

## Оценка радиопротекторного потенциала фумаровой кислоты, фумарата 3-гидроксипиридина и деанола ацеглумата при действии $\gamma$ -излучения, протонов и ионов $^{12}\text{C}$ на клетки человека

Купцова П.С.<sup>1</sup>, Комарова Л.Н.<sup>1</sup>, Ольховая Е.Р.<sup>1</sup>, Лапенко А.К.<sup>1</sup>, Шкавров С.В.<sup>1</sup>, Купцов И.С.<sup>1</sup>, Сабуров В.О.<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Обнинский институт атомной энергетики — филиал Национального исследовательского ядерного университета «МИФИ», Обнинск, Россия

<sup>2</sup> Медицинский радиологический научный центр им. А.Ф. Цыба — филиал Национального медицинского исследовательского центра радиологии Министерства здравоохранения Российской Федерации, Обнинск, Россия

*Актуальность исследования новых радиопротекторов обусловлена потребностью в защите здоровых тканей при лучевой терапии. Существующие препараты имеют серьёзные побочные эффекты, что требует поиска более безопасных и эффективных аналогов. Цель работы — сравнительный анализ радиопротекторной эффективности трех перспективных соединений — фумаровой кислоты, фумарата 3-гидроксипиридина и деанола ацеглумата в условиях in vitro. Задачи: определить нетоксичные концентрации соединений, оценить их защитное действие при разных типах излучения ( $\gamma$ -кванты, протоны, ионы  $^{12}\text{C}$ ), сравнить влияние на нормальные (фибробласты Фб-hTERT) и опухолевые (нейробластома SK-N-BE(2)) клетки. Материалы и методы: Исследование проводилось на культурах клеток под воздействием ионизирующих излучений разного качества: гамма-квантов ( $^{60}\text{Co}$ ), протонов и ускоренных ионов  $^{12}\text{C}$ . Установлены оптимальные концентрации: фумаровая кислота — 400 мкМ, фумарат 3-гидроксипиридина — 200 мкМ, деанола ацеглумат — 1000 мкМ. Время инкубации — 24 часа. Результаты исследования и обсуждение: Показано, что все соединения проявили значимый радиозащитный эффект при  $\gamma$ -облучении (1–12 Гр) для фибробластов, на опухолевые клетки также наблюдалось защитное действие. При облучении протонами и ионами  $^{12}\text{C}$  радиопротекторный эффект отсутствовал. Деанола ацеглумат продемонстрировал наибольшую эффективность. Заключение: Таким образом, исследование подтвердило перспективность деанола ацеглумата и других соединений как радиопротекторов при  $\gamma$ -облучении. Их применение может снизить повреждение здоровых тканей при лучевой терапии. Однако для протонов и тяжёлых ионов защитный эффект не выявлен, что требует дальнейшего изучения.*

**Ключевые слова:** радиопротекторы, гамма-излучение, ионы  $^{12}\text{C}$ , протоны, фумаровая кислота, фумарат 3-гидроксипиридина, деанола ацеглумат.

### Введение

Актуальность разработки новых радиопротекторов обусловлена глобальным ростом онкологической заболеваемости и широким применением лучевой терапии, которая используется у 50–60% онкологических пациентов [1, 2]. Несмотря на эффективность лучевой терапии, ее основной недостаток — повреждение здоровых тканей, приводящее к острым (мукозиты, дерматиты) и отсроченным осложнениям (фиброзы, вторичные опухоли) [3]. Современные методы адронной терапии (протоны, углеродные пучки), хотя и эффективны для глубоко расположенных и радиорезистентных опухолей, имеют существенные ограничения: фрагментация тяжелых ионов создает дополнительную дозовую нагрузку на здоровые ткани [4].

Следует отметить, что в Российской Федерации официально зарегистрированы радиопротекторы Б-190 (индралин) и цистамин [5]. Однако их эффективность в отношении защиты от вторичных продуктов фрагментации тяжелых ионов

требует дальнейшего изучения. Клиническое применение этих соединений ограничено рядом факторов: высокой токсичностью (проявляющейся сердечно-сосудистыми реакциями и тошнотой/рвотой), а также кратковременностью защитного действия. Альтернативой служат природные соединения (флавоноиды, куркумин, хлорогеновая кислота) [6]. Природные соединения-антиоксиданты обладают низкой токсичностью, но их эффективность против плотноионизирующего излучения (протоны, ионы углерода) низка, а действие неселективно — они защищают и опухолевые клетки [7, 8, 9].

Анализ литературных источников и базы данных radioprotectors.org [10], выявил ряд нерешенных вопросов. Во-первых, отсутствуют исследования по метаболитам цикла Кребса (например, фумаратам) как потенциальным радиопротекторам. Также существует значительный недостаток данных о сравнительной эффективности при разных типах излучения ( $\gamma$ -кванты, тяжелые ионы).

Перспективными направлениями являются исследование метаболитов цикла Кребса (например, фумаратов)

**Купцова Полина Сергеевна**

Обнинский институт атомной энергетики

**Адрес для переписки:** 249039, Калужская область, городской округ «Город Обнинск», город Обнинск, тер. Студгородок, д. 1; E-mail: kuptsova\_apollinaria@mail.ru

и сравнительный анализ эффективности их радиопротекторного действия при разных типах излучения ( $\gamma$ -кванты, тяжелые ионы). В частности, фумаровая кислота, фумарат 3-гидроксипиридина и деанола ацеглумат демонстрируют антиоксидантные, нейропротекторные и мембраностабилизирующие свойства, что делает их кандидатами для разработки новых радиопротекторов.

Фумаровая кислота ( $C_4H_4O_4$ ) активирует Nrf2-путь, снижая окислительный стресс, и обладает противовоспалительным действием [11, 12]. Фумарат 3-гидроксипиридина ( $C_9H_7NO_5$ ) сочетает антирадикальную активность и обладает кардиопротекцией [13], а деанола ацеглумат ( $C_{13}H_{25}N_2O_5$ ) – ноотроп с доказанной гепатопротекцией и ингибированием перекисного окисления липидов [14, 15, 16, 17, 18].

Учитывая выраженные антиоксидантные и антирадикальные свойства описанных соединений, особую актуальность приобретает исследование их потенциальных радиопротекторных качеств. Сравнительный анализ проводили с использованием известного радиопротектора цистамина.

**Цель исследования** – сравнительный анализ радиопротекторной эффективности трех перспективных соединений – фумаровой кислоты, фумарата 3-гидроксипиридина и деанола ацеглумата в условиях *in vitro*. В работе исследовалась селективность защиты при воздействии на нормальные (фибробласты Фб-hTERT) и опухолевые клетки (нейробластома SK-N-BE(2)), а также зависимость от ЛПЭ (линейная передача энергии), а именно эффективность при  $\gamma$ -облучении (низкая ЛПЭ) и облучении ионами  $^{12}C$  и протонами (высокая ЛПЭ).

