

О.О. Пентюк  
О.Я. Какарькін  
П.О. Юрченко

Вінницький державний  
медичний університет  
ім. М.І. Пирогова, Вінниця,  
Україна

**Ключові слова:** циклофосфамід,  
іфосфамід, біотрансформація,  
фармакокінетика, ферменти  
метаболізму

## ФЕРМЕНТНІ СИСТЕМИ БІОТРАНСФОРМАЦІЇ ЦИКЛОФОСФАМІДУ ТА ІФОСФАМІДУ: ШЛЯХИ ПІДВИЩЕННЯ ЕФЕКТИВНОСТІ ПРОТИПУХЛИННОЇ ТЕРАПІЇ

**Резюме.** В огляді розглянуті шляхи біотрансформації циклофосфаміду (ЦФ) та іфосфаміду (ІФ), роль цитохрому Р450 та інших ферментів в активації та токсифікації цих алкілювальних цитостатиків, намічені шляхи цілеспрямованої регуляції їх метаболізму з метою підвищення терапевтичної ефективності ЦФ та ІФ.

### ВСТУП

Вже майже 50 років циклофосфамід (ЦФ) та іфосфамід (ІФ) застосовують для лікування багатьох онкологічних захворювань. За цей час докладно вивчені їх протипухлинний і токсичний ефекти, метаболізм та фармакокінетика. Але до цього часу не з'ясовані питання щодо впливу шляхів біотрансформації на ефективність хіміотерапії, роль метаболізуючих ферментів у резистентності та чутливості пухлин до цих цитостатиків, причини індивідуальних розбіжностей результатів лікування пацієнтів. Розгляд цих питань і був метою даного огляду.

**Особливості метаболізму і фармакокінетики ЦФ та ІФ.** Метаболічна активація ЦФ та ІФ відбувається переважно в печінці, легенях, нирках та інших органах, що містять монооксигеназні системи [1–7]. Пухлини відрізняються низьким вмістом метаболізуючих ферментів, тому протипухлинний ефект залежить від активних метаболітів, що потрапляють до пухлин з органів — метаболізаторів ЦФ та ІФ. Існують оксазафосфорини, що не потребують ферментативної активації, такі, як 4-гідроперокси-ЦФ, який спонтанно розпадається з вивільненням активного метаболіту 4-гідрокси-ЦФ [8].

В результаті біотрансформації ЦФ та ІФ утворюється широкий спектр метаболітів з різною фармакологічною активністю [1, 8–12]. Початковий етап метаболізму ЦФ йде двома альтернативними шляхами: 4-гідроксилювання та N-деалкілювання і каталізується різними ферментами цитохрому Р450 (рис. 1).

Перший шлях вважається шляхом активації і веде до утворення активного метаболіту 4-гідрокси-ЦФ, який існує в рухливій рівновазі з альдофосфамідом, що має відкритий цикл. Таутомерна пара 4-гідрокси-ЦФ/альдофосфамід — це короткоживучі метаболіти з періодом напівжиття близько 6 хв, які без участі ферментів перетворюються на іприт фосфораміду та акролеїн. В свою чергу іприт фосфораміду швидко (період напіврозпаду — близько 2 год) розпадається

на фосфорамідну кислоту та нор-азотистий іприт, який і вважається кінцевим алкілювальним агентом. Подальші перетворення акролеїну полягають у кон'югації з глутатионом з наступним утворенням меркаптуратів або у відновленні до алілового спирту чи окисленні до акрилової кислоти [13, 14] (рис. 2).

4-Гідрокси-ЦФ та альдофосфамід під впливом алкогіль- та альдегіддегідрогеназ можуть окислюватись до неактивних метаболітів: 4-кето-ЦФ та карбокси-фосфаміду, а альдофосфамід відновлюється за участю редуктаз до неактивного алкоЦФ [15–17] (див. рис. 1).

Альтернативний шлях окислення ЦФ полягає у цитохром Р450-залежному N-дезхлоретилуванні з утворенням токсичного метаболіту 2-хлорацетальдегіду і неактивного-N-дезхлоретилЦФа та інших метаболітів [18, 19]. У подальшому 2-хлорацетальдегід відновлюється за участю альдозоредуктази та алкогільдегідрогенази до 2-хлоретанолу або окислюється під впливом альдегіддегідрогеназ до 2-хлорацетату, або за участю глутатіон-S-трансфераз чи неферментативно утворює глутатіонові кон'югати, які в подальшому трансформуються в меркаптурові кислоти (див. рис. 2). N-дезхлоретилування складає лише 4,3–9,3% від загального метаболізму ЦФ. Наведені дані не відображають усіх можливих перетворень ЦФ і близько 20–30% його метаболітів ще неідентифіковані.

ІФ має подібний метаболізм [20–23]. Внаслідок гідроксилювання ІФ утворюються активні метаболіти (4-гідрокси-ІФ/альдо-ІФ), а внаслідок N-дезхлоретилування — неактивні (2-дезхлоретил-ІФ, 3-дезхлоретил-ІФ, токсичний метаболіт 2-хлорацетальдегід). 4-Гідрокси-ІФ/альдо-ІФ розпадається до іприту ізофосфораміду та акролеїну, які в свою чергу деградують до норазотистого іприту та 1,3-оксазалідин-2-ону або окислюються до 4-кето-ІФ та карбокси-ІФ. Вклад N-дезхлоретилування в обмін ІФ значно більший, ніж ЦФ, частка ж 4-гідроксилювання не перевищує 53%.

