



© О.И. Кит¹, Е.М. Франциянц¹, П.С. Качесова¹, А.И. Шихлярова¹,
 Э.К. Алексеев¹, И.П. Кодониди², А.А. Глушко², Л.К. Трепитаки¹, А.С. Чиряпкин²,
 В.И. Вошедский¹, И.Б. Лысенко¹

Противоопухолевая и антиметастатическая активность нового производного пиримидин-4-она на модели меланомы B16–F10 у мышей (пилотное исследование)*

¹Федеральное государственное бюджетное учреждение «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Ростов-на-Дону, Российская Федерация
²Пятигорский медико-фармацевтический институт — филиал федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Волгоградский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Пятигорск, Российская Федерация

© Oleg I. Kit¹, Elena M. Frantsiyants¹, Polina S. Kachesova¹, Alla I. Shikhlyarova¹,
 Eduard K. Alexeev¹, Ivan P. Kodonidi², Alexander A. Glushko², Lidiya K. Trepitaki¹,
 Alexey S. Chiryapkin², Vitalii I. Voshedskiy¹, Irina B. Lysenko¹

Antitumor and Antimetastatic Activity of a Novel Pyrimidin-4-one Derivative in the B16–F10 Melanoma Mouse Model: A Pilot Study**

¹National Medical Research Centre for Oncology, Rostov-on-Don, the Russian Federation
²Pyatigorsk Medical and Pharmaceutical Institute — a branch of the Volgograd State Medical University, Pyatigorsk, the Russian Federation

Введение. Меланома кожи характеризуется высоким метастатическим потенциалом. Участие рецептора эпидермального фактора роста (EGFR) в инвазии и прогрессировании меланомы обосновывает поиск новых EGFR-ориентированных антиметастатических подходов.

Цель. Оценка влияния нового производного пиримидин-4-она (6MPSVan-Na) на рост, метастазирование и морфологию перевивной меланомы B16–F10.

Материалы и методы. Эксперимент выполнен на самцах мышей C57BL/6 с подкожно трансплантированной меланомой B16–F10. Животные были распределены на три группы (по n = 10 в каждой): основная группа (6MPSVan-Na, 18,7 мг/кг внутримышечно); отрицательный контроль (вода для инъекций внутримышечно); группа gefitiniba (43,4 мг/кг перорально) как позитивный контроль чувствительности модели к ингибиторам тирозинкиназы EGFR. Воздействие проводили в течение пяти дней со дня перевивки, через два дня курс повторяли. Оценивали латентный период, динамику объема и торможения роста опухоли (ТРО %), продолжительность жизни, выживаемость (Каплан — Майер), частоту макрометастазов. Проведен гистологический анализ опухолевой ткани. Статистическая обработка: критерии Манна — Уитни, точный критерий Фишера, *log-rank*-тест, ANOVA (уровень значимости $\alpha = 0,05$).

Результаты. Исследование выявило чувствительность меланомы B16–F10 к действию референтного препарата Gefitiniba. Профиль противоопухолевой активности экспериментального соединения 6MPSVan-Na характеризовался торможением роста меланомы в постэкспозиционный период (ТРО % ≥ 50 %), статистически значимым увеличением продолжительности жизни мышей, снижением частоты выявления макрометастазов в легких до 20 %, в лимфатических узлах — до 30 % ($p < 0,05$). После воз-

Introduction. Cutaneous melanoma is characterized by a high metastatic potential. The involvement of the epidermal growth factor receptor (EGFR) in melanoma invasion and progression provides a rationale for developing novel EGFR-targeted antimetastatic strategies.

Aim. To evaluate the effect of a novel pyrimidin-4-one derivative (6MPSVan-Na) on the growth, metastasis, and morphology of transplanted B16–F10 melanoma.

Materials and Methods. The study was conducted in male C57BL/6 mice with subcutaneously transplanted B16–F10 melanoma. Animals were randomized into three groups (n = 10 per group): the main group (6MPSVan-Na, 18.7 mg/kg, intramuscularly); a negative control (water for injection, intramuscularly); and a positive control group receiving the EGFR tyrosine kinase inhibitor gefitinib (43.4 mg/kg, orally) to confirm model sensitivity to EGFR tyrosine kinase inhibitors. Treatment was administered for five consecutive days starting on the day of tumor transplantation, and the course was repeated after a two-day interval. Evaluated parameters included the latent period, tumor growth dynamics and tumor growth inhibition (TGI, %), lifespan, incidence of macrometastases, and histological analysis of tumor tissue. Statistical analysis employed the Mann–Whitney U test, Fisher’s exact test, *log-rank* test, and ANOVA (significance level $\alpha = 0.05$).

Results. The study confirmed the sensitivity of the B16–F10 melanoma model to the reference drug gefitinib. The experimental compound 6MPSVan-Na demonstrated an antitumor activity profile characterized by sustained tumor growth inhibition in the post-exposure period (TGI ≥ 50 %), a statistically significant increase in mouse lifespan, and a reduced incidence of macrometastases to 20 % in the lungs and 30 % in lymph nodes ($p < 0.05$). Histopathological analysis of tumors following 6MPSVan-Na treatment revealed features predominantly

* Статья содержит онлайн-приложение, в котором размещены дополнительные материалы.

**The article contains an online supplement, which provides additional materials.

действия 6MPSVan-Na преимущественно определялись морфологические признаки некроптоза (обширный некроз, выраженная инфильтрация лимфоцитами и гистиоцитами, формирование лимфоцитарного вала и соединительнотканной капсулы).

Заключение. В пилотном исследовании новое производное пиримидин-4-она продемонстрировало противоопухолевую и антиметастатическую активность в отношении меланомы B16-F10, реализующуюся, вероятно, через активацию некроптоза и стимуляцию опухолеспецифического иммунного ответа. Полученные данные обосновывают дальнейшее изучение 6MPSVan-Na в качестве потенциального антиметастатического агента при меланоме.

Ключевые слова: меланома B16-F10; мыши C57BL/6; производное пиримидин-4-она; гевитиниб; противоопухолевая активность; метастазирование; некроптоз; апоптоз

Для цитирования: Кит О.И., Франциянц Е.М., Качесова П.С., Шихлярова А.И., Алексеев Э.К., Кодониди И.П., Глушко А.А., Трепитакки Л.К., Чиряпкин А.С., Вошедский В.И., Лысенко И.Б. Сравнительная противоопухолевая и антиметастатическая активность нового производного пиримидин-4-она и гевитиниба на модели меланомы B16-F10 у мышей. *Вопросы онкологии*. 2026; 72(4): 892-902.-DOI: <https://doi.org/10.37469/0507-3758-2026-72-4-OF-2630>

consistent with necroptosis (extensive necrosis, marked lymphohistiocytic infiltration, formation of a lymphocytic cuff, and development of a connective tissue capsule).

Conclusion. In this pilot study, the novel pyrimidin-4-one derivative 6MPSVan-Na demonstrated both antitumor and antimetastatic activity against B16-F10 melanoma, likely mediated through the induction of necroptosis and stimulation of a tumor-specific immune response. These findings support further investigation of 6MPSVan-Na as a potential antimetastatic agent for melanoma.