## Материалы и методы

### Объект исследования

Клеточные линии: Фб-hTERT (теломеризованные фибробласты кожи человека) и SK-N-BE(2) (клетки нейробластомы). Клеточные культуры приобретались в банке клеточных культур ООО «Биолот».

### Методика

Клетки культивировали по стандартной методике [19]. Культивация происходила в пластиковых культуральных флаконах («Corning», США) в виде монослоя в полной питательной среде DMEM («ПанЭко», Россия). Поддерживали жизнеспособность культур в  $CO_2$ -инкубаторе при температуре 37 °C («СВ 53 Binder», Германия), 95 % влажности и 5 %-ом содержании  $CO_2$ .

### Тест

Для анализа клоногенной активности (выживаемости) клетки после облучения переносили в стерильные чашки Петри с питательной средой, нанося на поверхность с помощью микропипетки 0,1 мл клеточной суспензии и инкубировали в течение 14 дней до формирования колоний, видимых невооруженным глазом (в диаметре не менее 0,75 мм). Расчет фактора изменения дозы (ФИД) проводили по кривым доза-эффект, построенным в полулогарифмических координатах, используя соотношение:

$$\text{ФИД} = D_0(\text{соединение})/D_0(\text{контроль}),$$

где  $D_0$  представляет собой дозу облучения, снижающую выживаемость клеток в  $e$  раз ( $\approx 37$  % от исходного уровня) на линейном участке кривой.

Для экспоненциальных кривых, характерных для плот-ноизирующего излучения, параметр  $D_0$  определяли как тангенс угла наклона линейного участка, тогда как для кривых с начальным «плечом», наблюдаемых при действии ред-коизирующего излучения, расчет  $D_0$  выполняли только по конечному экспоненциальному участку [20]. Данная методика обеспечивает объективную количественную оценку радиопротекторной эффективности, позволяя стандартизовано сравнивать различные соединения с учетом особенностей кривых выживаемости для разных типов излучения, что соответствует общепринятым радиобиологическим подходам.

### Исследуемые препараты

Исследуемые препараты: фумаровая кислота 400 мкМ (0,05 мг/мл), фумарат 3 гидроксипиридина 200 мкМ (0,04 мг/мл), деанола ацеглумат 1000 мкМ (0,26 мг/мл), цистамин 10 мкМ (0,001 мг/мл). Фумаровая кислота и фумарат 3-гидроксипиридина синтезированы доцентом, к.х.н. Шкавровым Сергеем Владимировичем на базе Центра Биотехнологий ИАТЭ НИЯУ МИФИ (г. Обнинск). Деанола ацеглумат синтезирован на базе Всероссийского научного центра по безопасности биологически активных веществ (г. Старая Купавна). Цистамин был закуплен в компании ООО «РЕАРУС» (производитель «Acros Organics»).

Клетки инкубировали с исследуемыми соединениями (фумаровая кислота фумарат 3 гидроксипиридина, деанола ацеглумат) в течение 24-х часов, основываясь на предварительных исследованиях токсичности методом МТТ-теста. Для цистамина, используемого в качестве референсного соединения, продолжительность инкубации составила 30 минут. Результаты предварительного МТТ-теста продемонстрировали, что цистамин проявляет максимальную радиозащитную активность и минимальную цитотоксичность при 30-минутной предлучевой инкубации. В этих условиях показатель выживаемости клеток достигал 98,3 %. Увеличение времени экспозиции до 3 и 24 часов приводило к прогрессирующему снижению жизнеспособности: до 95,2 % и 68,0 % соответственно, что подтверждает оптимальность выбранного 30-минутного интервала.

### Источники ионизирующего излучения и условия облучения

Облучение проводили в пробирках типа «Эппендорф» (объем 1,5 мл).

Облучение гамма-квантами осуществляли на уникальной научной установке «ГУР-120» НИЦ «Курчатовский институт» – ВНИИРАЭ в г. Обнинск. Источник гамма-излучения (на основе изотопа  $^{60}Co$ ) калибровали для обеспечения средней энергии 1,25 МэВ, мощность дозы составила 0,9 Гр/мин.

Облучение протонами осуществляли на комплексе протонной терапии «Прометеус» Медицинского радиологического научного центра им. А. Ф. Цыба – филиала ФГБУ «НМИЦ радиологии» Минздрава России в г. Обнинске. Энергия пучка протонов при выходе из выпускного канала составляла 150 МэВ. Облучение проводили перед пиком Брэгга.

Облучение ионами  $^{12}C$  осуществляли на каскаде ускорителя «У-70» НИЦ «Курчатовский институт» – ИФВЭ в г. Протвино,  $E_{\text{сред}} = 455,8$  МэВ/нуклон). Облучение проводилось за пиком Брэгга.

Дозы облучения составили в дозах 2, 6, 8, 12 Гр. Диапазон доз выбран исходя из того, что такие дозы могут быть применены для лечения опухолевых заболеваний.

Статистическая обработка

Статистическая обработка данных проводилась с использованием программы Microsoft Excel 2019 (для первичного анализа и визуализации) и Python в среде Jupyter Notebook (для расчётов с применением библиотек SciPy и Pandas). Графики построены в программах Microsoft Excel 2019 и SigmaPlot 11.

Критерий Стьюдента (t-критерий) применен для оценки статистической значимости различий между средними значениями выживаемости клеток в различных сериях опытов. Наблюдаемые различия считали статистически значимыми при уровне значимости  $p < 0,05$ .

Результаты и обсуждение

Настоящее исследование было направлено на сравнительный анализ радиопротекторной эффективности трех соединений (фумаровой кислоты, фумарата 3-гидроксипиридина и деанола ацеглумата) в одинаковых условиях, что ранее не проводилось. В отличие от предыдущих работ [16, 21], где изучались соединения отдельно, здесь впервые проведен их прямой сравнительный анализ друг с другом и с эталонным препаратом цистамином на одной клеточной линии, при идентичных дозах облучения и времени инкубации. Ключевой новизной является также оценка защиты не только при действии  $\gamma$ -квантов, но и при действии протонов и ионов углерода, что актуально для радиобиологии адронной терапии. Полученные данные подтверждают и дополняют первоначальные наблюдения.

