

Радиомодифицирующие свойства бромзамещенного производного индол-3-карбоновой кислоты при протонной и электронной терапии карциномы Эрлиха *in vivo*

Солдатова О.В.¹, Филимонова М.В.¹, Сурикова В.И.¹, Шитова А.А.¹, Николаев К.А.¹,
Рыбачук В.А.¹, Косаченко А.О.¹, Корякин С.Н.¹, Шегай П.В.², Иванов С.А.¹, Каприн А.Д.²,
Филимонов А.С.¹

¹ Медицинский радиологический научный центр им. А.Ф. Цыба – филиал Национального медицинского исследовательского центра радиологии Минздрава России, Обнинск, Россия

² Национальный медицинский исследовательский центр радиологии Минздрава России, Обнинск, Россия

Несмотря на значительный прогресс в области химиолучевой противоопухолевой терапии, внедрение новых фармакологических агентов и модификаторов радиационного ответа, направленных на увеличение терапевтического индекса лучевой терапии, остается одной из приоритетных задач экспериментальной онкологии и радиобиологии. Цель исследования – оценка противоопухолевых эффектов комбинированного применения ионизирующего излучения (электроны, протоны) и нового производного индол-3-карбоновой кислоты – 1-метил-2-бромметил-3-этоксикарбонил-5-метокси-6-броминдола. Материалы и методы: Исследования проводили на самках мышей *F₁(CBAxC₅₇Bl/6j)* с трансплантированной в область правой задней конечности карциномой Эрлиха. Соединение в дозе 30 мг/кг вводили внутривенно в день облучения и через 48 часов после первой инъекции. Методы работы включали токсикометрические и морфометрические исследования. Результаты исследования и обсуждение: Определена средняя летальная доза соединения при внутривенном введении мышам, $LD_{50} = 60$ мг/кг. Двукратные инъекции в режиме монотерапии вызывали стабильное торможение роста опухоли, которое развивалось до 30 %. При комбинированном применении лучевого воздействия и исследуемого соединения терапевтическая эффективность существенно увеличивалась, что свидетельствует о наличии синергического взаимодействия: индекс торможения роста опухоли повышался на 19 % с однократным облучением электронами, на 32 % – с фракционированным облучением электронами и на 27 % – с однократным облучением протонами. Кроме того, экспериментальная комбинированная терапия, наряду со значительным подавлением опухолевого роста, повышала выживаемость животных-опухоленосителей, не вызывая значимых токсических эффектов. Заключение: Полученные результаты указывают на перспективность дальнейшего изучения комбинированных режимов лучевой терапии и производных индол-3-карбинола. Дальнейшие исследования механизмов взаимодействия этих соединений и ионизирующего излучения должны включать оценку влияния на основные патофизиологические механизмы развития неоплазий, ключевые пути reparации ДНК и апоптоза.

Ключевые слова: противоопухолевые соединения, производные индол-3-карбоновой кислоты, алкилирующие агенты, противоопухолевая эффективность *in vivo*, комбинированная химиолучевая терапия.

Введение

Цитостатические препараты остаются фундаментальным компонентом в химиотерапии злокачественных новообразований, в том числе в комбинации с радиотерапией [1–3]. Подобные комбинированные режимы позволяют преодолевать резистентность опухоли к монотерапии и повышают радикальность лечения за счет взаимного усиления механизмов повреждения опухолевых клеток [4–8]. Однако, несмотря на значительное разнообразие цитостатических противоопухолевых препаратов, проблема достижения длительной безрецидивной ремиссии сохраняет свою актуальность. Одним из перспективных направлений в ее решении представляется разработка новых соединений данного химического класса, об-

ладающих способностью преодолевать механизмы лекарственной устойчивости злокачественных клеток.

В лаборатории радиационной фармакологии МРНЦ им. А.Ф. Цыба (г. Обнинск, РФ) разрабатываются новые соединения, обладающие противоопухолевой активностью, способные усиливать эффекты лучевой и химиотерапии [9–10], в том числе оригинальные водорастворимые противоопухолевые иммуномодулирующие диалкиламиноалкиловые эфиры производных индол-3-карбоновой кислоты (ИЗК), оказывающие противовирусное действие и вызывающие торможение роста неоплазий различного генеза без токсического влияния на организм [11–14]. Показано, что ряд новых производных ИЗК, модифицированных алкилирующими компонентами, проявляют выраженную противоопухолевую активность в условиях *in vitro* и *in vivo* [15–16]. Полученные предва-

Солдатова Ольга Васильевна

Медицинский радиологический научный центр им. А.Ф. Цыба

Адрес для переписки: 249036, Россия, Калужская область, Обнинск, ул. Королёва, д. 4; E-mail: ovsoldatova97@gmail.com

рительные экспериментальные данные позволяют рассматривать данную группу соединений в качестве перспективных кандидатов для дальнейшей разработки высокоэффективных отечественных противоопухолевых средств.

Цель исследования – оценка противоопухолевых эффектов комбинированного применения ионизирующего излучения (электроны, протоны) и оригинального производного индол-3-карбоновой кислоты – 1-метил-2-бромметил-3-этоксикарбонил-5-метокси-6-броминдола.

Задачи исследования

Изучение влияния комбинированного применения Т1167 и лучевого воздействия (протоны, электроны) на динамику объема и торможения роста солидной карциномы Эрлиха мышей в условиях *in vivo*.

Материалы и методы

Лабораторные животные

Самки мышей F_1 (СВА \times С57Бл/6) (n = 176) и самцы мышей линии BALB/c (n = 42) для исследований были получены из Научного центра биомедицинских технологий Федерального медико-биологического агентства (Андреевка, РФ). Все экспериментальные работы с лабораторными животными выполнены в соответствии с общепринятыми нормами манипуляций с животными, на основе стандартных операционных процедур, принятых в лаборатории радиационной фармакологии, действующего руководства по доклиническим исследованиям [17].

Исследуемое соединение

Субстанция 1-метил-2-бромметил-3-этоксикарбонил-5-метокси-6-броминдола (T1167, 405,18 г/моль), наработанная и стандартизированная в лаборатории радиационной фармакологии МРНЦ им. А.Ф. Цыба, применялась в дозе 30 мг/кг (0,3 % супспензия) на основе эмульгатора Tween-80 (NeoFroxx, Германия) и воды для инъекций (Истрафарм, РФ), вводилась животным внутрибрюшинно (в/б) в объеме 0,1 мл на 10 г массы тела. Т1167 синтезируется в лаборатории радиационной фармакологии в качестве промежуточного продукта с целью получения ряда противо-вирусных и противоопухолевых соединений [12–14]. Подробный способ получения соединения Т1167 описан нами ранее [15].

Опухолевая модель

Клеточную супспензию мышевой карциномы Эрлиха ($1,0 \times 10^6$ клеток/мышь) в 0,1 мл среды 199 (ПанЭко, РФ) трансплантировали подкожно в область латеральной поверхности заднего правого бедра. Подсчет клеток осуществляли с помощью автоматического счетчика клеток LUNA-II (Logos Biosystems, Корея). К 7–8 суткам эксперимента у всех животных наблюдалось формирование четко детектируемых опухолевых узлов, размеры которых не выходили за границы облучаемого поля (максимальные объемы (мм³) и размеры (мм) опухолевых узлов, которые подвергались облучению протонами – 388,93 и 418,61 – $15,03 \times 10,64 \times 3,42$ и $14,60 \times 10,20 \times 4,60$).

Облучение

Локальное облучение опухолевых узлов солидной карциномы Эрлиха (СКЭ) проводили на ускорителе электронов «Novac-11» (Sordina IORT Technologies, Италия) и ускорителе протонов «Прометеус» (РФ), расположенных в МРНЦ им. А.Ф. Цыба (г. Обнинск). Физико-дозиметрическое обеспечение лучевых воздействий выполнено специалистами центра коллективного пользования (ЦКП) «Радиологические и клеточные технологии» ФГБУ НМИЦ радиологии Минздрава России. Дозиметрию электронного и протонного излучения проводили с использованием 3D водного фантома MP3-P (PTW Freiburg, Германия), двухканального дозиметра Tandem XDR (PTW Freiburg, Германия) и набора ионизирующих камер Farmer Chamber Type 30,013 (PTW Freiburg, Германия) и Roos Chamber Type 3400 (PTW Freiburg, Германия). При облучении электронами мышь на пластине располагали горизонтально на манипуляционном столе и позиционировали тубус ускорителя диаметром 30 мм по центру новообразования, вплотную ортогонально латеральной поверхности. Проводили однократное локальное воздействие на опухоль электронами с энергией 8 МэВ в дозе 15 Гр и фракционированное воздействие электронами с энергией 10 МэВ в суммарной дозе 24 Гр (3 фракции по 8 Гр с интервалом 24 часа). Протонный пучок модифицировали замедлителем из полиметилметакрилата, что обеспечивало равномерное воздействие на узел СКЭ протонами с энергией 78–90 МэВ на пике Брэгга (глубина пика 32 мм). Равномерность поля излучения в плоскости ортогональной оси пучка контролировали с помощью радиохромной пленки Gafchromic EBT3 (Ashland, США). Дозиметрические расчеты проводили с использованием программного обеспечения PTW MEPHYSTO (Германия) в соответствии с рекомендациями МАГАТЭ TRS-398. По данным дозиметрических измерений и расчетов, неравномерность поглощенной дозы в поле облучения находилась в пределах 4–6 %. Перед облучением мышь фиксировали на плоской пластиковой пластине в дорсоВентральном положении с латеральным отведением правой задней конечности с привитой опухолью. При облучении протонами мышь на пластине фиксировали вертикально в специально регулируемой станине [18] и с помощью световых указателей позиционировали центр опухоли на ось горизонтального пучка (диаметр пучка 15 мм). Проводили однократное локальное воздействие на СКЭ протонами с энергией 78–90 МэВ в дозе 15 Гр. Облучение в выбранных дозах вызывало частичную задержку опухолевого роста, что обеспечивало возможность оценки радиосенсибилизирующего эффекта соединения Т1167 в комбинированной терапии.