Keywords: B16-F10 melanoma; C57BL/6 mice; pyrimidin-4-one derivative; gefitinib, antitumor activity; metastasis; necroptosis; apoptosis

For Citation: Oleg I. Kit, Elena M. Frantsiyants, Polina S. Kachesova, Alla I. Shikhlyarova, Eduard K. Alexeev, Ivan P. Kodonidi, Alexander A. Glushko, Lidiya K. Trepitaki, Alexey S. Chiryapkin, Vitalii I. Voshedskii, Irina B. Lysenko. Antitumor and antimetastatic activity of a novel pyrimidin-4-one derivative in the B16-F10 melanoma mouse model: A pilot study. *Voprosy Onkologii = Problems in Oncology*. 2026; 72(4): 892-902.-DOI: <https://doi.org/10.37469/0507-3758-2026-72-4-OF-2630>

✉ Контакты: Качесова Полина Сергеевна, vpn.kachesova@gmail.com

Введение

Меланома кожи (МК) отличается молекулярно-генетической гетерогенностью и фенотипической пластичностью, которые обуславливают ее высокий метастатический потенциал, склонность к рецидивам и устойчивость к терапии [1]. Наибольшее число летальных исходов от МК приходится на пациентов с диссеминированной формой, причем большая их часть умирает от опухолевого процесса в первый год после постановки диагноза [2, 3]. Это диктует необходимость поиска новых стратегий и противоопухолевых агентов, ограничивающих метастатическое распространение МК.

Рецептор эпидермального фактора роста (EGFR) регулирует пролиферацию, выживание и миграцию опухолевых клеток. Повышенную экспрессию и активацию EGFR связывают с инвазивным состоянием и усилением метастатического потенциала меланомы [4, 5], а также с неблагоприятным прогнозом у больных с метастазами [6, 7]. Установлено, что данный рецептор участвует в формировании резистентности к BRAF-терапии через механизмы адаптивных фенотипических перестроек и обходного сигналинга [5, 8, 9]. Экспериментальные данные показывают, что ингибирование EGFR может подавлять агрессивные свойства меланомы [5, 10]. В исследованиях на первичных культурах и ксенотрансплантатах меланом с мутацией NF1, в которых отмечена повышенная экспрессия и активация EGFR, показана чувствительность опухоли к ингибиторам EGFR независимо от статуса BRAF/NRAS [11]. В то же время результаты работы Balderson et al. указывают на

вариабельность экспрессии рецептора в транскрипционных состояниях, ассоциируемых с инвазивным фенотипом [12]. Это согласуется с концепцией внутри- и межопухолевой гетерогенности меланомы, обусловленной ее пластичностью, и рассматривается как потенциальный фактор неоднородности ответа и адаптации к таргетной терапии [12]. Таким образом, EGFR-ориентированную терапию можно рассматривать как перспективный метод лечения метастатической меланомы.

Ранее водорастворимое гетероциклическое соединение 6EPSVan-Na (производное пиримидин-4-она), синтезированное как потенциальный ингибитор тирозинкиназы, показало противоопухолевую активность в отношении сингенной меланомы B16-F10 [13]. На этапе скрининга *in silico* была установлена его аффинность к каталитическому сайту киназного домена EGFR аналогично селективному ингибитору гевитинибу, выбранному в качестве функционального аналога. С целью модификации фармакологических свойств 6EPSVan-Na был синтезирован его гомолог 6MPSVan-Na с заменой этильной группы на метильную при C-6 пиримидинового кольца (рис. 1, см. приложение online).

Целью работы является оценка влияния нового производного пиримидин-4-она (6MPSVan-Na) на рост, метастазирование и морфологию перевивной меланомы B16-F10.

Материалы и методы

Эксперимент проводился на самцах мышей линии C57BL/6 массой 28–30 г (ФГБУН «Научный центр биомедицинских технологий

ФМБА»). Животные содержались в стандартных условиях вивария при естественном световом режиме, с доступом к воде и пище *ad libitum*. В качестве модельной системы использовали сингенную меланому B16-F10 (НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина, г. Москва). Мышам ($n = 30$) подкожно в латеральную поверхность спины трансплантировали $0,3 \text{ мл } 6 \times 10^5$ клеток меланомы и рандомизировали в три группы (по $n = 10$). Основная группа получала $0,1 \text{ мл}$ водного раствора 6MPSVan-Na ($18,7 \text{ мг/кг}$) внутримышечно. Группа отрицательного контроля получала $0,1 \text{ мл}$ воды для инъекций внутримышечно. Для определения чувствительности опухолевой модели к ингибиторам EGFR была введена группа позитивного контроля, получавшая раствор референтного препарата «Гефитиниб» в соответствии с его клиническим применением: $0,1 \text{ мл}$ перорально в дозе $43,4 \text{ мг/кг}$ (соответствует стандартной дозе для человека). Препараты вводили в одно и то же время суток в течение пяти дней со дня перевивки, после двухдневного перерыва курс повторяли. Животных наблюдали до гибели или эвтаназии по признакам боли (шкала MGS), истощения или дистресса.

Размеры опухоли фиксировали каждые три дня штангенциркулем. Оценивали продолжительность латентного периода (время от инокуляции до формирования пальпируемого узла), динамику объема опухоли (по формуле для эллипсоида) и показатель торможения роста опухолей ТРО, %: $(1 - V_o/V_k) \times 100 \%$, где V_o и V_k — среднegrupповые объемы опухолей в опытной и контрольной группах соответственно. Минимальный критерий противоопухолевой активности — ТРО $> 50 \%$. Оценивали продолжительность жизни (ПЖ) животных и показатель общей выживаемости. По результатам некропсии определяли наличие макрометастазов. Проводили гистологическое исследование ткани опухоли с использованием стандартных методов (окрашивание гематоксилином и эозином). Препараты микроскопировали при помощи микроскопа Leica DMLS2, цифровая камера — «OLYMPUS Camedia C-5050».

Ограничение исследования. Работа носит пилотный характер и направлена на оценку фармакологической активности и вариабельности эффектов экспериментального соединения. Статистическое сравнение между контрольными группами служит исключительно для демонстрации наличия/отсутствия биологического ответа в модели. Прямое сравнение эффективности 6MPSVan-Na и референтного препарата гефитиниба, с учетом различия в маршрутах введения, не являлось целью исследования и не проводилось.

Статистический анализ данных проводили с использованием программной среды R (версия 4.2.2). Распределение данных проверялось критерием Шапиро — Уилка. Для попарных сравнений применяли t-тест Стьюдента или U-критерий Манна — Уитни в случае отклонения распределения от нормального. При множественном сравнении применяли дисперсионный анализ ANOVA (апостериорный тест Даннета). Кривые общей выживаемости строили по методу Каплана — Мейера и сравнивали при помощи *log-rank*-теста (все животные достигли конечной точки: прогрессия опухоли/смерть). Данные с нормальным распределением представлены как среднее арифметическое значение (M) и стандартное отклонение (SD), с ненормальным как медиана (Me), нижний (Q_1) и верхний (Q_3) квантили. Различия между группами считали значимыми при $\alpha = 0,05$ ($p \leq 0,05$).

Результаты

В группе отрицательного контроля медиана латентного периода составила пять с половиной дней, и к восьмому дню после трансплантации опухоли пальпировались у $100,0 \%$ животных (табл. 1). В группе позитивного контроля, получавшей референтный препарат, и в основной группе, получавшей экспериментальное соединение, латентный период удлинялся, в среднем, до шести с половиной — семи с половиной дней. Тем не менее, к восьмому дню эксперимента (после шести введений) опухоль пальпировалась у 100% животных в группе гефитиниба и у $90,0 \%$ — в группе 6MPSVan-Na (табл. 1).

В группе отрицательного контроля наблюдался активный рост меланомы на протяжении всего периода наблюдения (табл. 2). Гефитиниб и 6MPSVan-Na не замедляли рост опухоли на протяжении первых трех недель.