На рисунке 1 представлен результат действия фумаровой кислоты, фумарата 3-гидроксипиридина, деанола ацеглумата и цистамина на выживаемость фибробластов человека, облученных  $\gamma$ -квантами. Кривая 1 описывает действие гамма-квантов на фибробласты человека в дозах 2, 6, 8, 12 Гр (без соединений), кривая 2 – действие ионизирующего излучения на фибробласты, инкубированные с цистамином, кривая 3 отображает действие ионизирующего излучения на клетки человека, инкубированные с фумаратом 3-гидроксипиридина, кривая 4 – действие ионизирующего излучения на фибробласты, инкубированные с фумаровой кислотой, кривая 5 – действие ионизирующего излучения на фибробласты, инкубированные с деанола ацеглуматом.

Как показано на рисунке 1, все исследуемые соединения защищают клетки человека линии Фб-hTERT при облучении гамма-квантами. Для деанола ацеглумата фактор изменения дозы (ФИД) =  $2,15 \pm 0,11$ , для фумаровой кислоты ФИД =  $1,73 \pm 0,09$ , для фумарата 3-гидроксипиридина ФИД =  $1,61 \pm 0,08$  и для цистамина ФИД составил  $1,31 \pm 0,06$ . Наблюдаемое превышение ФИД исследуемых соединений над цистамином *in vitro* объясняется ограничениями механизмов действия цистамина в клеточных культурах. Основу радиопротекторного действия цистамина в условиях *in vitro* составляет его выраженная антиоксидантная активность, реализуемая через три ключевых механизма: нейтрализацию свободных радикалов, снижение окислительного стресса и активацию глутатионовой системы [22, 23]. В целостном организме цистамин дополнительно обеспечивает радиозащитное действие через индукцию умеренной тканевой гипоксии (специфично для *in vivo* условий).

Данные, представленные на рисунке 1, свидетельствуют о значимых радиозащитных свойствах исследуемых соединений по отношению к действию  $\gamma$ -излучения

на нормальные клеточные линии человека *in vitro*. Антиоксидантные свойства исследуемых соединений обуславливают их радиопротекторные эффекты [12, 15]. Данные соединения ингибируют образование свободных радикалов, опосредованное  $\gamma$ -излучением, тем самым прерывая цепные реакции свободнорадикального окисления и предотвращая развитие оксидативного стресса [16].

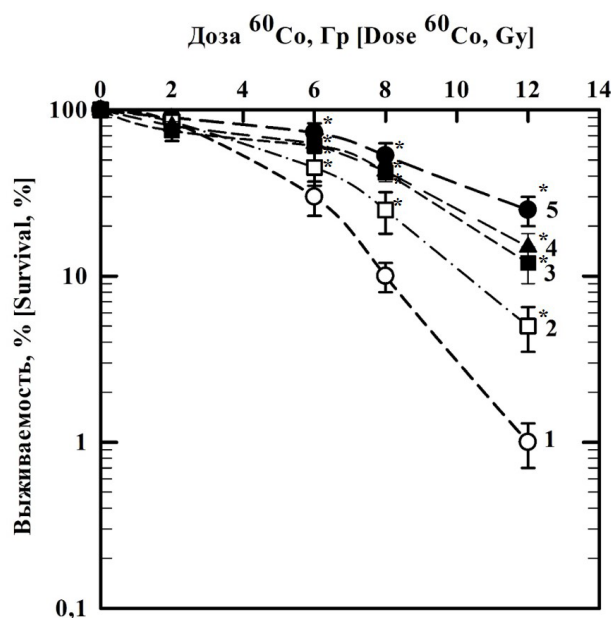


Рис. 1. Влияние фумаровой кислоты, фумарата 3-гидроксипиридина, деанола ацеглумата и цистамина на выживаемость фибробластов человека, облученных  $\gamma$ -квантами. Примечание: \* – статистически значимое отличие ( $p < 0,05$ ) от контроля

[Fig. 1. Effect of fumaric acid, 3-hydroxypyridine fumarate, deanol aceglumate, and cystamine on the survival of human fibroblasts exposed to gamma rays. Note: \* – statistically significant difference ( $p < 0,05$ ) from the control group]

Далее представляло интерес проверить наличие или отсутствие селективности исследуемых соединений.

На рисунке 2 представлены результаты действия гамма-квантов на клетки нейробластомы человека (кривая 1) без соединений, кривая 2 отображает действие ионизирующего излучения на клетки, инкубированные с цистамином, кривая 3 – действие гамма-излучения на клетки, инкубированные с фумаратом 3-гидроксипиридина, кривая 4 – действие гамма-излучения на клетки, инкубированные с фумаровой кислотой, кривая 5 – действие гамма-излучения на клетки, инкубированные с деанола ацеглуматом.

Как показано на рисунке 2, фумаровая кислота, фумарат 3-гидроксипиридина и деанола ацеглумат оказывают защитное действие не только на нормальные клетки, но и на опухолевые, что говорит об отсутствии избирательного радиопротекторного действия исследуемых соединений. Для деанола ацеглумата ФИД =  $1,40 \pm 0,13$ , для фумаровой кислоты ФИД =  $1,27 \pm 0,12$ , для фумарата 3-гидроксипиридина ФИД =  $1,20 \pm 0,08$  и для цистамина  $1,13 \pm 0,09$ .

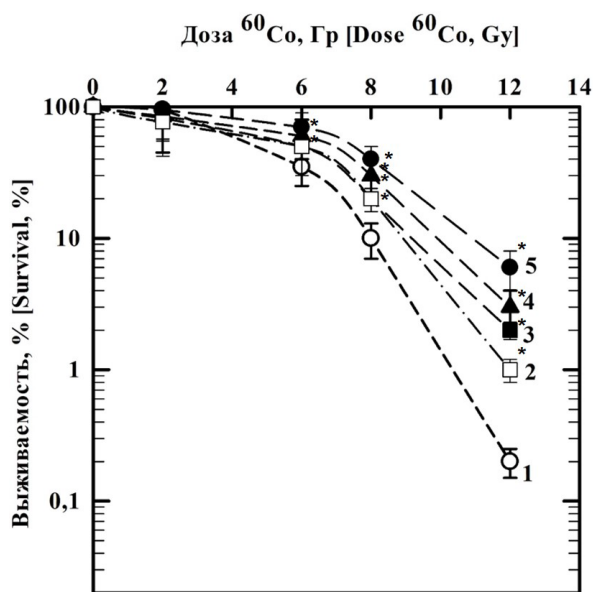


Рис. 2. Влияние фумаровой кислоты, фумарата 3-гидроксипиридина, деанола ацеглумата и цистамина на выживаемость клеток нейробластомы человека, облученных  $\gamma$ -квантами. Примечание: \* – статистически значимое отличие ( $p < 0,05$ ) от контроля

