

## ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ОЦЕНКА ПРОТИВООПУХОЛЕВОЙ ЭФФЕКТИВНОСТИ НОВЫХ ОТЕЧЕСТВЕННЫХ СУБСТАНЦИЙ – БЛОКАТОРОВ РЕЦЕПТОРА ЭПИДЕРМАЛЬНОГО ФАКТОРА РОСТА

Франциянц Е.М.<sup>1</sup>, Каплиева И.В.<sup>1</sup>, Кодониди И.П.<sup>2</sup>, Глушко А.А.<sup>2</sup>, Шихлярова А.И.<sup>1</sup>,  
Алексеев Э.К.<sup>1</sup>, Качесова П.С.<sup>1</sup>, Трепитаки Л.К.<sup>1</sup>, Чиряпкин А.С.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии» Минздрава России, Ростов-на-Дону,  
e-mail: kaplirina@yandex.ru;

<sup>2</sup>Пятигорский медико-фармацевтический институт - филиал ФГБОУ ВО «ВолГМУ» Минздрава России,  
Пятигорск

Известно, что меланома кожи является агрессивной злокачественной опухолью, плохо поддающейся лечению. Цель исследования – экспериментальная оценка противоопухолевой эффективности новых субстанций – ингибиторов рецептора эпидермального фактора роста, синтезированных на основе пиримидин-4-она. Были получены натриевые соли 6-[(2-бензамидобензоил)амидо]гексановой кислоты (соединение 1) и 4-{2-[2-(2-Гидрокси-3-метоксифенил)-винил]-6-метил-4-оксо-5-фенил-4Н-пиримидин-1-ил}-бензосульфида (соединение 2), демонстрирующие высокое сродство к рецептору эпидермального фактора роста *in silico*, что требует подтверждения их противоопухолевой активности *in vivo*. Мышам линии C57BL/6 подкожно перевивали меланому B16/F10. Мыши были разделены на три группы (в каждой по 18 особей – 9 самцов и 9 самок): две основные, получавшие соединения, и контрольная. Через 24 ч после перевивки внутримышечно начинали вводить соединения в разовой дозе 18,75 мг/кг, в контрольной – воду для инъекций. Введения осуществляли 1 раз в день 5 дней подряд, 2 дня перерыв, в течение жизни. Оценивали торможение роста опухоли, среднюю продолжительность и увеличение продолжительности жизни. Средняя продолжительность жизни увеличивалась в 1,7 раза ( $p < 0,05$ ) только у самцов, получавших соединение 2, и отмечалась тенденция к увеличению этого показателя в 1,4 раза у самок, получавших соединение 1; при этом максимальная продолжительность жизни этих мышей двукратно превышала контрольные значения. Увеличение продолжительности жизни в группе, получавшей соединение 1, составило: у самцов – 23,6%, у самок – 40,0%; в группе, получавшей соединение 2: у самцов – 74,5%, у самок – 7,1%. Положительные значения торможения роста опухолей практически на всех сроках наблюдения отмечались только у самцов, получавших соединение 2. Таким образом, синтезированные соединения оказывают разную противоопухолевую эффективность в отношении меланомы B16/F10 у животных разного пола: высокую эффективность у самцов вызывало соединение 2, среднюю эффективность у самок – соединение 1.

Ключевые слова: ингибитор рецептора эпидермального фактора роста, меланома, мыши, противоопухолевая активность.

## EXPERIMENTAL EVALUATION OF ANTITUMOR EFFICACY OF NOVEL DOMESTIC EPIDERMAL GROWTH FACTOR RECEPTOR BLOCKERS INHIBITORS

Frantsiants E.M.<sup>1</sup>, Kaplieva I.V.<sup>1</sup>, Kodonidi I.P.<sup>2</sup>, Glushko A.A.<sup>2</sup>, Shikhlyarova A.I.<sup>1</sup>,  
Alekseev E.K.<sup>1</sup>, Kachesova P.S.<sup>1</sup>, Trepitaki L.K.<sup>1</sup>, Chiryapkin A.S.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>National Medical Research Centre for Oncology of the Ministry of Health of the Russian Federation, Rostov-on-Don,  
e-mail: kaplirina@yandex.ru;

<sup>2</sup>Pyatigorsk Medical and Pharmaceutical Institute - branch of the Federal State Budgetary Educational Institution of  
Higher Education VolgGMU of the Ministry of Health of the Russian Federation, Pyatigorsk

It is known that cutaneous melanoma is an aggressive malignant tumor that is difficult to treat. The aim of the study was to experimentally evaluate the antitumor efficacy of novel substances—epidermal growth factor receptor inhibitors synthesized based on pyrimidin-4-one. The sodium salts of 6-[(2-benzamidobenzoyl)amido]hexanoic acid (compound 1) and 4-{2-[2-(2-hydroxy-3-methoxyphenyl)vinyl]-6-methyl-4-oxo-5-phenyl-4H-pyrimidin-1-yl}-benzenesulfonamide (compound 2) demonstrate high affinity for the epidermal growth factor receptor *in silico*, which requires confirmation of their antitumor activity *in vivo*. B16/F10 melanoma was subcutaneously transplanted into C57BL/6 mice. The mice were divided into three groups (each containing  $n=18$ : 9 males and 9 females): two main groups receiving the compounds and a control group. Twenty-

four hours after transplantation, intramuscular administration of the compounds was initiated at a single dose of 18.75 mg/kg, while the control group received injection water. The injections were performed once daily for 5 consecutive days, followed by a 2-day break, and continued throughout the animals' lifespan. Tumor growth inhibition, mean lifespan, and lifespan extension were evaluated. The mean lifespan increased 1.7-fold ( $p < 0.05$ ) only in males treated with compound 2, and a trend toward a 1.4-fold increase was observed in females treated with compound 1; moreover, the maximum lifespan of these mice was twice that of the control values. The lifespan extension in the group receiving compound 1 was 23.6% in males and 40.0% in females; in the group receiving compound 2, it was 74.5% in males and 7.1% in females. Positive tumor growth inhibition values at nearly all observation time points were observed only in males treated with compound 2. Thus, the synthesized compounds exhibit different antitumor efficacy against B16/F10 melanoma in animals of different sexes: compound 2 showed high efficacy in males, while compound 1 demonstrated moderate efficacy in females.

