2 i HDAC1, aczkolwiek autorki niniejszego przeglądu uważają ten pogląd za niewystarczająco udowodniony

Stosując linie komórkowe raka trzustki wykazano, że partenolid, hamując szlak sygnałowy NF- $\kappa$ B, uwrażliwiał nowotworowe komórki trzustki na działanie sulindaku, niesteroidowego leku przeciwzapalnego (NSAID) [121]. W badaniach tych, partenolid i sulindak stosowane w skojarzeniu synergistycznie hamowały proliferację i indukowały apoptozę czemu towarzyszył wyższy poziom inhibitora I $\kappa$ B $\alpha$  oraz wzrost hamowania wiązania NF- $\kappa$ B z DNA. Partenolid, przez hamowanie ekspresji genów zależnych od NF- $\kappa$ B, uwrażliwiał również komórki raka piersi na paklitaksel [80]. Partenolid stosowany z terapią antyestrogenową (ICI 182,780; Faslodex; fulvestrant) umożliwiał indukcję apoptozy w komórkach raka piersi, które były odporne na tę terapię i miały podwyższoną, w stosunku do komórek wrażliwych, aktywność NF- $\kappa$ B [88]. W innych badaniach przeprowadzonych na komórkach raka piersi opornych na tamoksifen, MCF7/HER2 i BT474, wykazano, że partenolid stosowany z bortezomibem uwrażliwiał komórki na tamoksifen, a hamowaniu aktywności czynników transkrypcyjnych NF- $\kappa$ B i AP-1 (activating protein-1) towarzyszyło obniżenie ekspresji genów cykliny D1, aktywatora plazminogenu typu urokinazy (uPA) i VEGF [129].

### Hamowanie procesu deacetylacji

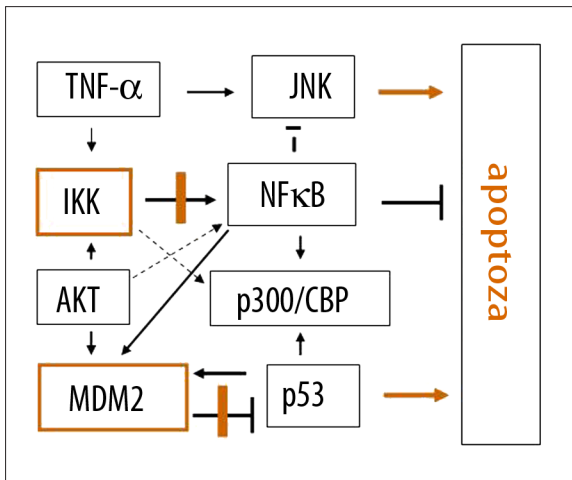
Kolejną interesującą biologiczną aktywnością partenolidu jest obniżenie poziomu HDAC1. Białko to ma również aktywność deacetylacji czynników transkrypcyjnych m.in. p53, STAT3, NF- $\kappa$ B i HIF-1 (hypoxia inducible factor-1) i w ten sposób uczestniczy w regulacji ich stabilności, wpływa na ich oddziaływanie z innymi białkami oraz umiejscowienie w komórce [70]. W wielu nowotworach stwierdzono nadekspresję HDAC1, a w konsekwencji zahamowanie procesu różnicowania komórek i ich zwiększoną proliferację [52]. W ostatnich latach scharakteryzowano wiele substancji hamujących aktywność deacetylaz histonów [97]. Partenolid jest, jak dotąd, jedynym niskocząsteczkowym związkiem selektywnie obniżającym poziom HDAC1. Wiadomo, że TNF- $\alpha$  indukuje proteasomalną degradację HDAC1 poprzez aktywację IKK $\beta$  [22]. Partenolid, będący wydajnym inhibitorem IKK $\beta$ , nie hamował jednak procesu degradacji HDAC1 [22]. Co więcej, badania *in vitro* na komórkach białaczki, raka skóry, piersi i jajnika ujawniły, że partenolid, niezależnie od IKK $\beta$ , kierował HDAC1 na drogę ubikwitynozęależnej degradacji proteasomalnej (ryc. 3), nie zmieniając przy tym poziomu innych deacetylaz histonowych [22].

W komórkach traktowanych partenolidem obserwowano uwolnienie HDAC1 z miejsca promotorowego p21, acetylację histonu H3 i w konsekwencji epigenetyczną, niezależną od p53, aktywację białka supresorowego p21<sup>WAF1/CIP1</sup>. Jednym z mechanizmów zaangażowanych w ten proces może być indukowana przez partenolid aktywacja kinazy ATM (ataxia telangiectasia mutated), która odpowiada za ubikwitylację bogatego w lizynę C-końcowego regionu HDAC1 [22]. Komórki ATM<sup>-/-</sup> nie były bowiem wrażliwe na działanie partenolidu i nie odpowiadały na lek obniżeniem poziomu proliferacji i indukcją apoptozy. Mechanizm aktywacji ATM przez partenolid nie jest znany, aczkolwiek prawdopodobnym wydaje się bezpośrednia reakcja z grupą tiolową białka będącego elementem szlaku sygnałowego prowadzącego do aktywacji ATM (ryc. 3). Powyższe badania przeprowadzono na linii komórkowej mysich fibroblastów embrjonalnych. Te same komórki pozbawione IKK $\beta$ , RelA lub I $\kappa$ B $\alpha$  odpowiadały na partenolid w taki sam sposób jak komórki dzikie, co sugerowało brak udziału szlaku IKK $\beta$ →I $\kappa$ B $\alpha$ →NF- $\kappa$ B w indukowanej przez partenolid apoptozie i zahamowaniu proliferacji. Podobne wyniki uzyskano w komórkach JNK1<sup>-/-</sup> i JNK2<sup>-/-</sup>, a także pozbawionych DNA-PK (DNA-activated protein kinase) [22]. Badania te, w świetle wcześniej opisanych wyników wskazujących na rolę szlaku IKK $\beta$ →I $\kappa$ B $\alpha$ →NF- $\kappa$ B i trwałej aktywacji JNK w indukowanych przez partenolid efektach komórkowych, są dowodem na różnorodność mechanizmów, które mogą być uruchamiane przez partenolid i wskazują na znaczenie kontekstu komórkowego w indukcji określonych mechanizmów.

### Aktywacja białka p53

HDAC1 uczestniczy w regulacji aktywności białka p53, które pełni funkcje w komórce, z których do najważniejszych należą: kontrola cyklu komórkowego i apoptozy w warunkach spoczynkowych oraz stresu komórkowego [111,130]. Pość p53 jest regulowana przez białko MDM2 w wyniku ujemnego sprzężenia zwrotnego: podwyższony poziom p53 aktywuje ekspresję białka MDM2, które z kolei wiąże p53, rekrutuje HDAC1 i wywołując ubikwitylację naznacza je do proteasomalnej degradacji [34,56].





Ryc. 4. Polifarmakologiczne właściwości partenolidu wynikają ze zdolności tego leku do wiązania wielu białek, ale również ze wzajemnych zależności pomiędzy białkami wiążącymi partenolid. Droga sygnałowa NF-κB krzyżuje się z drogą aktywacji p53 i JNK. Dla uproszczenia na schemacie umieszczono tylko niektóre wspólne elementy np. krytycznym punktem wspólnym dla uruchomienia ekspresji genów z udziałem NF-κB i p53 jest CBP/p300. AKT może aktywować IKK i bezpośrednio p65, ale również przez fosforylację MDM2 może obniżać stabilność p53. Z kolei rodzaj aktywacji JNK będzie zależał od poziomu aktywnego czynnika transkrypcyjnego NF-κB, który jest również odpowiedzialny za ekspresję MDM2. Stąd wpływ partenolidu na rodzaj odpowiedzi komórkowej w dużym stopniu zależy od typu komórek, szczególnie nowotworowych, w których wzajemne relacje między tymi białkami ulegają znacznym modyfikacjom. Na schemacie pokazano, że indukcja apoptozy przez partenolid może się odbywać w wyniku zablokowania aktywacji NF-κB, indukcji trwałej aktywacji JNK oraz zniesienia hamowania białka p53. Można przyjąć, że w danym kontekście komórkowym, partenolid bezpośrednio wpływa na aktywność jednego z wymienionych białek np. NF-κB konstytutywnie aktywnego w wielu nowotworach, natomiast pośrednio na pozostałe białka

Uszkodzenie DNA indukuje fosforylację N-końca p53 przez wiele kinaz, w tym Chk1, Chk2, ATR, DNA-PK i ATM, co zapobiega oddziaływaniu z MDM2, zwiększa stabilność p53 i umożliwia wiązanie DNA w regionach promotorowych określonych genów [2]. Selekcja genów, z którymi wiąże się p53 odbywa się z udziałem wielu białek regulujących transkrypcję, m.in. przez acetylację C-końca z udziałem acetylotransferaz p300/CBP i P/CAF [61]. Ekspresja MDM2 jest podwyższona w wielu nowotworach, co powoduje inaktywację p53, i w konsekwencji wzrost proliferacji komórek i zahamowanie indukcji apoptozy w odpowiedzi na radio- i chemioterapię [87]. Poza blokowaniem aktywności p53, nadekspresja MDM2 obniża poziom E-kadheryny, białka, którego utrata wiązana jest z progresją nowotworu, w tym zdolnością do tworzenia przerzutów [118]. Wysoki poziom białka MDM2 oznacza złe rokowanie u pacjentów onkologicznych [87]. Poszukiwania skutecznych inhibitorów MDM2 nie przyniosły jak dotąd oczekiwanych wyników. Do najciekawszych osiągnięć można zaliczyć nutlinę 3a, niskocząsteczkowy związek, który przez wiązanie się w hydrofobowej kieszeni MDM2 swoiście zapobiegał powstawaniu kompleksu p53-MDM2, zwiększając tym samym pulę p53 [109].