На четвертой неделе эксперимента меланома отреагировала замедлением роста на воздействие гефитинибом: средний объем опухолей был ниже, чем у животных, не получавших активного лечения; максимальный биологический эффект по ТРО ($70,7 \%$) был зафиксирован на 23-й день (табл. 2). В группе 6MPSVan-Na с четвертой недели объем опухолей был статистически значимо ниже (≥ 2 раза), чем показатели в группе отрицательного контроля, пик ТРО ($78,5 \%$) регистрировался на 26-й день (табл. 2). Также снижалась частота выявления макрометастазов в легких — до 20% , в лимфатических узлах — до 30% (против $90,0$ и $70,0 \%$ в группе отрицательного контроля; $p < 0,05$) (табл. 1).

Медиана и максимальное значение ПЖ в группе отрицательного контроля составили 24,0 и 45 дней, а у мышей, получавших референт-

Таблица 1. Эффекты воздействия 6MPSVan-Na на меланому B16–F10 и продолжительность жизни мышей C57BL/6

Группа	Латентный период, дни Me [Q ₁ ÷Q ₃] min-max	ПЖ, дни Me [Q ₁ ÷Q ₃] min-max	ПЖ свыше 45 дней, %	Частота (%) выявления метастазов	
				легкие	аксиллярные и паховые лимфатические узлы
Отрицательный контроль	5,5 [5,0÷6,0] 4–8	24,00 [21,0÷44,0] 17–45	0,0	90,0	70,0
Позитивный контроль	6,5 [6,0÷8,0] 4–8	48,5 [24,0÷58,0] 20–87 MU = 0,025	60,0	50,0	50,0
6MPSVan-Na	7,5 [5,0÷8,0] 4–15	38,5 [26,0÷57,0] 21–114 MU = 0,036	50,0	20,0 F = 0,0055	30,0 F = 0,0198

Уровень значимости различий по сравнению с группой отрицательного контроля: MU (критерий Манна — Уитни); F (точный критерий Фишера). Минимальное (min) и максимальное (max) значения показателя.

Table 1. Effects of 6MPSVan-Na on B16–F10 melanoma growth and the lifespan of C57BL/6 mice

Treatment Group	Latency period, days Me [Q ₁ ÷Q ₃] min-max	Lifespan, days Me [Q ₁ ÷Q ₃] min-max	Animals surviving >45 days, %	Macrometastasis incidence, %	
				Lungs	Axillary and inguinal lymph nodes
Negative control	5.5 [5.0÷6.0] 4–8	24.00 [21.0÷44.0] 17–45	0.0	90.0	70.0
Positive control	6.5 [6.0÷8.0] 4–8	48.5 [24.0÷58.0] 20–87 MU = 0.025	60.0	50.0	50.0
6MPSVan-Na	7.5 [5.0÷8.0] 4–15	38.5 [26.0÷57.0] 21–114 MU = 0.036	50.0	20.0 F = 0.0055	30.0 F = 0.0198

The significance level of differences compared to the negative control group: MU (Mann–Whitney U test); F (Fisher's exact test). Minimum (min) and maximum (max) values of the indicator.

ный препарат — 48,5 и 87 дней соответственно (табл. 1). В группе 6MPSVan-Na показатель ПЖ увеличился на 60,4 % ($p < 0,05$) относительно отрицательного контроля, а максимальная ПЖ составила 114 дней. Медиана выживаемости по Каплану — Мейеру по сравнению с отрицательным контролем увеличилась в группе гефитиниба и 6MPSVan-Na на 95,8 и 25,0 % соответственно (рис. 2, см. приложение online).

Морфологический анализ B16–F10 в группе животных без активного лечения показал сохранную тканевую архитектуру без заметных очагов некроза и кровоизлияний. Опухолевый узел был окружен соединительнотканной капсулой без признаков повышенной васкуляризации. Ткань меланомы характеризовалась плотным расположением полиморфных опухолевых клеток с крупными ядрами неправильной округлой формы, которые содержали ядрышко и крупные глыбки хроматина, хаотично распределенные в кариоплазме. В ядрах отмечались фигуры патологических митозов, что свидетельствовало о высокой пролиферативной активности опухоли. В цитоплазме визуализировалось множество

пигментных гранул, характерных для данной опухоли (рис. 3).

Гефитиниб индуцировал морфологические изменения в опухоли, характерные для апоптотической гибели клеток. Тканевая архитектура меланомы частично сохранялась, но клетки сморщивались за счет уплотнения цитоплазмы (рис. 4, а, б). Наблюдалась фрагментация ядер с конденсацией хроматина на внешнем монослое плазматической мембраны, которая не утрачивала своей целостности (рис. 4, в). Процессы фрагментации ядер и самих клеток сопровождались образованием апоптотических телец, а также конденсацией глыбок меланина в области разрушенных клеток меланомы (рис. 4, г).

На фоне применения экспериментального соединения ткань меланомы претерпевала значительные деструктивные изменения. Более 60 % общей площади тканевого среза занимала некротически измененная ткань опухоли (рис. 5, а). Сохранившиеся островки опухолевых клеток характеризовались наличием сосудов разного калибра с выходом элементов крови, значительную долю среди которых составляли лимфоциты (рис. 5, б).

Таблица 2. Объем меланомы B16–F10 и показатель торможения роста опухоли (ТРО) в процессе экспериментального воздействия

День от перевивки	Группа				
	отрицательный контроль	позитивный контроль		6MPSVan-Na	
	объем опухоли, см ³	объем опухоли, см ³	ТРО, %	объем опухоли, см ³	ТРО, %
9	0,06 (0,04) n10	0,04 (0,03) n10	33,3	0,03 (0,02) n10	50,8
12	0,26 (0,27) n10	0,16 (0,17) n10	38,5	0,15 (0,12) n10	42,3
16	1,04 (0,59) n10	0,99 (0,77) n10	4,8	1,00 (0,88) n10	3,8
19	3,78 (1,79) n9	2,33 (1,56) n10	38,4	2,33 (1,94) n10	38,4
23	5,87 (1,08) n6	2,63 (2,32) p = 0,0005 n8	55,2	2,28 (2,11) p = 0,0004 n8	61,2
26	8,47 (1,61) n4	3,42 (2,07) p = 0,0061 n8	59,6	1,82 (1,50) p = 0,0016 n6	78,5
30	10,89 (1,19) n3	3,19 (1,93) p = 0,0020 n7	70,7	3,10 (3,10) p = 0,0027 n5	71,5
33	12,45 (1,98) n3	4,77 (2,61) p = 0,0221 n7	61,7	3,26 (2,70) p = 0,0114 n5	73,8
37	15,80 (1,15) n3	5,94 (2,95) p = 0,0023 n7	62,4	5,38 (4,34) p = 0,0025 n5	65,9
40	16,27 (3,05) n3	7,83 (3,93) p = 0,0281 n7	51,9	6,75 (5,10) p = 0,0218 n5	58,5
44	17,9 (2,56) n3	8,61 (4,51) p = 0,0094 n6	51,8	7,30 (4,51) p = 0,0055 n5	59,2

p — уровень значимости различий по сравнению с группой отрицательного контроля (ANOVA). Данные представлены как М (SD).