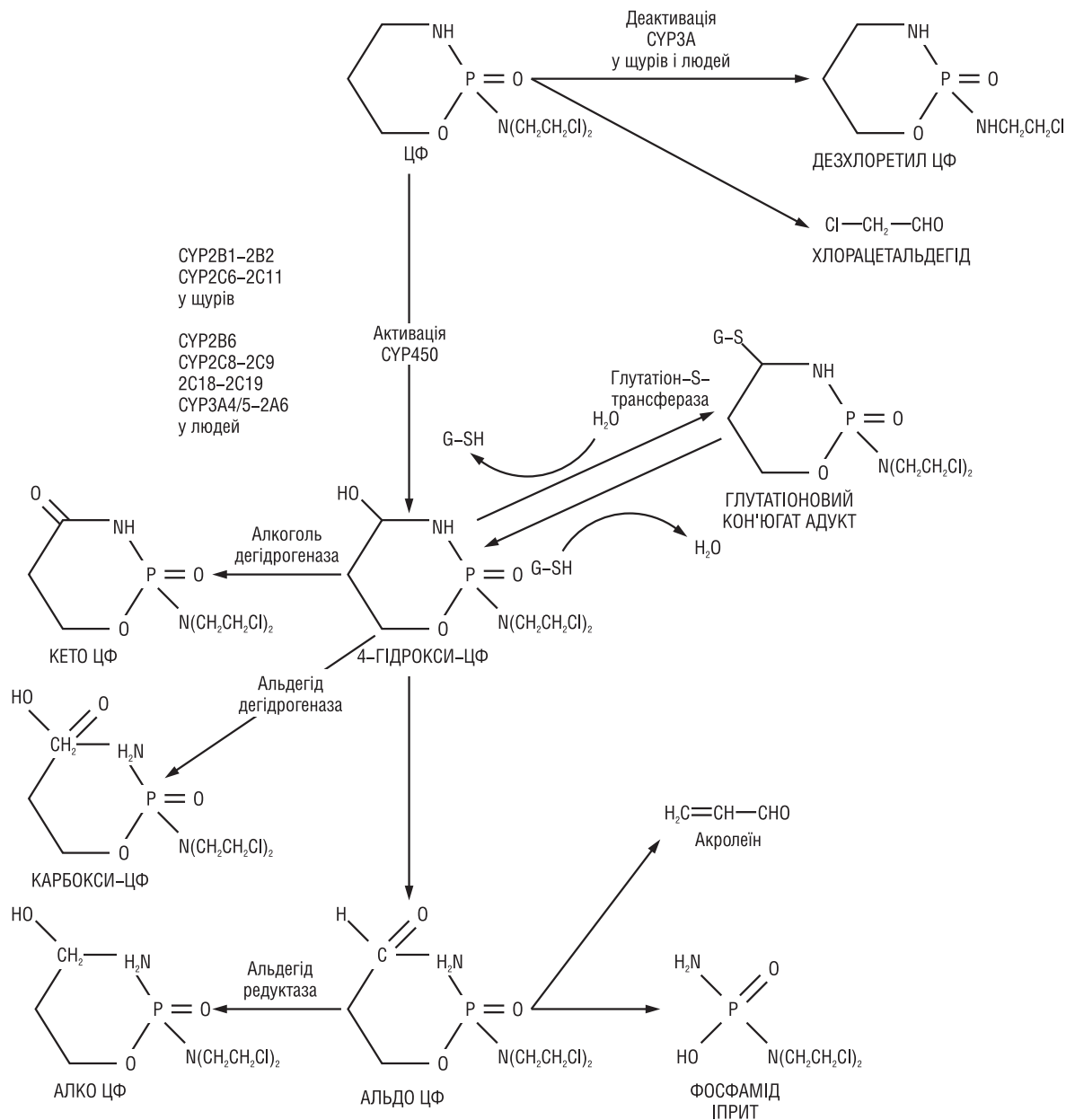


Рис. 1. Шляхи біотрансформації ЦФ

**Роль ферментів суперродини цитохрому P450 у метаболізмі, протиухлінній дії та токсичності ЦФ і ІФ.** Провідним ферментом, який каталізує 4-гідроксилювання ЦФ в мікросомах печінки шурів, є цитохром (СУР) 2В1, що підтверджується індукцією цієї реакції фенобарбіталом (ФБ), інгібуванням індукованої активності антитілами до СУР2В1 або специфічними інгібіторами [24, 25], високою 4-гідроксилазною активністю очищеного СУР2В1 в реконструйованій системі [24, 25]. У неіндукованих шурів (у яких в печінці виявляються лише слідові кількості СУР2В1 та 2В2) реакцію 4-гідроксилювання каталізують ферменти СУР2С6 і 2С11, які експресуються конститутивно, хоча за 4-гідроксилазною активністю вони на порядок поступаються цитохрому 2В1. Однак гідроксилювання ЦФ може відбуватися і в легенях, в яких СУР2В1 експресується конститутивно [26].

У печінці людини головним каталізатором 4-гідроксилювання ЦФ є цитохром СУР2В6, який конститутивно експресується в значних кількостях не тільки в печінці, а й в легенях, нирках, слизовій оболонці тонкої кишки [27]. В реконструйованій системі рекомбінатний СУР2В6 з високою швидкістю каталізує гідроксилювання ЦФ [27]. Утворення 4-гідрокси-ЦФ в печінці людини каталізується й іншими ферментами — переважно СУР2С8/9/18/19, меншою мірою — СУР3А4/5 і СУР2А6, що підтверджено в дослідях з ферментами, експресованими в лімфобlastах, використанням моноклональних антитіл і ізoфермент-специфічних інгібіторів [28–32]. Серед ферментів підродини СУР2С найбільш активним виявився СУР2С19, потім СУР2С9/18/8 [29]. Амінокислотні заміни (алельні варіанти СУР2С18-THR385/-MET385/-Thr385 та ін.) призводять до суттєвих змін