To jednakże, w wyniku sprzężenia zwrotnego, zwiększało również ekspresję MDM2. W badaniach przeprowadzonych na liniach komórkowych raka piersi wykazano, że partenolid indukował zależną od ATM ubikwitylację i proteasomalną degradację MDM2, co prowadziło do aktywacji p53 i innych białek regulowanych przez MDM2 (ryc. 3) [23]. Doświadczenia z fibroblastami zawierającymi lub niezawierającymi ATM wykazały, że obecność białka ATM była absolutnie konieczna do ubikwitylacji MDM2, oraz akumulacji p53 w jądrze komórkowym. Nawet niski poziom ATM, uzyskany w komórkach raka piersi przez zastosowanie siRNA, był wystarczający, aby po zastosowaniu partenolidu uzyskać wzrost poziomu p53 w jądrze i ubikwitylację MDM2 [23]. Ponadto zaobserwowano, że szybkość dysocjacji MDM2 i HDAC1 z kompleksu z p53 są zbliżone, co sugerowałoby udział HDAC1 w regulacji poziomu kompleksu p53-MDM2. Z powyższych badań wynika, że partenolid indukuje aktywację p53 przez wpływ na dwa białka hamujące aktywność p53, MDM2 i HDAC1.

Z badań *in vitro* i *in vivo* przeprowadzonych dla kilku typów nowotworów wynika zatem, że partenolid można zaliczyć do związków, które uczestniczą jednocześnie w hamowaniu NF-κB jak i aktywacji p53. Stąd skuteczność partenolidu będzie w dużym stopniu zależała od kontekstu komórkowego, w którym czynniki transkrypcyjne mają odpowiednią postać, poziom i aktywność (ryc. 4). Obserwacja ta może w przyszłości zaowocować opracowaniem strategii leczenia z zastosowaniem partenolidu jako adiuwantu w terapii przeciwnowotworowej, zwłaszcza nowotworów z natywnym p53 i konstytutywnie aktywnym NF-κB. Należy tu wymienić czerniaka, który spełnia oba warunki. Spośród wyników uzyskanych do tej pory na uwagę zasługują otrzymane w komórkach macierzystych ostrej białaczki szpikowej (AML), gdzie partenolid wyraźnie hamował konstytutywną aktywność NF-κB, indukując jednocześnie fosforylację p53 i apoptozę [24].

#### Hamowanie aktywności czynników transkrypcyjnych STAT

Kolejną grupą czynników transkrypcyjnych, względem której partenolid wykazuje aktywność, jest rodzina przekazników wewnątrzkomórkowych – STAT (signal transducers and activators of transcription). W odpowiedzi na zewnątrzkomórkowe sygnały, takie jak cytokiny, czynniki wzrostu i hormony, białka te są aktywowane przez kinazy tyrozynowe JAK (Janus kinases: JAK1, JAK2, JAK3, Tyk2), co powoduje ich translokację do jądra komórkowego i wiązanie z regionami promotorowymi wielu genów. Czynniki transkrypcyjne STAT pełnią ważne funkcje w wielu procesach fizjologicznych, począwszy od odpowiedzi immunologicznej do regulacji cyklu komórkowego [10,55]. Zaburzenia w regulacji aktywności białek STAT mogą być istotnym elementem transformacji nowotworowej [9]. Wykazano, że partenolid hamował zarówno proces aktywacji białek STAT jak i ich aktywność wiążącą DNA [49,53,93,95,105]. W komórkach raka wątroby linii HepG2, partenolid znosił fosforylację Tyr705 w białku STAT3 indukowaną interleukiną 6 (IL-6) lub onkostatiną M (OSM), co z kolei zapobiegało dimeryzacji STAT3, jego translokacji do jądra komórkowego oraz ekspresji genu  $\alpha$ 1-antychymotrypsyny [95]. Reakcja grupy  $\alpha$ -metyleno- $\gamma$ -laktonowej partenolidu z wolnymi grupami tiolowymi obecnymi w białkach JAK



wydaje się odpowiedzialna za blokowanie szlaku STAT3 [95]. Zahamowanie fosforylacji Tyr705 w białku STAT3 zaobserwowano również w kardiomiocytach stymulowanych IL-6, czynnikiem hamującym białaczkę (LIF) lub kardiotropiną 1 (CT-1) [49,50,105]. Wykluczono jednak wiązanie się partenolidu z białkami JAK, jako główny mechanizm działania, gdyż kinazy te zachowały zdolność do autofosforylacji [49]. Badacze postulują natomiast, że reaktywne formy tlenu (RFT) generowane w kardiomiocytach traktowanych partenolidem hamowały aktywność JAK1 i JAK2, co uniemożliwiło aktywację białka STAT3 [49]. Zniesienie indukowanej cytokinami fosforylacji STAT3 przez partenolid wykazano także w chondrocytach i synowocytach (komórkach chrząstki i maziówki) stymulowanych IL-6 w obecności rozpuszczalnego receptora IL-6 (sIL-6R) [26,53].

Inny mechanizm oddziaływania partenolidu z czynnikami transkrypcyjnymi STAT zaobserwowano w komórkach śródbłonna z pepowiny ludzkiej (HUVEC) i limfocytach B stymulowanych interleukiną 4 (IL-4). Partenolid obniżał aktywność wiążącą DNA białka STAT6, nie zmieniając poziomu jego ufosforylowanej postaci [93], co może być konsekwencją hamowania niekanonicznego szlaku NF- $\kappa$ B przez partenolid. Wiadomo, że IL-4 indukuje PI3K oraz degradację TRAF3 w limfocytach B, co z kolei aktywuje kompleks IKK. Białko Akt indukowane przez PI3K pośredniczy w fosforylacji Thr28 I $\kappa$ B, a dalej jej ubikwitynozależnej degradacji. Umożliwia to proteolityczne przekształcenie białka prekursorowego p100 w podjednostkę p52, która po dimeryzacji z podjednostką RelB tworzy aktywny czynnik transkrypcyjny NF- $\kappa$ B. Dimer p52:RelB ulega translokacji do jądra, gdzie przez interakcje z aktywnym STAT6 zwiększa jego aktywność wiążącą DNA. Zablockowanie NF- $\kappa$ B korelowało z obniżeniem aktywności STAT6 oraz ekspresji genów zależnych od tego czynnika transkrypcyjnego [104].

### Wpływ partenolidu na czynnik transkrypcyjny AP-1

Niewiele prac opisuje wpływ partenolidu na skład podjednostkowy lub aktywność AP-1 [8,59]. Bork i wsp. [8] wykazali, że partenolid nie wpływa na wiązanie AP-1 w komórkach HeLa. Natomiast Lindenmeyer i wsp. [59], w tych samych komórkach traktowanych PMA, zaobserwowali zahamowanie aktywności AP-1 i ekspresji IL-8 jako skutek preinkubacji z partenolidem. Z kolei w komórkach raka piersi opornych na tamoksifen, partenolid w skojarzeniu z bortezomibem hamował ekspresję genów zależnych od AP-1 i NF- $\kappa$ B: cykliny D1, uPA i VEGF [129]. Stosując mikromacierze wykazano, że w komórkach nabłonkowych partenolid indukuje wzrost ekspresji Fra-1 i c-Fos, podjednostek wchodzących w skład białka AP-1 [60]. Wpływ partenolidu na aktywność AP-1 wydaje się zatem zależeć od rodzaju komórek i wymaga dalszych badań.

### Wpływ partenolidu na metylację DNA

Interesującym, ale słabo poznanym zagadnieniem jest wpływ partenolidu na procesy acetylacji histonów i metylacji DNA w komórkach, kontrolujących transkrypcję i ekspresję genów, stabilność genomu oraz genetyczny imprinting. Nieprawidłowości obserwowane w tych procesach są często markerem rozwoju nowotworów. Określone zmiany

epigenetyczne mogą być również swoiste dla danego typu nowotworu, co czyni je potencjalnie dobrymi celami dla nowych strategii terapeutycznych.

Oprócz wcześniej omówionego wpływu partenolidu na proces deacetylacji, ważnym odkryciem jest również stwierdzenie, że lek ten jest aktywny w hamowaniu procesu metylacji DNA. Zastosowanie inhibitorów metylacji DNA ma na celu przywrócenie ekspresji genów supresorowych, zdolności komórek do naprawy DNA, prawidłowego różnicowania i apoptozy [122]. Proces wyciszania genów poprzez metylację ich miejsc promotorowych jest katalizowany przez metylotransferazy DNA (DNMT1, DNMT3a i DNMT3b) w obecności donora grupy metylowej, S-adenozylometioniny (SAM). Partenolid wydaje się wydajnym inhibitorem metylacji DNA, zarówno *in vitro* jak i *in vivo* [64]. Wykazano, że lek ten obniżał aktywność DNMT1 w liniach komórkowych białaczki i raka piersi, prawdopodobnie w wyniku alkilacji grupy tiolowej Cys1226 w centrum katalitycznym enzymu, uniemożliwiając w ten sposób wiązanie przez DNMT1 kofaktora SAM oraz substratu, czyli pierścienia pirymidynowego. Oprócz hamowania aktywności metylotransferazy, obserwowano spadek poziomu jej ekspresji w komórkach białaczkowych linii MV4-11 traktowanych partenolidem. Może to być wynikiem rozpadu kompleksu NF- $\kappa$ B-Sp1 wiążącego się z miejscem promotorowym DNMT1. Hamowanie ekspresji i aktywności DNMT1 przez partenolid wywołało globalną hipometylację DNA w liniach komórkowych białaczki i raka piersi, oraz *in vivo* w ludzkich komórkach białaczki wprowadzonych do nagich myszy [64]. W myszach ksenograficznych zaobserwowano spadek metylacji DNA o 60% przy dziennej dawce 10 mg/kg partenolidu oraz zmniejszenie wielkości guza o 37% (4 mg/kg m.c. partenolidu). Partenolid obniżał m.in. metylację regionu promotorowego genu HIN-1 (high in normal-1), kodującego supresorowe białko wyciszone w wielu nowotworach np. w raku piersi. Partenolid w stężeniu 30  $\mu$ M spowodował trzykrotny wzrost poziomu ekspresji HIN-1.