Table 2. B16–F10 melanoma tumor volume and tumor growth inhibition (TGI) index during experimental treatment

Days post-tumor transplantation	Treatment group				
	Negative control	Positive control		6MPSVan-Na	
	Tumor volume, cm ³	Tumor volume, cm ³	TGI, %	Tumor volume, cm ³	TGI, %
9	0.06 (0.04) n10	0.04 (0.03) n10	33.3	0.03 (0.02) n10	50.8
12	0.26 (0.27) n10	0.16 (0.17) n10	38.5	0.15 (0.12) n10	42.3
16	1.04 (0.59) n10	0.99 (0.77) n10	4.8	1.00 (0.88) n10	3.8
19	3.78 (1.79) n9	2.33 (1.56) n10	38.4	2.33 (1.94) n10	38.4
23	5.87 (1.08) n6	2.63 (2.32) p = 0,0005 n8	55.2	2.28 (2.11) p = 0.0004 n8	61.2
26	8.47 (1.61) n4	3.42 (2.07) p = 0.0061 n8	59.6	1.82 (1.50) p = 0.0016 n6	78.5
30	10.89 (1.19) n3	3.19 (1.93) p = 0.0020 n7	70.7	3.10 (3.10) p = 0.0027 n5	71.5
33	12.45 (1.98) n3	4.77 (2.61) p = 0.0221 n7	61.7	3.26 (2.70) p = 0.0114 n5	73.8
37	15.80 (1.15) n3	5.94 (2.95) p = 0.0023 n7	62.4	5.38 (4.34) p = 0.0025 n5	65.9
40	16.27 (3.05) n3	7.83 (3.93) p = 0.0281 n7	51.9	6.75 (5.10) p = 0.0218 n5	58.5
44	17.9 (2.56) n3	8.61 (4.51) p = 0.0094 n6	51.8	7.30 (4.51) p = 0.0055 n5	59.2

p — significance level for differences compared to the negative control group (ANOVA). Data are presented as mean (SD).

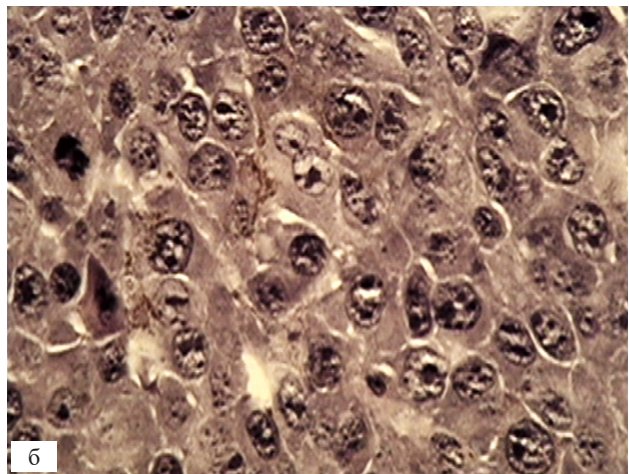
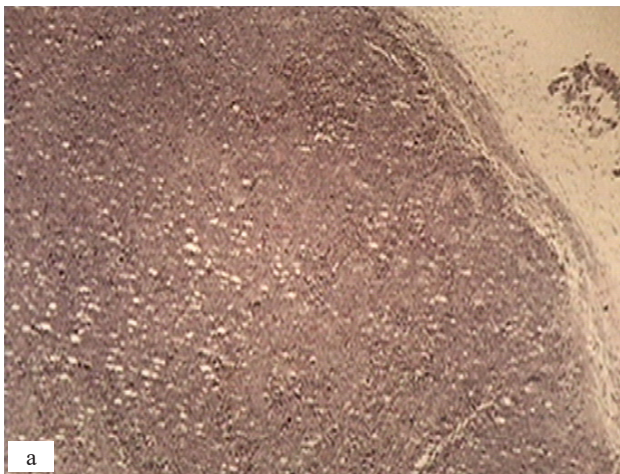


Рис. 3. Меланомы B16-F10, группа отрицательного контроля: а — общий вид ткани опухоли; $\times 50$; б — плотное расположение полиморфных клеток с крупными ядрами и хаотичным распределением ядерного материала, фигурами патологического митоза, $\times 1000$
Fig. 3. B16-F10 melanoma in the negative control group. (a) Overview of tumor tissue ($\times 50$). (б) Densely packed, polymorphic tumor cells with large, irregular nuclei, disorganized chromatin, and pathological mitotic figures ($\times 1000$)

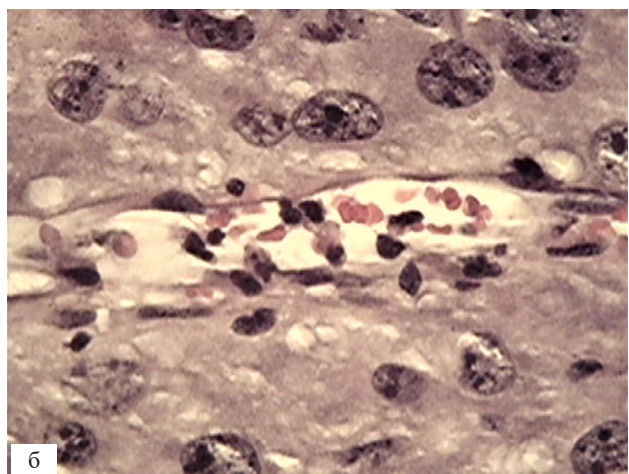
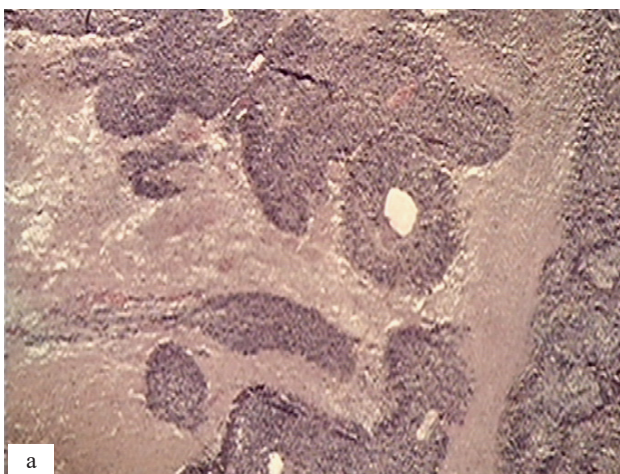


Рис. 4. Меланомы B16-F10, группа позитивного контроля: а — общий вид опухолевой ткани с неоднородной клеточной структурой, $\times 150$; б — участок опухоли с плотным расположением клеток с элементами деструкции, $\times 400$; в — процесс деградации клеток опухоли с фрагментацией ядер, распылением хроматина, $\times 1000$; г — участки с клетками в состоянии апоптоза с множеством апоптотических телец, $\times 1000$

Fig. 4. B16-F10 melanoma in the positive control group. (a) Overview showing a heterogeneous tumor architecture ($\times 150$). (б) Area with densely packed cells and signs of cellular destruction ($\times 400$). (в) Tumor cell degradation characterized by nuclear fragmentation and chromatin dispersion ($\times 1000$). (г) Region containing apoptotic cells and numerous apoptotic bodies ($\times 1000$)

Активация лимфоцитарного звена сочеталась с развитием по периметру опухоли молодой соединительной ткани. На снимках (рис. 6, а) визуализировались слои рыхлой волокнистой соединительной ткани, плотно прилегающие к краю опухоли, что могло указывать на активацию процесса замещения злокачественной ткани соединительнотканскими элементами. О вовлеченности иммунной системы в этот процесс свидетельствовало выраженное присутствие гистиоцитарного и лимфоцитарного компонента. Наряду с этим, по периметру опухоли формировался лимфоцитарный вал, представляющий зону активного взаимодействия лимфоцитов с опухолевыми клетками, в результате чего наблюдались инволютивные изменения последних (рис. 6, б).