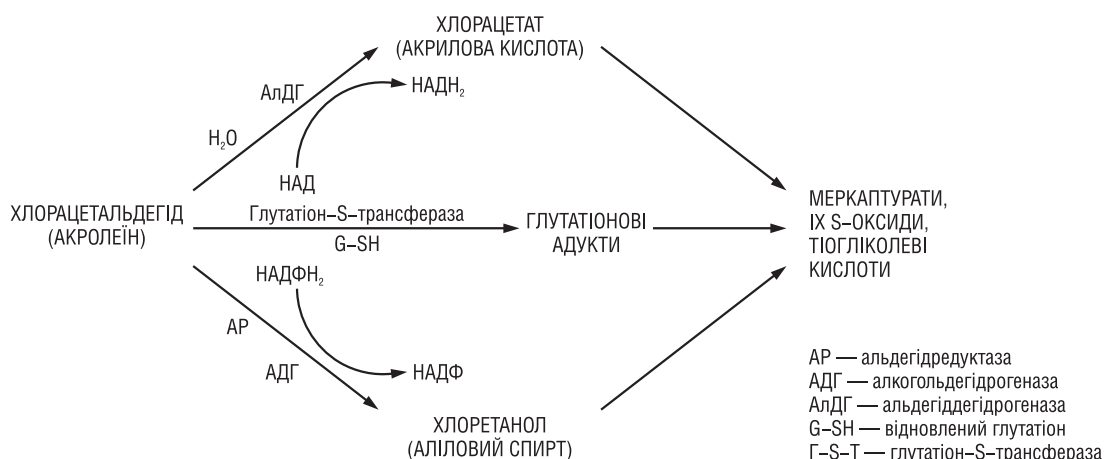


Рис. 2. Шляхи метаболічної деградації акролеїну та хлорацетальдегіду

каталітичних властивостей ферментів, їх субстратної специфічності, що пояснює значні індивідуальні відмінності фармакокінетики ЦФ у людей [30].

Культивування гепатоцитів людини в присутності ФБ, дексаметазону чи, особливо, рифампіцину підвищує швидкість 4-гідроксилювання ЦФ на 200–400%, що корелює з пропорційним підвищенням рівня СУР2В6, 2С8/9 і 3А4 [29].

N-дезхлоретилювання бокового ланцюга ЦФ в печінці шурів та людей каталізується, очевидно, виключно ферментами підродини СУР3А, доказом чого є висока каталітична активність очищених цитохромів СУР3А4 та 3А5, гальмування цієї реакції тролеандо-міцином та моноклональними антитілами, активація її індукторами СУР3А рифампіцином чи дексаметазоном [28, 29, 31–34].

Отже, набір ферментів, які каталізують N-дезхлоретилювання ЦФ, суттєво відрізняється від набору ферментів, які здійснюють 4-гідроксилювання. Баланс між метаболічною активацією (шлях 4-гідроксилювання) і інактивацією/токсифікацією (шлях N-дезхлоретилювання), очевидно, може бути змінений за допомогою ізоenzим-селективних індукторів та інгібіторів [12, 34]. Показано, що введення шурам інгібітора тролеандоцину суттєво змінює фармакокінетичний профіль ЦФ. Значно зменшується фракція препарату, що метаболізується шляхом токсифікації N-дезхлоретилювання ( $C_{max}$  і АUC хлорацетальдегіду знижується на 80–85%) і вдвічі збільшується частка ЦФ, який метаболізується терапевтично значущим шляхом 4-гідроксилювання. Введення дексаметазону, навпаки, стимулює N-дезхлоретилювання ЦФ (вклад цієї реакції в загальний метаболізм ЦФ збільшувався з 29 до 84%), а  $C_{max}$  і АUC хлорацетальдегіду підвищувалися у 8 та 4 рази відповідно, зі скороченням значення АUC активного 4-гідрокси-ЦФ на 60%. Це знижує терапевтичну ефективність ЦФ і

підвищує небезпеку розвитку нейротоксичних ускладнень. Отже, інгібітор ферментів СУР3А тролеандоцин — ефективний модулятор обміну ЦФ, який дає можливість зменшити утворення токсичних метаболітів без компрометації протипухлинної дії. Введення шурам з перевитими пухлинами індукторів ферментів підродини Р4502В, ФБ, пентабарбіталу чи етинідазолу значно підсилює здатність ЦФ гальмувати ріст пухлин [35]. Щоправда, не всі дослідники так оптимістично оцінюють здатність ФБ підвищувати протипухлинний потенціал ЦФ, оскільки зі значним підвищенням у крові пікових концентрацій 4-гідрокси-ЦФ скорочується період його напіввиведення [12].

Реакція 4-гідроксилювання ІФ каталізується таким же набором ферментів цитохрому Р450, що і 4-гідроксилювання ЦФ, однак вклад окремих ферментів суттєво відрізняється [28, 30]. Головним ферментом, який каталізує утворення 4-гідрокси-ІФ в печінці людей, є СУР3А4/5, який вдвічі швидше, ніж ЦФ, гідрокслює ІФ [28, 32]. Вибірковий інгібітор СУР3А3 і 3А4/5 тролеандоцин, як і специфічні антитіла, суттєво гальмують 4-гідроксилювання ІФ, але незначно впливають на 4-гідроксилювання ЦФ [28]. Інгібується ця реакція і нарингеном, інгібітором СУР3А4 [38]. Меншу активність у гідроксилюванні ІФ проявляють ферменти СУР2В6, СУР2С9, 2С18/19 і 2А6 [29, 32].

Реакція N-дезхлоретилювання ІФ у мікосомах печінки людей веде до утворення N-2-дезхлоретил-ІФ і N-3-дезхлоретил-ІФ і практично повністю каталізується СУР3А4/5, що підтверджується гальмуванням більш як на 80% цієї реакції антитілами проти СУР3А4/5, тролеандоцином, нарингеном [36–38]. СУР2В6 також здатний каталізувати N-дезхлоретилювання ІФ у мікосомах печінки людей і виявляє більш виражену спорідненість до S-енантіомера, а СУР3А4/5 — до R-енантіомера [36, 37].