### WPLYW PARTENOLIDU NA FUNKCJONOWANIE WRZECIONA MITOTYCZNEGO

Kolejnym molekularnym celem działania partenolidu jest proces tworzenia i stabilizacji mikrotubul. Mikrotubule, tworzące wrzeciono mitotyczne i zaangażowane w podział komórki, powstają w wyniku polimeryzacji tubuliny, która może występować w dwóch postaciach: Tyr-tubuliny i Glu-tubuliny. Glu-tubulina, charakterystyczna dla stabilnych mikrotubul, powstaje przez usunięcie reszt tyrozyny z C-końca  $\alpha$ -tubuliny z udziałem karboksypeptydazy tubuliny (TCP). Reszta tyrozyny może zostać ponownie dodana do C-końca tubuliny przez ligazę tyrozynową tubuliny (TTL). Hamowanie aktywności TTL prowadzące do nagromadzenia Glu-tubuliny w komórce skutkuje nadmierną polimeryzacją mikrotubul, a dalej nieprawidłowym pozycjonowaniem wrzeciona mitotycznego podczas mitozy. Uważa się, że sprzyja to rozwojowi agresywności nowotworu. Pierwsze badania przeprowadzone na linii komórkowej raka piersi MCF-7 wykazały aktywność partenolidu w indukowaniu powstawania polimerów mikrotubul [69]. Zaproponowano, że partenolid mógłby wiązać się z resztami Cys239 i Cys354  $\beta$ -tubuliny i w ten sposób indukować tworzenie mikrotubul, które następnie są stabilizowane

np. przez paklitaksel. W komórkach HeLa partenolid hamował indukowaną przez paklitaksel aktywność TCP oraz nagromadzenie Glu-tubuliny, nie powodując destabilizacji mikrotubul zbudowanych z Tyr-tubuliny [17]. Autorzy sugerowali, że główną rolę w tym procesie mogły odgrywać grupy:  $\alpha$ -metyleno- $\gamma$ -laktonowa oraz epoksydowa, gdyż dihydropartenolid, który nie ma nienasyconego pierścienia laktonowego, oraz kostunolid bez grupy epoksydowej, nie wykazały żadnej aktywności względem TCP. Partenolid mógłby zatem wiązać się bezpośrednio z TCP.

### INDUKCJA STRESU OKSYDACYJNEGO

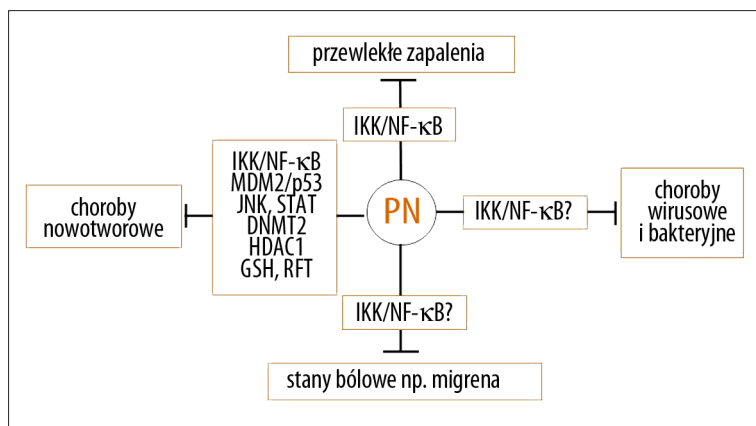
Z powyższych przykładów wynika, że partenolid, wpływając na szlaki sygnałowe aktywujące czynniki transkrypcyjne, jest związkiem mającym bardzo szeroki zakres działania. Wydaje się, że indukcja stresu oksydacyjnego jest kolejnym ważnym mechanizmem działania partenolidu. Stres oksydacyjny odgrywa istotną rolę w patogenezie wielu chorób, w tym nowotworów. Zmiany statusu redoks wpływają m.in. na procesy acetylacji histonów i aktywacji czynników transkrypcyjnych, a tym samym na regulację ekspresji genów. Jednym z najważniejszych regulatorów równowagi oksydoredukcyjnej w komórkach jest zredukowany glutation (GSH). Wiadomo, że w komórkach nowotworowych poziom GSH jest podwyższony w porównaniu z komórkami prawidłowymi, co jest ważnym mechanizmem regulacji proliferacji komórek nowotworowych i przyczynia się do powstania ich oporności na chemio- i radioterapię [16,124]. Badania ostatnich lat wykazały, że partenolid wpływa na poziom komórkowego GSH [14,29,50,115,126]. W komórkach nowotworowych partenolid, obniżając poziom GSH, indukował apoptozę [14,115,126], jednak mechanizm ten nie został do końca wyjaśniony. Przypuszcza się, że działanie partenolidu opiera się na zwiększeniu wpływu GSH z komórek [50] lub obniżeniu poziomu jego syntezy [115]. Rozpatrywany jest również trzeci mechanizm – kowalencyjne wiązanie się grupy  $\alpha$ -metyleno- $\gamma$ -laktonowej partenolidu z grupą tiolową GSH [127], lecz mikromolowe stężenia partenolidu stosowane w badaniach *in vitro* są znacznie niższe od stężenia GSH w komórkach [92], co sugeruje, że redukcja ilości GSH jest tylko punktem wyjściowym kolejnych zmian [50,126].

Obniżenie komórkowego poziomu GSH przy jednoczesnym wzroście syntezy RFT zaobserwowano w wielu nowotworowych liniach komórkowych traktowanych partenolidem. W komórkach raka wątroby SH-J1, indukcji stresu oksydacyjnego towarzyszyły procesy prowadzące do apoptozy mitochondrialnej. Obserwowano spadek potencjału błony mitochondrialnej, uwolnienie do cytoplazmy cytochromu c oraz aktywację kaskady kaspaz [115]. Obniżenie poziomu GSH w komórkach SH-J1 wydaje się także główną przyczyną nadekspresji czynnika transkrypcyjnego GADD153 (znanego również jako CHOP), który w odpowiedzi na stres oksydacyjny i uszkodzenia DNA aktywuje w komórkach proces apoptozy [77]. Niska ekspresja GADD153 sprzyja powstaniu oporności na działanie cisplatin [46] i fenretinidu [67]. W komórkach SH-J1 wyciszenie genu kodującego to białko korelowało z pojawieniem się oporności na partenolid [115]. W tych samych badaniach, oprócz prooksydacyjnego działania partenolidu na komórki nowotworowe, zaobserwowano jego właściwości antyoksydacyjne w prawidłowych komórkach wątroby linii Chang.

Wrażliwość komórek nowotworowych na działania partenolidu mogła być wynikiem mniejszej w tych komórkach ekspresji enzymu antyoksydacyjnego S-transferazy glutationowej  $\pi$  (GST- $\pi$ ), determinującego również wrażliwość na niektóre leki [90] oraz syntetazy  $\gamma$ -glutamilo-cysteiny ( $\gamma$ -GCS), regulującej syntezę GSH [7].

Z powyższych badań wynika, że w zależności od charakteru komórek (nowotworowe lub prawidłowe) partenolid może wykazywać właściwości pro- i antyoksydacyjne. Innym przykładem selektywnego działania partenolidu na potencjał redoks komórek są badania, w których zastosowano linie komórkowe AML oraz krwiotwórcze komórki macierzyste szpiku kostnego (bone marrow – BM) lub krwi pępowinowej (umbilical cord blood – CB). Inkubacja z partenolidem w stężeniu 5  $\mu$ M spowodowała obniżenie przeżywalności komórek AML do 9,3% przy braku reakcji komórek prawidłowych BM i CB na ten związek [24]. Wykazano, że indukcja apoptozy w komórkach nowotworowych była wynikiem znacznego podwyższenia komórkowego poziomu RFT, zwiększenia poziomu ufosforylowanej postaci p53, która w konsekwencji aktywowała białka Bax, p21 oraz GADD45 $\alpha$ . Obserwowana blokada szlaku sygnałowego NF- $\kappa$ B przez partenolid stanowiła dodatkowy czynnik uwrażliwiający komórki nowotworowe na indukowaną śmierć. W badaniach *in vivo* wykazano, że partenolid hamował tworzenie się kolonii komórek AML w mysim modelu ostrej białaczki szpikowej, nie wpływając na ten proces w przypadku prawidłowych komórek szpiku oraz komórek erytroidalnych pobranych od zdrowych myszy. Ponadto partenolid blokował powstawanie nowotworu w myszach z defektem immunologicznym (NOD/SCID) po wprowadzeniu macierzystych komórek białaczki (LCS). Tego efektu nie zaobserwowano przeszczepiając macierzyste komórki hematopoetyczne (HSC) [24]. Selektywną regulację stężenia GSH oraz indukcję apoptozy przez partenolid wykazano również w komórkach przewlekłej białaczki limfatycznej [96] i szpiczaka mnogiego [113]. Uzyskane wyniki wskazywały ponadto na brak wrażliwości prawidłowych limfocytów na działanie partenolidu, prawdopodobnie wskutek wyższej aktywności antyoksydacyjnej katalazy [113] oraz peroksydazy glutationu (GPX) [96] w tych komórkach względem komórek nowotworowych. Wyniki uzyskane w naszym laboratorium wykazały, że nie wszystkie komórki nowotworowe reagują na partenolid podwyższeniem poziomu RFT [54]. W komórkach czerniaka linii A375, 1205Lu i WM793 oraz w melanocytach prawidłowych linii NHEM nie zaobserwowano wzrostu RFT po działaniu partenolidu. Wy tłumaczeniem tego zjawiska może być istnienie wydajniejszych mechanizmów zmiatających wolne rodniki w komórkach, które w dużym stopniu narażone są na stres oksydacyjny, wynikający chociażby z ekspozycji na promieniowanie UV.