На удаленных от края островковых участках опухоли отмечалась утрата клетками меланомы целостности цитоплазматической мембраны. При этом вакуолизированная цитоплазма могла сливаться в единую тяжистую структуру или общую массу. Клетки содержали пикнотически измененные ядра, наблюдались признаки кариолизиса (рис. 6, в). Зерна меланина располагались в виде мелких гранул или аморфных скоплений. В участках погибающих клеток опухоли, представляющих собой «тени», наблюдалось скопление детрита и лимфоцитов (рис. 6, г). Морфологическая картина активного некроза на фоне активации иммунных реакций и выраженной соединительнотканной реакции характерна для некроптозоподобной гибели клеток.

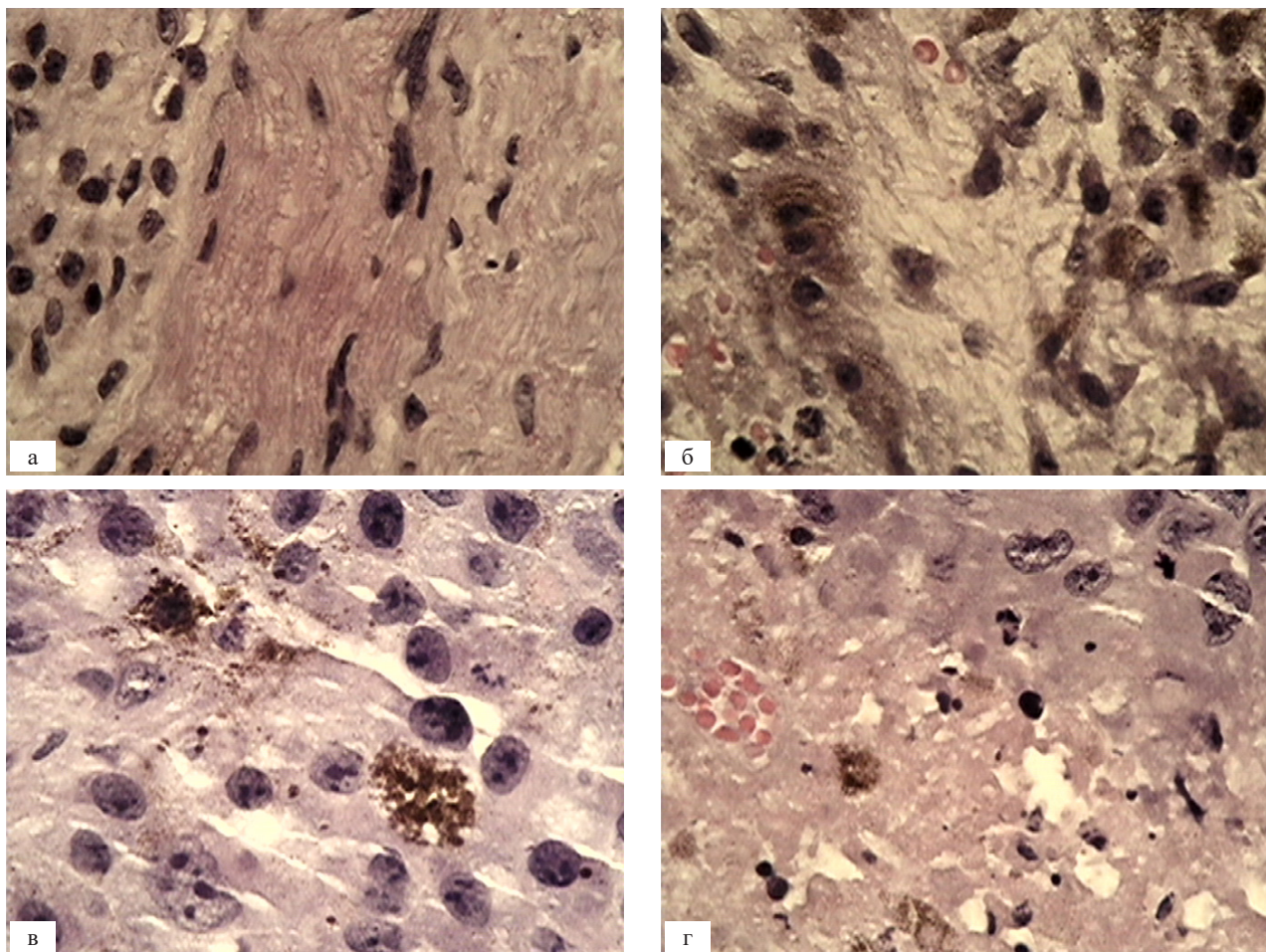


Рис. 5. Меланома B16–F10, группа 6MPSVan-Na: а — некротически измененная ткань с островковыми конгломерациями опухолевых клеток, $\times 50$; б — развитая сосудистая сеть, заполненная клеточными элементами крови со значительным содержанием лимфоцитов, $\times 1000$

Fig. 5. B16–F10 melanoma in the 6MPSVan-Na treatment group. (a) Necrotic changes with residual islands of viable tumor cells ($\times 50$). (б) A well-developed vascular network densely populated with blood cells, including a significant lymphocytic infiltrate ($\times 1000$)

Обсуждение

Полученные данные демонстрируют чувствительность меланомы B16–F10 к референтному ингибитору EGFR, который замедлил рост опухоли в постэкспозиционный период и увеличил продолжительность жизни животных.

Экспериментальное соединение оказало слабое воздействие на раннем этапе роста меланомы, незначительно увеличив латентный период формирования опухоли. Однако с четвертой недели темп роста B16–F10 заметно снизился, что сопровождалось увеличением продолжительности жизни мышей. Также при воздействии 6MPSVan-Na наблюдалось выраженное подавление роста метастазов в легких и лимфатических узлах.

В целом результаты согласуются с данными по соединению 6EPSVan-Na, которое тормозило рост B16-F10 у мышей-самцов C57BL/6 с максимальным ТРО (95 %) на 14-й день и увеличивало продолжительность жизни животных в 1,3–1,6 раза [13]. Соединение 6MPSVan-Na оказало

менее выраженное цитостатическое действие, но обеспечило сопоставимую выживаемость.

В ряде работ также показана возможность воздействия на меланому производными пиримидина и хиназолина. На клеточных линиях и модели ксенотрансплантата увеальной меланомы продемонстрировано, что мультикиназный ингибитор афатиниб подавлял рост и метастазирование увеальной меланомы, активируя гибель клеток и снижая их миграционную активность. Эффекты достигались за счет ингибирования каскада HER2-AKT/ERK/PI3K, активации экспрессии STAT1 и снижения экспрессии Bcl-xL и циклина D1 [14]. Показана способность производного 5-оксипиримидина ингибировать развитие метастазов меланомы B16–F10 в легких, но не рост первичной опухоли [15]. Авторы связывают антиметастатический эффект с иммуотропным действием вещества.