В печінці шурів в реакції N-дезхлоретилювання ІФ беруть участь як ферменти підроддини СYP3A, так і ферменти СYP2B1/2 та СYP2C11, ця реакція прискорюється у 8 разів після введення ФБ [34].

Очевидно, участь одних і тих же ферментів (СYP3A4 та СYP2B6) у 4-гідроксилюванні (шлях активації) та N-дезхлоретилюванні ІФ (шлях інактивації — токсифікації) виключає можливість селективно інгібувати утворення токсичного метаболіту 2-хлорацетальдегіду та неактивних дезхлоретилюваних метаболітів [38]. Наступні фармакокінетичні дослідження на шурах підтвердили ці висновки [23]. Введення індуктора СYP2B1/2B2 ФБ знижує з 37 до 22% фракцію ІФ, яка зазнає 4-гідроксилювання і збільшує його частку, що метаболізується, шляхом N-дезхлоретилювання.

Терапевтична активність оксазафосфоринів обмежується тим, що клітини пухлин, як правило, не здатні їх активувати у цитотоксичні метаболіти через відсутність чи недостатню активність відповідних ферментів [3, 4, 42]. Несприятливими моментами також є їх гемопоетична, ренальна та кардіальна токсичність (внаслідок надходження цитотоксичних метаболітів, утворених в печінці, до цих органів) та низька здатність активних метаболітів долати гематоенцефалічний бар'єр, через що пухлини мозку практично нечутливі до ЦФ і ІФ [3, 41].

В останні роки почали застосовувати нові підходи до підвищення ефективності оксазафосфоринів. Одним із них є стимулювання активації алкілювальних цитостатиків безпосередньо в пухлині, зокрема шляхом пересадки генів цитохрому P450 в клітини пухлин [5]. На культурі клітин гліосаркоми показано, що найбільшу активацію протипухлинної дії ЦФ зумовила пересадка гена СYP2B6, меншу — СYP2C18 і 3A4, а для ІФ більш ефективно виявилась трансфекція гена СYP3A4, порівняно з 2B6 та 2C18. Значно підвищує цитотоксичний потенціал ЦФ (у 50–100 разів) комбінована пересадка в клітини гліосаркоми шурів гена СYP2B1 і гена NADPH-P450-редуктази, фермента який забезпечує електронами цитохрому P450 [39, 46]. На клітинах фібробластів китайських хом'ячків цитотоксичну дію ЦФ та ІФ відзначали лише після пересадки генів СYP2B1 та СYP3A4, а в присутності інгібіторів цих цитохромів (метирапону, мідазоламу та тролеандоміцину) дія цитостатиків не проявляється [40]. Клітини раку молочної залози людини після пересадки гена СYP2B1 стають чутливими до ЦФ та ІФ [4]. У безшерстих мишей з прищепленою пухлиною, клітини якої стабільно експресують пересаджений ген СYP2B1, протипухлинна активність ЦФ підвищується в 15–20 разів, причому без зростання токсичності цитостатика [4]. ЦФ і ІФ повністю затримують ріст імплантованої підшкірно гліоми, клітини якої експресують СYP2B1, але мало впливають на ріст пухлин, що не експресують СYP2B1 [3, 41, 423].

Як виявилось, достатньо 10% клітин, експресуючих СYP2B1, для повного гальмування росту всієї

культури гліоми ЦФ та ІФ внаслідок дифузії активних метаболітів із клітин, в яких вони утворюються, до сусідніх клітин [41, 42]. Тому підсадка навіть невеликої кількості СYP2B1-експресуючих клітин гліоми в пухлини мозку достатня, щоб зробити їх чутливими до ЦФ у разі його внутрішньовенного введення, а інтратекальне введення ЦФ забезпечує досягнення повного припинення росту пухлини. Апробується оригінальний підхід до лікування іноперабельних пухлин підшлункової залози у людей, який полягає в імплантації капсули з сульфату целюлози, що містить ембріональні епітеліоцити нирок людини чи інші клітини з трансфегованим геном СYP2B1, в пухлини підшлункової залози [43–45]. Експериментально встановлено, що пересадка такої капсули в підшлункову залозу мишей на відстані 1 см від пухлини призводить до часткового або повного її зникнення після введення ІФ у невисоких дозах.

Ці дані наочно демонструють переваги внутрішньопухлинної активації оксазафосфоринів перед активацією цих проліків у печінці. За даними деяких авторів [46], такий підхід підвищує ефективність терапії експериментальних пухлин у 50–100 разів. Систему активації алкілювальних цитостатиків безпосередньо в пухлині, яка ґрунтується на використанні генів чутливості до цих препаратів, можна вважати перспективним напрямком розвитку нової стратегії генної терапії раку.

**Фармакокінетична взаємодія.** Оксазафосфорини, як правило, застосовують у поєднанні з іншими лікарськими засобами, тому особливої ваги набуває питання щодо їх фармакокінетичної взаємодії.

До препаратів, які посилюють метаболічну активацію ЦФ, можна віднести блокатор кальцієвих каналів верапаміл, який застосовують як засіб для подолання резистентності до цитостатиків в клініці, стимулює утворення активних метаболітів ЦФ і призводить до підвищення вмісту алкілювальних метаболітів у крові мишей з гемоцитобластозом [47]. Досягнення в крові пацієнтів пікової концентрації та АUC активного метаболіту 4-гідрокси-ЦФ викликає фенітоїн [48]. Однак цей препарат негативно впливає на фармакокінетику ІФ, зумовлюючи зростання частки ІФ, яка метаболізується до фармакологічно неактивних N-дезхлоретилюваних метаболітів та токсичного продукту 2-хлорацетальдегіду [49, 50]. Експериментально встановлено, що хлордіазепоксид, діазепам і оксазепам підвищують рівень активних метаболітів в крові і підсилюють токсичність ІФ у мишей [51]. Протиблюотний засіб ондансетрон прискорює елімінацію неметаболізованого ЦФ із організму пацієнтів, однак невідомо, як він впливає на утворення алкілювальних метаболітів [52].