Partenolid indukował stres oksydacyjny i zwiększoną syntezę RFT również w niektórych komórkach prawidłowych np. w miocytach serca [49,50]. Stosując rotenon – inhibitor kompleksu I (NADH-CoQ) oraz apocyninę – swoisty inhibitor oksydazy NADPH (NOX), wykazano że partenolid, w zależności od stężenia, może indukować powstawanie RFT w wyniku uruchomienia jednego z dwóch mechanizmów. Przy niskich stężeniach partenolidu (<5  $\mu$ M) głównym źródłem RFT był kompleks I, natomiast w wyższych stężeniach (>5  $\mu$ M) partenolid indukował NOX.



Ryc. 5. Molekularne mechanizmy terapeutycznych aplikacji partenolidu. Partenolid hamuje rozwój stanów zapalnych głównie przez oddziaływanie ze szlakiem sygnałowym IKK/NF- $\kappa$ B. Wpływ partenolidu na aktywność NF- $\kappa$ B może być również odpowiedzialny za właściwości przeciwbólowe leku, przeciwwirusowe i przeciwbakteryjne. Na aktywność przeciwnowotworową partenolidu składa się wiele mechanizmów, których uruchomienie zależy od rodzaju zmian w drogach sygnałowych w poszczególnych typach nowotworów. Wyniki uzyskane dotąd wskazują na możliwość oddziaływania partenolidu z białkami szlaków sygnałowych IKK/NF- $\kappa$ B, MDM2/p53, JNK, STAT, a także z białkami uczestniczącymi w regulacji epigenetycznej, HDAC1 i DNMT2. Istotnym mechanizmem jest również wpływ partenolidu na potencjał redoks komórki i poziom wolnych rodników, który jest różny w komórkach prawidłowych i nowotworowych. W układach *in vitro*, partenolid indukował apoptozę, zmniejszał potencjał proliferacyjny i indukował zahamowanie cyklu komórkowego, obniżał zdolność do migracji i inwazyjność komórek nowotworowych, a także wpływał na proces angiogenezy

Obserwowano także spadek potencjału błony mitochondrialnej, ponad 5-krotne obniżenie poziomu GSH oraz silny stres oksydacyjny prowadzący do śmierci komórki [50]. Tak raptowne i wyraźne obniżenie stężenia GSH może wynikać z wysokiego poziomu białka oporności wielolekowej 1 (MRP1) w miocytach, które jest zaangażowane w aktywny transport S-koniugatów m.in. glutationu na zewnątrz komórek. Ponadto partenolid, niezależnie od stężenia, przez indukcję powstawania RFT, hamował aktywację JAK1 i w konsekwencji fosforylację Tyr705 czynnika transkrypcyjnego STAT3. Redukcja poziomu glutationu i zwiększona synteza RFT pod wpływem partenolidu, a w rezultacie indukcja apoptozy została stwierdzona również w nowotworowych liniach komórkowych jelita grubego [126], przewodów żółciowych [45], ostrej białaczki limfoblastycznej [132] i gruczolu krokowego [43].

Właściwości antyoksydacyjne partenolidu są także dobrze udokumentowane i dotyczą głównie komórek prawidłowych. Badania *in vitro* przeprowadzone na prawidłowych komórkach hipokampu HT22 dowodzą, że 10  $\mu$ M partenolid podwyższył poziom zredukowanego glutationu prawie 7-krotnie, jednocześnie obniżając RFT o 80% względem kontroli [29]. Autorzy sugerują, że w ten mechanizm może być zaangażowany szlak sygnałowy Nrf2/ARE (nuclear erythroid 2 p45-related factor 2/antioxidant response element), który kontroluje ekspresję genów kodujących enzymy II fazy detoksykacji m.in. oksygenazę hemową 1 (HO-1), oksydoreduktazę NADPH: chinonową (NQO1), GST oraz białka biorące udział w syntezie glutationu:  $\gamma$ -GCS i syntazę glutationu. Partenolid aktywował ARE, zarówno w komórkach prawidłowych [29], jak i nowotworowych, w tym raka wątroby [36] i guza chromochłonnego [108]. Ponadto, dzięki obecności  $\alpha$ , $\beta$ -nienasyconej grupy karbonylowej, partenolid może wiązać się z resztami cysteiny białka Keap1 (kelch-like ECH-associated protein 1), powodując jego dysocjację z kompleksu Nrf2/Keap1, translokację uwolnionego białka Nrf2 do jądra, a w rezultacie aktywację antyoksydacyjnego szlaku Nrf2/ARE [108]. Aktywacja kinaz przez partenolid m.in. JNK, p38, PKC (protein kinase C) i PI3K, które są zaangażowane w uruchomienia tego szlaku, może się również przyczyniać do wydajnej indukcji odpowiedzi antyoksydacyjnej komórek na stres [36]. Potencjał partenolidu jako silnego przeciwutleniacza został również zaobserwowany w badaniach przeprowadzonych na prawidłowych komórkach nabłonkowych soczewki oka HLE [119]. Wiadomo, że stres

oksydacyjny przyspiesza powstawanie katarakty i patologicznych zmian plamki żółtej. Partenolid działał protekcyjnie na komórki HLE, hamując ekspresję, aktywację oraz obniżając komórkowy poziom kaspazy 3 i 9, indukowanych wysokim stężeniem  $H_2O_2$ .

Oprócz stresu oksydacyjnego, partenolid wywoływał również stres siateczki endoplazmatycznej (ER) i zaburzenia w komórkowej homeostazie jonów wapnia w ludzkich komórkach raka jelita grubego [126]. Partenolid, podobnie jak inny seskwiterpenowy lakton, helenalin [83], indukował gwałtowny wzrost cytosolowego poziomu wapnia oraz zwiększoną ekspresję antyapoptotycznego białka regulowanego glukozą 78 (GRP78), będącego markerem stresu ER. Z kolei w komórkach raka piersi traktowanych partenolidem nie stwierdzono zmian w ilości białka GRP78. Zaobserwowano natomiast wzrost ekspresji i komórkowego poziomu proapoptotycznego białka GADD153 [75]. Indukcja ekspresji GADD153 może wynikać z hamowania przez partenolid aktywności czynnika transkrypcyjnego NF- $\kappa$ B, który wiążąc się z miejscem promotorowym GADD153 reguluje jego ekspresję [75].

## PODSUMOWANIE

Partenolid jest obiecującym związkiem pochodzenia roślinnego o pleiotropowym działaniu. Oprócz właściwości przeciwwapalnych i przeciwbólowych, wykorzystywanych przez wieki w lecznictwie ludowym, wykazuje on aktywność przeciwnowotworową.

Liczne badania z ostatnich lat dowodzą, że molekularnym celem partenolidu są białka zaangażowane w procesy powstawania i progresji nowotworów. Wielokierunkowość



działania partenolidu jest odpowiedzialna za blokowanie mechanizmów antyapoptotycznych, które także warunkują oporność komórek nowotworowych na działanie klasycznych leków i radioterapii. Partenolid może działać cytotaktycznie lub cytotoksycznie, w zależności od typu komórek nowotworowych oraz stosowanych stężeń leku. Najlepiej poznane i udokumentowane jest zahamowanie aktywności NF- $\kappa$ B przez kowalencyjną modyfikację białka p65 oraz hamowanie aktywności IKK. Partenolid jest również odpowiedzialny za indukcję apoptozy w komórkach nowotworowych przez trwałą aktywację JNK, aktywację białka p53 i swołistą dla niektórych komórek nowotworowych redukcję wewnątrzkomórkowego poziomu glutationu, co skutkuje akumulacją reaktywnych form tlenu i stresem oksydacyjnym. Ponadto, hamowanie aktywności NF- $\kappa$ B, oraz zablokowanie szlaku STAT przez partenolid zmniejsza ryzyko progresji raka oraz angiogenezy w obrębie guza. Partenolid reguluje również ekspresję genów na poziomie epigenetycznym przez globalną hipometylację DNA oraz hamowanie HDAC1. Szczególnie interesujące są obserwacje wskazujące na selektywną indukcję apoptozy w macierzystych komórkach nowotworowych przy braku tego efektu w komórkach prawidłowych. Ostatnio przeprowadzone badania profilu aktywacji

czynników transkrypcyjnych w macierzystych komórkach raka gruczołu krokowego wykazały, że poza wcześniej opisaną aktywacją czynników transkrypcyjnych p53 i hamowaniem STAT3, partenolid zmienił aktywność wiążącą DNA czynników C/EBP- $\alpha$ , Fra-1, HOXA-4, c-MYB, Snail, Sp1, SRF oraz XBP1 [43]. Najpoważniejszym ograniczeniem stosowania partenolidu w terapii jest jego słaba rozpuszczalność w wodzie. Problem ten dotyczy zresztą wielu substancji pochodzenia roślinnego. Synteza dimetyloaminopartenolidu (DMAPT) (ryc. 1B), efektywnego analogu partenolidu o znacznie poprawionej biodostępności [25], jak również wyniki uzyskane w macierzystych komórkach raka piersi traktowanych partenolidem w kapsułkach liposomalnych [63], oraz stale poszerzana wiedza na temat molekularnych mechanizmów działania partenolidu, dają duże nadzieje na stworzenie skutecznej terapii przeciwnowotworowej. Porównanie efektywnych stężeń partenolidu, a także różnorodność efektów uzyskiwanych w komórkach nowotworowych wskazuje z jednej strony na duży potencjał leku, z drugiej na duże zróżnicowanie w zakresie zmian patofizjologicznych w porównywanych nowotworach. Stąd skuteczność partenolidu w leczeniu pacjentów z nowotworami może w dużym stopniu zależeć od rodzaju nowotworu.