[Fig. 2. Effect of fumaric acid, 3-hydroxypyridine fumarate, deanol aceglumate, and cystamine on the survival of human neuroblastoma cell exposed to gamma rays. Note: \* – statistically significant difference ( $p < 0,05$ ) from the control group

Ограниченная эффективность исследуемых соединений в опухолевых клетках, по сравнению с нормальными фибробластами, может объясняться несколькими взаимосвязанными факторами. Во-первых, опухолевые клетки характеризуются выраженными нарушениями систем репарации ДНК [24], что принципиально ограничивает потенциал радиозащитных механизмов, направленных на восстановление радиационных повреждений. Во-вторых, измененный метаболизм опухолевых клеток, включая особенности накопления соединений и функционирования антиоксидантных систем, может снижать доступность и эффективность радиопротекторов [25]. В третьих, следует учитывать, что классические радиопротекторы преимущественно защищают нормальные радиочувствительные ткани (костный мозг, кишечный эпителий) за счет специфических механизмов, которые могут быть менее выражены в используемой опухолевой модели. Таким образом, полученные различия отражают не только общие закономерности радиочувствительности, но и специфику биологии конкретных клеточных линий.

Далее были изучены радиозащитные свойства соединений при действии на клетки протонного излучения. Благодаря антиоксидантным свойствам исследуемые соединения теоретически способны защищать здоровые ткани, нейтрализуя вторичные частицы, образующиеся при взаимодействии протонов с веществом, и снижая их вклад в общую дозу. Для моделирования облучения здоровых тканей воздействие проводили перед пиком Брэгга.

Дальнейшее изучение радиопротекторной эффективности соединений проводили на нормальных клеточных линиях как наиболее релевантной модели для оценки защиты здоровых тканей.

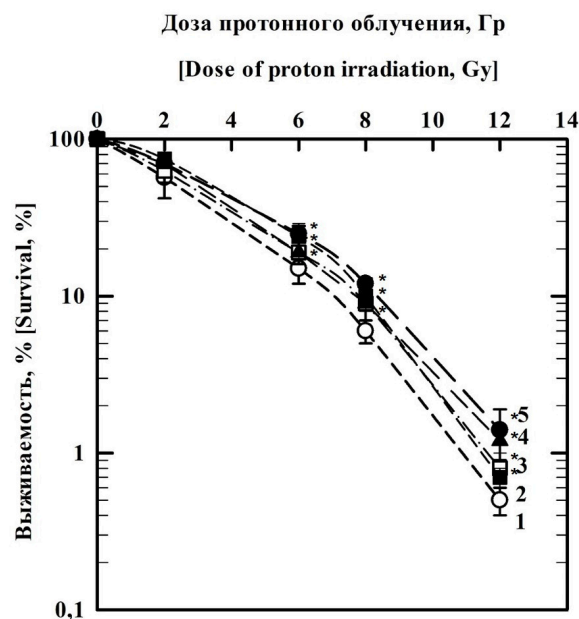


Рис. 3. Влияние фумаровой кислоты, фумарата 3-гидроксипиридина, деанола ацеглумата и цистамина на выживаемость фибробластов человека, облученных протонами. Примечание: \* – статистически значимое отличие ( $p < 0,05$ ) от контроля

[Fig. 3. Effect of fumaric acid, 3-hydroxypyridine fumarate, deanol aceglumate, and cystamine on the survival of human fibroblasts exposed to protons. Note: \* – statistically significant difference ( $p < 0,05$ ) from the control group]

На рисунке 3 представлены результаты действия протонного излучения на фибробласты человека (кривая 1) без соединений, кривая 2 отображает действие ионизирующего излучения на клетки, инкубированные с цистамином, кривая 3 – действие протонов на клетки, инкубированные с фумаратом 3-гидроксипиридина, кривая 4 – действие протонов на клетки, инкубированные с фумаровой кислотой, кривая 5 – действие протонов на клетки, инкубированные с деанола ацеглуматом.

Как показано на рисунке 3, при действии протонного излучения ФИД для деанола ацеглумата составил  $1,17 \pm 0,06$ , для фумаровой кислоты составил  $1,13 \pm 0,06$ , для фумарата 3-гидроксипиридина  $1,10 \pm 0,05$ , для цистамина  $1,10 \pm 0,04$ . Все соединения демонстрируют дозозависимый радиопротекторный эффект при протонном облучении, особенно выраженный в клинически значимом диапазоне 6–12 Гр. Это обосновывает возможность разработки схем премедикации (за 24 часа до сеанса) для протонной терапии для защиты нормальных тканей.

Снижение защиты фибробластов перед пиком Брэгга объясняется преобладанием быстрых нейтронов среди вторичных частиц протонной терапии. Нейтроны (в отличие от тормозного излучения) распространяются далеко от трека протона и слабо нейтрализуются исследуемыми соединениями, эффективными только против фотонов с косвенным механизмом повреждения.

Представляло интерес исследовать радиопротекторные свойства исследуемых соединений при облучении фибробластов человека другими видами излучения, имеющими относительную биологическую эффективность (ОБЭ) больше, чем гамма-кванты и протоны.

Был проведен сравнительный анализ радиопротекторного действия фумаровой кислоты, фумарата 3-гидроксипиридина и деанола ацеглумата с цистамином при действии ионов  $^{12}\text{C}$ . Облучение фибробластов человека проводилось за пиком Брэгга для моделирования ситуации облучения здоровых тканей, находящиеся за опухолью. Теоретически, это представляет большой интерес, так как здоровые клетки, находящиеся за опухолью, то есть за пиком Брэгга, могут быть защищены протекторами от вторичных продуктов ионно-углеродной терапии (например, гамма-квантов, так как, в тоже время, на опухолевые клетки радиопротекторное действие распространяться не будет).

На рисунке 4 представлены результаты действия ионов  $^{12}\text{C}$  на фибробласты человека (кривая 1) без соединений, кривая 2 отображает действие ионизирующего излучения на клетки, инкубированные с цистамином, кривая 3 – действие ионов углерода 12 на клетки, инкубированные с фумаратом 3-гидроксипиридина, кривая 4 – действие ионов углерода 12 на клетки, инкубированные с фумаровой кислотой, кривая 5 – действие ионов углерода-12 на клетки, инкубированные с деанола ацеглуматом.