Keywords: epidermal growth factor receptor inhibitor, melanoma, C57BL6 mice, antitumor activity.

**Введение.** Меланома чаще всего локализуется в коже, считаясь самой агрессивной её опухолью, также может возникать в глазах, слизистых и даже в мозговых оболочках [1]. Меланома кожи (МК) занимает пятое место среди наиболее распространенных видов рака [2]. Эта неоплазма чрезвычайно злокачественна, агрессивна и ежегодно становится причиной гибели 55 000 человек. С развитием первичной профилактики и изменением образа жизни заболеваемость некоторыми опухолями снизилась, но заболеваемость МК ежегодно увеличивается примерно на 3% и будет увеличиваться в дальнейшем в связи с повышенным воздействием ультрафиолета, особенно у светлокожих людей [3]. Пятилетняя выживаемость пациентов с МК IV стадии составляет всего 4,6%. Легкие являются наиболее распространенным местом метастазирования МК, на их долю приходится до 40%. Медиана выживаемости пациентов с легочными метастазами МК составляет 7–8 месяцев [4].

Самая важная проблема терапии МК заключается в том, что её клетки по своей природе устойчивы к противораковым воздействиям [5]. Иммунотерапия, разработанная для пациентов с МК, характеризуется малой эффективностью, но высокой токсичностью, что ограничивает применение этого метода лечения на поздних стадиях заболевания. Комбинированная терапия с различными препаратами более эффективна, чем химиотерапия одним агентом, но лишь незначительно влияет на общую выживаемость пациентов с МК. Выявление мутаций в гене *BRAF* привело к разработке таргетной терапии МК, что улучшило показатели эффективности по крайней мере на начальной стадии заболевания. Однако через несколько месяцев у пациентов развивалась приобретенная резистентность, что стало серьезной клинической проблемой [6]. Использование ингибиторов MEK (митоген-активируемой протеинкиназы), таких как траметиниб и кобиметиниб, улучшало результаты лечения МК, но не устраняло появление приобретенной резистентности [7]. Причиной устойчивости к анти*BRAF*-терапии, в частности к вемурафенибу, стала активация сигнального пути рецептора эпидермального фактора роста (EGFR) [8].

EGFR относится к семейству рецепторных тирозинкиназ, которые редко мутируют при МК, но экспрессия и активация нескольких членов этого семейства связаны с проинвазивным фенотипом, резистентностью к терапии и, как следствие, – с плохим прогнозом. Подобно

проинвазивной рецепторной тирозинкиназе AXL, EGFR экспрессируется в недифференцированных клетках МК в отрицательной корреляции с фактором меланоцитарной линии MITF [9]. Экспрессия EGFR зависит от влияния ряда белков: главного регулятора окислительного стресса – транскрипционного ядерного фактора эритроидного происхождения 2 (NRF2) [10], члена семейства кинезинов 22 (KIF22) [11] и некоторых других. NRF2 через активацию EGFR стимулирует пролиферацию злокачественных клеток [12; 13], а KIF22 – инвазию МК [11]. Установлено, что при МК повышенная активность EGFR в основном вызвана транскрипционной регуляцией, а не появлением онкогенных мутаций EGFR [7]. Следовательно, выявление новых молекулярных мишеней и разработка терапевтических стратегий, направленных на эти мишени, представляются необходимыми для преодоления развития приобретенной лекарственной устойчивости МК. EGFR, который, по видимому, является важным белком, участвующим в этом процессе, может быть такой мишенью, а включение его ингибиторов в методы лечения МК может быть полезным.

В Пятигорском медико-фармацевтическом институте с помощью компьютерной программы «Биоэврика» смоделировано и в последующем синтезировано несколько соединений, потенциально обладающих способностью блокировать внутренний домен EGFR и тем самым оказывать противоопухолевое действие в отношении МК. В НМИЦ онкологии предоставлено два образца новых блокаторов EGFR – натриевые соли 6-[(2-бензамидобензоил) амидо]гексановой кислоты (NQEAmK-Na) и 4-{2-[2-(2-Гидрокси-3-метоксифенил)-винил]-6-метил-4-оксо-5-фенил-4Н-пиримидин-1-ил}-бензсульфамида (PmSoVn-Na). Все новые соединения, прежде чем будут допущены к использованию в клинической практике, должны пройти экспериментальное изучение *in vivo*. Для этих целей применяются как CDX-модели (cell line-derived xenograft) – рост клеточных линий опухолей человека у мышей Balb/c Nude, так и сингенные опухоли мышей линии C57Bl/6 – эпидермоидная карцинома лёгкого Льюис и меланома B16 [14; 15]. Учитывая нынешний упор на разработку индивидуальных подходов к лечению рака, в том числе потенциал половых различий [16], изучение противоопухолевой эффективности новых соединений целесообразно проводить на животных обоего пола.

**Цель исследования** – экспериментальная оценка противоопухолевой эффективности новых субстанций, по механизму действия – блокаторов внутреннего домена EGFR.