## PIŚMIENNICTWO

- [1] Anderson K.N., Bejcek B.E.: Parthenolide induces apoptosis in glioblastomas without affecting NF-kappaB. *J. Pharmacol. Sci.*, 2008; 106: 318–320
- [2] Appella E., Anderson C.W.: Post-translational modifications and activation of p53 by genotoxic stresses. *Eur. J. Biochem.*, 2001; 268: 2764–2772
- [3] Awang D.V.: Feverfew products. *Can. Med. Assoc. J.*, 1997; 157: 510–511
- [4] Baldwin A.S.: Control of oncogenesis and cancer therapy resistance by the transcription factor NF- $\kappa$ B. *J. Clin. Invest.*, 2001; 107: 241–246
- [5] Banno T., Gazel A., Blumenberg M.: Pathway-specific profiling identifies the NF-kappa B-dependent tumor necrosis factor alpha-regulated genes in epidermal keratinocytes. *J. Biol. Chem.*, 2005; 280: 18973–18980
- [6] Bedoya L.M., Abad M.J., Bermejo P.: The role of parthenolide in intracellular signalling processes: review of current knowledge. *Curr. Sign. Transd. Ther.*, 2008; 3: 82–87
- [7] Bilka A., Kryczyk A., Włodek L.: Różne oblicza biologicznej roli glutationu. *Post. Hig. Med. Dosw.*, 2007; 61: 438–453
- [8] Bork P.M., Schmitz M.L., Kuhnt M., Escher C., Heinrich M.: Sesquiterpene lactone containing Mexican Indian medicinal plants and pure sesquiterpene lactones as potent inhibitors of transcription factor NF- $\kappa$ B. *FEBS Lett.*, 1997; 402: 85–90
- [9] Bowman T., Garcia R., Turkson J., Jove R.: STATs in oncogenesis. *Oncogene*, 2000; 19: 2474–2488
- [10] Bromberg J., Darnell J.E.Jr.: The role of STATs in transcriptional control and their impact on cellular function. *Oncogene*, 2000; 19: 2468–2473
- [11] Criswell T., Leskov K., Miyamoto S., Luo G., Boothman D.A.: Transcription factors activated in mammalian cells after clinically relevant doses of ionizing radiation. *Oncogene*, 2003; 22: 5813–5827
- [12] Curry E.A. III, Murry D.J., Yoder C., Fife K., Armstrong V., Nakshatri H., O'Connell M., Sweeney C.J.: Phase I dose escalation trial of feverfew with standardized doses of parthenolide in patients with cancer. *Invest. New Drugs*, 2004; 22: 299–305
- [13] De Smaele E., Zazzeroni F., Papa S., Nguyen D.U., Jin R., Jones J., Cong R., Franzoso G.: Induction of gadd45 $\beta$  by NF- $\kappa$ B downregulates pro-apoptotic JNK signalling. *Nature*, 2001; 414: 308–313
- [14] Duechler M., Stańczyk M., Czyż M., Stepnik M.: Potentiation of arsenic trioxide cytotoxicity by Parthenolide and buthionine sulfoximine in murine and human leukemic cells. *Cancer Chemother. Pharmacol.*, 2008; 61: 727–737
- [15] Fiebich B.L., Lieb K., Engels S., Heinrich M.: Inhibition of LPS-induced p42/44 MAP kinase activation and iNOS/NO synthesis by parthenolide in rat primary microglial cells. *J. Neuroimmunol.*, 2002; 132: 18–24
- [16] Fojo T., Bates S.: Strategies for reversing drug resistance. *Oncogene*, 2003; 22: 7512–7523
- [17] Fonrose X., Ausseil F., Soleilhac E., Masson V., David B., Pouny L., Cintrat J.C., Rousseau B., Barette C., Massiot G., Lafanechere L.: Parthenolide inhibits tubulin carboxypeptidase activity. *Cancer Res.*, 2007; 67: 3371–3378
- [18] Francescato H.D., Costa R.S., Scavone C., Coimbra T.M.: Parthenolide reduces cisplatin-induced renal damage. *Toxicology*, 2007; 230: 64–75
- [19] García-Piñeres A.J., Castro V., Mora G., Schmidt T.J., Strunck E., Pahl H.L., Merfort L.: Cysteine 38 in p65/NF- $\kappa$ B plays a crucial role in DNA binding inhibition by sesquiterpene lactones. *J. Biol. Chem.*, 2001; 276: 39713–39720
- [20] Gilmore T.D., Herscovitch M.: Inhibitors of NF- $\kappa$ B signaling: 785 and counting. *Oncogene*, 2006; 25: 6887–6899
- [21] Gómez-Hernández A., Martín-Ventura J.L., Sánchez-Galán E., Vidal C., Ortego M., Blanco-Colio L.M., Ortega L., Tuñón J., Egido J.: Overexpression of COX-2, Prostaglandin E synthase-1 and prostaglandin E receptors in blood mononuclear cells and plaque of patients with carotid atherosclerosis: regulation by nuclear factor- $\kappa$ B. *Atherosclerosis*, 2006; 187: 139–149
- [22] Gopal Y.N., Arora T.S., Van Dyke M.W.: Parthenolide specifically depletes histone deacetylase 1 protein and induces cell death through ataxia telangiectasia mutated. *Chem. Biol.*, 2007; 14: 813–823
- [23] Gopal Y.N., Chanchorn E., Van Dyke M.W.: Parthenolide promotes the ubiquitination of MDM2 and activates p53 cellular functions. *Mol. Cancer Ther.*, 2009; 8: 552–562
- [24] Guzman M.L., Rossi R.M., Karnischky L., Li X., Peterson D.R., Howard D.S., Jordan C.T.: The sesquiterpene lactone parthenolide induces apoptosis of human acute myelogenous leukemia stem and progenitor cells. *Blood*, 2005; 105: 4163–4169
- [25] Guzman M.L., Rossi R.M., Neelakantan S., Li X., Corbett C.A., Hassane D.C., Becker M.W., Bennett J.M., Sullivan E., Lachowicz J.L., Vaughan A., Sweeney C.J., Matthews W., Carroll M., Liesveld J.L., Crooks P.A., Jordan C.T.: An orally bioavailable parthenolide analog selectively eradicates acute myelogenous leukemia stem and progenitor cells. *Blood*, 2007; 110: 4427–4435
- [26] Hashizume M., Hayakawa N., Mihara M.: IL-6 trans-signalling directly induces RANKL on fibroblast-like synovial cells and is involved in RANKL induction by TNF- $\alpha$  and IL-17. *Rheumatology (Oxford)*, 2008; 47: 1635–1640