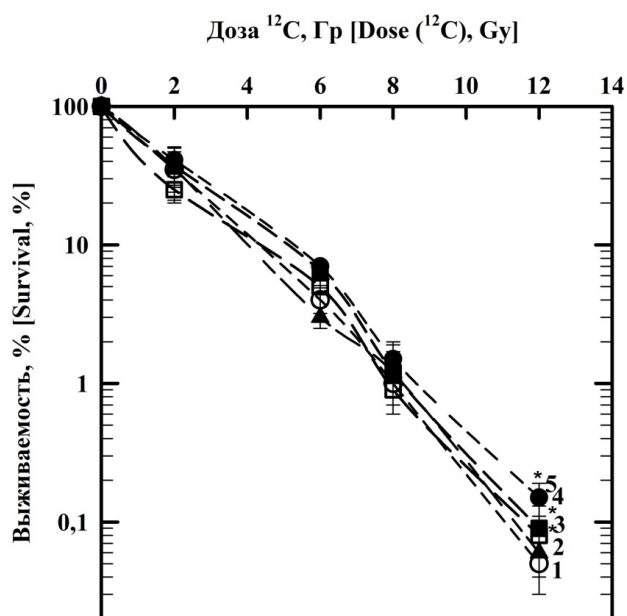


Рис. 4. Влияние фумаровой кислоты, фумарата 3-гидроксипиридина, деанола ацеглумата и цистамина на выживаемость фибробластов человека, облученных ионами углерода 12. Примечание: \* – статистически значимое отличие ( $p < 0,05$ ) от контроля

[Fig. 4. Effect of fumaric acid, 3-hydroxypyridine fumarate, deanol aceglumate, and cystamine on the survival of human fibroblasts exposed to carbons-12 ions. Note: \* – statistically significant difference ( $p < 0,05$ ) from the control group]

Как показано на рисунке 4, при действии ионов  $^{12}\text{C}$  исследуемые соединения не проявили защитного действия на нормальные клетки человека. ФИД для деанола ацеглумата составил  $1,09 \pm 0,05$ , для фумаровой кислоты –  $1,07 \pm 0,06$ , для фумарата 3-гидроксипиридина –  $1,0 \pm 0,04$ , для цистамина –  $1,00 \pm 0,03$ .

Полученные результаты объясняются тем, что преобладающий вклад в дозу вносят нейтроны, протоны и  $\alpha$ -частицы, при этом  $\gamma$ -кванты практически не вносят вклад

в дозу. Указанные вторичные продукты, как и ионы  $^{12}\text{C}$ , характеризуются высокой ОБЭ, и относятся к плотноионизирующему излучению, которое имеет прямой повреждающий механизм действия.

### Заключение

Исследование выявило значительные различия в радиопротекторной активности деанола ацеглумата, фумаровой кислоты, фумарата 3-гидроксипиридина и цистамина в зависимости от типа излучения ( $\gamma$ , протоны,  $^{12}\text{C}$ ), причем эффективность защиты коррелирует с физическими характеристиками излучения. Основным механизмом радиозащиты – антиоксидантное действие соединений, подавляющих косвенные эффекты облучения через нейтрализацию активных форм кислорода.

Практическое применение фумаровой кислоты, фумарата 3-гидроксипиридина и деанола ацеглумата включает снижение лучевой нагрузки на здоровые ткани, в том числе при протонной терапии, включая защиту от вторичных частиц.

Актуальность работы обусловлена поиском соединений-модуляторов радиочувствительности для ключевых областей: клинической онкологии (защита нормальных тканей при лучевой терапии), аэрокосмической медицины (профилактика радиопоражений) и военной сферы (индивидуальные средства защиты).

### Сведения о личном вкладе авторов в работу над статьей

Купцова П.С. – разработка структуры статьи, написание текста, создание графиков, обработка первичных данных.

Комарова Л.Н. – научное руководство исследованием, координация работы, критический анализ и редактирование текста.

Ольховая Е.Р. – планирование экспериментов, проведение радиобиологических экспериментов, методологическое обеспечение.

Лапенко А.К. – техническое выполнение экспериментов, сбор данных, верификация результатов.

Шкавров С.В. – синтез и характеристика исследуемых соединений, обеспечение реагентами.

Купцов И.С. – статистическая обработка данных, построение графиков, математическое моделирование.

Сабуров В.О. – проведение облучения протонами, дозиметрия, включая калибровку детекторов, измерение и расчет поглощенной дозы.

### Информация о конфликте интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

### Сведения об источнике финансирования

Публикация не имела финансовой поддержки.

### Литература

- Каприн А.Д., Старинский В.В., Шахзадова А.О. Состояние онкологической помощи населению России в 2023 году / под ред. А.Д. Каприна, В.В. Старинского, А.О. Шахзадовой. Москва: МНИОИ им. П.А. Герцена - филиал ФГБУ «НМИЦ радиологии» Минздрава России, 2024. 262 с.
- Ferlay J., Colombet M., Soerjomataram I. et al. Cancer statistics for the year 2020: An overview // International Journal of Cancer. 2021. Vol. 149, No. 4. P. 778–789. DOI: 10.1002/ijc.33588.
- Gardner S.J., Kim J., Chetty I.J. Modern Radiation Therapy Planning and Delivery // Hematology/Oncology Clinics of