Исследования демонстрируют динамичное изменение EGFR в процессе роста меланомы. Например, усиление экспрессии рецептора по мере прогрессирования меланоцитарных поражений

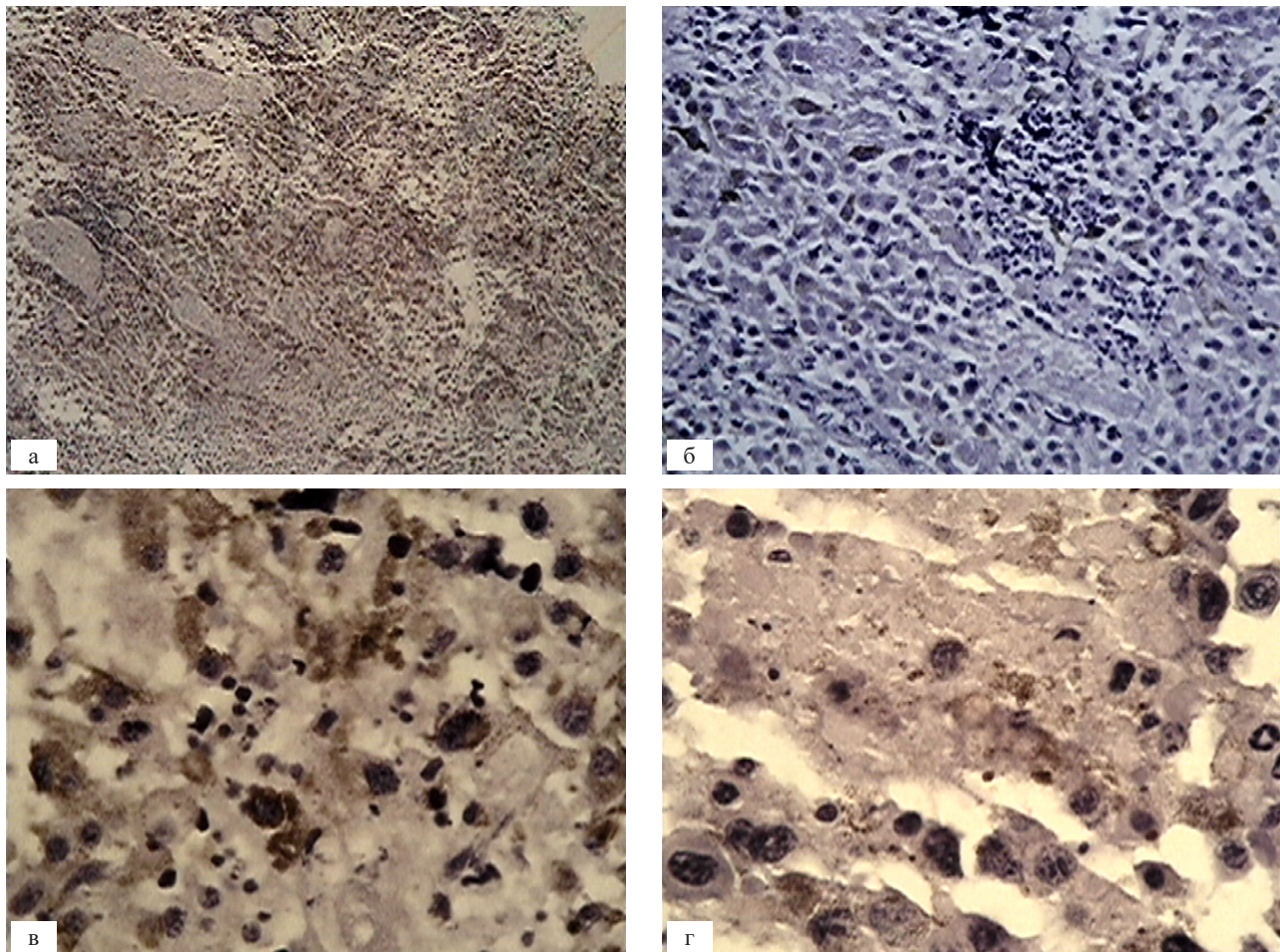


Рис. 6. Меланома B16–F10, группа 6MPSVan-Na: а — структура слоев рыхлой волокнистой соединительной ткани с разрастанием по краям опухоли, $\times 1000$; б — образование лимфоцитарного вала и окружение лимфоцитами клеток опухоли, $\times 1000$; в — участки слияния цитоплазмы опухолевых клеток, дегенерация ядер, рассеяние гранул меланина и образование «облачков» пигмента, $\times 1000$; г — некротизация клеток опухоли, скопления детрита, $\times 1000$

Fig. 6. B16-F10 melanoma in the 6MPSVan-Na group. (a) Peripheral tumor margin showing layers of loose fibrous connective tissue ($\times 1000$). (б) Formation of a distinct lymphocytic cuff surrounding tumor cell clusters ($\times 1000$). (в) Area of tumor cell degeneration featuring cytoplasmic fusion, nuclear degeneration, and dispersion of melanin granules into “cloud-like” aggregates ($\times 1000$). (г) Foci of tumor cell necrosis with associated cellular debris ($\times 1000$)

[6] или значительное повышение EGFR в метастазах (как на уровне мРНК, так и белка) по сравнению с первичной меланомой в исследовании на клеточных линиях и образцах пациентов [4]. Для B16–F10 также выявлена поэтапная динамика содержания EGFR со снижением на первой неделе опухолевого роста и возрастанием к четвертой неделе [16]. Это может объяснять наблюдаемую отсроченность цитостатического эффекта соединений.

В группе позитивного контроля морфологический анализ выявил классические признаки апоптоза, что согласуется с известным механизмом действия ингибиторов EGFR, индуцирующих апоптоз через блокаду сигнальных путей, способствующих выживанию. Действие экспериментального соединения сопровождалось признаками некротического морфотипа, характерного для неапоптотических путей регулируемой клеточной гибели: разрушением плазматической мембраны, вакуолизацией цитоплазмы,

массивной гибелью клеток, сопровождавшейся выраженной лимфоцитарной инфильтрацией и активацией соединительнотканной реакции. Данный комплекс признаков соответствует некроптоз-ассоциированным изменениям (возможно, с элементами аутофагии/онкоза) [17]. Однако для окончательного подтверждения некроптоза необходимы исследования специфических маркеров (RIPK1, RIPK3, pMLKL и др.).

Подавление метастазирования при воздействии 6MPSVan-Na согласуется с представлением о некроптозе как регуляторе роста опухоли, способном подавлять метастазирование через формирование противоопухолевого иммунного ответа [18, 19]. С другой стороны, будучи иммуногенной формой клеточной гибели, некроптоз может приводить не только к развертыванию иммунного ответа, но и к системному воспалению в зависимости от величины, состава и контекста высвобождаемых молекулярных паттернов, связанных с повреждением (DAMPs),

цитокинового профиля, реактивности организма и иных факторов [18, 19]. Вызванная 6MPSVan-Na локальная иммунная активация с обширной деструкцией ткани опухоли могла привести к отрицательным системным эффектам: высокая антигенная нагрузка, выраженная цитокиновая реакция и дисфункция органов вследствие высвобождения DAMPs из опухолевых клеток в системный кровоток, превзошедшим локальный противоопухолевый эффект [18, 20, 21].

Таким образом, умеренное увеличение выживаемости при выраженном антиметастатическом эффекте 6MPSVan-Na может отражать несоответствие степени стимуляции иммунного ответа и последствий массивной гибели клеток. Возможно, подбор других схем ведения и дозирования 6MPSVan-Na позволит минимизировать негативные системные эффекты и сбалансировать контроль над ростом опухоли и переносимость воздействия.

