

文章编号:1004-0374(2008)01-0076-05

环氧化酶-2及其抑制剂,现在何处?又应走向何方?

罗成^{1,2*}, 杨叶³, 赵勤实^{1*}

(1 中国科学院昆明植物研究所植物化学国家重点实验室, 昆明 650204; 2 芬兰土尔库大学生物医学科学研究所;
3 新加坡南洋理工大学生命科学院计算和结构生物学实验室)

摘要: 本文回顾环氧化酶-2 (COX-2) 抑制剂的发展史和分析新的筛选方法: 如平衡抑制剂对 COX-1/COX-2 的选择性, 寻找双靶点或多靶点的抑制剂。在计算机辅助药物设计中结合更多的灵活的动力学原理, 在天然分子的基础上设计新的药物分子, 辅以脂质体包裹剂型实现药物靶向投递, 以图研究出新一代更为安全的 COX-2 抑制剂来预防、控制癌症和其他疾病。

关键词: 选择性环氧化酶-2 抑制剂; 非甾体抗炎药; 细胞凋亡; 毛细血管生成; 分子对接; 脂质体
中图分类号: Q554.6; R730.1; Q946 文献标识码: A

COX-2 and COX-2 inhibitor, where are we? where do we go?

LUO Cheng^{1,2*}, YANG Ye³, ZHAO Qin-shi^{1*}

(1 Kunming Institute of Botany, Chinese Academy of Science, Kunming 650204, China; 2 Institute of Biomedicine, University of Turku, Finland; 3 School of Biological Science, Nanyang Technological University, Singapore)

Abstract: This review is to discuss the COX-2 inhibitor screening from cell based bioassay and computer-based molecular docking technique towards more balanced inhibition of COX-1/COX-2, multiple-target inhibitors, and alternative choice of delivery, especially liposome encapsulated nanoparticles, in order to exploit new generation of safer COX-2 inhibitors for prevention and medication of cancer and other diseases.

Key words: selective COX-2 inhibitor; NSAID; apoptosis; angiogenesis; molecular docking; liposome

1 COX-2 和 COX-1 的结构与调控差异使之成为新药靶点

环氧化酶 (COX) 又称前列腺素 (PG) 合成酶 (PGHS), 是前列腺素合成过程中一个主要的限速酶。人体细胞内的花生四烯酸经过环氧化酶的作用后产生数十种前列腺素。前列腺素 E₂ (PGE₂) 是其中最为重要的通过受体 (EP1-EP4) 而行使功能的活跃终端分子, 基本上存在于人体的每一个部位。然而, 在 1991 年又一同工异构酶被发现, 随后被命名为环氧化酶-2 (COX-2), 而且很快发现 COX-1 在大多数细胞中是构成型, 承担基本的生理功能; 而 COX-2 则是诱导型, 参与病理条件下的应急反应^[1]。COX-1 和 COX-2 基因具有不同的结构, COX-1 基因位于 9q32—q33.3, 而 COX-2 基因位于 1q25。COX-2

含有 10 个外显子和 9 个内含子, 外显子约 8.3kb, 其 mRNA 转录产物为 4.5kb。上游 5' 端非翻译区长约 0.8kb, 含有若干转录调控序列。COX-2 基因的转录、表达和调控也十分不同, 调控主要在转录水平, 与 COX-2 启动子转录激活密切相关的多个转录因子结合部位有 C/EBP、AP-2、SP1、NF-κB、CRE、Ets-1、PEA-3 和 GATA-1。COX-2 是由于炎症因子, 如脂多糖、肿瘤坏死因子-α、白细胞介素-1、血小板源生长因子, 以及其他生长因素诱发不同的信号经 p38MAPK 传导系统的瀑布传递而产生^[2]。例如在各种急性和慢性炎症条件下, 巨噬