**Материал и методы исследования.** Молекулярное конструирование в ряду пиримидин-4(1H)-она позволило предположить выраженную противоопухолевую активность, направленную на блокаду внутреннего домена EGFR, в сочетании с низкой токсичностью двух соединений NQEAmK-Na и PmSoVn-Na.

1. Схема синтеза PmSoVn-Na. 2-винилзамещенное производное 4-(2,6-диметил-4-оксо-5-фенил-4Н-пиримидин-1-ил)-бензсульфамида было синтезировано по методике стилирования (рис. 1).



Рис. 1. Схема получения 4-{2-[2-(2-Гидрокси-3-метоксифенил)-винил]-6-метил-4-оксо-5-фенил-4Н-пиримидин-1-ил}-бензсульфамида (6MPSoVan)

Источник: составлено авторами.

Для улучшения растворимости в воде его сначала переводили в натриевую соль (рис. 2).

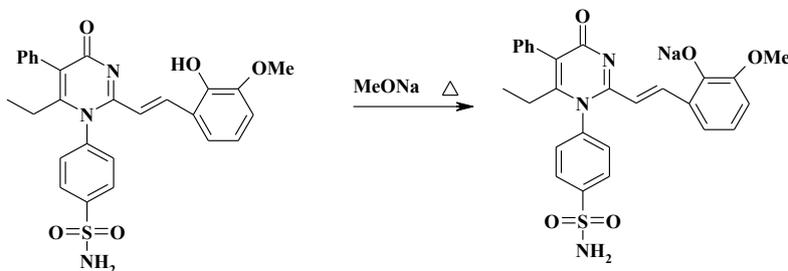


Рис. 2. Схема получения натриевой соли 6MPSoVan (PmSoVn-Na)

Источник: составлено авторами.

А затем для устранения гидроксифенильного радикала – в фенолят. Выход PmSoVn-Na составил 64%. Вещество представляет собой красный кристаллический порошок без запаха. Растворим в воде, этаноле, пропанол-2, нерастворим в диэтиловом эфире.

2. Схема синтеза NQEAmK-Na. Синтез амида N-бензоилантралиновой кислоты осуществлен реакцией амидирования с  $\epsilon$ -аминокапроновой кислотой в ледяной уксусной кислоте без добавления ДМСО (рис. 3).

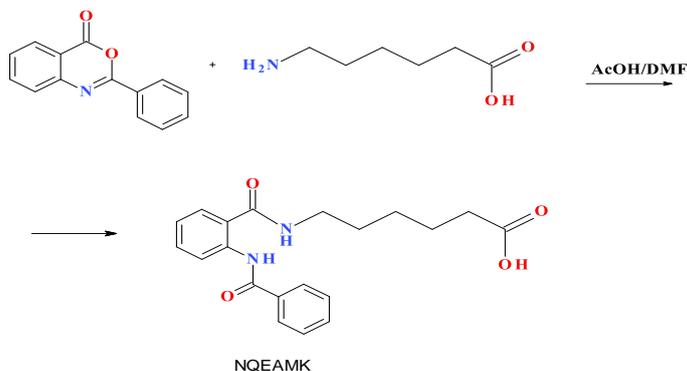


Рис. 3. Схема получения амида о-бензоиламинобензойной кислоты (NQEAmK)

Источник: составлено авторами.

Натриевую соль соединения NQEAmK получали аналогично натриевой соли производного пиримидин-4(1H)-она (6MPSoVan-Na) по карбоксильной группе в реакции с метилатом натрия (рис. 4).

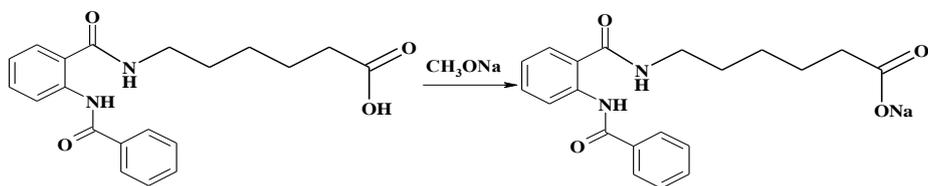


Рис. 4. Схема получения амида *o*-бензоиламинобензойной кислоты (NQEAmK-Na)

Источник: составлено авторами.

Исследование противоопухолевых свойств новых соединений проводили на модели *in vivo* с использованием мышей линии C57BL/6, которые поступили из филиала «Андреевка» ФГБУН «Научный центр биомедицинских технологий ФМБА России» (Московская область). При проведении экспериментов соблюдали Европейскую конвенцию по защите позвоночных животных, используемых для экспериментов (Директива 86/609/ЕЭС) и «Международные рекомендации по проведению медико-биологических исследований с использованием животных».

54 мыши: 27 самцов и 27 самок, равномерно распределили на три группы. Всем животным подкожно в правую подлопаточную область была трансплантирована опухоль – меланома B16/F10 (штамм предоставлен НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина, Москва). Опухолевую взвесь для трансплантации готовили, разбавляя измельчённую ткань опухоли физиологическим раствором в соотношении 1:10. Одному животному вводили 0,5 мл взвеси. Через сутки после трансплантации опухоли начинали курс терапии. Первая основная группа получала новое соединение NQEAmK-Na; вторая основная группа – новое соединение PmSoVn-Na, контрольная группа – воду для инъекций («Гротекс», Россия). Разработанные соединения в основных группах вводили в дозе 18,75 мг/кг внутримышечно в бедренную область ежедневно, предварительно растворив в 0,3 мл воды для инъекций непосредственно перед применением; воду в контрольной группе – в том же объёме и тем же способом, что и в основных группах. Курс лечения состоял из 5 дней введения препаратов с последующим 2-дневным перерывом. Данный цикл повторяли на протяжении всего срока жизни животных.