Не викликає сумніву здатність ФБ підсилювати метаболізм ЦФ. Індукція шурів ФБ різко збільшує продукцію активних метаболітів ЦФ мікросомною фракцією печінки [53, 54], у 2,3 разу підвищує концентрацію алкілювальних метаболітів в крові шурів

та в 1,5 разу — в крові пацієнтів [55]. Введення ФБ шурам — носіям пухлин підвищує концентрацію 4-гідрокси-ЦФ в плазмі крові і потенціює протипухлинний ефект ЦФ [35]. Однак є дані про несприятливий вплив ФБ на фармакокінетику ЦФ. Введення тваринам ФБ хоча й підвищувало пікові концентрації алкілювальних метаболітів, однак зменшувало тривалість життя мишей з лейкозом [53, 56]. Нещодавно проведено дослідження деякою мірою пояснює протиріччя даних щодо впливу ФБ на фармакокінетику ЦФ [12]. З'ясовано, що введення шурам ФБ хоча і приводить до 3–4-кратного підвищення пікових концентрацій у плазмі крові 4-гідрокси-ЦФ, однак прискорює виведення цих метаболітів, і тому в цілому не впливає на співвідношення між шляхами активації та токсифікації ЦФ. Автори висловлюють думку, що ФБ, стимулюючи експресію ферментів цитохрому P450, які активують ЦФ, одночасно стимулює і синтез ферментів, які інактивують ці метаболіти, зокрема альдегіддегідрогеназу.

Дані щодо впливу циметидину на фармакокінетику і протипухлинний ефект ЦФ виявились неоднозначними. Так, одні автори повідомляють про те, що циметидин сповільнює елімінацію 4-гідроксициклофосфаміду та іприту фосфаміду з крові кролів і мишей [57] і продовжує життя мишей з лейкозом [58]. За даними інших дослідників, циметидин знижує концентрацію 4-гідрокси-ЦФ в крові і вираженість протипухлинної дії ЦФ у щурів [35].

Негативний вплив на фармакокінетику ЦФ виявляють препарати інтерферону. Так, попереднє введення альфа-інтерферону (сильного інгібітора цитохрому P450) зумовлювало у пацієнтів з мієломною хворобою зниження у 2 рази пікової концентрації та AUC 4-гідроксициклофосфаміду [59]. Здатність інтерферону та його індукторів пригнічувати утворення фармакологічно активних метаболітів ЦФ і зменшувати вираженість його протипухлинної дії підтверджена також в експерименті на мишах [60].

Значно сповільнюють перетворення ЦФ в активні метаболіти, підвищуючи тривалість періоду напівелімінації незміненого ЦФ із плазми крові пацієнтів, хлорамфенікол, алопуринол та хлорпромазин [61, 62]. Флуконазол, який все частіше використовують у дітей під час хіміотерапії для попередження інфекційних ускладнень, здатний гальмувати утворення 4-гідроксициклофосфаміду [63].

Частина препаратів, які застосовують одночасно з ЦФ та ІФ або призначають для корекції їх побічних ефектів, суттєво не впливають на фармакокінетику і не компрометують їх протипухлинну дію. До таких засобів належать месна і метилтіонінійхлорид [64, 65], аміфосфін [66], ацетилцистеїн [67], діазепам [50], вітаміни А, Е, С і В<sub>1</sub> [68, 69], протипухлинний засіб доцетаксел [70].

На жаль, значну частину препаратів застосовують разом з ЦФ та ІФ без ретельних досліджень їх впливу на фармакокінетику та протипухлинну дію цих цитостатиків.

Отже, аналіз даних літератури свідчить, що ЦФ та ІФ в організмі людини і тварин зазнають складних перетворень за участю багатьох ферментних систем, з чітко вираженою ізоензим- та енантіоселективністю. Біотрансформація цих оксазафосфоринів відбувається одночасно у напрямку утворення як фармакологічно активних, так і неактивних або токсичних метаболітів. Швидкість і повнота утворення активних метаболітів, як і особливості фармакокінетики ЦФ та ІФ, значною мірою визначають їх терапевтичний ефект і токсичність. Не викликає сумніву, що резистентність до оксазафосфоринів клітин одних типів і чутливість інших є наслідком неоднакового набору метаболізуючих ферментів в них, і відповідно неоднаковим балансом між шляхами активації і детоксикації ЦФ та ІФ. Дослідження молекулярної біології та фармакології довели принципову можливість підвищення ефективності оксазафосфоринів шляхом пересадки генів цитохрому P450 в клітини пухлин та використання ізоензимселективних інгібіторів або індукторів метаболізуючих ферментів. Ефективне і безпечне застосування оксазафосфоринів у клінічній практиці можливе лише з урахуванням індивідуальних особливостей фармакокінетики цих препаратів та можливої взаємодії з препаратами інших фармакологічних груп.