收稿日期: 2007-09-19

*通讯作者: E-mail: Luo58@yahoo.com, Qinshizhaosp@yahoo.com

细胞、单核细胞、上皮细胞、滑膜细胞及癌细胞都呈COX-2阳性。COX-2主要靠近核膜周围,但高表达时也延伸到内质网,而COX-1则只分布在内质网上^[3,4]。

非甾体类抗炎药,如阿司匹林、布洛芬等是常用的抑制COX-1的解热镇痛药。而COX-1是保卫胃黏膜运动的生理酶,长期或过量使用这类非甾体类抗炎药,在抑制炎症缓解疼痛的同时,不可避免地损伤和刺激消化道,引起胃出血和溃疡等不良反应。COX-2的发现为制成既能抗炎止痛,又没有胃肠不良反应的药物提供了可能,因此COX-2迅速成为药物靶点。1991年,Needleman提出研究开发选择性COX-2抑制剂的设想^[5,6],随后许多大制药公司都接受,并开始COX-2抑制剂的研究与商业化生产。随着孟山都公司及瑞辉公司的先后投入,又由于COX-2是一个非膜蛋白,因而在1996年COX-2的高分辨率的大分子结构得以迅速完成,其结构展示COX-2在酶活性中心有一个氨基酸不同于COX-1,在COX-2中的523位是一个分子较小的缬氨酸,而COX-1则是较大的异亮氨酸。这样COX-2在酶活性中心形成一个较COX-1大的口袋空穴,这就是所有COX-2选择性抑制药设计的基本依据^[7]。由于已知COX-2的高分辨率结构,利用分子对接等计算机辅助设计技术方法能够设计出高选择性比率的COX-2抑制剂。这也标志当时是正式进入药物设计时代的开端,所以多数制药公司都有把选择性抑制COX-2的比率推高的趋势和能力。

1998年12月,第一个根据蛋白质结构计算机辅助设计的合成性COX-2选择性抑制剂药西乐葆(Celecoxib)在美国上市,随后很快进入包括中国在内的100多个国家。当时西乐葆被看成为全球第一个突破性COX-2抑制剂,用于缓解成人骨关节炎和类风湿关节炎,以及家族性腺瘤息肉病(familial adenomatous polyposis, FAP)的辅助治疗。在美国还被批准可用于急性疼痛(如术后疼痛和原发性痛经)。与传统非甾体类抗炎药(non steroid anti-inflammatory drugs, NSAIDs)相比,西乐葆在胃肠道安全性方面的确表现出更显著的优势,被誉为“超级”阿斯匹林,成为治疗中、重度关节炎疼痛和炎症的首选药。1999年,西乐葆的年销售额已突破20亿美元。随后默克公司推出万络(Vioxx)和依托西布(Arcoxia),诺华公司推出Prexige(Lumiracoxib)。然而,2004年默克公司的腺瘤息肉预防APPROVe(adenomatous polyp

prevention on Vioxx) 临床试验,显示与万络服用有关的心肌梗死和中风事件比对照组增加2倍^[8]。过量的危险性,使该公司在2004年9月30日不得不撤回万络药物。针对与COX-2抑制剂相关的一系列猝死事件,美国食品与药品局(Food and Drug Agency, FDA)的咨询小组重新评估了COX-2抑制剂,并得出一致结论,即整类COX-2抑制剂都有增加患心血管疾病的可能性,不过也允许包括万络在内的COX-2抑制剂保留在市场上,但必需有心血管副作用警告的标签。这些事件都被电视传媒以重大新闻在世界范围内播出。这样无疑使整个COX-2抑制剂药的处方量大大下降。还值得一提的是由于心血管副作用的临床试验结果,2004年12月20日,美国国立卫生研究院也不得不终止瑞辉公司西乐葆对老年痴呆的临床试验。由此可见,被医药界寄予厚望的COX-2抑制剂的确处于十分尴尬的境地,而且COX-2抑制剂的争议远未因2004年的退市风波而终止^[9]。2007年4月27日,默克公司收到FDA拒绝允许依托考昔(etoricoxib)进入美国市场的书面批文。然而,依托考昔目前在63个国家获得出售许可证,所以默克公司将继续在美国以外的市场销售。默克公司还坚称依托考昔高度安全,将继续申请美国许可证。不过多数同行认为该药与其第一“堂兄”罗非昔布(Rofecoxib)没有什么不同,仍有心血管疾病的风险。除了心血管副作用,2007年,诺华公司的COX-2抑制剂Lumiracoxib在澳大利亚发生8例肝中毒,也使Lumiracoxib不得不退出澳大利亚市场^[10]。