Для анализа противоопухолевой активности использовали ряд параметров. Среднегрупповую продолжительность жизни (СПЖ) рассчитывали как среднее арифметическое продолжительности жизни всех животных в группе. Увеличение продолжительности жизни (УПЖ) определяли по формуле: УПЖ = [(СПЖ опытной группы -

СПЖ контроля) / СПЖ контроля] × 100. Значимым считали УПЖ ≥ 25%. Средний объём опухолей в группах (V) вычисляли как произведение её трех взаимно перпендикулярных линейных размеров. Торможение роста опухоли (ТРО) рассчитывали по формуле: ТРО = (V контроля - V опыта) / V контроля × 100. Значимым считали ТРО ≥ 20-50% [17, с. 640-654.; 18].

Полученные результаты подвергали статистическому анализу при помощи программы Statistica 12. На первом этапе посредством критерия Шапиро - Уилка оценивали нормальность распределения показателей в ряду. Поскольку в большинстве случаев распределение показателей было нормальным, их сравнивали попарно с использованием критерия Стьюдента. Результаты в таблицах представлены в виде среднего значения ± ошибка среднего (M ± m). Критический уровень значимости p < 0,05.

**Результаты исследования и их обсуждение.** У всех мышей, вошедших в исследование, латентный период выхода опухолей был примерно одинаков, однако минимальная продолжительность жизни мышей из основных групп была больше соответствующих контрольных значений: у самцов – на 12 суток, у самок – на 10 суток (табл. 1).

Таблица 1

Особенности продолжительности жизни мышей (сутки) под влиянием новых соединений

Группы	Продолжительность жизни		
	min	max	средняя
Самцы			
Меланома B16 + вода, n=9	14	34	27,50 ± 0,96
Меланома B16 + NQEAмK-Na, n=9	26	40	34,0 ± 4,16
Меланома B16 + PmS0Vn-Na, n=9	26	60	48,00* ± 6,02
Самки			
Меланома B16 + вода, n=9	15	30	28,33 ± 0,67
Меланома B16 + NQEAмK-Na, n=9	25	60	39,67*т ± 4,91
Меланома B16 + PmS0Vn-Na, n=9	25	40	30,33 ± 4,84

Примечание: \* – показатели отличались от контрольных значений статистически значимо (p < 0,05).

Источник: таблица составлена авторами на основе полученных в ходе исследования данных.

Максимальная продолжительность жизни у самцов, получавших PmS0Vn-Na, была на 26 суток больше, чем в контрольной группе, тогда как у самцов, получавших NQEAмK-Na, – всего на 6 суток больше, чем в контроле, и в результате – в 1,5 раза (на 20 дней) меньше, чем у самцов основной группы 2 (табл. 1). У самок максимальная продолжительность жизни, так же как и у самцов, была больше в основных группах по сравнению с контролем: у самок, получавших NQEAмK-Na – в 2,0 раза (на 30 дней) больше, у самок, получавших PmS0Vn-Na

– на 10 дней больше; в результате максимальная продолжительность жизни у самок из основной группы 2 была на 20 дней меньше, чем у самок из основной группы 1 (табл. 1).

Средняя продолжительность жизни самцов, получавших PmS0Vn-Na, была в 1,7 раза ( $p<0,05$ ) больше, чем у контрольных животных соответствующего пола (табл. 1). У самок, получавших NQEAmK-Na, отмечалась лишь тенденция к увеличению средней продолжительности жизни в 1,4 раза по сравнению с контрольными значениями. Значение показателя УПЖ в основной группе 1 составило: у самцов – 23,6%, у самок – 40,0%; в основной группе 2: у самцов – 74,5%, у самок – 7,1%. Исходя из того, что за значимые принимают значения УПЖ  $\geq 25\%$ , можно заключить, что наиболее эффективно увеличивало продолжительность жизни животных обоего пола соединение NQEAmK-Na, поскольку у самцов этот показатель отличался от критического уровня УПЖ всего на 1,6%, а у самок – превышал его на 15%. Тогда как соединение PmS0Vn-Na увеличивало продолжительность жизни исключительно у самцов, превысив при этом критическую величину УПЖ на 49,5% (табл. 1).

Только у самцов из основной группы 2 с 18 суток от начала экспериментальной терапии отмечалось уменьшение объёма опухолей, который был меньше соответствующего контроля в 2,2 раза, самцов из основной группы 1 в 2,5 раза и самок из основной группы 2 в 2,7 раза (табл. 2).

Таблица 2

Динамика объёмов (мм<sup>3</sup>) подкожных опухолей у мышей с меланомой B16 под влиянием NQEAmK-Na и PmS0Vn-Na в сравнении с контрольной группой,  $M \pm m$