Схема экспериментов

Ориентировочное значение $L_{D_{50}}$ соединения Т1167 определяли при однократном внутрибрюшинном введении мышам BALB/c по методу Дейхмана-Лебланка в диапазоне доз 60–280 мг/кг (n = 10), с учетом которого далее проводили детальную оценку токсичности методом пробит-анализа по Литчфилду и Уилкоксону [ГОСТ 12.1.007-76, 2007¹; 19–21]. Т1167 вводили по следующей схеме (табл. 1).

¹ГОСТ 12.1.007-76. Система стандартов безопасности труда, (ССБТ). Вредные вещества. Классификация и общие требования безопасности (с Изменениями N 1, 2) [State Standard "System of labor safety standards, (SSBT). Occupational safety standards system. Noxious substances. Classification and general safety requirements" (with Amendments No. 1, 2) (In Russ.)]

Таблица 1

Схема определения токсичности соединения Т1167 при однократном внутрибрюшинном введении по методу Литчфилда и Уилкоксона

Table 1

Scheme for determining the toxicity of compound T1167 by single intraperitoneal injection using the Litchfield and Wilcoxon method]

Доза (мг/кг) [Dose (mg/kg)]	40	50	70	90	110	130
Количество животных [Number of animals]	5	5	5	5	7	5

В первые часы наблюдения мышей помещали в специализированное устройство для оценки токсичности [22], общий срок наблюдения за животными составлял 14 суток.

Для изучения противоопухолевых эффектов комбинации соединения Т1167 и ионизирующего излучения проведены три независимых эксперимента на мышах $F_1(CBA \times C_{57}Bl/6j)$. Схема исследований отражена в таблице 2.

Таблица 2

Экспериментальные схемы комбинированной терапии карциномы Эрлиха *in vivo*

Table 2

Experimental schemes for combined therapy of Ehrlich carcinoma *in vivo*]

Параметры [Parameters]	Эксперимент 1 [Experiment 1]	Эксперимент 2 [Experiment 2]	Эксперимент 3 [Experiment 3]
Контрольная группа (нелеченные животные с опухолью) [Control group (untreated animals with tumors)]	Изотонический 0,9 % раствор NaCl в день начала воздействий, n = 20 [Isotonic 0,9 % NaCl solution on the day of exposure]	Изотонический 0,9 % раствор NaCl в день начала воздействий, n = 14 [Isotonic 0,9 % NaCl solution on the day of exposure]	Изотонический 0,9 % раствор NaCl в день начала воздействий, n = 12 [Isotonic 0,9 % NaCl solution on the day of exposure]
Группа Т1167 [Group T1167]	30 мг/кг (8 и 10 сутки), n = 20 [30 mg/kg (days 8 and 10)]	30 мг/кг (7 и 9 сутки), n = 14 [30 mg/kg (days 7 and 9)]	30 мг/кг (7 и 9 сутки), n = 11 [30 mg/kg (days 7 and 9)]
Группа облучения [Group of irradiation]	Электроны 15 Гр, однократно (8 сутки), n = 15 [Electrons of 15 Gy, once (8 days)]	Электроны 8 Гр \times 3 дня, фракционировано (7–9 сутки, 24 Гр), n = 14 [Electrons 8 Gy \times 3 days, fractionated (7–9 days, 24 Gy)]	Протоны 15 Гр, однократно (7 сутки), n = 14 [Protons of 15 Gy, once (7 days)]
Группа комбинированного воздействия [Combined exposure group]	Электроны + Т1167, n = 14 [Electrons + T1167]	Электроны + Т1167, n = 15 [Electrons + T1167]	Протоны + Т1167, n = 13 [Protons + T1167]
Извлечение опухоли [Tumor extraction]	24 сутки [24 days]	21 сутки [21 days]	28 сутки [28 days]

n – количество животных в группе [n is the number of animals in a group].

Динамику опухолевого роста оценивали морфометрически в соответствии с ранее опубликованной методикой [23], погрешность измерения составляла не более 0,5 мм. Пока-

затели объема опухоли для каждого животного нормировали к исходному объему в день начала воздействий, отображали в относительных единицах (отн. ед.), вычисляли тор-

можение опухолевого роста (ТРО, %). Опухолевые узлы после извлечения фотографировали. Мониторинг массы тела мышей осуществляли с помощью лабораторных весов AND HL-3000LWP (Япония), регулярно калибруемых для поддержания погрешности в пределах 0,1 г.

Статистическая обработка

Оценку значимости межгрупповых различий показателей проводили путем дисперсионного анализа Краскела-Уоллиса с апостериорным анализом по U-критерию Манна-Уитни с поправками Холма-Бонферрони. Различия полагали статистически значимыми при $p < 0,05$. Расчеты выполнены с помощью программного пакета Statistica 12 (StatSoft Inc.,

Tulsa, OK, USA), величины приведены в виде $M \pm SD$. Графическое представление данных осуществляли в программе OriginPro 8 (OriginLab Corp., USA).

Результаты и обсуждение

Результаты токсикологического исследования показали, что соединение T1167 относится к третьему классу токсичности и опасности (вещество умеренно токсичное). Показатель LD_{50} для мышей при внутрибрюшинном введении составил 60 мг/кг [19–21].

Облучение электронами в дозе 15 Гр и применение Т1167 (30 мг/кг) в монорежиме оказывали сходное влияние на рост СКЭ (рис. 1).

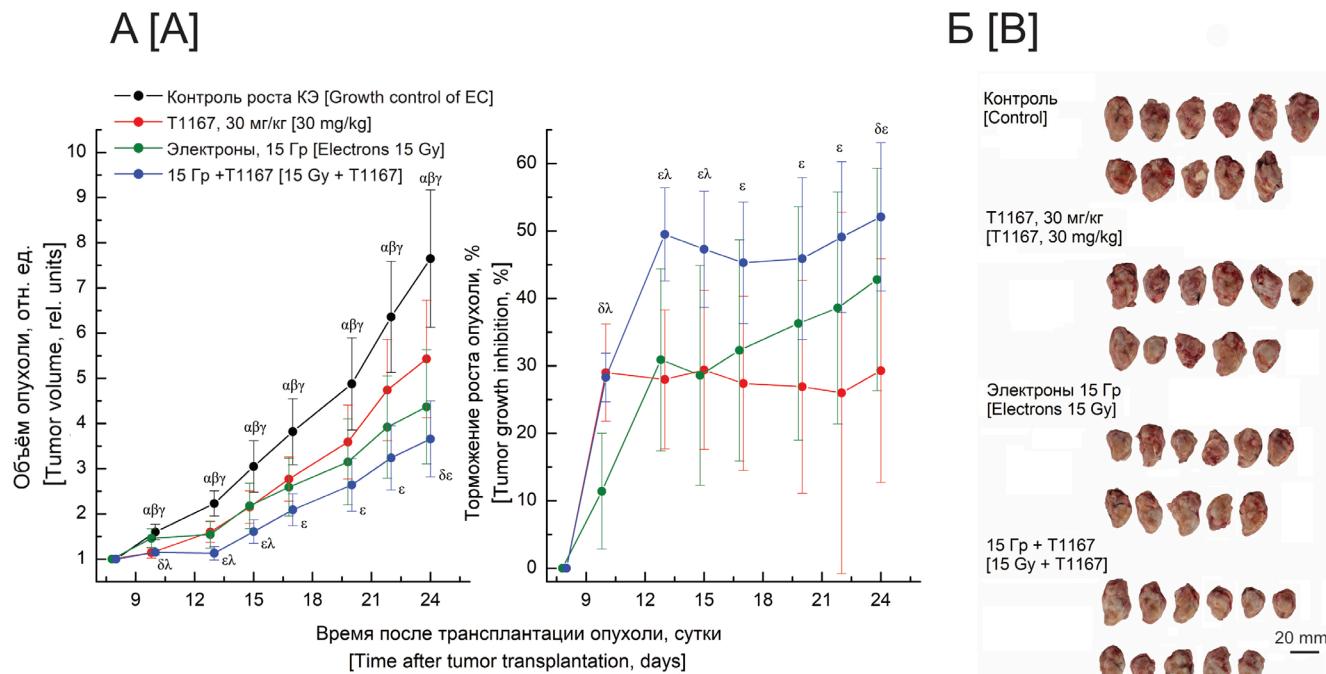


Рис.1. Влияние T1167 и однократного воздействия электронами в дозе 15 Гр на рост и торможение СКЭ у мышей F₁(СВА×C₅₇Bl/6j), (А). Графические отклонения соответствуют SD. Символы α – значимые различия ($p < 0,01$) между группами (T1167)/(Контроль), β – (15 Гр)/(Контроль), γ – (15 Гр+T1167)/(Контроль), δ – (T1167/15 Гр), ε – (15 Гр+T1167)/(T1167), λ – (15 Гр+ T1167)/(15 Гр); ТРО ($p < 0,01$), символы: δ – (T1167/15 Гр), ε – (15 Гр+ T1167)/(T1167), λ – (15 Гр+ T1167)/(15 Гр). (Б) – внешний вид опухолевых узлов СКЭ, извлеченных на 24 сутки роста