- [27] Hehner S.P., Heinrich M., Bork P.M., Vogt M., Ratter F., Lehmann V., Schulze-Osthoff K., Dröge W., Schmitz M.L.: Sesquiterpene lactones specifically inhibit activation of NF- $\kappa$ B by preventing the degradation of I $\kappa$ B- $\alpha$  and I $\kappa$ B- $\beta$ . *J. Biol. Chem.*, 1998; 273: 1288–1297
- [28] Hehner S.P., Hofmann T.G., Dröge W., Schmitz M.L.: The antiinflammatory sesquiterpene lactone parthenolide inhibits NF- $\kappa$ B by targeting the I $\kappa$ B kinase complex. *J. Immunol.*, 1999; 163: 5617–5623
- [29] Herrera F., Martín V., Rodríguez-Blanco J., García-Santos G., Antolín I., Rodríguez C.: Intracellular redox state regulation by parthenolide. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 2005; 332: 321–325
- [30] Hobbs C.: Feverfew. *Tanacetum parthenium*. *Herbal Gram.*, 1989; 20: 267–270
- [31] Hwang D., Fischer N.H., Jang B.C., Tak H., Kim J.K., Lee W.: Inhibition of the expression of inducible cyclooxygenase and proinflammatory cytokines by sesquiterpene lactones in macrophages correlates with the inhibition of MAP kinases. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 1996; 226: 810–818
- [32] Hwang D.R., Wu Y.S., Chang C.W., Lien T.W., Chen W.C., Tan U.K., Hsu J.T., Hsieh H.P.: Synthesis and anti-viral activity of a series of sesquiterpene lactones and analogues in the subgenomic HCV replication system. *Bioorg. Med. Chem.*, 2006; 14: 83–91
- [33] Idris A.I., Libouban H., Nyangoga H., Landao-Bassonga E., Chappard D., Ralston S.H.: Pharmacologic inhibitors of I $\kappa$ B kinase suppress growth and migration of mammary carcinosarcoma cells *in vitro* and prevent osteolytic bone metastasis *in vivo*. *Mol. Cancer Ther.*, 2009; 8: 2339–2347
- [34] Ito A., Kawaguchi Y., Lai C.H., Kovacs J.J., Higashimoto Y., Appella E., Yao T.P.: MDM2-HDAC1-mediated deacetylation of p53 is required for its degradation. *EMBO J.*, 2002; 21: 6236–6245
- [35] Izumi E., Morello L.G., Ueda-Nakamura T., Yamada-Ogata S.F., Filho B.P., Cortez D.A., Ferreira I.C., Morgado-Díaz J.A., Nakamura C.V.: Trypanosoma cruzi: antiprotozoal activity of parthenolide obtained from *Tanacetum parthenium* (L.) Schultz Bip. (Asteraceae, Compositae) against epimastigote and amastigote forms. *Exp. Parasitol.*, 2008; 118: 324–330
- [36] Jeong W.S., Keum Y.S., Chen C., Jain M.R., Shen G., Kim J.H., Li W., Kong A.N.: Differential expression and stability of endogenous nuclear factor E2-related factor 2 (Nrf2) by natural chemopreventive compounds in HepG2 human hepatoma cells. *J. Biochem. Mol. Biol.*, 2005; 38: 167–176
- [37] Jin P., Madieh S., Augsburg L.L.: The solution and solid state stability and excipient compatibility of parthenolide in feverfew. *AAPS PharmSciTech.*, 2007; 8: E105
- [38] Johnson E.S., Kadam N.P., Hylands D.M., Hylands P.J.: Efficacy of feverfew as prophylactic treatment of migraine. *Br. Med. J.*, 1985; 291: 569–573
- [39] Jung M., Dritschilo A.: NF- $\kappa$ B signaling pathway as a target for human tumor radiosensitization. *Semin. Radiat. Oncol.*, 2001; 11: 346–351
- [40] Kang B.Y., Chung S.W., Kim T.S.: Inhibition of interleukin-12 production in lipopolysaccharide-activated mouse macrophages by parthenolide, a predominant sesquiterpene lactone in *Tanacetum parthenium*: involvement of nuclear factor- $\kappa$ B. *Immunol. Lett.*, 2001; 77: 159–163
- [41] Kang S.N., Kim S.H., Chung S.W., Lee M.H., Kim H.J., Kim T.S.: Enhancement of 1  $\alpha$ ,25-dihydroxyvitamin D(3)-induced differentiation of human leukaemia HL-60 cells into monocytes by parthenolide via inhibition of NF- $\kappa$ B activity. *Br. J. Pharmacol.*, 2002; 135: 1235–1244
- [42] Karin M., Cao Y., Greten F.R., Li Z.W.: NF- $\kappa$ B in cancer: from innocent bystander to major culprit. *Nat. Rev. Cancer*, 2002; 2: 301–310
- [43] Kawasaki B.T., Hurt E.M., Kalathur M., Duhagon M.A., Milner J.A., Kim Y.S., Farrar W.L.: Effects of the sesquiterpene lactone parthenolide on prostate tumor-initiating cells: An integrated molecular profiling approach. *Prostate*, 2009; 69: 827–837
- [44] Kim H.J., Hawke N., Baldwin A.S.: NF- $\kappa$ B and IKK as therapeutic targets in cancer. *Cell Death Differ.*, 2006; 13: 738–747
- [45] Kim J.H., Liu L., Lee S.O., Kim Y.T., You K.R., Kim D.G.: Susceptibility of cholangiocarcinoma cells to parthenolide-induced apoptosis. *Cancer Res.*, 2005; 65: 6312–6320
- [46] Kim R., Ohi Y., Inoue H., Aogi K., Toge T.: Introduction of gadd153 gene into gastric cancer cells can modulate sensitivity to anticancer agents in association with apoptosis. *Anticancer Res.*, 1999; 19: 1779–1783
- [47] Kishida Y., Yoshikawa H., Myoui A.: Parthenolide, a natural inhibitor of nuclear factor- $\kappa$ B, inhibits lung colonization of murine osteosarcoma cells. *Clin. Cancer Res.*, 2007; 13: 59–67
- [48] Knight D.W.: Feverfew: chemistry and biological activity. *Nat. Prod. Rep.*, 1995; 12: 271–276
- [49] Kurdi M., Booz G.W.: Evidence that IL-6-type cytokine signaling in cardiomyocytes is inhibited by oxidative stress: parthenolide targets JAK1 activation by generating ROS. *J. Cell. Physiol.*, 2007; 212: 424–431
- [50] Kurdi M., Bowers M.C., Dado J., Booz G.W.: Parthenolide induces a distinct pattern of oxidative stress in cardiac myocytes. *Free Radic. Biol. Med.*, 2007; 42: 474–481
- [51] Kwok B.H., Koh B., Ndubuisi M.I., Elofsson M., Crews C.M.: The anti-inflammatory natural product parthenolide from the medicinal herb Feverfew directly binds to and inhibits I $\kappa$ B kinase. *Chem. Biol.*, 2001; 8: 759–766
- [52] Lager G., O'Carroll D., Rembold M., Khier H., Tischler J., Weitzer G., Schuettengruber B., Hauser C., Brunmeir R., Jenuwein T., Seiser C.: Essential function of histone deacetylase 1 in proliferation control and CDK inhibitor repression. *EMBO J.*, 2002; 21: 2672–2681
- [53] Legendre F., Dudhia J., Pujol J.P., Bogdanowicz P.: JAK/STAT but not ERK1/ERK2 pathway mediates interleukin (IL)-6/soluble IL-6R down-regulation of Type II collagen, aggrecan core, and link protein transcription in articular chondrocytes. Association with a down-regulation of SOX9 expression. *J. Biol. Chem.*, 2003; 278: 2903–2912
- [54] Lesiak K., Koprowska K., Zalesna I., Nejc D., Duchler M., Czyz M.: Parthenolide, a sesquiterpene lactone from the medical herb feverfew, shows anticancer activity against human melanoma cell *in vitro*. *Melanoma Res.*, 2010; 20: 21–34
- [55] Levy D.E., Darnell J.E. Jr.: Stats: transcriptional control and biological impact. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.*, 2002; 3: 651–662
- [56] Li M., Brooks C.L., Wu-Baer F., Chen D., Baer R., Gu W.: Mono- versus polyubiquitination: differential control of p53 fate by Mdm2. *Science*, 2003; 302: 1972–1975
- [57] Li X., Cui X., Li Y., Fitz Y., Hsu L., Eichacker P.Q.: Parthenolide has limited effects on nuclear factor- $\kappa$ B increases and worsens survival in lipopolysaccharide-challenged C57BL/6J mice. *Cytokine*, 2006; 33: 299–308
- [58] Lin A.: Activation of the JNK signaling pathway: breaking the brake on apoptosis. *Bioessays*, 2003; 25: 17–24
- [59] Lindenmeyer M.T., Hrenn A., Kern C., Castro V., Murillo R., Müller S., Laufer S., Schulte-Mönting J., Siedle B., Merfort I.: Sesquiterpene lactones as inhibitors of IL-8 expression in HeLa cells. *Bioorg. Med. Chem.*, 2006; 14: 2487–2497
- [60] Lindenmeyer M.T., Kern C., Sparna T., Donauer J., Wilpert J., Schwager J., Porath D., Kreuz C., Timmer J., Merfort I.: Microarray analysis reveals influence of the sesquiterpene lactone parthenolide on gene transcription profiles in human epithelial cells. *Life Sci.*, 2007; 80: 1608–1618
- [61] Liu L., Scolnick D.M., Trievel R.C., Zhang H.B., Marmorstein R., Halazonetis T.D., Berger S.L.: p53 sites acetylated *in vitro* by PCAF and p300 are acetylated *in vivo* in response to DNA damage. *Mol. Cell Biol.*, 1999; 19: 1202–1209
- [62] Liu Y., Adachi M., Zhao S., Hareyama M., Koong A.C., Luo D., Rando T.A., Imai K., Shinomura Y.: Preventing oxidative stress: a new role of XBP1. *Cell Death Differ.*, 2009; 16: 847–857
- [63] Liu Y., Lu W.L., Guo J., Du J., Li T., Wu J.W., Wang G.L., Wang J.C., Zhang X., Zhang Q.: A potential target associated with both cancer and cancer stem cells: a combination therapy for eradication of breast cancer using vinorelbine stealthy liposomes plus parthenolide stealthy liposomes. *J. Control. Release*, 2008; 129: 18–25
- [64] Liu Z., Liu S., Xie Z., Pavlovicz R.E., Wu J., Chen P., Aimiwu J., Pang J., Bhasin D., Neviani P., Fuchs J.R., Plass C., Li P.K., Li C., Huang T.H., Wu L.C., Rush L., Wang H., Perrotti D., Marcucci G., Chan K.K.: Modulation of DNA methylation by a sesquiterpene lactone parthenolide. *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 2009; 329: 505–514
- [65] Li-Weber M., Giaisi M., Treiber M.K., Krammer P.H.: The anti-inflammatory sesquiterpene lactone parthenolide suppresses IL-4 gene expression in peripheral blood T. *Eur. J. Immunol.*, 2002; 32: 3587–3597
- [66] López-Franco O., Hernández-Vargas P., Ortiz-Muñoz G., Sanjuán G., Suzuki Y., Ortega L., Blanco J., Egidio J., Gómez-Guerrero C.: Parthenolide modulates the NF- $\kappa$ B-mediated inflammatory responses in experimental atherosclerosis. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.*, 2006; 26: 1864–1870
- [67] Lovat P.E., Oliverio S., Corazzari M., Ranalli M., Pearson A.D., Melino G., Piacentini M., Redfern C.P.: Induction of GADD153 and Bak: novel molecular targets of fenretinide-induced apoptosis of neuroblastoma. *Cancer Lett.*, 2003; 197: 157–163