Сутки от перевивки	Меланома B16 + вода, n=18		Меланома B16 + NQEAmK-Na, n=18		Меланома B16 + PmS0Vn-Na, n=18	
	♀, n=9	♂, n=9	♀, n=9	♂, n=9	♀, n=9	♂, n=9
18	6,54 ± 0,15	5,35 ± 1,09	6,98 ± 0,75	6,02 ± 0,94	6,64 ± 0,58	2,42 <sup>1,2,+</sup> ± 0,43
25	17,22 ± 1,33 n=8	16,72 ± 0,86 n=7	10,94 <sup>1</sup> ± 0,55	12,18 <sup>1</sup> ± 0,52	19,73 <sup>2</sup> ± 2,49	7,95 <sup>1,+</sup> ± 0,90
28	30,00 n=1	25,00 n=1	10,47 ± 0,60 n=6	18,42 <sup>+</sup> ± 1,61 n=5	33,06 n=2	14,70 ± 1,73
32	-	32,00 n=1	16,72 ± 1,94 n=5	30,42 <sup>+</sup> ± 2,27 n=5	23,32 n=1	17,68 <sup>2</sup> ± 3,46 n=8
35	-	-	13,00 ± 1,07 n=5	33,49 <sup>+</sup> ± 2,84 n=5	29,17 n=1	13,85 <sup>2</sup> ± 2,65 n=6
41	-	-	18,77 ± 1,72 n=4	-	-	28,31 ± 8,39 n=5
55	-	-	30,00 n=1	-	-	38,74 ± 6,40 n=3

Примечание. Статистическая значимость отличий: 1 – относительно значений мышей соответствующего пола контрольной группы; 2 – между группами веществ, + – самцов от самок в пределах одной группы ( $p<0,05$ ; ♀ – самки, ♂ – самцы).

Источник: таблица составлена авторами на основе полученных в ходе исследования данных.

На 25-е сутки эксперимента разница между объемами опухолей самцов из основной группы 2, соответствующим контролем и самками из этой же группы сохранялась, тогда как значимые отличия по сравнению с самцами из основной группы 1, характерные для 18-х суток, исчезали. Обусловлено это было тем, что у животных из основной группы 1 на этом сроке наблюдения также отмечалось замедление роста опухолей: у самок объем опухолей был меньше контроля в 1,6 раза ( $p < 0,05$ ), у самцов – в 1,4 раза ( $p < 0,05$ ), при этом объемы опухолей у самцов и самок статистически значимо не различались между собой. В результате объем опухолей у самок из основной группы 1 был в 1,8 раза ( $p < 0,05$ ) меньше, чем у самок из основной группы 2. Необходимо отметить, что в этот период начался падеж животных в контрольной группе: у самцов он составил 22%, у самок – 11%, тогда как в основных группах все животные оставались живыми (табл. 2). На 28-е сутки эксперимента падеж животных в контрольной группе достиг 89%. В основной группе 1 в живых оставалось 56% самцов и 67% самок, при этом средний объем опухолей у самцов был в 1,8 раза ( $p < 0,05$ ) больше, чем у самок, а средний объем опухолей животных из основной группы 1 был меньше, чем объем опухолей мышей из контрольной группы: самцов – в 2,9 раза, самок – в 1,5 раза. В основной группе 2 на 28-е сутки наблюдения все самцы были живыми, тогда как 89% самок пало. Объем опухолей у самцов из основной группы 2 по-прежнему не отличался от объема опухолей самцов из основной группы 1 и был в 2,2 раза меньше, чем объем опухолей у оставшихся в живых самок из этой же группы, и в 1,7 раза меньше, чем объем опухоли самца из контрольной группы (табл. 2).

На 32-е сутки наблюдения в живых оставался один самец из контрольной группы, при этом все самки пали, и одна самка из основной группы 2, при этом пал только один самец из этой группы (табл. 2). У самцов из основной группы 1 объем опухолей был больше, чем у самок из этой же группы, в 1,8 раза ( $p < 0,05$ ) и самцов из основной группы 2 в 1,7 раза ( $p < 0,05$ ). На 41-е сутки от начала экспериментальной терапии в живых оставалось только 44,4% самок из основной группы 1 и 55,5% самцов из основной группы 2, объемы опухолей у них не отличались между собой, тем не менее максимальный объем опухолей у самцов двукратно превышал максимальный объем опухолей у самок. На 55-е сутки наблюдения оставались в живых 33,3% самцов из основной группы 2 и 11,1% самок из основной группы 1 (табл. 2).

Поскольку продолжительность жизни мышей из контрольной группы была короче, рассчитать ТРО в основных группах животных можно было для самок до 28 суток, для самцов до 32 суток включительно (табл. 3). Установлено, что ТРО более 50% регистрировался у самцов, получавших PmS0Vn-Na, на 18-е сутки от начала введения препарата с последующим снижением этого показателя на 13,6% к 28 суткам, при этом все животные оставались живы;

у самок из этой группы ТРО не достигал 20% ни на одном из сроков наблюдения, при этом к 28 суткам большая часть самок пала (табл. 3).

Таблица 3

Торможение роста опухолей меланомы B16 под влиянием новых соединений

Группы		Сутки от трансплантации опухолей			
		18	25	28	32
Меланома B16 + NQEAмK-Na	Самки, n = 9	-6,7	36,5	65,1 n = 6	-
	Самцы, n = 9	-12,5	27,2	26,3 n = 5	4,9 n = 5
Меланома B16 + PmS0Vn-Na	Самки, n = 9	-1,5	-14,6	-12 n = 2	-
	Самцы, n = 9	54,8	52,5	41,2	44,8 n = 8

Источник: таблица составлена авторами на основе полученных в ходе исследования данных.

В группе мышей, получавших NQEAмK-Na, ТРО более 50% регистрировался только у самок на 28-е сутки экспериментальной терапии после меньшего увеличения на 25-е сутки; у самцов из этой группы ТРО был несколько больше 20% на 25-е и 28-е сутки наблюдения. По данным ТРО с 18-х по 32-е сутки экспериментальной терапии можно заключить, что, по всей видимости, соединение PmS0Vn-Na одинаково эффективно подавляло рост опухолей у всех самцов, тогда как NQEAмK-Na хорошо подавляло рост опухолей у двух третей самок, поскольку после гибели 3 самок к 28-м суткам показатель ТРО вырос почти в 2,0 раза (табл. 3).