[Fig. 1. Effect of T1167 and a single exposure to electrons at a dose of 15 Gy on the growth and inhibition of SEC in F₁(CBA×C₅₇Bl/6) mice. Graphical deviations correspond to SD. Symbols α – significant differences ($p < 0.01$) between groups (T1167)/(Control), β – (15 Gy)/(Control), γ – (15 Gy+T1167)/(Control), δ – (T1167/15 Gy), ε – (15 Gy+T1167)/(T1167), λ – (15 Gy+T1167)/(15 Gy). TGI ($p < 0.01$) symbols: δ – (T1167/15 Gy), ε – (15 Gy+T1167)/(T1167), λ – (15 Gy+T1167)/(15 Gy). (B) – the appearance of the tumor nodes of SEC, extracted on the 24th day of growth]

Через 24 часа после первой инъекции соединения Т1167 торможение роста СКЭ достигало максимума (ТРО 29 %), что на 10 сутки превышало эффекты электронного воздействия в среднем на 18 %. Вторая инъекция не усиливалась, но обеспечивала стабильные противоопухолевые эффекты на протяжении всего срока наблюдения (ТРО 26–29 %). Действие электронов развивалось через 5 суток после облучения (ТРО 30 %), постепенно увеличивалось и достигало максимума к концу наблюдений (ТРО 43 %), превышало эффекты Т1167 в среднем на 14 %. В условиях комбинированного воздействия на опухоль двукратное введение Т1167 увеличивало эффекты облучения на протяжении всего срока в среднем на 9–19 %. Статистически значимое увеличение

эффектов облучения наблюдалось до 15 суток (17–19 %), оставалось на уровне 9–13 % до конца эксперимента. В первые дни после комбинированного воздействия (9–15 сутки) у животных опытных групп было зафиксировано уменьшение показателя прироста массы тела в пределах 1–9 % в сравнении с нелеченным контролем, что, вероятно, было связано с задержкой опухолевого роста. К окончанию эксперимента вес мышей в опытных группах нормализовался.

Комбинированное применение соединения Т1167 с фракционированным электронным облучением приводило к более выраженному увеличению индекса ТРО по сравнению с комбинацией, включающей однократное облучение (рис. 2).

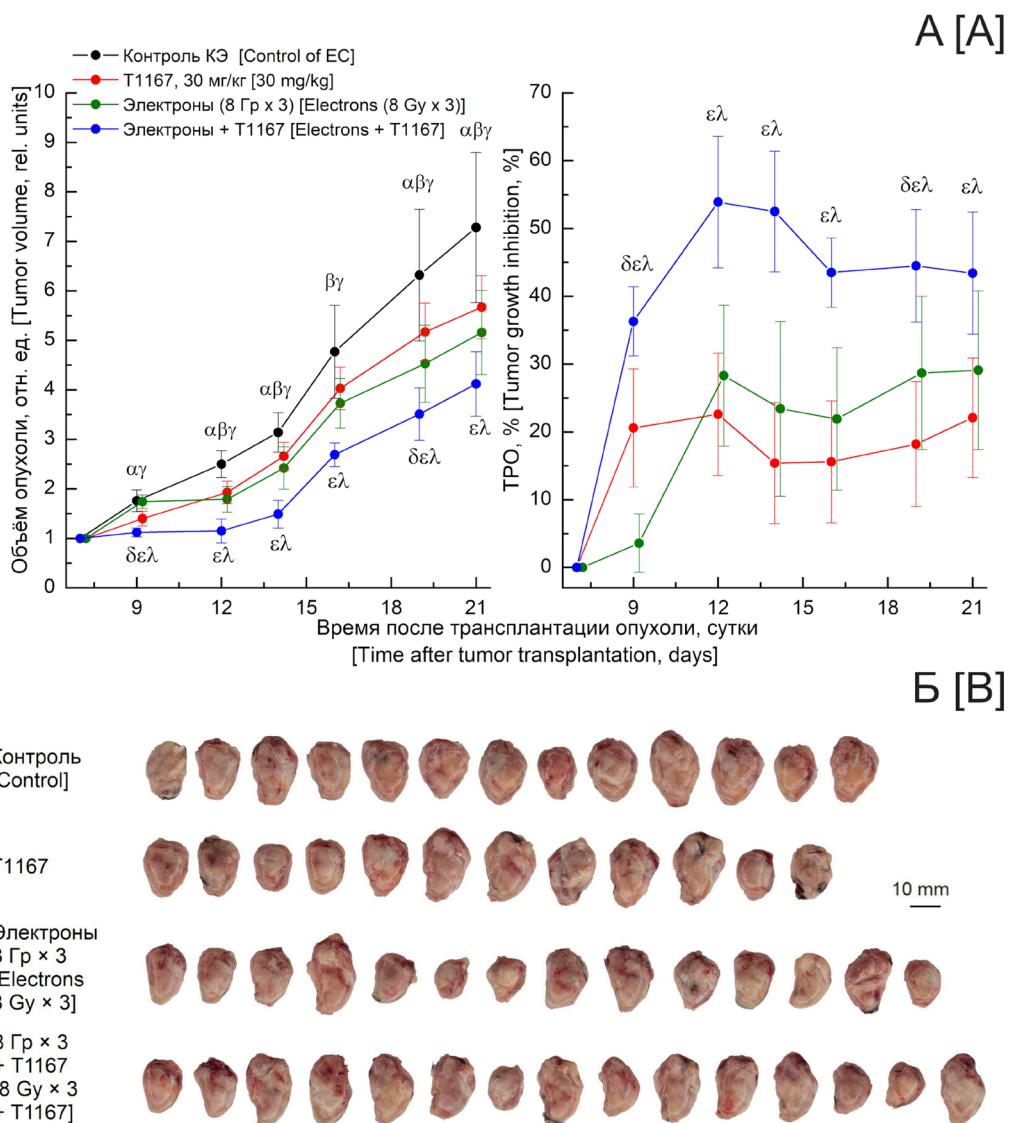


Рис. 2. Влияние T1167 и фракционированного воздействия электронами в суммарной дозе 24 Гр на рост и торможение СКЭ у мышей F₁(CBA×C₅₇Bl/6j), (А). Графические отклонения соответствуют SD. Символы: α – значимые различия ($p < 0,01$) между группами (T1167)/(Контроль), β – ([8 Гр \times 3])/(Контроль), γ – ([8 Гр \times 3] + T1167)/(Контроль), δ – (T1167/[8 Гр \times 3]), ε – ([8 Гр \times 3] + T1167)/(T1167), λ – ([8 Гр \times 3] + T1167)/([8 Гр \times 3]). ТРО, значимые различия ($p < 0,01$), символы: δ – (T1167/15 Гр), ε – (15 Гр + T1167)/(T1167), λ – (15 Гр + T1167)/(15 Гр). (Б) – внешний вид опухолевых узлов СКЭ, извлеченных на 21 сутки роста

[**Fig. 2.** Effect of T1167 and fractionated electron exposure at a total dose of 24 Gy on the growth and inhibition of SEC in F₁(CBA×C₅₇Bl/6j) mice (A). Graphical deviations correspond to SD. Significant differences ($p < 0.01$), symbols α – between groups (T1167)/(Control), β – (15 Gy)/(Control), γ – (15 Gy+T1167)/(Control), δ – (T1167/15 Gy), ε – (15 Gy+T1167)/(T1167), λ – (15 Gy+T1167)/(15 Gy). TGI significant differences ($p < 0.01$), symbols: δ – (T1167/15 Гр), ε – (15 Гр + T1167)/(T1167), λ – (15 Гр + T1167)/(15 Гр). (B) – the appearance of the tumor nodes of SEC, extracted on the 21th day of growth]

При монотерапии соединение T1167 демонстрировало умеренный, но статистически значимый ингибирующий эффект на рост опухоли (ТРО 15–23 %), достигая максимального подавления торможения через 72 часа после второй инъекции. В группе, получавшей только облучение, торможение роста СКЭ отмечалось лишь после третьей фракции, составляя 28 %, и сохранялось на стабильном статистически значимом уровне (22–29 %). Комбинированное воздействие уже на 9 сутки исследования превосходило эффект изолированного электронного облучения на 32 %, монотерапии T1167 – на 15 %. В течение всего периода наблюдения

преимущество комбинированного режима над монотерапией облучением составляло 16–32 %, а над изолированным применением T1167 – 15 – 38 %.