- North America. 2019. Vol. 33, No. 6. P. 947-962. DOI: 10.1016/j.hoc.2019.08.005.
4. Johnson D., Chen Y., Ahmad S. Dose and linear energy transfer distributions of primary and secondary particles in carbon ion radiation therapy: A Monte Carlo simulation study in water // *Journal of medical physics*. 2015. Vol. 40, No. 4. P. 214–219. DOI: 10.4103/0971-6203.170785.
  5. Гребенюк А.Н., Легеза В.И., Миляев А.В. и др. Современная стратегия защитных и медицинских мероприятий при радиационных авариях // *Радиационная гигиена*. 2018. Т. 11, № 4. С. 80-88.
  6. Mun G. I., Kim S., Choi M. et al. Pharmacology of natural radioprotectors // *Archives of Pharmacol Research*. 2018. Vol. 16, № 11. P. 1033-1050.
  7. Abdollahi H., Shiri I., Atashzar M. et al. Radiation protection and secondary cancer prevention using biological radioprotectors in radiotherapy // *International Journal of Cancer Therapy and Oncology*. 2015. Vol. 29. URL: <https://doi.org/10.20935/AcadNano7267> (Дата обращения: 24.11.2024).
  8. Shivappa P., Bernhardt G.V. Natural Radioprotectors on Current and Future Perspectives: A Mini-Review // *Journal of Pharmacy & Bioallied Sciences*. 2022. Vol. 14. P. 57-71.
  9. Joiner M., Kogel van der. *Basic Clinical Radiobiology*. 4th ed. London: Hodder Arnold, 2009. 375 p.
  10. Radioprotectors.org: an open database of known and predicted radioprotectors. URL: <https://radioprotectors.org/home> (Дата обращения: 13.11.2024).
  11. Ilica R.A., Kloetzer L., Galaction A.I., Cașcaval D. Fumaric acid: production and separation // *Biotechnology letters*. 2019. Vol. 41, No. 1. P. 47–57. DOI: 10.1007/s10529-018-2628-y.
  12. Wipke B.T., Hoepner R., Strassburger-Krogias K. et al. Different Fumaric Acid Esters Elicit Distinct Pharmacologic Responses // *Neurology(R) neuroimmunology & neuroinflammation*. 2021. Vol. 8, No. 2. DOI: 10.1212/NXI.0000000000000950.
  13. Volc-Platzer B. Fumaric acid esters for paediatric psoriasis // *The British journal of dermatology*. 2021. Vol. 185, No. 1. P. 5–6. DOI: 10.1111/bjd.20057.
  14. Коршунова А.Б., Костычев Н.А., Инчина В.И., Чаиркин И.Н. Перспективы фармакологической коррекции острой ишемии головного мозга // *Известия Самарского научного центра Российской академии наук*. 2009. Т. 11, № 1. С. 1287-1290.
  15. Сайт «Соль 2-этил-6-метил-3-гидроксипиридина с фумаровой кислотой, обладающая метаболической и кардиопротекторной активностью, и способ ее получения». URL: <https://patents.google.com/patent/RU2365582C1/ru> (Дата обращения: 19.06.2025).
  16. Выпова Е. Р., Купцова П.С., Комарова Л.Н. и др. Исследование возможных радиопротекторных свойств деанола ацеглумата при действии ионизирующего излучения на клетки человека // *Радиация и риск (Бюллетень НРЭР)*. 2023. Т. 32, № 3. С. 38-49.
  17. Носков Д.С., Поройков В.В., Ших Е.В. и др. Деанола ацеглумат (нооклерин): клинико-фармакологические аспекты и актуальность применения в лечебной практике // *Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова*. 2013. № 113. С. 97-99.
  18. Чутко Л.С., Сурушкина С.Ю., Никишена И.С. и др. Применение деанола ацеглумата при лечении неврастении у подростков со школьной дезадаптацией // *Вопросы современной педиатрии*. 2013. Т. 12, № 5. С. 99-103.
  19. Прилепский А.Ю., Дроздов А.С., Богатырев В.А., Староверов С.А. Методы работы с клеточными культурами и определение токсичности наноматериалов. СПб: Университет ИТМО, 2019. 43 с.
  20. Храменкова О.М. Основы радиобиологии: учебное пособие для студентов биологических специальностей высших учебных заведений. Гомель: УО «ГГУ им. Ф. Скорины», 2003. 238 с.
  21. Купцова П.С., Комарова Л.Н., Выпова Е.Р. Исследование радиопротекторных свойств фумаровой кислоты и фумарата 3-оксипиридина при действии ионизирующего излучения на клетки человека // *Радиационная гигиена*. 2023. Т. 16, № 1. С. 32-39.
  22. Penabei S., Meesungnoen J., Jay-Gerin J.-P. Assessment of Cystamine's Radioprotective Antioxidant Ability under High-Dose-Rate Irradiation: A Monte Carlo Multi-Track Chemistry Simulation Study // *Antioxidants*. 2023. Vol. 12. P. 77-89.
  23. Thoene J., Gavin R.F., Towne A. et al. In vitro activity of cysteamine against SARS-CoV-2 variants // *Molecular Genetics and Metabolism*. 2022. Vol. 137, № 1-2. P. 192–200.
  24. Baumann M., Krause M., Overgaard J. et al. Radiation oncology in the era of precision medicine // *Nature Reviews Cancer*. 2008. Vol. 16, № 4. P. 234-249.
  25. Vander Heiden M.G., Cantley L.C., Thompson C.B. Understanding the Warburg effect: the metabolic requirements of cell proliferation // *Science*. 2009. Vol. 324, № 5930. P. 1029-1033.

Поступила: 08.07.2025

**Купцова Полина Сергеевна** – старший преподаватель Отделения биотехнологий, Обнинский институт атомной энергетики – филиал Национального исследовательского ядерного университета «МИФИ». **Адрес для переписки:** 249039, Калужская область, городской округ «Город Обнинск», город Обнинск, тер. Студгородок, д. 1; E-mail: [kuptsova\\_apollinaria@mail.ru](mailto:kuptsova_apollinaria@mail.ru)

ORCID: 0000-0003-1298-920X

**Комарова Людмила Николаевна** – доктор биологических наук, профессор Отделения биотехнологий, Обнинский институт атомной энергетики – филиал Национального исследовательского ядерного университета «МИФИ», Обнинск, Россия

ORCID: 0000-0003-0491-4486

**Ольховая Елена Романовна** – заведующая учебно-научной лабораторией Отделения биотехнологий, Обнинский институт атомной энергетики – филиал Национального исследовательского ядерного университета «МИФИ», Обнинск, Россия

ORCID: 0000-0002-8055-9239

**Лапенко Алина Константиновна** – специалист по учебно-методической работе Отделения биотехнологий, Обнинский институт атомной энергетики – филиал Национального исследовательского ядерного университета «МИФИ», Обнинск, Россия

ORCID: 0009-0001-5738-8478

**Шкавров Сергей Владимирович** – кандидат химических наук, заместитель начальника Фармацевтического центра практического обучения и компетенций, доцент Отделения биотехнологий, Обнинский институт атомной энергетики – филиал Национального исследовательского ядерного университета «МИФИ», Обнинск, Россия

ORCID: 0009-0009-0572-9427

**Купцов Илья Сергеевич** – кандидат физико-математических наук, доцент кафедры общей и специальной физики, Обнинский институт атомной энергетики – филиал Национального исследовательского ядерного университета «МИФИ», Обнинск, Россия

ORCID: 0000-0002-9891-6740

**Сабуров Вячеслав Олегович** – заведующий лабораторией разработки и эксплуатации облучающей техники, Медицинский радиологический научный центр имени А.Ф. Цыба – филиал Национального медицинского исследовательского центра радиологии Министерства здравоохранения Российской Федерации, Обнинск, Россия

ORCID: 0000-0002-6907-2753

**Для цитирования:** Купцова П.С., Комарова Л.Н., Ольховая Е.Р., Лапенко А.К., Шкавров С.В., Купцов И.С., Сабуров В.О. Оценка радиопротекторного потенциала фумаровой кислоты, фумарата 3-гидроксипиридина и деанола ацеглумата при действии  $\gamma$ -излучения, протонов и ионов  $^{12}\text{C}$  на клетки человека // Радиационная гигиена. 2026. Т. 19, № 1. С. 63–71. DOI: 10.21514/1998-426X-2026-19-1-63-71

