(19) Евразийское патентное ведомство

(21) 202092467 (13) A1

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОЙ ЗАЯВКЕ

(43) Дата публикации заявки
2021.02.12

(22) Дата подачи заявки
2019.04.12

(51) Int. Cl. ***C07D 487/04*** (2006.01)
A61K 8/49 (2006.01)
A61Q 19/02 (2006.01)
C07D 209/12 (2006.01)
A61P 17/00 (2006.01)
A61K 31/404 (2006.01)

(54) ФОТОЗАЩИТНЫЕ КОМПОЗИЦИИ, СОДЕРЖАЩИЕ ПОЛУЧЕННЫЕ ИЗ MALASSEZIA СОЕДИНЕНИЯ И/ИЛИ ИХ ХИМИЧЕСКИЕ АНАЛОГИ

(31) **62/656,769; 62/668,007; 62/685,800; 62/686,912; 62/722,412; 62/742,657**
(32) **2018.04.12; 2018.05.07; 2018.06.15; 2018.06.19; 2018.08.24; 2018.10.08**
(33) **US**
(86) **PCT/US2019/027181**
(87) **WO 2019/200232 2019.10.17**

(71)(72) Заявитель и изобретатель:
АЙНЦИГЕР МАЙКЛ; СИМПСОН ЭНН МАРИ (US)

(74) Представитель:
Медведев В.Н. (RU)

(57) Настоящее изобретение относится к соединениям, композициям и способам для модулирования пигментации кожи и лечения или предупреждения у субъекта УФ-индуцированного повреждения кожи, эритемы, старения кожи, солнечного ожога и гиперпигментации. Соединения, композиции и способы согласно настоящему изобретению, как правило, содержат соединения, полученные из Malassezia, включая малассезин и индирубин и/или их химические аналоги. Другие применения соединений и композиций, раскрытых в настоящем документе, включают в себя без ограничения уменьшение гиперпигментации, вызванное гиперпигментационным нарушением, индукцию апоптоза меланоцитов и модулирование активности рецептора ароматических углеводородов (AhR), меланогенеза, продукции меланина, биогенеза меланосом, переноса меланосом, активности меланоцитов и концентрации меланина.

202092467 A1

202092467 A1

ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ

2420-565439EA/085

ФОТОЗАЩИТНЫЕ КОМПОЗЦИИ, СОДЕРЖАЩИЕ ПОЛУЧЕННЫЕ ИЗ *MALASSEZIA* СОЕДИНЕНИЯ И/ИЛИ ИХ ХИМИЧЕСКИЕ АНАЛОГИ

ПЕРЕКРЕСТНАЯ ССЫЛКА НА РОДСТВЕННЫЕ ЗАЯВКИ

[0001] По настоящей заявке испрашивается приоритет по предварительной заявке на патент США № 62/656,769, поданной 12 апреля 2018 года, предварительной заявке на патент США № 62/668,007, поданной 7 мая 2018 года, предварительной заявке на патент США № 62/685,800, поданной 15 июня 2018 года, предварительной заявке на патент США № 62/686,912, поданной 19 июня 2018 года, предварительной заявке на патент США № 62/722,412, поданной 24 августа 2018 года, и предварительной заявке на патент США № 62/742,657, поданной 8 октября 2018 года. Полное содержание упомянутых выше заявок включено в настоящий документ посредством ссылки.

ОБЛАСТЬ ТЕХНИКИ, К КОТОРОЙ ОТНОСИТСЯ ИЗОБРЕТЕНИЕ

[0002] Настоящее изобретение относится к соединениям, продуцируемым дрожжами *Malassezia* или полученным из них, а также к их химическим аналогам. Наряду с другими полезными свойствами, соединения согласно настоящему изобретению и композиции, содержащие упомянутые соединения, характеризуются фотозащитными свойствами. Также предусмотрены способы использования соединений и композиций согласно настоящему изобретению.

ПРЕДПОСЫЛКИ СОЗДАНИЯ ИЗОБРЕТЕНИЯ

[0003] Люди во всем мире используют осветляющие кожу агенты для достижения целого ряда косметических целей, включая оказание антивозрастного эффекта, коррекцию повреждений, вызванных солнечными лучами, и соответствие определенным культурным стандартам красоты. Многие коммерчески доступные осветляющие кожу продукты, будучи в разной степени эффективными, содержат вредные ингредиенты, некоторые из которых связаны с риском развития злокачественной опухоли. Поэтому, существует потребность в новых осветляющих кожу агентах и составах, которые демонстрируют более высокие уровни безопасности и/или эффективности, чем агенты, присутствующие на рынке в настоящее время.

[0004] *Malassezia* представляют собой род липофильных дрожжей, обычно обнаруживаемых в нормальной флоре кожи человека. *Malassezia* является причиной целого ряда заболеваний кожи, включая разноцветный лишай (отрубевидный лишай), себорейный дерматит и атопический дерматит.