2 合成COX-2选择性抑制剂的心血管副作用

在1999—2000间的VIGOR(Vioxx gastrointestinal outcome research)^[11]和CLASS(Celecoxib long-term arthritis safety study)^[12]临床试验表明,选择性COX-2抑制剂的确使胃肠道副作用明显下降,但实际上与传统的NSAID相比,心血管副作用已经显露。随着更深入的COX-2研究,发现COX-2并不仅仅只是一个简单的“肇事者”。实际上COX-2组成型表达于多种器官或上皮细胞中。在输精管中COX-2在近端的表达是零,但逐步上升,到远端为最高。COX-2在中端可被PCR(polymerase chain reaction)检出,到远端COX-2的含量已是中端的COX-2含量的数百倍^[13],而且COX-2基本上可终身保持如此的高表达。如果COX-2有损伤时(比如婴儿期受雌激素影响)COX-1也可以补充,这就是为什么男性生殖功能可以无限延长的主要原因之一。

与男性对应的卵巢的卵泡 COX-2 也同样呈超高量的组成型表达。当然更为重要的是 COX-2 在血管内皮细胞的动脉、小动脉、肺和大脑皮质、胰脏 β -细胞都有组成型中低量表达。通过研究 COX-2 基因敲除小鼠,除导致生殖功能完全丧失外,还降低肾素表达。这与 COX-2 抑制剂的动物试验降低血压的结果一致^[14],因肾素能使血管紧张素原转化为血管紧张素,调节盐代谢及心血管活动。然而由于 COX-2 在肾小球肾皮质是组成型表达,但 COX-2 在一定程度上不仅仅影响肾素表达,也影响神经系统,比如 COX-2 表达在大脑皮质神经元、神经胶质细胞。所以早在 19 世纪 90 年代初英国 Vane 爵士等^[15]就预测 COX-2 抑制剂可能会导致 5% 不良的病理反应。

关于合成性 COX-2 抑制剂的心血管副作用,还有一最简单的理解是在某些人群心血管内 PGI₂ 血管舒张剂可能是由 COX-2 产生的,而不是 COX-1。COX-2 一旦被抑制掉,PGI₂ 减少,就将大大增加心血管堵塞的可能性。当然这一假说目前尚无实验证明。事实上,在 20 世纪 70—80 年代阿司匹林就已经证明具有保护心血管的功能,因为阿司匹林选择性地使血小板及血管内壁的 COX-1 活性中心的丝氨酸乙酰化,导致环氧化酶不可逆的失活。阿司匹林通过抑制 COX-1,减少血小板中血栓烷 A₂ (TXA₂) 的生成,从而抑制血小板聚集,抑制血栓形成。当然在大剂量时,阿司匹林也能抑制血管壁中由 COX-1 产生的扩血管素 PGI₂ 的合成,因而在大剂量时反而促进血栓形成。COX-2 抑制剂在上市之前,就被称为“超级”阿司匹林^[16]。因为 COX-2 抑制剂都是竞争性可逆的,可逆的抑制机理通常要较之不可逆抑制剂更为安全^[17],所以很少人考虑过它会有心血管副作用。