## ЛІТЕРАТУРА

1. **Sladek NE.** Metabolism and pharmacokinetic behavior of cyclophosphamide and related oxazaphosphorines. In «Anticancer Drugs Reactive Metabolism and Drug Interactions». Pergamon Press, Tarrytown, NY, 1994: 79–156.
2. **Chen G, Waxman DJ.** Identification of glutathione S-transferase as a determinant of 4-hydroperoxycyclophosphamide resistance in human breast cancer cells. *Biochem Pharmacol* 1995; **49** (11): 1691–701.
3. **Manome Y, Wen PY, Chen L, et al.** Gene therapy for malignant gliomas using replication incompetent retroviral and adenoviral vectors encoding the cytochrome P450 2B1 gene together with cyclophosphamide. *Gen Ther* 1996; **3** (6): 513–20.
4. **Chen L, Waxman DJ, Chen D, Kufe DW.** Sensitization of human breast cancer cells to cyclophosphamide and ifosfamide by transfer of a liver cytochrome P450 gene. *Cancer Res* 1996; **56** (6): 1331–40.
5. **Jounaidi Y, Hecht JE, Waxman DJ.** Retroviral transfer of human cytochrome P450 genes for oxazaphosphorine-based cancer gene therapy. *Cancer Res* 1998; **58** (19): 4391–401.
6. **Struck RF, Davis RL Jr, Berardini MD, Loechler EL.** DNA guanine-guanine crosslinking sequence specificity of isophosphoramidate mustard, the alkylating metabolite of the clinical antitumor agent ifosfamide. *Cancer Chemother Pharmacol* 2000; **45** (1): 59–62.
7. **Bohnenstengel F, Friedel G, Ritter CA, et al.** Variability of Cyclophosphamide uptake into human bronchial carcinoma: consequences for local bioactivation. *Cancer Chemother Pharmacol* 2000; **45** (1): 63–8.
8. **Ludeman SM.** The chemistry of the metabolites of cyclophosphamide. *Curr Pharm Des* 1999; **5** (8): 627–43.
9. **Hong PS, Chan KK.** Enzymatic detoxification of phosphoramidate mustard by soluble fractions from rat organ tissues. *Drug Metab Dispos* 1991; **19** (3): 568–73.
10. **Dirven HA, Venekamp JC, van Ommen B, van Bladeren PJ.** The interaction of glutathione with 4-hydroxycyclophosphamide and phosphoramidate mustard, studied by <sup>31</sup>P nuclear magnetic resonance spectroscopy. *Chem Biol Interact* 1994; **93** (3): 185–96.