EGFR – это трансмембранный гликопротеин с молекулярной массой 170 кДа, широко представленный как в нормальных, так и в злокачественных клетках, включая клетки немелкоклеточного рака легкого, меланомы, рака желудка, предстательной железы и других видов рака [19]. Структурно EGFR состоит из трех доменов: внеклеточного, связывающего лиганд; трансмембранного, представленного гидрофобным участком; и внутриклеточного, обладающего тирозинкиназной активностью. На основе этих структурных особенностей были разработаны таргетные препараты для лечения онкологических заболеваний – блокаторы EGFR. По механизму действия эти блокаторы подразделяются на две группы: ингибиторы внеклеточного домена и ингибиторы внутриклеточного тирозинкиназного домена EGFR [20]. Примером ингибитора внеклеточного домена является цетуксимаб – рекомбинантное химерное моноклональное антитело, созданное на основе мышиного моноклонального антитела M225 с присоединением фрагмента человеческого IgG1 для снижения иммуногенности. Он обладает высокой специфичностью и конкурирует с естественными лигандами (EGF; TGF-а) за связывание с рецептором. Препараты с таким механизмом

действия входят в схемы лечения метастатического колоректального рака, локализованного плоскоклеточного рака головы и шеи в комбинации с лучевой терапией, немелкоклеточного рака лёгких с экспрессией EGFR, особенно при отсутствии мутаций в гене *KRAS* и других – в тех случаях, когда отмечается высокая экспрессия EGFR в опухолях.

Гефитиниб, иресса, эрлотиниб, осимертиниб – препараты из группы низкомолекулярных ингибиторов тирозинкиназной активности EGFR, блокирующие внутренний домен EGFR. Их преимущество состоит в отсутствии конкуренции с лигандами EGFR за связывание с внеклеточным доменом рецептора. Благодаря своей низкой молекулярной массе блокаторы внутреннего домена EGFR обладают хорошей проникающей способностью. Они нашли своё применение преимущественно в лечении немелкоклеточного рака лёгкого. Однако последние исследования показывают их эффективность и при лечении меланомного рака кожи [21]; меланомы, развивающейся на слизистых [22]. Известные препараты данного класса вводятся исключительно перорально. Некоторые онкологи относят такой путь введения к преимуществам блокаторов тирозинкиназного домена EGFR, тогда как у пациентов со злокачественными опухолями часто встречаются коморбидные заболевания желудочно-кишечного тракта, которые не позволяют в полной мере поступать таргетному препарату в организм в результате ограничения его всасывания. Поэтому разработка блокаторов внутреннего домена EGFR, обладающего способностью проявлять высокую противоопухолевую активность при парентеральном способе его введения, является насущной потребностью.

Ещё одна проблема, возникающая у онкологических пациентов – разная эффективность противоопухолевого лечения, причиной чего могут быть не только особенности опухолевого роста, но и тот факт, что при назначении противоопухолевых препаратов не учитываются индивидуальные особенности пациентов, в частности возраст и пол. Связано это с тем, что доклинические исследования, как правило, начинаются с тестирования на клеточных линиях, а затем продолжаются на самцах грызунов, а в клинических испытаниях задействуют относительно небольшое число тщательно отобранных пациентов, без учёта их индивидуальных характеристик, в том числе и пола [23]. Исключение параметра «пол» может привести к неверной интерпретации, предвзятости и неправильному переносу результатов в клиническую практику. Поэтому всё больше исследователей, по большей части зарубежных, выступают за пересмотр экспериментальных протоколов с учётом генетического пола на всех доклинических этапах, чтобы обеспечить надёжную основу для новых методов лечения рака [24; 25].

В результате совместной работы Пятигорского медико-фармацевтического института и Ростовского НМИЦ онкологии были разработаны и сконструированы два соединения для парентерального введения, по механизму действия – блокаторы внутреннего домена EGFR, по

химическому строению – натриевые соли производных пиримидин-4она. Тактику разработки соединений – потенциальных ингибиторов EGFR на основе производных пиримидина – используют в настоящее время и зарубежные учёные [26], что свидетельствует о её актуальности и перспективности. Эффективность этой тактики была подтверждена и в наших исследованиях [27]. При изучении противоопухолевого действия новых субстанций установлено, что оно имело половую специфичность: PmS0Vn-Na было эффективным исключительно на самцах, тогда как NQEAmK-Na показало лучшую эффективность на самках, чего не встречалось ранее [27].

Возможно, что разная противоопухолевая активность синтезированных соединений у мышей разного пола могла быть обусловлена особенностями их гормональной регуляции, например степенью экспрессии рецепторов эстрогенов (ER)- $\alpha$ 36 [28]. Известно, что опухоли, развивающиеся в мужском и женском организме, имеют разную чувствительность к гормональной стимуляции эстрогенами [29]. Причём, кроме пути EGF, выделяют по крайней мере 5 сигнальных путей, активируемых эстрогенами, которые могут быть задействованы в опухолевом росте при «выключении» пути EGF [30]. Полученные данные требуют дополнительных исследований, направленных на выявление причин разной чувствительности самок и самцов мышей к данным соединениям.

**Заключение.** Таким образом, вновь синтезированные соединения – натриевые соли производных пиримидин-4(1H)-она, оказывают разную противоопухолевую эффективность в отношении меланомы B16 у мышей разного пола. Соединение NQEAmK-Na показало среднюю противоопухолевую эффективность у самок (УПЖ = 40%), тогда как соединение PmS0Vn-Na – выраженную противоопухолевую эффективность у самцов (увеличение средней продолжительности жизни в 1,7 раза ( $p < 0,05$ ), УПЖ = 75%, высокие значения ТРО с 18 суток наблюдения сохранялись в течение 2 недель).