На фоне стабильного прироста массы тела в контроле, в ранние сроки наблюдения (7–14 сутки) в опытных группах было отмечено снижение массы тела мышей: до 5–7 % в группе монотерапии T1167 (значимые различия на 9–14 сутки), до 3 % в группе фракционированного облучения (значимые различия на 9 и 21 сутки), до 6–8 % – в группе комбинированного воздействия (значимые различия на 9–12 сутки).

Стремительный рост СКЭ сопровождался гибелю 1-2 мышей в группах нелеченого контроля и T1167, в то время как фракционированное облучение и комбинированное воздействие сохраняли 100 % выживаемость в группах.

Перспективные результаты получены в исследовании противоопухолевой комбинации протонного излучения и соединения T1167 в дозе 30 мг/кг при двукратном введении (рис. 3).

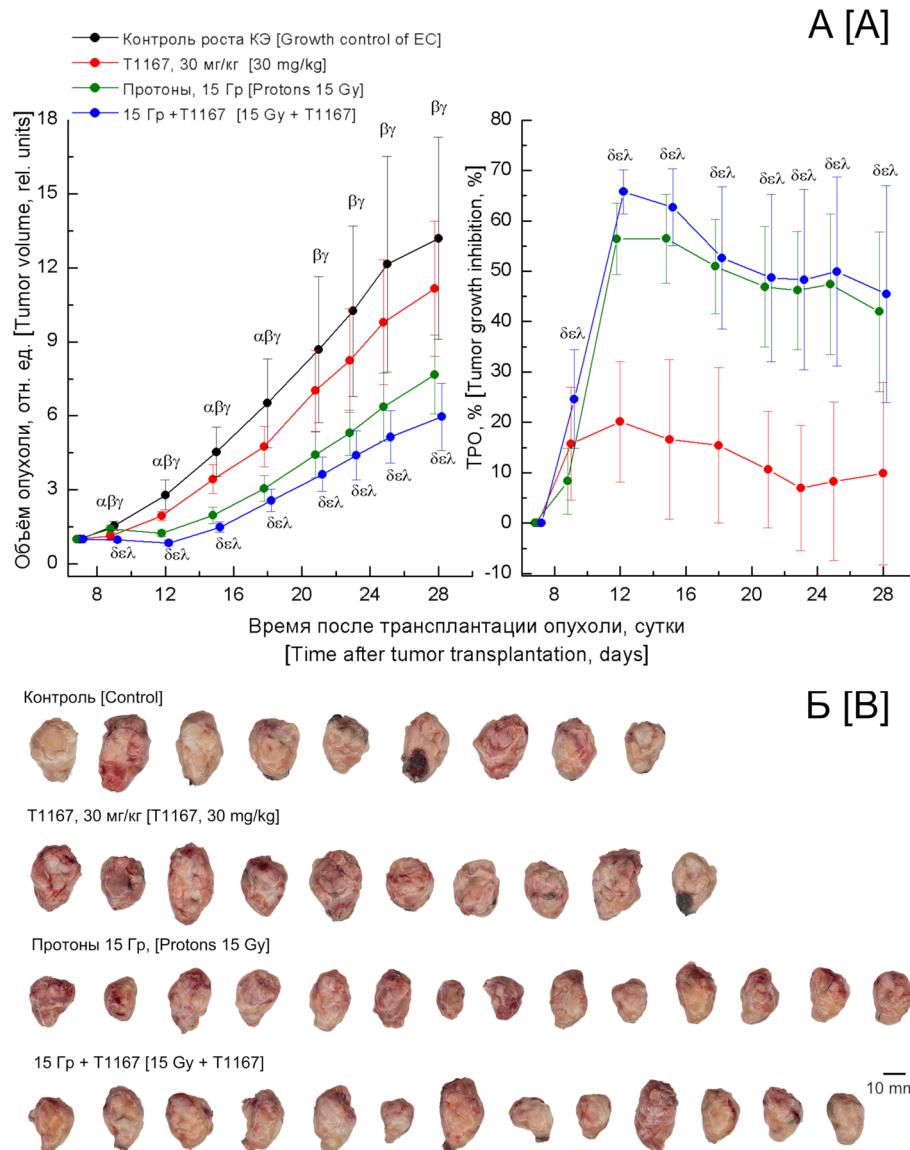


Рис. 3. Влияние T1167 и однократного облучения протонами в дозе 15 Гр на рост и торможение СКЭ у мышей F1(CBA×C57Bl/6j), (А). Графические отклонения соответствуют SD. Символы α – значимые различия ($p < 0,05$) между группами (T1167)/(Контроль), β – (15 Гр)/(Контроль), γ – (15 Гр + T1167)/(Контроль), δ – (T1167)/(15 Гр), ε – (15 Гр + T1167)/(T1167), λ – (15 Гр + T1167)/(15 Гр). ТРО, значимые различия ($p < 0,05$), символы: δ – (T1167)/(15 Гр), ε – (15 Гр + T1167)/(T1167), λ – (15 Гр + T1167)/(15 Гр).

(Б) – внешний вид опухолевых узлов СКЭ, извлеченных на 28 сутки роста

[**Fig. 3.** Effect of T1167 and a single proton irradiation at a dose of 15 Gy on the growth and inhibition of SEC in F1(CBA×C57Bl/6j) mice (A). Graphical deviations correspond to SD. Symbols α – significant differences ($p < 0.05$) between groups (T1167)/(Control), β – (15 Gy)/(Control), γ – (15 Gy + T1167)/(Control), δ – (T1167/15 Gy), ε – (15 Gy + T1167)/(T1167), λ – (15 Gy + T1167)/(15 Gy). TGI, significant differences ($p < 0.05$), symbols: δ – (T1167/15 Gy), ε – (15 Gy + T1167)/(T1167), λ – (15 Gy + T1167)/(15 Gy). (B) – the appearance of the tumor nodes of SEC, extracted on the 28th day of growth]

Две инъекции T1167 обеспечивали торможение опухолевого роста в пределах 24–30 %, что на 9 сутки значимо превышало эффекты протонов в дозе 15 Гр. Далее противоопухолевое действие протонного излучения развивалось к 12–15 суткам и вдвое превышало эффекты T1167, макси-

мальный индекс ТРО в эти сроки составлял 55–57 %. Торможение роста опухоли снижалось постепенно, находилось на значимом уровне. При комбинации T1167 и протонов уже на 9 сутки торможение роста опухоли находилось на уровне 37 %, в то время как в группе протонов эффект только начи-

нал реализовываться (ТРО 10 %). Своего максимума показатель ТРО достигал на 12–15 сутки наблюдений и составлял 67–69 %. Особенно на ранних сроках использованная комбинированная терапия обеспечивала более выраженное подавление роста СКЭ в сравнении с радиотерапией протонами (увеличение ТРО на 14–27 %). К 28 суткам ТРО группы комбинированного воздействия на 13 % превышало эффекты, реализуемые протонами. При этом значимость различий с другими группами наблюдалась на всех сроках. В первые пять дней после воздействия (9–12-е сутки эксперимента) у животных опытных групп отмечалось уменьшение показателя прироста массы тела в пределах 2–8 %, который нормализовался к окончанию наблюдений. В контрольной группе стремительный рост СКЭ с 21 суток сопровождался гибелью трех мышей. В группе двукратного введения Т1167 был отмечен лишь единичный случай гибели. Протонное облучение и комбинация с исследуемым соединением обеспечивали поддержание 100 % выживаемости животных.

В современной клинической практике лучевая терапия часто интегрируется в комплексные протоколы с химиотерапевтическими препаратами, таргетными агентами, хирургическим вмешательством, гормональной и иммунотерапией. Такая стратегия направлена на преодоление радиорезистентности злокачественных новообразований. Подобные комбинированные подходы, базирующиеся на углубленном понимании молекулярных механизмов радиочувствительности, способствуют существенному увеличению терапевтического индекса за счет селективной сенсибилизации опухолевой ткани [25, 27].