11. **Joqueviel C, Martino R, Gilard V, et al.** Urinary excretion of cyclophosphamide in humans, determined by phosphorus-31 nuclear magnetic resonance spectroscopy. *Drug Metab Dispos* 1998; **26** (5): 418–28.
12. **Yu LJ, Drewes P, Gustafsson K, et al.** *In vivo* modulation of alternative pathways of P-450-catalyzed cyclophosphamide metabolism: impact on pharmacokinetics and antitumor activity. *J Pharmacol Exp Ther* 1999; **288** (3): 928–37.
13. **Kolb NS, Hunsaker LA, Vander Jagt DL.** Aldose reductase-catalyzed reduction of acrolein: implications in cyclophosphamide toxicity. *Mol Pharmacol* 1994; **45** (4): 797–801.
14. **Ramu K, Fraiser LH, Mamiya B, et al.** Acrolein mercapturates: synthesis, characterization, and assessment of their role in the bladder toxicity of cyclophosphamide. *Chem Res Toxicol* 1995; **8** (4): 515–24.
15. **Hong PS, Chan KK.** Identification and quantitation of aldehyde phosphamide, a metabolite of cyclophosphamide, in the rat using chemical ionization mass spectrometry. *Biomed Environ Mass Spectrom* 1987; **14** (4): 167–72.
16. **Parekh HK, Sladek NE.** NADPH-dependent enzyme-catalyzed reduction of aldehyde phosphamide, the pivotal metabolite of cyclophosphamide. *Biochem Pharmacol* 1993 Sep 14; **46** (6): 1043–52.
17. **Dockham PA, Sreerama L, Sladek NE.** Relative Contribution of Human Erythrocyte Aldehyde Dehydrogenase to the Systemic Detoxification of the Oxazaphosphorines. *Drug Metab Dispos* 1997; **25** (12): 1436–41.
18. **Pohl J, Stekar J and Hilgard P.** Chloroacetaldehyde and its contribution to urotoxicity during treatment with cyclophosphamide or ifosfamide. *Arzneim Forsch* 1989; **39**: 704–5.
19. **Joqueviel C, Malet-Martino M and Martino R.** A 13C NMR study of 2-13C-chloroacetaldehyde, a metabolite of ifosfamide and cyclophosphamide, in the isolated perfused rabbit heart model: initial observations on its cardiotoxicity and cardiac metabolism. *Cell Mol Biol* 1997; **43**: 773–82.
20. **Kurowski V, Wagner T.** Comparative pharmacokinetics of ifosfamide, 4-hydroxyifosfamide, chloroacetaldehyde, and 2- and 3-dechloroethylifosfamide in patients on fractionated intravenous ifosfamide therapy. *Cancer Chemother Pharmacol* 1993; **33** (1): 36–42.
21. **Momerency G, Van Cauwenberghe K, Highley MS, et al.** Partitioning of ifosfamide and its metabolites between red blood cells and plasma. *J Pharm Sci* 1996; **85** (3): 262–5.
22. **Silies H, Blaschke G, Hohenlochter B, et al.** Excretion kinetics of ifosfamide side-chain metabolites in children on continuous and short-term infusion. *Int J Clin Pharmacol Ther* 1998; **36** (5): 246–52.
23. **Brain EG, Yu LJ, Gustafsson K, Drewes P, Waxman DJ.** Modulation of P450-dependent ifosfamide pharmacokinetics: a better understanding of drug activation in vivo. *Br J Cancer* 1998; **77** (11): 1768–76.
24. **Clarke L, Waxman DJ.** Oxidative metabolism of cyclophosphamide: identification of the hepatic monooxygenase catalysts of drug activation. *Cancer Res* 1989; **49** (9): 2344–50.
25. **Weber GF, Waxman DJ.** Activation of the anti-cancer drug ifosfamide by rat liver microsomal P450 enzymes. *Biochem Pharmacol* 1993; **45** (8): 1685–94.
26. **Hengstler JG, Hengst A, Fuchs J, et al.** Induction of DNA crosslinks and DNA strand lesions by cyclophosphamide after activation by cytochrome P450 2B1. *Mutat Res* 1997; **373** (2): 215–23.
27. **Gervot L, Rochat B, Gautier JC, et al.** Human CYP2B6: expression, inducibility and catalytic activities. *Pharmacogenetics* 1999; **9** (3): 295–306.
28. **Chang TK, Weber GF, Crespi CL, Waxman DJ.** Differential activation of cyclophosphamide and ifosfamide by cytochromes P-450 2B and 3A in human liver microsomes. *Cancer Res* 1993; **53** (23): 5629–37.
29. **Chang TK, Yu L, Goldstein JA, Waxman DJ.** Identification of the polymorphically expressed CYP2C19 and the wild-type CYP2C9-ILE359 allele as low-Km catalysts of cyclophosphamide and ifosfamide activation. *Pharmacogenetics* 1997; **7** (3): 211–21.
30. **Chang TK, Yu L, Maurel P, Waxman DJ.** Enhanced cyclophosphamide and ifosfamide activation in primary human hepatocyte cultures: response to cytochrome P-450 inducers and autoinduction by oxazaphosphorines. *Cancer Res* 1997; **57** (10): 1946–54.
31. **Ren S, Yang JS, Kalthorn TF, Slattery JT.** Oxidation of cyclophosphamide to 4-hydroxycyclophosphamide and deschloroethylcyclophosphamide in human liver microsomes. *Cancer Res* 1997; **57** (19): 4229–35.
32. **Roy P, Tretyakov O, Wright J, Waxman DJ.** Stereoselective metabolism of ifosfamide by human P-450s 3A4 and 2B6. Favorable metabolic properties of R-enantiomer. *Drug Metab Dispos* 1999; **27** (11): 1309–18.
33. **Bohnenstengel F, Hofmann U, Eichelbaum M, Kroemer HK.** Characterization of the cytochrome P450 involved in side-chain oxidation of cyclophosphamide in humans. *Eur J Clin Pharmacol* 1996; **51** (3–4): 297–301.
34. **Yu L, Waxman DJ.** Role of cytochrome P450 in oxazaphosphorine metabolism. Deactivation via N-dechloroethylation and activation via 4-hydroxylation catalyzed by distinct subsets of rat liver cytochromes P450. *Drug Metab Dispos* 1996; **24** (11): 1254–62.
35. **Teicher BA, Holden SA, Goff DA, et al.** Antitumor efficacy and pharmacokinetic analysis of 4-hydroperoxycyclophosphamide in comparison with cyclophosphamide +/- hepatic enzyme effectors. *Cancer Chemother Pharmacol* 1996; **38** (6): 553–60.
36. **Granvil CP, Madan A, Sharkawi M, Parkinson A, Wainer IW.** Role of CYP2B6 and CYP3A4 in the in vitro N-dechloroethylation of (R)- and (S)-ifosfamide in human liver microsomes. *Drug Metab Dispos* 1999; **27** (4): 533–41.
37. **Roy P, Yu LJ, Crespi CL, Waxman DJ.** Development of a substrate-activity based approach to identify the major human liver P-450 catalysts of cyclophosphamide and ifosfamide activation based on cDNA-expressed activities and liver microsomal P-450 profiles. *Drug Metab Dispos* 1999; **27** (6): 655–66.
38. **Walker D, Flinois JP, Monkman SC, et al.** Identification of the major human hepatic cytochrome P450 involved in activation and N-dechloroethylation of ifosfamide. *Biochem Pharmacol* 1994; **47** (7): 1157–63.
39. **Chen L, Yu LJ, Waxman DJ.** Potentiation of cytochrome P450/cyclophosphamide-based cancer gene therapy by coexpression of the P450 reductase gene. *Cancer Res* 1997; **57** (21): 4830–7.
40. **Schuler U, Ehninger G, Wagner T.** Repeated high-dose cyclophosphamide administration in bone marrow transplantation: exposure to activated metabolites. *Cancer Chemother Pharmacol* 1987; **20** (3): 248–52.
41. **Wei MX, Tamiya T, Chase M, et al.** Experimental tumor therapy in mice using the cyclophosphamide-activating cytochrome P450 2B1 gene. *Hum Gene Ther* 1994; **5** (8): 969–78.
42. **Chen L, Waxman DJ.** Intratumoral activation and enhanced chemotherapeutic effect of oxazaphosphorines following cytochrome P-450 gene transfer: development of a combined chemotherapy/cancer gene therapy strategy. *Cancer Res* 1995; **55** (3): 581–9.
43. **Karle P, Muller P, Renz R, et al.** Intratumoral injection of encapsulated cells producing an oxazaphosphorine activating cytochrome P450 for targeted chemotherapy. *Adv Exp Med Biol* 1998; **451**: 97–106.
44. **Lohr M, Muller P, Karle P, et al.** Targeted chemotherapy by intratumour injection of encapsulated cells engineered to produce CYP2B1, an ifosfamide activating cytochrome P450. *Gene Ther* 1998; **5** (8): 1070–8.
45. **Lohr M, Bago ZT, Bergmeister H, et al.** Cell therapy using microencapsulated 293 cells transfected with a gene construct expressing CYP2B1, an ifosfamide converting enzyme, instilled intra-arterially in patients with advanced-stage pancreatic carcinoma: a phase I/II study. *J Mol Med* 1999; **77** (4): 393–8.
46. **Waxman DJ, Chen L, Hecht JE, Jounaidi Y.** Cytochrome P450-based cancer gene therapy: recent advances and future prospects. *Drug Metab Rev* 1999; **31** (2): 503–22.
47. **Доненко ФВ, Чиквашвили БШ, Боровкова НБ и др.** Влияние финоптина на метаболизм и фармакологическое

действие циклофосфида *in vivo* и *in vitro*. Бюлл эксп биол мед 1991; **111** (3): 300–2.

**48. Slattery JT, Kalthorn TF, McDonald GB, et al.** Conditioning regimen-dependent disposition of cyclophosphamide and hydroxycyclophosphamide in human marrow transplantation patients. *J Clin Oncol* 1996; **14** (5): 1484–94.