事实上心肌炎、冠状动脉粥样硬化中无论内皮细胞、缺血心肌细胞、平滑肌细胞和巨噬细胞都可大量表达 COX-2,一定量的 COX-2 抑制剂能降低炎症反应。不过由肾水肿、衰竭心肌产生的 COX-2 往往是一种保护作用。由于前列腺素分子成对的相互制约与调节,COX-2 抑制剂的服用在特定人群中很可能就是一把“双刃剑”^[18]。阿司匹林对 COX-2 的抑制作用强度是对 COX-1 抑制作用的 1/170,往往大剂量才能抑制 90% 以上的血栓烷 A₂,进而才能抗血栓形成。所以从目前事实来看阿司匹林实际上比 COX-2 抑制剂更为安全。过去选择性 COX-2 抑制

剂的研究目标标注重于 pIC₅₀(COX-1)/pIC₅₀(COX-2) 的比值,以求得非常高的 COX-2 选择性。COX-2 的过度抑制,以致影响了正常的生理调控。在 COX-2 抑制剂的研究过程中,我们需要平衡抑制剂对于 COX-1/COX-2 的选择性,以减少副作用的发生。

3 COX-2 抑制剂的抗癌作用及天然 COX-2 抑制剂的筛选

COX-2 不仅仅表达于炎症,如幽门螺旋杆菌引起的胃炎和不同的关节炎,而且也表达于几乎所有的癌细胞中,但一般不见于非转移特性的良性肿瘤,COX-2 表达只见于有转移特性的癌细胞。COX-2 还表达于近瘤的新生血管,促进新生血管生成,但 COX-2 不是导致正常细胞转化为癌细胞的原因,COX-2 产物能使血管内皮细胞生长因子(VEGF)表达上升,进而促进血管生成。COX-2 抑制剂除可下调前列腺素阻止肿瘤新生血管形成,从而阻止毛细血管向癌细胞提供营养,使肿瘤萎缩。COX-2 抑制剂也可下调基质金属蛋白酶(matrix metalloproteinases, MMP),降低细胞扩散。更为重要的是大多数 COX-2 抑制剂都能诱导细胞凋亡。事实上所有生产 COX-2 抑制剂的制药公司都进行了抗癌的临床试验,希望 COX-2 抑制剂能迅速成为抗癌药物,而由于心血管的副作用又不得不终止其临床试验。但事实上世界各国都在不同程度上使用现有的 COX-2 抑制剂作为某些晚期癌症的辅助药物,虽然疗效不是很肯定,但因 PGE₂ 受体可把化学信号传递给疼痛受体,所以止痛作用勿容置疑。

由于心血管副作用使得合成性 COX-2 抑制剂不能进入临床癌症化疗。近年从植物中发现的植物病原氧化酶与人体 COX-2 有极高的同源性,植物在受到病原体(病毒、细菌、真菌)的攻击时,其分子的防御和应激方式与哺乳动物相似^[19]。所以,寻找天然衍生的 COX-2 抑制剂变得十分紧迫。实际上只经初步纯化的天然 COX-2 抑制剂已经广泛用作癌症化疗中的辅助药物。如从车前草来的乌果酸初提取物占据美国很大市场。在传统中药及民族民间药物中,有大量的药物用于抗菌、消炎。因此,从天然植物中寻找 COX-2 抑制剂及其他药物具有很大潜力^[20]。