Модуляция неапоптотических путей регулируемой клеточной гибели рассматривается как перспективная стратегия эффективной элиминации опухолевых клеток при меланоме и других видах опухолей [19, 22]. Хотя большинство противоопухолевых средств реализуют проапоптотический эффект, при определенных условиях они вовлекают неапоптотические механизмы клеточной гибели. Так, гиперэкспрессия ID1 повышает чувствительность клеток рака легкого (независимо от статуса EGFR) к гефитинибу через активацию некроптотического пути RIPK3/MLKL, а не апоптоза [23]. Гефитиниб и эрлотиниб могут усиливать некроптоз опухолевых клеток при инактивации каспазы-8 в присутствии TNF- α , а в комбинации с аминокислотным голоданием гефитиниб индуцирует атипичный RIPK1-зависимый некроптоз, не требующий TNF- α и блокаторов апоптоза [24]. Комбинация радиотерапия + дакарбазин + гипертермия совместно с zVAD-fmk (блокатором апоптоза) индуцирует некроптоз в клетках меланомы B16-F10 через ось RIPK1/RIPK3/MLKL с последующим иммунным ответом [25]. Также выявлено, что EGFR-ассоциированная резистентность к терапии при меланоме с мутацией BRAF сопряжена с изменениями маркеров ферроптоза, а его фармакологическая индукция повышает чувствительность опухолевых клеток к терапии [8].

Заключение

Данное исследование выявило противоопухолевую и антиметастатическую активность нового производного пиримидин-4-она в отношении меланомы мышей. Специфика эффектов 6MPSVan-Na может определяться регрессией

опухоли через некроптоз. Для улучшения переносимости необходима оптимизация режима введения. Требуется уточнить молекулярные характеристики мишеней 6MPSVan-Na, а также провести молекулярную верификацию пути клеточной гибели и оценить маркеры системного воспаления.

Предварительные результаты пилотного исследования обосновывают дальнейшее изучение 6MPSVan-Na как потенциального кандидата для терапии метастатической меланомы кожи.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Conflict of interest

The authors declare no conflict of interest.

Финансирование

Исследование не имело спонсорской поддержки.

Funding

The work was performed without external funding.

Соблюдение правил биоэтики

Этические принципы обращения с лабораторными животными соблюдались в соответствии с требованиями документа «Европейская конвенция о защите позвоночных животных, используемых для экспериментов или в иных научных целях. СЕД 123». Протокол исследования был рассмотрен и одобрен локальным этическим комитетом ФГБУ «НМИЦ онкологии» Минздрава России (протокол № 1/229 от 21.04.2025).

Compliance with the rules of bioethics

All experiments involving animals were conducted in accordance with the ethical standards outlined in the “European Convention for the Protection of Vertebrate Animals used for Experimental and Other Scientific Purposes” (ETS 123). The study protocol was reviewed and approved by the Local Ethics Committee of the National Medical Research Centre for Oncology, Ministry of Health of the Russian Federation (Protocol No. 1/229, dated April 21, 2025).

Участие авторов

Все авторы в равной степени участвовали в подготовке публикации: разработке концепции статьи, получении и анализе фактических данных, написании и редактировании текста статьи, проверке и утверждении текста статьи. Все авторы одобрили финальную версию статьи перед публикацией, выразили согласие нести ответственность за все аспекты работы, подразумевающую надлежащее изучение и решение вопросов, связанных с точностью или добросовестностью любой части работы.

Authors' contributions

All authors contributed equally to the study conception and design, data acquisition, analysis and interpretation, and the drafting and critical revision of the manuscript.

All authors have read and approved the final version of the manuscript for publication and agree to be accountable for all aspects of the work, ensuring proper investigation and resolution of any questions related to the accuracy or integrity of the work.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

- Huang F., Santinon F., Flores González R.E., et al. Melanoma plasticity: promoter of metastasis and resistance to