---

## Evaluation of the radioprotective potential of fumaric acid, 3-hydroxypyridine fumarate and deanol aceglumate under the action of $\gamma$ -radiation, protons and $^{12}\text{C}$ ions on human cells

Polina S. Kuptsova<sup>1</sup>, Lyudmila N. Komarova<sup>1</sup>, Elena R. Olkhovaya<sup>1</sup>, Alina K. Lapenko<sup>1</sup>, Sergey V. Shkavrov<sup>1</sup>, Ilya S. Kuptsov<sup>1</sup>, Vyacheslav O. Saburov<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Obninsk Institute for Nuclear Power Engineering, Obninsk, Russia

<sup>2</sup> A. Tsyb National Medical Research Radiological Centre of the Ministry of Health of the Russian Federation, Obninsk, Russia

*The relevance of the research of new radioprotectors is due to the need to protect healthy tissues during radiation therapy. Existing drugs have serious side effects, which requires the search for safer and more effective analogues. The aim of the work is a comparative analysis of the radioprotective efficacy of three promising compounds – fumaric acid, 3-hydroxypyridine fumarate and deanol aceglumate in vitro. Tasks: to determine non-toxic concentrations of compounds, to evaluate their protective effect under different types of radiation (gamma quanta, protons,  $^{12}\text{C}$  ions), to compare the effect on normal (fibroblasts Fb-hTERT) and tumor (neuroblastoma SK-N-BE(2)) cells. Materials and Methods: the study was conducted on cultures of cells under the influence of ionizing radiation of different quality: gamma quanta ( $^{60}\text{Co}$ ), protons and accelerated  $^{12}\text{C}$  ions. Optimal concentrations have been established: fumaric acid – 400  $\mu\text{mol}$ , 3-hydroxypyridine fumarate – 200  $\mu\text{mol}$ , deanol aceglumate – 1000  $\mu\text{mol}$ . Incubation time is 24 hours. Results and Discussion: It was shown that all compounds showed a significant radioprotective effect on gamma radiation (1-12 Gy) for fibroblasts; the protective effect was also observed on tumor cells. There was no radioprotective effect when irradiated with protons and  $^{12}\text{C}$  ions. Deanol aceglumate has demonstrated the greatest effectiveness. Conclusion: The study confirmed the prospects of deanol aceglumate and other compounds as radioprotectors under gamma irradiation. Their use can reduce damage to healthy tissues during radiation therapy. However, no protective effect has been detected for protons and heavy ions, which requires further study.*

**Key words:** radioprotectors, gamma radiation,  $^{12}\text{C}$  ions, protons, fumaric acid, 3-hydroxypyridine fumarate, deanol aceglumate.

### Authors' personal contribution

Polina S. Kuptsova – development of the structure of the article, writing the text, creating graphs, processing primary data.

Lyudmila N. Komarova – scientific management of research, coordination of work, critical analysis and text editing.

Elena R. Olkhovaya – experiment planning, conducting radiobiological experiments, methodological support.

Alina K. Lapenko – technical execution of experiments, data collection, verification of results.

Sergey V. Shkavrov – synthesis and characterization of the studied compounds, provision of reagents.

---

**Polina S. Kuptsova**

Obninsk Institute for Nuclear Power Engineering

**Address for correspondence:** 1, Studgorodok, Obninsk, Kaluga Region, 249040, Russia; Email: kuptsova\_apollinaria@mail.ru

Ilya S. Kuptsov – statistical data processing, plotting, mathematical modeling.

Vyacheslav O. Saburov – carrying out proton irradiation, dosimetry, including calibration of detectors, measurement and calculation of absorbed dose.

### Conflict of interests

The authors have no conflicts of interest to disclose.

### Sources of funding

The study was not financially supported.