4 计算机辅助设计仍然是新型止痛抗癌 COX-2 抑制剂的筛选方法之一

西乐葆和格乐威克(Gleevec,白血病药)是世界上市最先两种使用蛋白质 X-射线衍射晶体结构,通过

计算机辅助设计的药物。随着大量高分辨率的蛋白质结构的完成,计算方法被广泛地运用在药物设计,分子对接就是众多计算方法中一个较为成熟的方法^[21]。通过小分子与受体或酶的对接进行模拟仿真,如果受体与配体在几何平面上是互补的,并涉及有利的分子相互作用,将潜在地结合于蛋白质内或表面。除了对接的低能量可显示其亲和力,当然对接位置也很重要。虽然,这些方法都需加以论证,不能替代传统的筛选方法,但分子对接在药物研究中已广为运用,成为一种快速、经济的药物小分子的初筛方法。COX-2的抑制机理是药物小分子占据了花生四烯酸分子氧化的反应空穴(Cavity)并和空穴内部表面的蛋白质分子紧密地结合,造成真正底物无法进入。COX-1和COX-2在反应空腔的构成上细微的不同之处使得我们可以获得具有很强的选择性抑制剂。目前我们正筛选数百种已经从植物分离检定了的小分子。通过对比实验结果,我们希望能够找到不同的小分子与特定酶、受体所具有的不同的结合(亲和)能力在结构上的特定依据,以便进一步地为药物设计和筛选做准备。由于X-射线得出的大分子结构一般偏紧密,我们也将结合分子动力学方法来放松配体及受体的结构。配体分子也在不停地做热运动中,分子动力学也可以用来在对接中产生类似的效果,以期获得更好的结果^[22,23]。分子配体除了与COX-2对接外,我们还应考虑其他具有类似调控机能的分子,如利用结构活性关系(structural activity relation, SAR)同时抑制COX-2及脂氧化酶(5-LOX),即一个药物小分子可以同时与两个酶或受体结合,比如10155BM567就与COX-1和5-LOX的反应空穴接合,有初步结果表明双功能抑制剂能产生协同作用抑制细胞生长^[24,25]。两个,甚至多个单独抑制结合的分子可能作用于同一酶或受体,比如拼接合成性的COX-2抑制剂及天然的COX-2抑制剂,这有可能使该分子的一个基团作用在活性位点-1,另一个基团作用在活性位点-2,比如COX-1和COX-2分别都有两个活性位点。一种从葡萄中分离出的植物雌激素(resveratrol)就是只作用于COX-1活性位点-2,即过氧化物酶的位置^[26,27],而不像西乐葆等COX-2抑制剂,抑制活性位点-1,即环氧酶的位置。我们在分子对接中也发现天然小分子对接活性位点-2的结合能要比活性位点-1的要低。我们在分子对接中还发现很多不是西乐葆等现有药物的潜在抑制分子,在活性位点-2上的结合

能量和在活性位点-1的结合很相近。因此,一旦候选分子的生物活性被证实,开发全新的COX-2抑制剂是有可能的。

5 利用脂质体包埋技术实现COX-2抑制剂的癌细胞靶向投递

脂质体(liposome)是一种磷脂和胆固醇组成的双层膜球形囊泡。脂质体可以用天然的磷脂和磷脂乙醇胺(phosphatidylethanolamine)或纯表面活性剂如DOPE(dioleoylphosphatidylethanolamine)经超声波、推挤法(extrusion)而获得。但目前只有推挤法制成的脂质体药物可供人类使用。脂质体通常含有一个核心的水溶液,所以,能携带亲水分子于核中。而疏水性化学物质可以溶解到脂质体膜内,所以,脂质体也可携带疏水性分子。由于其独特的性能脂质体可以用作载体而传递运输携带药物,而且溶质和疏水性分子都不能轻易通过脂质双层膜,脂质体双层可以与其他细胞膜双层融合,一定大小范围内的脂质体可被人体中巨噬细胞吞噬。脂质体药物在脂质体被巨噬细胞的胞溶体溶解后缓慢地释放出内含物。