### Список литературы

1. Sun Y., Shen Y., Liu Q., Zhang H., Jia L., Chai Y., Jiang H., Wu M., Li Y. Global trends in melanoma burden: A comprehensive analysis from the Global Burden of Disease Study, 1990-2021 // *J Am Acad Dermatol*. 2025. Vol. 92. Is. 1. P. 100-107. DOI: 10.1016/j.jaad.2024.09.035.
2. Siegel R.L., Miller K.D., Fuchs H.E., Jemal A. Cancer statistics, 2021 *CA // Cancer J. Clin*. 2021. Vol. 71. Is. 1. P. 7-33. DOI: 10.3322/caac.21654.
3. Memon A., Bannister P., Rogers I., Sundin J., Al-Ayadhy B., James P.W., McNally R.J.Q. Changing epidemiology and age-specific incidence of cutaneous malignant melanoma in England:

- An analysis of the national cancer registration data by age, gender and anatomical site, 1981-2018 // *Lancet Reg. Heal. Eur.* 2021. Vol. 2. P. 100024. DOI: 10.1016/j.lanepe.2021.100024.
4. Hu R., Li Y., Guo Y., Li X., Du S., Liao M., Hou H., Sun H., Zhao S., Su J., Chen X., Yin M. BRD4 inhibitor suppresses melanoma metastasis via the SPINK6/EGFR-EphA2 pathway // *Pharmacol Res.* 2023. Vol. 187. P. 106609. DOI: 10.1016/j.phrs.2022.106609.
  5. Kalal B.S., Upadhy D., Pai V.R. Chemotherapy resistance mechanisms in advanced skin cancer // *Oncol. Rev.* 2017. Vol. 11. P. 326. DOI: 10.4081/oncol.2017.326.
  6. Manzano J.L., Layos L., Bugés C., de Los Llanos M., Gil L., Vila E., Martínez-Cardús Martínez-Balibrea A. Resistant mechanisms to BRAF inhibitors in melanoma // *Ann. Transl. Med.* 2016. Vol. 4. P. 237. DOI: 10.21037/atm.2016.06.07.
  7. Pastwińska J., Karaś K., Karwaciak I., Ratajewski M. Targeting EGFR in melanoma - The sea of possibilities to overcome drug resistance // *Biochim Biophys Acta Rev Cancer.* 2022. Vol. 1877. Is. 4. P. 188754. DOI: 10.1016/j.bbcan.2022.188754.
  8. Bai W., Yan C., Yang Y., Sang L., Hao Q., Yao X., Zhang Y., Yu J., Wang Y., Li X., Meng M., Yang J., Shen J., Sun Y., Sun J. EGF/EGFR-YAP1/TEAD2 signaling upregulates STIM1 in vemurafenib resistant melanoma cells // *FEBS J.* 2024. Vol. 291. Is. 22. P. 4969-4983. DOI: 10.1111/febs.17272.
  9. Tsoi J., Robert L., Paraiso K., Galvan C., Sheu K.M., Lay J., Wong D.J.L., Atefi M., Shirazi R., Wang X., Braas D., Grasso C.S., Palaskas N., Ribas A., Graeber T.G. Multi-stage Differentiation Defines Melanoma Subtypes with Differential Vulnerability to Drug-Induced Iron-Dependent Oxidative Stress // *Cancer Cell.* 2018. Vol. 33. Is. 5. P. 890-904.e5. DOI: 10.1016/j.ccell.2018.03.017.
  10. Jessen C., Kress J.K.C., Baluapuri A., Hufnagel A., Schmitz W., Kneitz S., Roth S., Marquardt A., Appenzeller S., Ade C.P., Glutsch V., Wobser M., Friedmann-Angeli J.P., Mosteo L., Goding C.R., Schilling B., Geissinger E., Wolf E., Meierjohann S. The transcription factor NRF2 enhances melanoma malignancy by blocking differentiation and inducing COX2 expression // *Oncogene.* 2020. Vol. 39. Is. 44. P. 6841-6855. DOI: 10.1038/s41388-020-01477-8.
  11. Zhong Z., Zhong H. KIF22 promotes the proliferation and glycolysis of melanoma by activating EGFR/STAT3 signaling // *Clinics (Sao Paulo).* 2023. Vol. 78. 100307. DOI: 10.1016/j.clinsp.2023.100307.
  12. He F., Antonucci L., Karin M. NRF2 as a regulator of cell metabolism and inflammation in cancer // *Carcinogenesis.* 2020. Vol. 41. Is. 4. P. 405-416. DOI: 10.1093/carcin/bgaa039.
  13. Friedmann Angeli J.P., Meierjohann S. NRF2-dependent stress defense in tumor antioxidant control and immune evasion // *Pigment Cell Melanoma Res.* 2021. Vol. 34. Is. 2. P. 268-279. DOI:10.1111/pcmr.12946.