Наблюдаемые различия в противоопухолевой эффективности между режимами облучения и их комбинацией с соединением Т1167 могут иметь следующее обоснование. Более высокая эффективность комбинации с однократным протонным воздействием (прирост ТРО на 27 % против 19 % для однократного воздействия электронами) связана с фундаментальными различиями в физике передачи энергии и последующими биологическими эффектами. Как известно, протоны характеризуются выраженным пиком Брэгга и значительно более высокой ЛПЭ в области мишени (3–8 кэВ/мкм против 0,2 кэВ/мкм для электронов) [24–29]. Повышенная ЛПЭ обусловливает формирование более плотных и структурно сложных кластеров повреждений ДНК, преимущественно двунитевых разрывов, которые характеризуются низкой репаративной эффективностью в силу недостаточности системы гомологичной рекомбинации и являются субстратом для ошибок негомологичного соединения концов. Высокая ОБЭ протонов имеет высокое значение для преодоления гипоксической радиорезистентности, что, по-видимому, и явилось ключевым фактором их превосходства в нашем исследовании.

Вместе с тем наибольшая эффективность (32 %) была достигнута при комбинации Т1167 с фракционированным облучением электронами, что является ожидаемым результатом с точки зрения радиобиологии. Фракционирование дозы позволяет реализовать перераспределение клеток по фазам клеточного цикла с синхронизацией популяции в наиболее радиочувствительные фазы (G₂/M), а также инициировать процессы реоксигенации гипоксических клеточных пулов между сеансами облучения, повышая их уязвимость к последующей дозе [25]. Потенцирование этих эф-

фектов соединением Т1167 может быть опосредовано ингибированием ключевых ферментов репарации ДНК, что приводит к нарушению процессов восстановления повреждений и накоплению летальных хромосомных аберраций, либо же усилением апоптотического ответа в опухолевых клетках с массивными повреждениями (работы по детальному исследованию противоопухолевых механизмов действия Т1167 в настоящее время ведутся).

Снижение эффектов моно- и комбинированной терапии Т1167 на терминальной стадии может указывать на: частичное восстановление пролиферативной активности опухолевых клеток вследствие прекращения терапевтического воздействия (воздействие – на 7–9 сутки, извлечение опухолевых узлов – 21–28 сутки); выраженную межгрупповую вариабельность ответа на лечение, что характерно для моделей *in vivo*.

Полученные результаты свидетельствуют о целесообразности продолжения исследований в данном направлении, в частности модификации схем химиолучевого воздействия с целью повышения противоопухолевых эффектов: оптимизации временного интервала между введениями Т1167 и облучением, добавление в схему терапии противоопухолевых агентов других классов (ингибиторы ангиогенеза, иммуномодуляторы).

Заключение

Результаты исследований свидетельствуют, что производное индол-3-карбоновой кислоты Т1167 способно усиливать противоопухолевые эффекты ионизирующих излучений разного качества. Определена средняя летальная доза Т1167 при внутрибрюшинном введении мышам, $LD_{50} = 60$ мг/кг. Двукратные инъекции Т1167 в режиме моно-терапии вызывали стабильное торможение роста СКЭ, достигающее 30 %. Комбинированное применение Т1167 с ионизирующим облучением существенно усиливало терапевтическую эффективность: индекс ТРО повышался на 19 % с однократным облучением электронами, на 32 % – с фракционированным облучением электронами и на 27 % – с однократным облучением протонами. Кроме того, экспериментальная комбинированная терапия повышала выживаемость животных-опухоленосителей, не вызывая значимых токсических эффектов.

Полученные результаты указывают на перспективность дальнейшего изучения комбинированных режимов химиолучевой терапии, включающих применение производных индол-3-карбоновой кислоты. Дальнейшие исследования механизмов взаимодействия этих соединений и ионизирующего излучения должны включать оценку влияния на основные патофизиологические механизмы развития неоплазий, ключевые пути репарации ДНК и апоптоза.

Облучение животных выполнено на оборудовании ЦКП «Радиологические и клеточные технологии» ФГБУ «НМИЦ радиологии» Минздрава России.

Сведения о личном вкладе авторов в работу над статьей

Солдатова О.В. – анализ литературных источников, планирование и проведение экспериментальных исследований, обработка и систематизация первичных материалов исследования, составление рукописи, утверждение публикуемой версии рукописи.

Филимонова М.В. – химико-фармакологический дизайн соединения, планирование работы, составление рукописи, окончательное утверждение публикуемой версии рукописи.

Сурикова В.И. – химико-фармакологический дизайн и наработка необходимого количества субстанции для проведения исследований *in vivo*.

Шитова А.А. – планирование работы, проведение экспериментальных исследований по оценке токсикологических показателей, противоопухолевой активности.

Николаев К.А. – обработка, графическое представление полученных данных, составление рукописи.

Рыбачук В.А. – обработка, графическое представление полученных данных, составление рукописи.

Косаченко А.О. – обработка, графическое представление полученных данных, составление рукописи.

Корякин С.Н. – планирование работы на облучательских установках.

Шегай П.В. – административное руководство, утверждение публикуемой версии рукописи.

Иванов С.А. – административное руководство, утверждение публикуемой версии рукописи.

Каприн А.Д. – административное руководство, утверждение публикуемой версии рукописи.

Филимонов А.С. – планирование работы, обработка, статистический анализ и графическое представление полученных данных, пересмотр и окончательное утверждение публикуемой версии рукописи.

Благодарности

Авторы выражают благодарность сотрудникам отдела радиационной биофизики МРНЦ им. А.Ф. Цыбза за помощь в подготовке и проведении работ на облучательских установках.

Информация о конфликте интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Сведения об источнике финансирования

Исследование не имело спонсорской поддержки.

Литература

1. Anand U., Dey A., Chandel A.K.S. et al. Cancer chemotherapy and beyond: Current status, drug candidates, associated risks and progress in targeted therapeutics // Genes & Diseases. 2023. Vol. 10, № 4. P. 1367–1401. DOI: 10.1016/j.gendis.2022.02.007
2. Twelves C., Jove M., Gombos A., Awada A. Cytotoxic chemotherapy: Still the mainstay of clinical practice for all subtypes metastatic breast cancer // Critical reviews in oncology/hematology. 2016. Vol. 100. P. 74–87. DOI: 10.1016/j.critrevonc.2016.01.021
3. Tilsed C.M., Fisher S.A., Nowak A.K. et al. Cancer chemotherapy: insights into cellular and tumor microenvironmental mechanisms of action // Frontiers in Oncology. 2022. Vol. 12. P. 960317. DOI: 10.3389/fonc.2022.960317
4. Baumann M., Krause M., Overgaard J. et al. Radiation oncology in the era of precision medicine // Nature Reviews Cancer. 2016. Vol. 16, № 4. P. 234–249. DOI: 10.1038/nrc.2016.18
5. Falzone L., Salomone S., Libra M. Evolution of Cancer Pharmacological Treatments at the Turn of the Third Millennium // Frontiers in pharmacology. 2018. Vol. 9. P. 1300. DOI: 10.3389/fphar.2018.01300
6. Wang K., Terper J.E. Radiation therapy-associated toxicity: Etiology, management, and prevention // CA: a cancer journal for clinicians. 2021. Vol. 71, № 5. P. 437–454. DOI: 10.3322/caac.21689
7. Белевич Ю.В., Чойнзонов Е.Л., Гольдберг В.Е. и др. Противоопухолевая химиотерапия в комбинированном лечении больных злокачественными новообразованиями гортани и гортаноглотки // Вопросы онкологии. 2018. Т. 64, № 5. С. 607–611.
8. Панкратов В.А., Андреев В.Г., Рожнов В.А. и др. Одновременное применение химио- и лучевой терапии при самостоятельном консервативном и комбинированном лечении больных местно-распространенным раком гортани и гортаноглотки // Сибирский онкологический журнал. 2007. № 1. С. 18–22.
9. Филимонова М.В., Макарчук В.М., Шевченко Л.И., Филимонов А.С. Исследование влияния ингибитора NOS T1023 в сочетании с γ-излучением и циклофосфамидом на рост и метастазирование карциномы легких Льюис // Патологическая физиология и экспериментальная терапия. 2019. Т. 63, № 3. С. 105–109. DOI: 10.25557/0031-2991.2019.03.105-109
10. Filimonova M., Shitova A., Soldatova O. et al. Combination of NOS- and PDK-Inhibitory Activity: Possible Way to Enhance Antitumor Effects // International Journal of Molecular Sciences. 2022. Vol. 23, № 2. P. 730. DOI: 10.3390/ijms23020730
11. Narovlyansky A.N., Filimonova M.V., Tsyshkova N.G. et al. In Vitro Antiviral Activity of a New Indol-3-carboxylic Acid Derivative Against SARS-CoV-2 // Acta Naturae. 2023. Vol. 15, № 4. P. 83–91. DOI: 10.32607/actanaturae.2662
12. Наровлянский А.Н., Филимонова М.В., Цышкова Н.Г. и др. Пат. № 2820633 Российская Федерация, МПК C07K 31/454, C07D 403/06, A61P 31/12. Производное индол-3-карбоновой кислоты, обладающее противовирусной активностью в отношении SARS-COV-2. опубл. 06.06.2024, Бюл. № 16.
13. Наровлянский А.Н., Филимонова М.В., Цышкова Н.Г. и др. Пат. № 2835077 Российская Федерация, МПК C07D 403/06, A61K 31/454. Получение водорастворимого соединения дигидрохлорида 6-бром-1-метил-5-метокси-2-(1-пиперидинометил)-3-(2-диэтиламиноэтокси)карбонилиндола. опубл. 21.02.2025, Бюл. № 6.
14. Филимонова М.В., Сурикова В.И., Солдатова О.В. и др. Пат. № 2782931 Российская Федерация, МПК C07D 209/42, C07D 401/06, C07D 409/06, A61K 31/405, A61P 35/00, A61P 37/02. Производные индол-3-карбоновой кислоты, обладающие противоопухолевой активностью. опубл. 07.11.2022, Бюл. № 31.
15. Филимонова М. В., Солдатова О. В., Сурикова В. И. и др. Патент на изобр. № 2850169 Российская Федерация, МПК C07D 209/04, C07D 209/10, C07D 209/42, A61K 31/404, A61K 31/405, A61P 35/00. Усовершенствованный способ получения 1-метил-2-бромметил-3-карбэтокси-5-метокси-6-броминдола, подавляющего рост солидной карциномы Эрлиха и рака шейки матки у мышей. опубл. 05.11.2025, Бюл. № 31.
16. Филимонова М.В., Солдатова О.В., Сурикова В.И. и др. Заявка на изобр. № 2024127831 Российская Федерация, МПК C07D 209/42. Способ получения новых оригинальных хлорэтиламино-замещенных производных аминоалкильных эфиров индол-3-карбоновой кислоты, обладающих противоопухолевой активностью. опубл. 12.12.2024, Бюл. № 35.
17. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. Ч. 1 // под ред. А.Н. Миронова. М.: Гриф и К, 2012. С. 944.
18. Сабуров В.О., Солдатова О.В., Моисеев А.С. и др. Пат. № 224468 Российская Федерация, МПК A61D 3/00. Устройство для фиксации мелких лабораторных животных при проведении локального облучения задней конечности протонами. опубл. 26.03.2024, Бюл. № 9.
19. Березовская И.В. Прогноз безопасности лекарственных средств в доклинических токсикологических исследованиях // Токсикологический вестник. 2010. № 5 (104). С. 17–22.
20. Holm S. A simple sequentially rejective multiple test procedure // Scandinavian Journal of Statistics. 1979. Vol. 6, № 2. P. 65–70. JSTOR 4615733
21. Litchfield J.T., Wilcoxon F.A. Asimplified method of evaluating dose effect experiments // The Journal of pharmacology and experimental therapeutics. 1947. Vol .96, № 2. P. 99–113.