脂质体的另一好处是它的癌细胞靶向能力,所有健康人的血管内皮都是由内皮细胞所包裹,严密阻止任何大颗粒从血液中漏出。但肿瘤血管则不具有相同水平的密封效果,小于400nm的脂质体通常可迅速从患者的血液进入肿瘤组织。抗癌药物,如阿霉素(Doxorubicin, Doxil)^[28]和柔红霉素(Daunorubicin, Daunoxome)^[29]利用的就是脂质体给药系统。根据同样原理,可以预见COX-2抑制剂的脂质体包埋的纳米分子将很有可能大大降低其心血管副作用。为了躲避人体的免疫系统,成为“隐形脂质体”,即脂质体外挂上惰性聚乙二醇(PEG),PEG脂质体延长循环中的药物运送^[30]。目前的困难是PEG涂的厚度,太厚则阻止脂质体与细胞的接合。为了特异性接合脂质体还可挂上单克隆抗体,或特异性抗原,这样脂质体药物就能够只送到病变组织。

COX-2抑制剂的研究正处于十字路口。能否找到毒副作用很小的COX-2抑制剂是一极富有挑战性的使命。天然产物结构多样化,许多天然药物在民间常用于抗炎及止痛。因此,从天然化合物中寻找COX-2抑制剂是一种机遇。从目前用固定化酶筛选模型来看,如果是大量筛选有可能成本高,但专一性高,也能筛选双作用点和多作用点的功能性小分子。如果在有COX-2高表达的细胞水平筛选,靶体会受到干扰,但成本低,也有观察多靶体的可能

性。总之,根据不同的候选分子来源,以及历史、文化等来建立其筛选体系十分重要,并以生物法筛选为主,计算机虚拟筛选为辅,结合重要的信号传递系统,如COX-1、p38MAPK和细胞生长、细胞凋亡等诸多因子对其筛选结果进行关联的有序分析,以及进行必要的化学修饰。

[参 考 文 献]