- [68] Mendonca M.S., Chin-Sinex H., Gomez-Millan J., Datzman N., Hardacre M., Comerford K., Nakshatri H., Nye M., Benjamin L., Mehta S., Patino F., Sweeney C.: Parthenolide sensitizes cells to X-ray-induced cell killing through inhibition of NF- $\kappa$ B and split-dose repair. *Radiat. Res.*, 2007; 168: 689–697
- [69] Miglietta A., Bozzo F., Gabriel L., Bocca C.: Microtubule-interfering activity of parthenolide. *Chem. Biol. Interact.*, 2004; 149: 165–173
- [70] Minucci S., Pelicci P.G.: Histone deacetylase inhibitors and the promise of epigenetic (and more) treatments for cancer. *Nat. Rev. Cancer*, 2006; 6: 38–51
- [71] Miyata N., Gon Y., Nunomura S., Endo D., Yamashita K., Matsumoto K., Hashimoto S., Ra C.: Inhibitory effects of parthenolide on antigen-induced microtubule formation and degranulation in mast cells. *Int. Immunopharmacol.*, 2008; 8: 874–880
- [72] Murphy J.J., Heptinstall S., Mitchell J.R.: Randomised double-blind placebo-controlled trial of feverfew in migraine prevention. *Lancet*, 1988; 2: 189–192
- [73] Nakshatri H., Bhat-Nakshatri P., Martin D.A., Goulet R.J.Jr., Sledge G.W. Jr.: Constitutive activation of NF- $\kappa$ B during progression of breast cancer to hormone-independent growth. *Mol. Cell. Biol.*, 1997; 17: 3629–3639
- [74] Nakshatri H., Rice S.E., Bhat-Nakshatri P.: Antitumor agent parthenolide reverses resistance of breast cancer cells to tumor necrosis factor-related apoptosis-inducing ligand through sustained activation of c-Jun N-terminal kinase. *Oncogene*, 2004; 23: 7330–7344
- [75] Nozaki S., Sledge Jr. G.W., Nakshatri H.: Repression of GADD153/CHOP by NF- $\kappa$ B: a possible cellular defense against endoplasmic reticulum stress-induced cell death. *Oncogene*, 2001; 20: 2178–2185
- [76] Onozato T., Nakamura C.V., Cortez D.A., Dias Filho B.P., Ueda-Nakamura T.: Tanacetum vulgare: antitherpes virus activity of crude extract and the purified compound parthenolide. *Phytother. Res.*, 2009; 23: 791–796
- [77] Oyadomari S., Mori M.: Roles of CHOP/GADD153 in endoplasmic reticulum stress. *Cell Death Differ.*, 2004; 11: 381–389
- [78] Pajak B., Gajkowska B., Orzechowski A.: Molecular basis of parthenolide-dependent proapoptotic activity in cancer cells. *Folia Histochem. Cytobiol.*, 2008; 46: 129–135
- [79] Parada-Turska J., Paduch R., Majdan M., Kandefer-Szerszeń M., Rzeski W.: Antiproliferative activity of parthenolide against three human cancer cell lines and human umbilical vein endothelial cells. *Pharmacol. Rep.*, 2007; 59: 233–237
- [80] Patel N.M., Nozaki S., Shortle N.H., Bhat-Nakshatri P., Newton T.R., Rice S., Gelfanov V., Boswell S.H., Goulet R.J. Jr., Sledge G.W. Jr., Nakshatri H.: Paclitaxel sensitivity of breast cancer cells with constitutively active NF- $\kappa$ B is enhanced by I $\kappa$ B $\alpha$  super-repressor and parthenolide. *Oncogene*, 2000; 19: 4159–4169
- [81] Patrick M., Heptinstall S., Doherty M.: Feverfew in rheumatoid arthritis: a double blind, placebo controlled study. *Ann. Rheum. Dis.*, 1989; 48: 547–549
- [82] Pittler M.H., Ernst E.: Feverfew for preventing migraine. *Cochrane Database Syst. Rev.*, 2004; (1): CD002286
- [83] Powis G., Gallegos A., Abraham R.T., Ashendel C.L., Zalkow L.H., Grindey G.B., Bonjouklian R.: Increased intracellular Ca<sup>2+</sup> signaling caused by the antitumor agent helenalin and its analogues. *Cancer Chemother. Pharmacol.*, 1994; 34: 344–350
- [84] Pozarowski P., Halicka D.H., Darzynkiewicz Z.: Cell cycle effects and caspase-dependent and independent death of HL-60 and Jurkat cells treated with the inhibitor of NF- $\kappa$ B parthenolide. *Cell Cycle*, 2003; 2: 377–383
- [85] Pozarowski P., Halicka D.H., Darzynkiewicz Z.: NF- $\kappa$ B inhibitor sesquiterpene parthenolide induces concurrently atypical apoptosis and cell necrosis: difficulties in identification of dead cells in such cultures. *Cytometry A*, 2003; 54: 118–124
- [86] Ralstin M.C., Gage E.A., Yip-Schneider M.T., Klein P.J., Wiebke E.A., Schmidt C.M.: Parthenolide cooperates with NS398 to inhibit growth of human hepatocellular carcinoma cells through effects on apoptosis and G0-G1 cell cycle arrest. *Mol. Cancer Res.*, 2006; 4: 387–399
- [87] Rayburn E., Zhang R., He J., Wang H.: MDM2 and human malignancies: expression, clinical pathology, prognostic markers, and implications for chemotherapy. *Curr. Cancer Drug Targets*, 2005; 5: 27–41
- [88] Riggins R.B., Zwart A., Nehra R., Clarke R.: The nuclear factor  $\kappa$ B inhibitor parthenolide restores ICI 182,780 (Faslodex; fulvestrant)-induced apoptosis in antiestrogen-resistant breast cancer cells. *Mol. Cancer Ther.*, 2005; 4: 33–41
- [89] Saadane A., Masters S., DiDonato J., Li J., Berger M.: Parthenolide inhibits I $\kappa$ B kinase, NF- $\kappa$ B activation, and inflammatory response in cystic fibrosis cells and mice. *Am. J. Respir. Cell Mol. Biol.*, 2007; 36: 728–736
- [90] Saburi Y., Nakagawa M., Ono M., Sakai M., Muramatsu M., Kohno K., Kuwano M.: Increased expression of glutathione S-transferase gene in cis-diamminedichloroplatinum(II)-resistant variants of a Chinese hamster ovary cell line. *Cancer Res.*, 1989; 49: 7020–7025
- [91] Schmidt T.J.: Helenanolide-type sesquiterpene lactones-III. Rates and stereochemistry in the reaction of helenalin and related helenanolides with sulfhydryl containing biomolecules. *Bioorg. Med. Chem.*, 1997; 5: 645–653
- [92] Schmidt T.J.: Toxic activities of sesquiterpene lactones: structural and biochemical aspects. *Curr. Organ. Chem.*, 1999; 3: 577–608
- [93] Schnyder B., Schnyder-Candrian S., Panski A., Bömmel H., Heim M., Duschl A., Moser R.: Phytochemical inhibition of interleukin-4-activated Stat6 and expression of VCAM-1. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 2002; 292: 841–847
- [94] Sheehan M., Wong H.R., Hake P.W., Malhotra V., O'Connor M., Zingarelli B.: Parthenolide, an inhibitor of the nuclear factor- $\kappa$ B pathway, ameliorates cardiovascular derangement and outcome in endotoxic shock in rodents. *Mol. Pharmacol.*, 2002; 61: 953–963
- [95] Sobota R., Szwed M., Kasza A., Bugno M., Kordula T.: Parthenolide inhibits activation of signal transducers and activators of transcription (STATs) induced by cytokines of the IL-6 family. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 2000; 267: 329–333
- [96] Steele A.J., Jones D.T., Ganeshaguru K., Duke V.M., Yogashangary B.C., North J.M., Lowdell M.W., Kottaridis P.D., Mehta A.B., Prentice A.G., Hoffbrand A.V., Wickremasinghe R.G.: The sesquiterpene lactone parthenolide induces selective apoptosis of B-chronic lymphocytic leukemia cells *in vitro*. *Leukemia*, 2006; 20: 1073–1079
- [97] Stepulak A., Stryjecka-Zimmer M., Polberg K.: Inhibitory deacetylaz histonów jako potencjalne cytotatyki nowej generacji. *Post. Hig. Med. Dośw.*, 2005; 59: 68–74
- [98] Sun Y., St Clair D.K., Fang F., Warren G.W., Rangnekar V.M., Crooks P.A., St Clair W.H.: The radiosensitization effect of parthenolide in prostate cancer cells is mediated by nuclear factor- $\kappa$ B inhibition and enhanced by the presence of PTEN. *Mol. Cancer Ther.*, 2007; 6: 2477–2486
- [99] Suvannasankha A., Crean C.D., Shanmugam R., Farag S.S., Abonour R., Boswell H.S., Nakshatri H.: Antimyeloma effects of a sesquiterpene lactone parthenolide. *Clin. Cancer Res.*, 2008; 14: 1814–1822
- [100] Sweeney C., Li L., Shanmugam R., Bhat-Nakshatri P., Jayaprakasan V., Baldrige L.A., Gardner T., Smith M., Nakshatri H., Cheng L.: Nuclear factor- $\kappa$ B is constitutively activated in prostate cancer *in vitro* and is overexpressed in prostatic intraepithelial neoplasia and adenocarcinoma of the prostate. *Clin. Cancer Res.*, 2004; 10: 5501–5507
- [101] Tanaka K., Hasegawa J., Asamitsu K., Okamoto T.: Prevention of the ultraviolet B-mediated skin photoaging by a nuclear factor  $\kappa$ B inhibitor, parthenolide. *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 2005; 315: 624–630
- [102] Tang G., Minemoto Y., Dibling B., Purcell N.H., Li Z., Karin M., Lin A.: Inhibition of JNK activation through NF- $\kappa$ B target genes. *Nature*, 2001; 414: 313–317
- [103] Tassorelli C., Greco R., Morazzoni P., Riva A., Sandrini G., Nappi G.: Parthenolide is the component of tanacetum parthenium that inhibits nitroglycerin-induced Fos activation: studies in an animal model of migraine. *Cephalalgia*, 2005; 25: 612–621
- [104] Thieu V.T., Nguyen E.T., McCarthy B.P., Bruns H.A., Kapur R., Chang C.H., Kaplan M.H.: IL-4-stimulated NF- $\kappa$ B activity is required for Stat6 DNA binding. *J. Leukoc. Biol.*, 2007; 82: 370–379
- [105] Tian Z.J., Cui W., Li Y.J., Hao Y.M., Du J., Liu F., Zhang H., Zu X.G., Liu S.Y., Chen L., An W.: Different contributions of STAT3, ERK1/2, and PI3-K signaling to cardiomyocyte hypertrophy by cardiotrophin-1. *Acta Pharmacol. Sin.*, 2004; 25: 1157–1164
- [106] Tiunan T.S., Ueda-Nakamura T., Garcia Cortez D.A., Dias Filho B.P., Morgado-Díaz J.A., de Souza W., Nakamura C.V.: Antileishmanial activity of parthenolide, a sesquiterpene lactone isolated from Tanacetum parthenium. *Antimicrob. Agents Chemother.*, 2005; 49: 176–182
- [107] Uchi H., Arrighi J.F., Aubry J.P., Furue M., Hauser C.: The sesquiterpene lactone parthenolide inhibits LPS- but not TNF-alpha-induced maturation of human monocyte-derived dendritic cells by inhibition of the p38 mitogen-activated protein kinase pathway. *J. Allergy Clin. Immunol.*, 2002; 110: 269–276
- [108] Umemura K., Itoh T., Hamada N., Fujita Y., Akao Y., Nozawa Y., Matsuura N., Iinuma M., Ito M.: Preconditioning by sesquiterpene lactone enhances H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-induced Nrf2/ARE activation. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 2008; 368: 948–954