- therapy. *Front Oncol.* 2021; 11: 756001.-DOI: <https://doi.org/10.3389/fonc.2021.756001>.
2. Мерабишвили В.М., Демидов Л.В., Самойленко И.В., Беляев А.М. Состояние онкологической помощи при злокачественной меланоме кожи (43) в России: однолетняя и пятилетняя выживаемость больных. Локализационная и гистологическая структура (популяционное исследование). *Вопросы онкологии.* 2025; 71(4): 715-728.-DOI: <https://doi.org/10.37469/0507-3758-2025-71-4-OF-2388>. [Merabishvili V.M., Demidov L.V., Samoilenko I.V., Belyaev A.M. The state of oncol-ogy care for melanoma skin cancer (C43) in Russia: One- and five-year patient survival. localization and histological structure (a population-based study). *Voprosy Onkologii = Problems in Oncology.* 2025; 71(4): 715-728.-DOI: <https://doi.org/10.37469/0507-3758-2025-71-4-OF-2388> (In Rus)].
3. Sadeq M.A., Ashry M.H., Ghorab R.M.F., et al. Causes of death among patients with cutaneous melanoma: a US population-based study. *Sci Rep.* 2023; 13: 10257.-DOI: <https://doi.org/10.1038/s41598-023-37333-4>.
4. Lazăr A.D., Dinescu S., Sleiman L., et al. Comparative expression profiling reveals molecular markers involved in the progression of cutaneous melanoma towards metastasis. *Int J Mol Sci.* 2023; 24(7): 6565.-DOI: <https://doi.org/10.3390/ijms24076565>.
5. Simiczyjew A., Wądryńska J., Kot M., et al. Combinations of EGFR and MET inhibitors reduce proliferation and invasiveness of mucosal melanoma cells. *J Cell Mol Med.* 2023; 27(19): 2995-3008.-DOI: <https://doi.org/10.1111/jcmm.17935>.
6. Lee K.H., Suh H.Y., Lee M.W., et al. Prognostic significance of epidermal growth factor receptor expression in distant metastatic melanoma from primary cutaneous melanoma. *Ann Dermatol.* 2021; 33(5): 432-439.-DOI: <https://doi.org/10.5021/ad.2021.33.5.432>.
7. Amaral T., Pop O.T., Chatziioannou E., et al. EGFR expression is associated with relapse in a melanoma cohort receiving adjuvant PD-1-based immunotherapy. *J Am Acad Dermatol.* 2023; 89(5): 1072-1074.-DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jaad.2023.06.057>.
8. Sun Y., Yu H., Zhou Y., et al. EGFR influences the resistance to targeted therapy in BRAFV600E melanomas by regulating the ferroptosis process. *Arch Dermatol Res.* 2025; 317: 514.-DOI: <https://doi.org/10.1007/s00403-025-03895-8>.
9. Wang M., Cao Y., Ren C., et al. PTRF confers melanoma-acquired drug resistance through the upregulation of EGFR. *Cell Prolif.* 2026; 59(2): e70086.-DOI: <https://doi.org/10.1111/cpr.70086>.
10. Wang F., Chen J., Xiang D., et al. Ellagic acid inhibits cell proliferation, migration, and invasion in melanoma via EGFR pathway. *Am J Transl Res.* 2020; 12(5): 2295-2304.
11. Ibrahim M., Illa-Bohaca I., Jour G., et al. NF1 loss promotes EGFR activation and confers sensitivity to EGFR inhibition in NF1-mutant melanoma. *Cancer Res.* 2025; 85(17): 3348-3364.-DOI: <https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-24-3904>.
12. Balderson B., Fane M., Harvey T.J., et al. Systematic analysis of the transcriptional landscape of melanoma reveals drug-target expression plasticity. *Brief Funct Genomics.* 2025; 24: elad055.-DOI: <https://doi.org/10.1093/bfpg/elad055>.
13. Кит О.И., Кодониди И.П., Франциянц Е.М., et al. Противоопухолевое действие нового ингибитора рецептора эпидермального фактора роста человека. *Research'n Practical Medicine Journal.* 2024; 11(3): 54-64.-DOI: <https://doi.org/10.17709/2410-1893-2024-11-3-4>. [Kit O.I., Kodonidi I.P., Frantsiyants E.M., et al. Antitumor effect of a new human epidermal growth factor receptor inhibitor. *Research and Practical Medicine Journal.* 2024; 11(3): 54-64.-DOI: <https://doi.org/10.17709/2410-1893-2024-11-3-4> (In Rus)].
14. Shu W., Zhu X., Wang K., et al. The multi-kinase inhibitor afatinib serves as a novel candidate for the treatment of human uveal melanoma. *Cell Oncol (Dordr).* 2022; 45(4): 601-619.-DOI: <https://doi.org/10.1007/s13402-022-00686-5>.
15. Журиков Р.В., Коваленко Л.П., Никитин С.В., et al. Влияние производного 5-оксипиримидина на рост и метастазирование меланомы B16 у мышей линии C57BL/6. *Российский биотерапевтический журнал.* 2021; 20(3): 66-72.-DOI: <https://doi.org/10.17650/1726-9784-2021-20-3-66-72>. [Zhurikov R.V., Kovalenko L.P., Nikitin S.V., et al. Effects of 5-hydroxypyrimidine derivative on growth and metastasis of melanoma b16 in c57bl/6 mice. *Russian Journal of Biotherapy.* 2021; 20(3): 66-72.-DOI: <https://doi.org/10.17650/1726-9784-2021-20-3-66-72> (In Rus)].
16. Кит О.И., Франциянц Е.М., Бандовкина В.А., et al. Содержание факторов роста и их рецепторов в интактной и патологически измененной коже самок мышей в динамике роста злокачественной меланомы. *Российский онкологический журнал.* 2017; 22(5): 281-287.-DOI: <https://doi.org/10.18821/1028-9984-2017-22-5-281-287>. [Kit O.I., Frantsiyants E.M., Bandovkina V.A., et al. Levels of growth factors and their receptors in intact and tumor tissues of female mice in dynamics of the malignant melanoma growth. *Rossiiskii onkologicheskii zhurnal.* (Russian Journal of Oncology). 2017; 22 (5): 281-287.-DOI: <https://doi.org/10.18821/1028-9984-2017-22-5-281-287> (In Rus)].
17. Chen D., Yu J., Zhang L. Necroptosis: an alternative cell death program defending against cancer. *Biochim Biophys Acta.* 2016; 1865(2): 228-36.-DOI: <https://doi.org/10.1016/j.bbcan.2016.03.003>.
18. Sprooten J., De Wijngaert P., Vanmeerbeek I., et al. Necroptosis in immuno-oncology and cancer immunotherapy. *Cells.* 2020; 9(8): 1823.-DOI: <https://doi.org/10.3390/cells9081823>.
19. Wang S., He H., Qu L., et al. Dual roles of inflammatory programmed cell death in cancer: insights into pyroptosis and necroptosis. *Front Pharmacol.* 2024; 15: 1446486.-DOI: <https://doi.org/10.3389/fphar.2024.1446486>.
20. Xiao X., Huang S., Chen S., et al. Mechanisms of cytokine release syndrome and neurotoxicity of CAR T-cell therapy and associated prevention and management strategies. *J Exp Clin Cancer Res.* 2021; 40(1): 367.-DOI: <https://doi.org/10.1186/s13046-021-02148-6>.
21. Lin H., Xiong W., Fu L., et al. Damage-associated molecular patterns (DAMPs) in diseases: implications for therapy. *Mol Biomed.* 2025; 6(1): 60.-DOI: <https://doi.org/10.1186/s43556-025-00305-3>.
22. Shan Z., Liu F. Targeting ferroptosis, pyroptosis and necroptosis for cancer immunotherapy in melanoma: mechanistic insights and clinical perspectives. *Front Immunol.* 2025; 16: 1629620.-DOI: <https://doi.org/10.3389/fimmu.2025.1629620>.
23. Tan H.Y., Wang N., Chan Y.T., et al. ID1 overexpression increases gefitinib sensitivity in non-small cell lung cancer by activating RIP3/MLKL-dependent necroptosis. *Cancer Lett.* 2020; 475: 109-118.-DOI: <https://doi.org/10.1016/j.canlet.2020.01.025>.
24. Nam Y.W., Shin J.H., Kim S., et al. EGFR inhibits TNF- α -mediated pathway by phosphorylating TNFR1 at tyrosine 360

- and 401. *Cell Death Differ.* 2024; 31(10): 1318-1332.-DOI: <https://doi.org/10.1038/s41418-024-01316-3>.
25. Werthmüller N., Frey B., Wunderlich R., et al. Modulation of radiochemoimmunotherapy-induced B16 melanoma cell death by the pan-caspase inhibitor zVAD-fmk induces anti-tumor immunity in a HMGB1-, nucleotide- and T-cell-dependent manner. *Cell Death Dis.* 2015; 6: e1761.-DOI: <https://doi.org/10.1038/cddis.2015.129>.
- Поступила в редакцию / Received / 16.03.2026
 Прошла рецензирование / Reviewed / 21.04.2026
 Принята к печати / Accepted for publication / 10.06.2026

Сведения об авторах / Author Information / ORCID

Олег Иванович Кит / Oleg I. Kit / ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0003-3061-6108>; eLibrary SPIN: 1728-0329; Researcher ID (WOS): U-2241-2017; Author ID (Scopus): 55994103100.

Елена Михайловна Франциянц / Elena M. Frantsiyants / ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0003-3618-6890>; eLibrary SPIN: 9427-9928; Researcher ID (WOS): Y-1491-2018; Author ID (Scopus): 55890047700.

Полина Сергеевна Качесова / Polina S. Kachesova / ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0001-6928-5014>; eLibrary SPIN: 5784-0475; Researcher ID (WOS): AAF-3998-2019; Author ID (Scopus): 55144158500.

Алла Ивановна Шихлярова / Alla I. Shikhlyarova / ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0003-2943-7655>; eLibrary SPIN: 6271-0717; Researcher ID (WOS): Y-6275-2018; Author ID (Scopus): 6507723229.

Эдуард Константинович Алексеев / Eduard K. Alexeev / ORCID ID: <https://orcid.org/0009-0007-4982-5491>; eLibrary SPIN: 3192-0000; Researcher ID (WOS): JWP-6340-2024.

Иван Панайотович Кодониди / Ivan P. Kodonidi / ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0003-1333-3472>; eLibrary SPIN: 2751-7230; Author ID (Scopus): 10240218600.

Александр Алексеевич Глушко / Alexander A. Glushko / ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0001-7465-5657>; eLibrary SPIN: 3171-7682; Author ID (Scopus): 7003386007.

Лидия Константиновна Трепитаки / Lidiya K. Trepitaki / ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-9749-2747>; eLibrary SPIN: 2052-1248; Researcher ID (WOS): AAG-9218-2019; Author ID (Scopus): 55357624700.

Алексей Сергеевич Чиряпкин / Alexey S. Chiryapkin / ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0001-8207-2953>; eLibrary SPIN: 9719-3320; Author ID (Scopus): 57218134815.

Виталий Игоревич Вошедский / Vitalii I. Voshedskii / ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0003-1405-8329>; eLibrary SPIN: 4732-4005; Researcher ID (WOS): Q-6122-2019; Author ID (Scopus): 1032685.

Ирина Борисовна Лысенко / Irina B. Lysenko / ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0003-4457-3815>; eLibrary SPIN: 9510-3504; Author ID (Scopus): 57190217834.