- [1] Luo C, Strauss L, Streng T, et al. Constant expression of cyclooxygenase-2 gene in the lower urinary tract and prostate of the male rats treated with estrogen. *Zeitschrift fur Naturforschung*, 2001, 56C: 455-63
- [2] Maier JA, Hla T, Maciag T. Cyclooxygenase is an immediate-early gene induced by interleukin-1 in human endothelial cells. *J Biol Chem*, 1990, 265: 10805-8
- [3] Xie WL, Chipman JG, Robertson DL, et al. Expression of a mitogen-responsive gene encoding prostaglandin synthase is regulated by mRNA splicing. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1991, 88: 692-6
- [4] Luo C, Kallajoki M, Makinen M, et al. Distribution and contribution of cyclooxygenase (COX)-2 for diabetogenesis in NOD mouse model. *Cell & Tissue Res*, 2002, 310: 169-75
- [5] Needleman P, Isakson PC. The discovery and function of COX-2. *J Rheumatol, Suppl.* 1997, 49: 6-8
- [6] Fu JY, Masferr JL, Seibert K, et al. The induction and suppression of prostaglandin h2 synthase (cyclooxygenase) in human monocytes. *J Biol Chem*, 1990, 265: 16737-40
- [7] Kurumbail RG, Stevens AM, Gierse JK, et al. Structural basis for selective inhibition of cyclooxygenase-2 by anti-inflammatory agents. *Nature*, 1996, 384: 644-8
- [8] Graham DJ. COX-2 inhibitors, other NSAIDs, and cardiovascular risk, the seduction of common sense. *JAMA*, 2006, 296(13): 1653-6
- [9] Luo C, He ML, Bohlin L. Is COX-2 a perpetrator or a protector? Selective COX-2 inhibitors remain controversial. *Acta Pharmacol Sin*, 2005, 26(8): 926-33
- [10] http://www.aihw.gov.au/cdarf/diseases_pages/index.cfm (Accessed: 10 August 2007)
- [11] Masferrer JL, Needleman P. Anti-inflammatory for cardiovascular disease. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2000, 97(23): 12400-1
- [12] Bombardier C, Laine L, Reicin A, et al. Comparison of upper gastrointestinal toxicity of rofecoxib and naproxen in patients with rheumatoid arthritis. *N Engl J Med*, 2000, 343(21): 1520-8
- [13] Luo C, Peng Y, Santti R, et al. COX-1 and 2 expressions in sex-related organs of neonatally estrogen treated rats and in activated and non-activated macrophage RAW264.7 cells with phytoestrogen. *Endocrine*, 2006, 29(1): 161-7
- [14] Wang JL, Cheng HF, Harris RC. Cyclooxygenase-2 inhibition decreases renin content and lowers blood pressure in a model of renovascular hypertension. *Hypertension*, 1999, 34(1): 96-101
- [15] Vane JR, Botting RM. Anti-inflammatory drugs and their mechanism of action. *Inflamm Res*, 1998, 47(2): S78-87
- [16] DeWitt DL. Cox-2-selective inhibitors: the new super aspirins. *Mol Pharmacol*, 1999, 55(4): 625-31
- [17] Helin-Salmivaara A, Virtanen A, Vesalainen R, et al. NSAID use and the risk of hospitalization for first myocardial infarction in the general population: a nationwide case-control study from Finland. *Eur Heart J*, 2006, 27(14): 1657-63
- [18] Wright JM. The double-edged sword of COX-2 selective NSAIDs. *Can Med Ass J*, 2002, 167(10): 1131-7
- [19] Bergey DR, Howe GA, Ryan CA. Polypeptide signaling for plant defensive genes exhibits analogies to defense signaling in animals. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1996, 93(22): 12053-8
- [20] Xu G, Hou AJ, Zhao QS, et al. Przewalskian A: A new C23 terpenoid with a 6/6/7 carbon ring skeleton from *Salvia przewalskii maxim.* *Org Lett*, 2006, 8(20): 4453-6
- [21] Luo C, Laaja P. Inhibitors of JAKs/STATs and the kinases, a possible new cluster of drugs. *Drug Discovery Today*, 2004, 9(6): 268-75
- [22] Lin JH, Perryman AL, Schames JR, et al. Computational drug design accommodating receptor flexibility: the relaxed complex scheme. *J Am Chem Soc*, 2002, 124(20): 5632-3
- [23] Zhang J, Li CJ, Chen KX, et al. Conformational transition pathway in the allosteric process of human glucokinase. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2006, 103: 13368-73
- [24] Julémont F, Dogné JM, Pirotte B, et al. Recent development in the field of dual COX / 5-LOX inhibitors. *Mini-Rev Med Chem*, 2004, 4(6): 633-8
- [25] Szweczek ML, Forti L, Stivala LA, et al. Resveratrol is a peroxidase-mediated inactivator of COX-1 but not COX-2. *J Biol Chem*, 279(21): 22727-37
- [26] Charlier C and Michaux C. Dual inhibition of cyclooxygenase-2 (COX-2) and (5-LOX) as a new strategy to provide safer non-anti-inflammatory drugs. *Eur J Med Chem*, 2003, 38(7-8): 645-59
- [27] Kümmerle AE, Sperandio da Silva GM, Sant'Anna CM, et al. A proposed molecular basis for the selective resveratrol inhibition of the PGHS-1 peroxidase activity. *Bioorg Med Chem*, 2005, 13(21): 5981-5
- [28] Pulini S, Rupoli S, Goteri G. Pegylated liposomal doxorubicin in the treatment of primary cutaneous T-cell lymphomas. *Haematologica*, 2007, 92(5): 686-9
- [29] Saucier JM, Yu J, Gaikwad A. Determination of the optimal combination chemotherapy regimen for treatment of platinum-resistant ovarian cancer in nude mouse model. *J Oncol Pharm Pract*, 2007, 13(1): 39-45
- [30] Kajiwara E, Kawano K, Hattori Y, et al. Long-circulating liposome-encapsulated ganciclovir enhances the efficacy of HSV-TK suicide gene therapy. *J Control Release*, 2007, 120(1-2): 104-10