- [109] Vassilev L.T., Vu B.T., Graves B., Carvajal D., Podlaski F., Filipovic Z., Kong N., Kammlott U., Lukacs C., Klein C., Fotouhi N., Liu E.A.: *In vivo* activation of the p53 pathway by small-molecule antagonists of MDM2. *Science*, 2004; 303: 844–848
- [110] Vogler B.K., Pittler M.H., Ernst E.: Feverfew as a preventive treatment for migraine: a systematic review. *Cephalalgia*, 1998; 18: 704–708
- [111] Vousden K.H., Prives C.: Blinded by the Light: The Growing Complexity of p53. *Cell*, 2009; 137: 413–431
- [112] Wang W., Abbruzzese J.L., Evans D.B., Larry L., Cleary K.R., Chiao P.J.: The nuclear factor-kappa B RelA transcription factor is constitutively activated in human pancreatic adenocarcinoma cells. *Clin. Cancer Res.*, 1999; 5: 119–127
- [113] Wang W., Adachi M., Kawamura R., Sakamoto H., Hayashi T., Ishida T., Imai K., Shinomura Y.: Parthenolide-induced apoptosis in multiple myeloma cells involves reactive oxygen species generation and cell sensitivity depends on catalase activity. *Apoptosis*, 2006; 11: 2225–2235
- [114] Watson C., Miller D.A., Chin-Sinex H., Losch A., Hughes W., Sweeney C., Mendonca M.S.: Suppression of NF- $\kappa$ B activity by parthenolide induces X-ray sensitivity through inhibition of split-dose repair in TP53 null prostate cancer cells. *Radiat. Res.*, 2009; 171: 389–396
- [115] Wen J., You K.R., Lee S.Y., Song C.H., Kim D.G.: Oxidative stress-mediated apoptosis. The anticancer effect of the sesquiterpene lactone parthenolide. *J. Biol. Chem.*, 2002; 277: 38954–38964
- [116] Wiedhopf R.M., Young M., Bianchi E., Cole J.R.: Tumor inhibitory agent from *Magnolia grandiflora* (*Magnoliaceae*). I. Parthenolide. *J. Pharm. Sci.*, 1973; 62: 345
- [117] Woynarowski J.M., Konopa J.: Inhibition of DNA biosynthesis in HeLa cells by cytotoxic and antitumor sesquiterpene lactones. *Mol. Pharmacol.*, 1981; 19: 97–102
- [118] Yang J.Y., Zong C.S., Xia W., Wei Y., Ali-Seyed M., Li Z., Broglio K., Berry D.A., Hung M.C.: MDM2 promotes cell motility and invasiveness by regulating E-cadherin degradation. *Mol. Cell. Biol.*, 2006; 26: 7269–7282
- [119] Yao H., Tang X., Shao X., Feng L., Wu N., Yao K.: Parthenolide protects human lens epithelial cells from oxidative stress-induced apoptosis via inhibition of activation of caspase-3 and caspase-9. *Cell Res.*, 2007; 17: 565–571
- [120] Yip K.H., Zheng M.H., Feng H.T., Steer J.H., Joyce D.A., Xu J.: Sesquiterpene lactone parthenolide blocks lipopolysaccharide-induced osteolysis through the suppression of NF- $\kappa$ B activity. *J. Bone Miner. Res.*, 2004; 19: 1905–1916
- [121] Yip-Schneider M.T., Nakshatri H., Sweeney C.J., Marshall M.S., Wiebke E.A., Schmidt C.M.: Parthenolide and sulindac cooperate to mediate growth suppression and inhibit the nuclear factor- $\kappa$ B pathway in pancreatic carcinoma cells. *Mol. Cancer Ther.*, 2005; 4: 587–594
- [122] Yoo C.B., Jones P.A.: Epigenetic therapy of cancer: past, present and future. *Nat. Rev. Drug Discov.*, 2006; 5: 37–50
- [123] Zhang D., Qiu L., Jin X., Guo Z., Guo C.: Nuclear factor-kappaB inhibition by parthenolide potentiates the efficacy of Taxol in non-small cell lung cancer *in vitro* and *in vivo*. *Mol. Cancer Res.*, 2009; 7: 1139–1149
- [124] Zhang K., Mack P., Wong K.P.: Glutathione-related mechanisms in cellular resistance to anticancer drugs. *Int. J. Oncol.*, 1998; 12: 871–882
- [125] Zhang S., Lin Z.N., Yang C.F., Shi X., Ong C.N., Shen H.M.: Suppressed NF- $\kappa$ B and sustained JNK activation contribute to the sensitization effect of parthenolide to TNF- $\alpha$ -induced apoptosis in human cancer cells. *Carcinogenesis*, 2004; 25: 2191–2199
- [126] Zhang S., Ong C.N., Shen H.M.: Critical roles of intracellular thiols and calcium in parthenolide-induced apoptosis in human colorectal cancer cells. *Cancer Lett.*, 2004; 208: 143–153
- [127] Zhang S., Won Y.K., Ong C.N., Shen H.M.: Anti-cancer potential of sesquiterpene lactones: bioactivity and molecular mechanisms. *Curr. Med. Chem. Anticancer Agents*, 2005; 5: 239–249
- [128] Zhou J., Zhang H., Gu P., Bai J., Margolick J.B., Zhang Y.: NF- $\kappa$ B pathway inhibitors preferentially inhibit breast cancer stem-like cells. *Breast Cancer Res. Treat.*, 2008; 111: 419–427
- [129] Zhou Y., Yau C., Gray J.W., Chew K., Dairkee S.H., Moore D.H., Eppenberger U., Eppenberger-Castori S., Benz C.C.: Enhanced NF kappa B and AP-1 transcriptional activity associated with antiestrogen resistant breast cancer. *BMC Cancer*, 2007; 7: 59
- [130] Zilfou J.T., Lowe S.W.: Tumor suppressive functions of p53. *CSH Perspect. Biol.*, 2009; 1: a001883
- [131] Zingarelli B., Hake P.W., Denenberg A., Wong H.R.: Sesquiterpene lactone parthenolide, an inhibitor of IkappaB kinase complex and nuclear factor-kappaB, exerts beneficial effects in myocardial reperfusion injury. *Shock*, 2002; 17: 127–134
- [132] Zunino S.J., Ducore J.M., Storms D.H.: Parthenolide induces significant apoptosis and production of reactive oxygen species in high-risk pre-B leukemia cells. *Cancer Lett.*, 2007; 254: 119–127

Autorki deklaruja brak potencjalnych konfliktow interesow.