14. Комарова Е.Ф., Лукбанова Е.А., Дженкова Е.А., Гончарова А.С., Заикина Е.В., Гурова С.В., Галина А.В., Курбанова Л.К., Миндарь М.В., Ходакова Д.В., Гусарева М.С., Зинькович М.С. Иммуногистохимическая оценка возможных механизмов противоопухолевого действия 2-(6,8-диметил-5-нитро-4-хлорхинолин-2-ил)-5,6,7-трихлор-1,3-трополона на PDX-моделях рака легкого // Южно-Российский онкологический журнал. 2023. Т.4. № 1. С. 6-13. DOI:10.37748/2686-9039-2023-4-1-1.
15. Комарова Е.Ф., Морковник А.С., Жуковская О.Н., Вереникина Е.В., Шевченко Н.А., Ходакова Д.В., Курбанова Л.З., Миндарь М.В., Заикина Е.В., Галина А.В. Производное бензимидазола как эффективное противоопухолевое средство в лечении сингенных опухолей легкого и меланомы // Южно-Российский онкологический журнал. 2022. Т. 3. № 1. С. 15-21. DOI:10.37748/2686-9039-2022-3-1-2.
16. Rubin, J. B., Lagas, J. S., Broestl, L., Sponagel, J., Rockwell, N., Rhee, G., Rosen, S. F., Chen, S., Klein, R. S., Imoukhuede, P., & Luo, J. Sex differences in cancer mechanisms // *Biology of sex differences*. 2020. Vol. 11. Is.1. P. 17. DOI: 10.1186/s13293-020-00291-x.
17. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств, часть первая. Издание ФГБУ «НЦЭМПС» Минздравсоцразвития России, 2012. 944 с. URL: [https://bioethics.msu.ru/knowledge/standarts/MironovA.N.\\_doklinika\\_1.pdf](https://bioethics.msu.ru/knowledge/standarts/MironovA.N._doklinika_1.pdf) (дата обращения: 15.08.2025).
18. Трещалина Е.М. Современные медицинские технологии для экспериментальной терапии рака. Из-во Практическая медицина, 2024. 192 с. ISBN: 978-5–98811-775-9.
19. Sabbah M., Najem A., Krayem M., Awada A., Journe F., Ghanem G.E. RTK Inhibitors in Melanoma: From Bench to Bedside // *Cancers (Basel)*. 2021. Vol. 13. Is. 7. 1685. DOI: 10.3390/cancers13071685.
20. Normanno N, Maiello MR, Mancino M, De Luca A. Small molecule epidermal growth factor receptor tyrosine kinase inhibitors: an overview // *J Chemother*. 2004. Vol. 16. Suppl. 4. P. 36-40. DOI: 10.1179/joc.2004.16.Supplement-1.36.
21. Gholizadeh N., Rokni G.R., Zaresharifi S., Gheisari M., Tabari M.A.K., Zoghi G. Revolutionizing non-melanoma skin cancer treatment: Receptor tyrosine kinase inhibitors take the stage // *J Cosmet Dermatol*. 2024. Vol. 23. Is. 9. P. 2793-2806. DOI: 10.1111/jocd.16355.
22. Simiczyjew A., Wądryńska J., Kot M., Ziętek M., Matkowski R., Hoang M.P., Donizy P., Nowak D. Combinations of EGFR and MET inhibitors reduce proliferation and invasiveness of mucosal melanoma cells // *J Cell Mol Med*. 2023. Vol. 27. Is. 19. P. 2995-3008. DOI: 10.1111/jcmm.17935.

23. Combarel D., Dousset L., Bouchet S., Ferrer F., Tetu P., Lebbe C., Ciccolini J., Meyer N., Paci A. Tyrosine kinase inhibitors in cancers: Treatment optimization. Part I // *Crit Rev Oncol Hematol*. 2024. Vol. 199. 104384. DOI: 10.1016/j.critrevonc.2024.104384.
24. Chmielewski NN, Limoli CL. Sex Differences in Taxane Toxicities // *Cancers (Basel)*. 2022. Vol. 14. Is. 14. P. 3325. DOI: 10.3390/cancers14143325.
25. Haupt S, Caramia F, Klein SL, Rubin JB, Haupt Y. Sex disparities matter in cancer development and therapy // *Nat Rev Cancer*. 2021. Vol. 21. Is. 6. P. 393-407. DOI: 10.1038/s41568-021-00348-y.
26. Farag A.K., Ahn B.S., Yoo J.S., Karam R., Roh E.J. Design, synthesis, and biological evaluation of pseudo-bicyclic pyrimidine-based compounds as potential EGFR inhibitors // *Bioorg Chem*. 2022. Is. 126. 105918. DOI: 10.1016/j.bioorg.2022.105918.
27. Кит О.И., Кодониди И.П., Франциянц Е.М., Каплиева И.В., Глушко А.А., Трепитаки Л.К., Качесова П.С., Шейко Е.А., Шихлярова А.И., Алексеев Э.К. Предварительная оценка противоопухолевой эффективности нового блокатора рецептора эпидермального фактора роста // *Современные проблемы науки и образования*. 2025. № 1. DOI: 10.17513/spno.33891 URL: <https://science-education.ru/ru/article/view?id=33891> (дата обращения: 03.08.2025).
28. Gu Y., Chen T., López E., Wu W., Wang X., Cao J., Teng L. The therapeutic target of estrogen receptor- $\alpha$ 36 in estrogen-dependent tumors // *J Transl Med*. 2014. Is. 12. P. 16. DOI: 10.1186/1479-5876-12-16.
29. Давыдов М.И., Богуш Т.А., Полоцкий Б.Е., Тюляндин С.А. Эстрогеновые рецепторы  $\beta$  – новая мишень в терапии немелкоклеточного рака легкого // *Вестник РАМН*. 2012. № 2. С. 16-22.
30. Girgert R., Emons G., Gründker C. Nongenomic Estrogen Signaling in ER $\alpha$ -Negative Breast Cancer: ER $\beta$  and GPER. *CancerFront. Endocrinol*. 2019. Vol. 9. P. 781. DOI: 10.3389/fendo.2018.00781.