22. Филимонова М.В., Сабурова А.С., Макарчук В.М. и др. Пат. № 199874 Российской Федерации, МПК G09B 23/28, A01K 1/03. Устройство для оценки "острой" токсичности биологически активных соединений на мелких лабораторных животных. опубл. 24.09.2020, Бюл. № 27.

23. Filimonova M., Shitova A., Shevchenko L. et al. In Vitro Cytotoxic Potential and In Vivo Antitumor Effects of NOS/PDK-Inhibitor T1084 // International journal of molecular sciences. 2024. Vol. 25, № 17. P. 9711. DOI: 10.3390/ijms25179711.

24. Durante M., Loeffler J.S. Charged particles in radiation oncology // Nature Reviews Clinical Oncology. 2010. Vol. 7, № 1. P. 37–43. DOI: 10.1038/nrclinonc.2009.183

25. Held K.D., Kawamura H., Kaminuma T. et al. Effects of Charged Particles on Human Tumor Cells // Frontiers in Oncology. 2016. Vol. 6, № 23. DOI: 10.3389/fonc.2016.00023

26. Lühr A., Von Neubeck C., Krause M., Troost E.G.C. Relative biological effectiveness in proton beam therapy – Current knowledge and future challenges // Clinical and Translational Radiation Oncology. 2018. Vol. 9. P. 35–41. DOI: 10.1016/j.ctro.2018.01.006

27. Szymonowicz K., Krysztofiak A., Linden J.V. et al. Proton Irradiation Increases the Necessity for Homologous Recombination Repair Along with the Indispensability of Non-Homologous End Joining // Cells. 2020. Vol. 9, № 4. P. 889. DOI: 10.3390/cells9040889

28. Бекетов Е.Е., Исаева Е.В., Соловьев А.Н. и др. Изучение зависимости биологической эффективности тяжелых заряженных частиц от линейной передачи энергии и оценка влияния приобретенной радиорезистентности опухолевых клеток на последующее облучение ионами. Труды регионального конкурса проектов фундаментальных научных исследований. 2020. С. 52–60.

29. Бекетов Е.Е., Исаева Е.В., Наседкина Н.В. и др. Сформированная резистентность опухолевых клеток линии B16 к протонам после длительного фракционированного облучения электронами // Радиация и риск (Бюллетень Национального радиационно-эпидемиологического регистра). 2020. Т. 29, № 4. С. 69–83.

Поступила: 11.06.2025

Солдатова Ольга Васильевна – младший научный сотрудник лаборатории радиационной фармакологии, аспирант, Медицинский радиологический научный центр им. А.Ф. Цыба – филиал Национального медицинского исследовательского центра радиологии Минздрава России. **Адрес для переписки:** 249036, Россия, Калужская область, Обнинск, ул. Королёва, д. 4; E-mail: ovsoldatova97@gmail.com
ORCID: 0000-0002-1178-3560

Филимонова Марина Владимировна – доктор биологических наук, заведующая лабораторией радиационной фармакологии, Медицинский радиологический научный центр им. А.Ф. Цыба – филиал Национального медицинского исследовательского центра радиологии Минздрава России, Обнинск, Россия
ORCID: 0000-0002-9690-4746

Сурикова Валентина Ивановна – кандидат химических наук, старший научный сотрудник лаборатории радиационной фармакологии, Медицинский радиологический научный центр им. А.Ф. Цыба – филиал Национального медицинского исследовательского центра радиологии Минздрава России, Обнинск, Россия
ORCID: 0000-0003-1329-8312

Шитова Анна Андреевна – младший научный сотрудник лаборатории радиационной фармакологии, Медицинский радиологический научный центр им. А.Ф. Цыба – филиал Национального медицинского исследовательского центра радиологии Минздрава России, Обнинск, Россия
ORCID: 0000-0001-5512-9096

Николаев Кирилл Анатольевич – лаборант лаборатории радиационной фармакологии, Медицинский радиологический научный центр им. А.Ф. Цыба – филиал Национального медицинского исследовательского центра радиологии Минздрава России, Обнинск, Россия
ORCID: 0000-0003-0518-8228

Рыбачук Виталий Александрович – младший научный сотрудник лаборатории радиационной фармакологии, Медицинский радиологический научный центр им. А.Ф. Цыба – филиал Национального медицинского исследовательского центра радиологии Минздрава России, Обнинск, Россия
ORCID: 0000-0001-8820-9965

Косаченко Александр Олегович – лаборант лаборатории радиационной фармакологии, Медицинский радиологический научный центр им. А.Ф. Цыба – филиал «Национального медицинского исследовательского центра радиологии» Минздрава России, Обнинск, Россия
ORCID: 0000-0003-2173-388X

Корякин Сергей Николаевич – кандидат биологических наук, заведующий отделом радиационной биофизики, Медицинский радиологический научный центр им. А.Ф. Цыба – филиал Национального медицинского исследовательского центра радиологии Минздрава России, Обнинск, Россия
ORCID: 0000-0003-0128-4538

Шегай Петр Викторович – кандидат медицинских наук, заместитель генерального директора Национального медицинского исследовательского центра радиологии Минздрава России по науке, Обнинск, Россия
ORCID: 0000-0001-9755-1164

Иванов Сергей Анатольевич – доктор медицинских наук, профессор, член-корреспондент Российской академии наук, заслуженный врач Российской Федерации, директор Медицинского радиологического научного центра им. А.Ф. Цыба – филиала Национального медицинского исследовательского центра радиологии Минздрава России, Обнинск, Россия
ORCID: 0000-0001-7689-6032

Каприн Андрей Дмитриевич – доктор медицинских наук, профессор, академик РАН, заслуженный врач Российской Федерации, генеральный директор Национального медицинского исследовательского центра радиологии Минздрава России, Обнинск, Россия
ORCID: 0000-0001-8784-8415

Филимонов Александр Сергеевич – научный сотрудник лаборатории радиационной фармакологии, Медицинский радиологический научный центр им. А.Ф. Цыба – филиал Национального медицинского исследовательского центра радиологии Минздрава России, Обнинск, Россия
ORCID: 0000-0002-4398-1764