### References

- Kaprin AD, Starinsky WV, Shakhzadova AO. State of cancer care for the population of Russia in 2023. Moscow: P.A. Herzen Moscow Oncology Research Institute – Branch of the National Medical Research Radiological Centre of the Ministry of Health of the Russian Federation; 2024. 262 p. (In Russian).
- Ferlay J, Colombet M, Soerjomataram I, Parkin DM, Piñeros M, Znaor A, et al. Cancer statistics for the year 2020: An overview. *International journal of cancer*. 2021;149(4): 778-789. DOI: 10.1002/ijc.33588.
- Gardner SJ, Kim J, Chetty IJ. Modern Radiation Therapy Planning and Delivery. *Hematology/Oncology Clinics of North America*. 2019;33(6): 947-62. DOI: 10.1016/j.hoc.2019.08.005.
- Johnson D, Chen Y, Ahmad S. Dose and linear energy transfer distributions of primary and secondary particles in carbon ion radiation therapy: A Monte Carlo simulation study in water. *Journal of Medical Physics*. 2015;40(4): 214-219. DOI: 10.4103/0971-6203.170785.
- Grebenyuk AN, Legeza VI, Milyaev AV, Starkov AV. Modern strategy of health protection and medical measures in radiation accidents. *Radiatsionnaya Gygiena = Radiation Hygiene*. 2018;11(4): 80-88. (In Russian).
- Mun GI, Kim S, Choi M, Kim CS, Lee YS. Pharmacology of natural radioprotectors. *Archives of pharmacal research*. 2018;41(11): 1033-1050.
- Abdollahi H, Shiri I, Atashzar M, Sarebani M, Moloudi K, Samadian H. Radiation protection and secondary cancer prevention using biological radioprotectors in radiotherapy. *International Journal of Cancer Therapy and Oncology*. 2015;3(1). Available from: <https://doi.org/10.20935/AcadNa no7267> [Accessed 24 Nov 2024].
- Shivappa P, Bernhardt GV. Natural Radioprotectors on Current and Future Perspectives: A Mini-Review. *Journal of pharmacy & bioallied sciences*. 2022;14(1): 57-71.
- Joiner M, van der Kogel A. Basic Clinical Radiobiology. 4th ed. London: Hodder Arnold; 2009. 375 p.
- Radioprotectors.org: an open database of known and predicted radioprotectors. Available from: <https://radioprotectors.org/home> [Accessed 13 Nov 2024].
- Ilica RA, Kloetzer L, Galaction AI, Cașcaval D. Fumaric acid: production and separation. *Biotechnology Letters*. 2019;41(1): 47-57. DOI: 10.1007/s10529-018-2628-y.
- Wipke BT, Hoepner R, Strassburger-Krogias K, Thomas AM, Gianni D, Szak S, et al. Different Fumaric Acid Esters Elicit Distinct Pharmacologic Responses. *Neurology(R) neuroimmunology & neuroinflammation*. 2021;8(2): e950. DOI: 10.1212/NXI.0000000000000950.
- Volc-Platzer B. Fumaric acid esters for paediatric psoriasis. *British Journal of Dermatology*. 2021;185(1): 5-6. DOI: 10.1111/bjd.20057.
- Korshunova AB, Kostychev NA, Inchina VI, Chairkin IN. Prospects for pharmacological correction of acute cerebral ischemia. *Izvestiya Samarskogo nauchnogo tsentra Rossiyskoy akademii nauk = Bulletin of the Samara Scientific Center of the Russian Academy of Sciences*. 2009;11(1): 1287-1290. (In Russian).
- Salt of 2-ethyl-6-methyl-3-hydroxypyridine with fumaric acid, possessing metabolic and cardioprotective activity, and method for its preparation Available from: <https://patents.google.com/patent/RU2365582C1/ru> [Accessed 19 Jun 2025]. (In Russian).
- Vypova ER, Kuptsova PS, Komarova LN, Berseneva AA, Baldov DA, Kotlyarov AA. Study of possible radioprotective properties of deanol aceglumate under the action of ionizing radiation on human cells. *Radiatsiya i risk = Radiation and Risk*. 2023;32(3): 38-49. (In Russian).
- Noskov DS, Poroikov VV, Shikh EV, Iasnetsov VV. Deanol aceglumate (Nooclerin): clinical and pharmacological aspects and relevance of use in medical practice. *Zhurnal neurologii i psikiatrii imeni S.S. Korsakova = S.S. Korsakov Journal of Neurology and Psychiatry*. 2013;113: 97-99. (In Russian).
- Chutko LS, Surushkina SYu, Nikishena IS, Yakovenko EA, Anisimova TI. The use of deanol aceglumate in the treatment of neurasthenia in adolescents with school maladjustment. *Voprosy sovremennoy pediatrii = Problems of Modern Pediatrics*. 2013;12(5): 99-103. (In Russian).
- Prilepskiy AYU, Drozdov AS, Bogatyrev VA, Staroverov SA. Methods of working with cell cultures and determining the toxicity of nanomaterials. Saint Petersburg: ITMO University; 2019. 43 p. (In Russian).
- Khranchenkova OM. Fundamentals of Radiobiology: a textbook for students of biological specialties of higher educational institutions. Gomel: Educational Institution «GSU named after. F. Skorina»; 2003. 238 p. (In Russian).
- Kuptsova PS, Komarova LN, Vypova ER. Study of radioprotective properties of fumaric acid and 3-oxypyridine fumarate under the action of ionizing radiation on human cells. *Radiatsionnaya Gygiena = Radiation Hygiene*. 2023;16(1): 32-39. (In Russian).
- Penabei S, Meesungnoen J, Jay-Gerin JP. Assessment of Cystamine's Radioprotective Antioxidant Ability under High-Dose-Rate Irradiation: A Monte Carlo Multi-Track Chemistry Simulation Study. *Antioxidants (Basel)*. 2023;12(1): 77. DOI: 10.3390/antiox12010077.
- Thoene J, Gavin RF, Towne A, Wattay L, Ferrari MG, Navarrete J, et al. In vitro activity of cysteamine against SARS-CoV-2 variants. *Molecular Genetics and Metabolism*. 2022;137(1-2): 192-200. DOI: 10.1016/j.ymgme.2022.08.005.
- 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. DOI: 10.1038/nrc.2016.18.
- Vander Heiden MG, Cantley LC, Thompson CB. Understanding the Warburg effect: the metabolic requirements of cell proliferation. *Science*. 2009;324(5930): 1029-1033. DOI: 10.1126/science.1160809.

Received: July 08, 2025

**For correspondence: Polina S. Kuptsova** – Senior Lecturer at the Department of Biotechnology, Obninsk Institute for Nuclear Power Engineering – Branch of the National Research Nuclear University “MEPhI” (1, Studgorodok, Obninsk, Kaluga Region, 249040, Russia; Email: kuptsova\_apollinaria@mail.ru)

ORCID: 0000-0003-1298-920X

**Lyudmila N. Komarova** – Doctor of Biological Sciences, Professor of the Department of Biotechnology, Obninsk Institute of Nuclear Power Engineering – Branch of the National Research Nuclear University “MEPhI”, Obninsk, Russia

ORCID: 0000-0003-0491-4486

**Elena R. Olkhovaya** – Head of the Educational and Scientific Laboratory of the Department of Biotechnology, Obninsk Institute of Nuclear Power Engineering – Branch of the National Research Nuclear University “MEPhI”, Obninsk, Russia

ORCID: 0000-0002-8055-9239

**Alina K. Lapenko** – Specialist in Educational and Methodological Work of the Department of Biotechnology, Obninsk Institute of Nuclear Power Engineering – Branch of the National Research Nuclear University “MEPhI”, Obninsk, Russia

ORCID: 0009-0001-5738-8478

**Sergey V. Shkavrov** – Candidate of Chemical Sciences, Deputy Head of the Pharmaceutical Center for Practical Training and Competencies, Associate Professor of the Department of Biotechnology, Obninsk Institute of Nuclear Power Engineering – Branch of the National Research Nuclear University “MEPhI”, Obninsk, Russia

ORCID: 0009-0009-0572-9427

**Ilya S. Kuptsov** – Candidate of Physical and Mathematical Sciences, Associate Professor of the Department of General and Special Physics, Obninsk Institute of Nuclear Power Engineering – Branch of the National Research Nuclear University “MEPhI”, Obninsk, Russia

ORCID: 0000-0002-9891-6740

**Vyacheslav O. Saburov** – Head of the Laboratory for Development and Operation of Irradiation Equipment, A.F. Tsyb Medical Radiological Research Center – Branch of the National Medical Research Center of Radiology of the Ministry of Health of the Russian Federation, Obninsk, Russia

ORCID: 0000-0002-6907-2753

**For citation: Kuptsova P.S., Komarova L.N., Olkhovaya E.R., Lapenko A.K., Shkavrov S.V., Kuptsov I.S., Saburov V.O. Evaluation of the radioprotective potential of fumaric acid, 3-hydroxypyridine fumarate and deanol aceglumate under the action of  $\gamma$ -radiation, protons and  $^{12}\text{C}$  ions on human cells. *Radiatsionnaya Gygiena = Radiation Hygiene*. 2026. Vol. 19, No. 1. P. 63–71. (In Russian). DOI: 10.21514/1998-426X-2026-19-1-63-71**