**49. Ducharme MP, Bernstein ML, Granvil CP, Gehrcke B, Wainer IW.** Phenytoin-induced alteration in the N-dechloroethylation of ifosfamide stereoisomers. *Cancer Chemother Pharmacol* 1997; **40** (6): 531–3.

**50. Williams ML, Wainer IW, Embree L, et al.** Enantioselective induction of cyclophosphamide metabolism by phenytoin. *Chirality* 1999; **11** (7): 569–74.

**51. Furusawa S, Fujimura T, Sasaki K, Takayanagi Y.** Potentiation of ifosfamide toxicity by chlordiazepoxide, diazepam and oxazepam. *Chem Pharm Bull (Tokyo)* 1989; **37** (12): 3420–2.

**52. Cagnoni PJ, Matthes S, Day TC, et al.** Modification of the pharmacokinetics of high-dose cyclophosphamide and cisplatin by antiemetics. *Bone Marrow Transplant* 1999; **24** (1): 1–4.

**53. Donelli MG, Guaitani A, Bartosek I, et al.** Effect of phenobarbital on cyclophosphamide metabolism in rats. *Xenobiotica* 1976; **6** (10): 625–31.

**54. Sessink PJ, Vaes WH, van den Broek PH, et al.** Influence of Aroclor 1254, phenobarbital, beta-naphthoflavone, and ethanol pretreatment on the biotransformation of cyclophosphamide in male and female rats. *Toxicology* 1996; **112** (2): 141–50.

**55. Maezawa S, Ohira S, Sakuma M, et al.** Effects of inducer of liver drug-metabolizing enzyme on blood level of active metabolites of cyclophosphamide in rats and in cancer patients. *Tohoku J Exp Med*, 1981; **134** (1): 45–53.

**56. Alberts DS, van Daalen WT.** The effect of phenobarbital on cyclophosphamide antitumor activity. *Cancer Res* 1976; **36** (8): 2785–9.

**57. Anthony LB, Long QC, Struck RF, Hande KR.** The effect of cimetidine on cyclophosphamide metabolism in rabbits. *Cancer Chemother Pharmacol* 1990; **27** (2): 125–30.

**58. Dorr RT, Soble MJ, Alberts DS.** Interaction of cimetidine but not ranitidine with cyclophosphamide in mice. *Cancer Res* 1986; **46** (4 Pt 1): 1795–9.

**59. Hassan M, Nilsson C, Olsson H, et al.** The influence of interferon-alfa on the pharmacokinetics of cyclophosphamide and its 4-hydroxy metabolite in patients with multiple myeloma. *Eur J Haematol* 1999; **63** (3): 163–70.

**60. Ishikawa M, Sasaki K, Takayanagi Y, Sasaki K.** Perturbation of metabolism and disposition of cyclophosphamide by interferon and poly I:C, an interferon inducer, in mice. *Pharmacol Toxicol* 1991; **68** (3): 157–62.

**61. Faber Ok, Mouridsen HT, Skovsted L.** The effect of chloramphenicol and sulphaphenazole on the biotransformation of cyclophosphamide in man. *Br J Clin Pharmacol* 1975; **2** (3): 281–5.

**62. Yule SM, Boddy AV, Cole M, et al.** Cyclophosphamide pharmacokinetics in children. *Br J Clin Pharmacol* 1996; **41** (1): 13–9.

**63. Yule SM, Price L, Cole M, et al.** Cyclophosphamide metabolism in children with Fanconi's anaemia. *Bone Marrow Transplant* 1999; **24** (2): 123–8.

**64. Aeshlimann C, Kupfer A, Schefer H, Cerny T.** Comparative pharmacokinetics of oral and intravenous ifosfamide/mesna/methylene blue therapy. *Drug Metab Dispos* 1998; **26** (9): 883–90.

**65. Cerny T, Leyvraz S, von Briel T, et al.** Saturable metabolism of continuous high-dose ifosfamide with mesna and GM-CSF: a pharmacokinetics study in advanced sarcoma patients. *Swiss Group for Clinical Cancer Research (SAKK). Ann Oncol* 1999; **10** (9): 1087–94.

**66. Foster-Nora JA, Siden R.** Amifostine for protection from antineoplastic drug toxicity. *Am J Health Syst Pharmacol* 1997; **54** (7): 787–800.

**67. Benvenuto JA, Ayele W, Legha SS, et al.** Clinical pharmacokinetics of ifosfamide in combination with N-acetylcysteine. *Anticancer Drugs* 1992; **3** (1): 19–23.

**68. Мосиенко ВС, Хасанова ЛТ, Суколинский ВН, Морозкина ТС.** Эффективность комплексного действия витаминов А, Е, С с циклофосфаном или адриамицином на рост первичных опухолей у мышей. *Эксперим онкол* 1990; **12** (3): 55–7.

**69. Требухина РВ, Колташук ТА, Петушок ВГ и др.** Метаболизм витаминов В<sub>1</sub> и РР и их применение в онкологической практике. *Вопр мед хим* 1992; **38** (5): 33–6.

**70. Schrijvers D, Pronk L, Highley M, et al.** Pharmacokinetics of ifosfamide are changed by combination with docetaxel: results of a phase I pharmacologic study. *Am J Clin Oncol* 2000; **23** (4): 358–63.

#### ENZYME SYSTEMS OF CYCLOPHOSPHAMIDE AND IFOSFAMIDE BIOTRANSFORMATION: WAYS OF INCREASE OF ANTIBLASTOMIC EFFICIENCY

*O.O. Pentyuk, O.Ya. Kakarkin, P.O. Yurchenko*

**Summary.** *In this review it has discussed the ways of cyclophosphamide (CP) and ifosfamide (IF) biotransformation, the role of cytochrome P450 and other enzymes in the activation and toxification of CP and IF. The ways of aimed regulation of the CP and IF metabolism to increase their therapeutic efficiency have been proposed.*

**Key Words:** cyclophosphamide, ifosfamide, biotransformation, pharmacokinetics, metabolic enzymes.