Для цитирования: Солдатова О.В., Филимонова М.В., Суринова В.И., Шитова А.А., Николаев К.А., Рыбачук В.А., Косаченко А.О., Корякин С.Н., Шегай П.В., Иванов С.А., Каприн А.Д., Филимонов А.С. Радиомодифицирующие свойства бромзамещенного производного индол-3-карбоновой кислоты при протонной и электронной терапии карциномы Эрлиха *in vivo* // Радиационная гигиена. 2025. Т. 18, № 4. С. 19–30. DOI: 10.21514/1998-426X-2025-18-4-19-30

Radiomodifying properties of a bromo-substituted derivative of indole-3-carboxylic acid in proton and electron therapy of Ehrlich carcinoma *in vivo*

Olga V. Soldatova¹, Marina V. Filimonova¹, Valentina I. Surinova¹, Anna A. Shitova¹, Kirill A. Nikolaev¹, Vitaliy A. Rybachuk¹, Alexander O. Kosachenko¹, Sergey N. Koryakin¹, Petr V. Shegai², Sergey A. Ivanov¹, Andrey D. Kaprin², Alexander S. Filimonov¹

¹ A. Tsyb Medical Radiological Research Centre – the branch of the “National Medical Research Radiological Centre” of the Ministry of Health of the Russian Federation, Obninsk, Russia

² National Medical Research Radiological Centre of the Ministry of Health of the Russian Federation, Obninsk, Russia

Despite significant progress in the field of chemoradiation antitumor therapy, the introduction of new pharmacological agents and radiation response modifiers aimed at increasing the therapeutic index of radiation therapy remains one of the priority tasks of experimental oncology and radiobiology. Objective of the study is evaluation of the antitumor effects of the combined use of ionizing radiation (electrons, protons) and a new derivative of indole-3-carboxylic acid – 1-methyl-2-bromomethyl-3-ethoxycarbonyl-5-methoxy-6-bromindole. Materials and Methods: The study was conducted on female F₁(CBA×C₅₇Bl/6j) F1(CBA×C₅₇Bl/6j) mice with Ehrlich carcinoma transplanted into the right hind limb. The compound was administered intraperitoneally at a dose of 30 mg/kg on the day of irradiation and 48 hours after the first injection. The experimental methods included toxicometric and morphometric analyses. Results and Discussion: The median lethal dose of the compound was determined for intraperitoneal administration to mice, LD₅₀ = 60 mg/kg. Double injections in the monotherapy mode caused stable inhibition of tumor growth, which developed to 30 %. The combined use of radiation exposure and the studied compound led to significant increasing of therapeutic efficacy indicating the presence of synergistic interaction: the tumor growth inhibition index increased by 19 % with single electron irradiation, by 32 % with fractionated electron irradiation, and by 27 % with single proton irradiation. In addition, the experimental combination therapy, along with significant suppression of tumor growth, increased the survival of tumor-bearing animals without causing significant toxic effects. Conclusion: The obtained results indicate the prospects for further study of combined regimens of radiation therapy and indole-3-carbinol derivatives. Further studies of the mechanisms of interaction of these compounds and ionizing radiation should include an assessment of the effect on the main pathophysiological mechanisms of neoplasia development, key pathways of DNA repair and apoptosis.

Key words: antitumor compounds, indole-3-carboxylic acid derivatives, alkylating agents, *in vivo* antitumor efficacy, combined chemoradiotherapy.

Authors' personal contribution

Soldatova O.V. – analysis of literary sources, planning and conducting experimental studies, processing and systematization of primary research materials, drafting the manuscript, approval of the published version of the manuscript.

Filimonova M.V. – chemical and pharmacological design of the compound, work planning, drafting the manuscript, final approval of the published version of the manuscript.

Surinova V.I. – chemical and pharmacological design and production of the required amount of substance for *in vivo* studies.

Shitova A.A. – work planning, conducting experimental studies to assess toxicological parameters and antitumor activity.

Nikolaev K.A. – processing, graphic presentation of the obtained data, drafting the manuscript.

Rybachuk V.A. – processing, graphic presentation of the obtained data, drafting the manuscript.

Kosachenko A.O. – processing, graphic presentation of the obtained data, drafting the manuscript.

Koryakin S.N. – planning of work on irradiation facilities.

Shegai P.V. – administrative management, approval of the published version of the manuscript.

Ivanov S.A. – administrative management, approval of the published version of the manuscript.

Kaprin A.D. – administrative management, approval of the published version of the manuscript.

Olga V. Soldatova

A.F. Tsyb Medical Radiological Research Center

Address for correspondence: 4, Koroleva Str., Obninsk, Kaluga Region, 249036, Russia; E-mail: ovsoldatova97@gmail.com

Filimonov A.S. – work planning, processing, statistical analysis and graphical presentation of the obtained data, revision and final approval of the published version of the manuscript.

Acknowledgements

The authors express their gratitude to the staff of the Department of Radiation Biophysics of the A.F. Tsyb MRRC for their assistance in preparing and conducting work on irradiation facilities.

Conflict of interests

The authors declare no conflict of interest.

Sources of funding

The study was not supported by sponsorship.

References

1. Anand U, Dev A, Chandel AKS, Sanyal R, Mishra A, Pandey DK, et al. Cancer chemotherapy and beyond: Current status, drug candidates, associated risks and progress in targeted therapeutics. *Genes & diseases*. 2022;10(4): 1367–1401.
2. Twelves C, Jove M, Gombos A, Awada A. Cytotoxic chemotherapy: Still the mainstay of clinical practice for all subtypes metastatic breast cancer. *Critical reviews in oncology/hematology*. 2016;100: 74–87.
3. Tilsed CM, Fisher SA, Nowak AK, Lake RA, Lesterhuis WJ. Cancer chemotherapy: insights into cellular and tumor microenvironmental mechanisms of action. *Frontiers in oncology*. 2022;12: 960317.
4. Baumann M, Krause M, Overgaard J, Debus J, Bentzen SM, Daartz J, et al. Radiation oncology in the era of precision medicine. *Nature Reviews Cancer*. 2016;16(4): 234–249.
5. Falzone L, Salomone S, Libra M. Evolution of Cancer Pharmacological Treatments at the Turn of the Third Millennium. *Frontiers in Pharmacology*. 2018;9: 1300.
6. Wang K, Tepper JE. Radiation therapy-associated toxicity: Etiology, management, and prevention. *CA: A Cancer Journal for Clinicians*. 2021;71(5): 437–454.
7. Belevich YuV, Choynzonov EL, Goldberg VE, Chizhevskaya SYu, Frolova IG, Chernov VI, et al. Antitumor chemotherapy in combined treatment of patients with cancer of the larynx and hypopharynx. *Voprosy Onkologii = Oncology Issues*. 2018;64(5): 607–611. (In Russian).
8. Pankratov VA, Andreev VG, Rozhnov VA, Gulidov IA, Baryshev VV, Buyakova ME, et al. Concurrent chemo- and radiation therapy in conservative stand-alone and combined treatment of patients with locally advanced laryngeal and laryngopharyngeal cancer. *Sibirskiy Onkologicheskiy Zhurnal = Siberian Journal of Oncology*. 2007;(1): 18–22. (In Russian).
9. Filimonova MV, Makarchuk VM, Shevchenko LI, Filimonov AS. Effect of a NOS inhibitor, T1023, in combination with γ -irradiation and cyclophosphamide on growth and metastasis of Lewis lung carcinoma. *Patologicheskaya Fiziologiya i Eksperimental'naya Terapiya = Pathological Physiology and Experimental Therapy*. 2019;63(3): 105–109. (In Russian).
10. Filimonova M, Shitova A, Soldatova O, Shevchenko L, Saburova A, Podosinnikova T, et al. Combination of NOS- and PDK-Inhibitory Activity: Possible Way to Enhance Antitumor Effects. *International Journal of Molecular Sciences*. 2022;23(2): 730.
11. Narovlyansky AN, Filimonova MV, Tsyshkova NG, Pronin AV, Grebennikova TV, Karamov EV, et al. In Vitro Antiviral Activity of a New Indol-3-carboxylic Acid Derivative Against SARS-CoV-2. *Acta Naturae*. 2023;15(4): 83–91.
12. Narovlyansky AN, Filimonova MV, Tsyshkova NG, Pronin AV, Grebennikova TV, Karamov EV, et al. Patent № 2820633 Russian Federation, IPC A61K 31/454, C07D 403/06, A61P 31/12. Indole-3-carboxylic acid derivative having antiviral activity on SARS-CoV-2. Published 06.06.2024, Bull. № 16. (In Russian).
13. Narovlyansky AN, Filimonova MV, Tsyshkova NG, Pronin AV, Grebennikova TV, Karamov EV, et al. Patent № 2835077 Russian Federation, IPC C07D 403/06, A61K 31/454. Obtaining a water-soluble 6-bromo-1-methyl-5-methoxy-2-(1-piperidinomethyl)-3-(2-diethylaminoethoxy) carbonylindole dihydrochloride compound. Published 21.02.2025, Bull. № 6. (In Russian).
14. Filimonova MV, Surinova VI, Soldatova OV, Shitova AA, Tsyshkova NG, Filimonov AS, et al. Pat. № 2782931 Russian Federation, IPC C07D 209/42, C07D 401/06, C07D 409/06, A61K 31/405, A61P 35/00, A61P 37/02. Indol-3-carboxic acid derivatives with anti-tumor activity. Published 07.11.2022, Bull. № 31. (In Russian).
15. Filimonova MV, Soldatova OV, Surinova VI, Filimonov AS, Shitova AA, Rybachuk VA, et al. Pat. № 2850169 Russian Federation, IPC C07D 209/04, C07D 209/10, C07D 209/42, A61K 31/404, A61K 31/405, A61P 35/00. Improved method for synthesis of 1-methyl-2-bromomethyl-3-carbethoxy-5-methoxy-6-bromoindole inhibiting growth of Ehrlich solid carcinoma and cervical cancer in mice. Published 05.11.2025, Bull. № 31. (In Russian).
16. Filimonova MV, Soldatova OV, Surinova VI, Filimonov AS, Shitova AA, Rybachuk VA, et al. Patent application № 2024127831 Russian Federation, IPC C07D 209/42. Method for synthesis of novel original chloroethylamino-substituted derivatives of aminoalkyl esters of indole-3-carboxylic acid with antitumor activity. Published 12.12.2024, Bull. № 35. (In Russian).
17. Mironov AN, eds. Guidelines for conducting preclinical studies of drugs. Part one. Moscow: Grif i K; 2012. 944 p. (In Russian).
18. Saburov VO, Soldatova OV, Moiseev AS, Shitova AA, Golovanova OYu, Adarova AI, et al. Patent application № 224468 Russian Federation, IPC A61D 3/00. Device for fixation of small laboratory animals during local irradiation of the hind limb with protons. Published 26.03.2024, Bull. № 9. (In Russian).
19. Berezovskaya IV. Forecasting of medicinal products safety in preclinical toxicological studies. *Toksikologicheskiy Vestnik = Toxicological Review*. 2010;(5): 17–22. (In Russian).
20. Holm S. A simple sequentially rejective multiple test procedure. *Scandinavian Journal of Statistics*. 1979;6(2): 65–70.
21. Litchfield JT, Wilcoxon FA. A simplified method of evaluating dose effect experiments. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*. 1947;96(2): 99–113.
22. Filimonova MV, Saburova AS, Makarchuk VM, Filimonov AS, Soldatova OV, Ksenofontova MP, et al. Pat. № 199874 Russian Federation, IPC G09B 23/28, A01K 1/03. Device for assessing acute toxicity of biologically active compounds in small laboratory animals. Published 24.09.2020, Bull. № 27. (In Russian).
23. Filimonova M, Shitova A, Shevchenko L, Soldatova O, Surinova V, Rybachuk V, et al. In vitro cytotoxic potential and in vivo antitumor effects of NOS/PDK-inhibitor T1084. *International Journal of Molecular Sciences*. 2024;25(17):9711;
24. Durante M, Loeffler JS. Charged particles in radiation oncology. *Nature Reviews Clinical Oncology*. 2010;7(1): 37–43.
25. Held KD, Kawamura H, Kaminuma T, Paz AE, Yoshida Y, Liu Q, et al. Effects of Charged Particles on Human Tumor Cells. *Frontiers in Oncology*. 2016;6: 23.
26. Lühr A, von Neubeck C, Krause M, Troost EGC. Relative biological effectiveness in proton beam therapy – Current knowledge and future challenges. *Clinical and Translational Radiation Oncology*. 2018;9: 35–41.
27. Szymonowicz K, Krysztofiak A, Linden JV, Kern A, Deycmar S, Oeck S, et al. Proton Irradiation Increases the Necessity for Homologous Recombination Repair Along with the Indispensability of Non-Homologous End Joining. *Cells*. 2020;9(4): 889.
28. Beketov EE, Isaeva EV, Solovyev AN, Arguchinskaya NV, Malakhov EP, Saburov VO, et al. Study of the dependence of biological effectiveness of heavy charged particles on linear energy transfer and evaluation of acquired tumor cell radioresistance impact on subsequent ion irradiation. Proceedings of the regional competition of fundamental research projects. 2020: 52–60. (In Russian).
29. Beketov EE, Isaeva EV, Nasedkina NV, Zamulaeva IA, Matchuk ON, Ulyanenko LN, et al. Acquired resistance of B16 tumor cell line to protons after long-term fractionated electron irradiation. *Radiatsiya i Risk = Radiation and Risk*. 2020;29(4): 69–83. (In Russian).

Received: June 11, 2025

For correspondence: **Olga V. Soldatova** – Junior Researcher, Laboratory of Radiation Pharmacology, Postgraduate Student, A. Tsyb Medical Radiological Research Centre – the branch of the National Medical Research Radiological Centre of the Ministry of Health of the Russian Federation (4, Koroleva Str., Obninsk, Kaluga Region, 249036, Russia; E-mail: ovsoldatova97@gmail.com)
ORCID: 0000-0002-1178-3560

Marina V. Filimonova – Doctor of Biological Sciences, Head of the Laboratory of Radiation Pharmacology, A. Tsyb Medical Radiological Research Centre – the branch of the National Medical Research Radiological Centre of the Ministry of Health of the Russian Federation, Obninsk, Russia
ORCID: 0000-0002-9690-4746

Valentina I. Surinova – Senior Researcher at the Laboratory of Radiation Pharmacology, A. Tsyb Medical Radiological Research Centre – the branch of the National Medical Research Radiological Centre of the Ministry of Health of the Russian Federation, Obninsk, Russia
ORCID: 0000-0003-1329-8312

Anna A. Shitova – Junior Researcher, Laboratory of Radiation Pharmacology, A. Tsyb Medical Radiological Research Centre – the branch of the National Medical Research Radiological Centre of the Ministry of Health of the Russian Federation, Obninsk, Russia
ORCID: 0000-0001-5512-9096

Kirill A. Nikolaev – Laboratory Assistant of the Radiation Pharmacology Laboratory, A. Tsyb Medical Radiological Research Centre – the branch of the National Medical Research Radiological Centre of the Ministry of Health of the Russian Federation, Obninsk, Russia
ORCID: 0000-0003-0518-8228

Vitaliy A. Rybachuk – Junior Researcher, Laboratory of Radiation Pharmacology, A. Tsyb Medical Radiological Research Centre – the branch of the National Medical Research Radiological Centre of the Ministry of Health of the Russian Federation, Obninsk, Russia
ORCID: 0000-0001-8820-9965

Alexander O. Kosachenko – Laboratory Assistant of the Radiation Pharmacology Laboratory, A. Tsyb Medical Radiological Research Centre – the branch of the National Medical Research Radiological Centre of the Ministry of Health of the Russian Federation, Obninsk, Russia
ORCID: 0000-0003-2173-388X

Sergey N. Koryakin – Candidate of Biological Sciences, Head of the Department of Radiation Biophysics, A. Tsyb Medical Radiological Research Centre – the branch of the National Medical Research Radiological Centre of the Ministry of Health of the Russian Federation, Obninsk, Russia
ORCID: 0000-0003-0128-4538

Petr V. Shegay – Candidate of Medical Sciences, Deputy Director General for Science of the National Medical Research Center of Radiology of the Ministry of Health of the Russian Federation, Obninsk, Russia
ORCID: 0000-0001-9755-1164

Sergey A. Ivanov – Doctor of Medical Sciences, Professor, Corresponding Member of the Russian Academy of Sciences, Honored Doctor of the Russian Federation, Director of the A. Tsyb Medical Radiological Research Centre – the branch of the National Medical Research Radiological Centre of the Ministry of Health of the Russian Federation, Obninsk, Russia
ORCID: 0000-0001-7689-6032

Andrey D. Kaprin – Doctor of Medical Sciences, Professor, Academician of the Russian Academy of Sciences, Honored Doctor of the Russian Federation, Director General of the National Medical Research Radiological Centre of the Ministry of Health of the Russian Federation, Obninsk, Russia
ORCID: 0000-0001-8784-8415

Aleksander S. Filimonov – Researcher, Laboratory of Radiation Pharmacology, A. Tsyb Medical Radiological Research Centre – the branch of the National Medical Research Radiological Centre of the Ministry of Health of the Russian Federation, Obninsk, Russia
ORCID: 0000-0002-4398-1764

For citation: **Soldatova O.V., Filimonova M.V., Surinova V.I., Shitova A.A., Nikolaev K.A., Rybachuk V.A., Kosachenko A.O., Koryakin S.N., Shegay P.V., Ivanov S.A., Kaprin A.D., Filimonov A.S.** Radiomodifying properties of a bromo-substituted derivative of indole-3-carboxylic acid in proton and electron therapy of Ehrlich carcinoma *In vivo*. *Radiatsionnaya Gygiene = Radiation Hygiene*. 2025. Vol. 18, No. 4. P. 19–30. (In Russian). DOI: 10.21514/1998-426X-2025-18-4-19-30