[0005] Естественной средой обитания *M. furfur* является верхняя часть эпидермиса. Однако, воздействие ультрафиолетовым светом разрушает микроорганизм в естественной среде обитания. Поэтому, для выживания микроорганизма могут быть необходимы УФ-фильтрующие агенты. Были идентифицированы два таких УФ-фильтрующих индолов, продуцируемых микроорганизмом: питириацитрин и питириалактон. Питириацитрин, впервые описанный в документе Mayser *et al.*, 2002, синтезируется *M. furfur*. Он

представляет собой стабильное желтое липофильное соединение, обладающее широким спектром поглощения в УФ-А, УФ-В и УФ-С областях. Сходное соединение, полученное из рода *Paracoccus*, было выделено и запатентовано в качестве УФ-защитного агента (Zhang *et al.*, 2018).

[0006] В документе Gambichler *et al.*, 2007 был исследован УФ-защитный эффект питириацитрина у людей с использованием методов тестирования *in vitro* и *in vivo*. Спектрофотометрию крема, содержащего питириацитрин, и несущей среды проводили в диапазоне длин волн 290-400 нм. Для кремов с разным составом оценивали УФ-пропускание и солнцезащитный фактор («SPF»). С использованием колориметрии авторы количественно оценивали эритему и пигментацию после облучения защищенной кремом или незащищенной кожи у здоровых субъектов. Значения пропускания для УФ-В, а также УФ-А, снижались с увеличением концентраций питириацитрина. Повышение концентрации питириацитрина, равной 1,25, 2,5 и 5%, связывали с незначительным повышением значений SPF, равных 1,4, 1,5 и 1,7, соответственно. В тестах *in vivo* была подтверждена корректность определенного *in vitro* значения SPF для крема, содержащего 5% питириацитрина. Таким образом, УФ-защитный эффект питириацитрина был очень слаб, наводя на мысль, что в случае белого отрубевидного лишая питириацитрин, по-видимому, является лишь кофактором развития гипопигментации при повреждениях после солнечного воздействия.

[0007] Дополнительные исследования УФ-фильтрующих эффектов питириацитрина проводились на микрофлоре кожи человека (Machowinski *et al.*, 2006). Авторы обнаружили, что питириацитрин обладает УФ-защитным эффектом в отношении *Candida albicans* и стафилококков без проявления токсичности в протестированном диапазоне. УФ-защитные свойства питириалактона также были подтверждены в модели на дрожжах (Mayser *et al.*, 2003). По всей видимости, питириалактон ответственен за желтую флуоресценцию разноцветного лишая при обследовании с лампой Вуда.

[0008] Разноцветный лишай представляет собой неконтагиозное заболевание кожи, вызванное разрастанием *Malassezia*, которое локально изменяет уровни пигментации. Дрожжи имеют два метаболических пути синтеза меланина и индольных пигментов, полученных из триптофана. Индольные пигменты включают в себя малассезин и индирубин представляют собой триптофановые метаболиты *Malassezia*, которые могут вносить вклад в депигментацию, характерную для разрастания *Malassezia*.

[0009] В изобретении, раскрытом в настоящем документе, соединения, продуцируемые дрожжами *Malassezia* или полученные из них, включая малассезин, индирубин и их химические аналоги, используются в качестве основы композиций для безопасного и эффективного осветления кожи и потемнения кожи. Фотозащитные композиции, содержащие малассезин, индирубин и их химические аналоги, также раскрыты в настоящем документе.

КРАТКОЕ ОПИСАНИЕ СУЩНОСТИ ИЗОБРЕТЕНИЯ

[0010] Один вариант осуществления согласно настоящему изобретению

представляет собой соединение для осветления кожи. Соединение представляет собой химический аналог соединения, продуцируемого дрожжами *Malassezia*, или его кристаллическую форму, гидрат или косметически или фармацевтически приемлемую соль.

[0011] Другой вариант осуществления согласно настоящему изобретению представляет собой соединение для индукции апоптоза меланоцитов. Соединение представляет собой химический аналог соединения, продуцируемого дрожжами *Malassezia*, или его кристаллическую форму, гидрат или косметически или фармацевтически приемлемую соль.

[0012] Дополнительный вариант осуществления согласно настоящему изобретению представляет собой соединение для модулирования активности меланоцитов. Соединение представляет собой химический аналог соединения, продуцируемого дрожжами *Malassezia*, или его кристаллическую форму, гидрат или косметически или фармацевтически приемлемую соль.

[0013] Дополнительный вариант осуществления согласно настоящему изобретению представляет собой соединение для агонистического воздействия на рецептор ароматических углеводородов (AhR). Соединение представляет собой химический аналог соединения, продуцируемого дрожжами *Malassezia*, или его кристаллическую форму, гидрат или косметически или фармацевтически приемлемую соль.

[0014] Другой вариант осуществления согласно настоящему изобретению представляет собой соединение для уменьшения гиперпигментации, вызванной гиперпигментационным нарушением. Соединение представляет собой химический аналог соединения, продуцируемого дрожжами *Malassezia*, или его кристаллическую форму, гидрат или косметически или фармацевтически приемлемую соль.

[0015] Дополнительный вариант осуществления согласно настоящему изобретению представляет собой соединение для модулирования продукции меланина. Соединение представляет собой химический аналог соединения, продуцируемого дрожжами *Malassezia*, или его кристаллическую форму, гидрат или косметически или фармацевтически приемлемую соль.

[0016] Дополнительный вариант осуществления согласно настоящему изобретению представляет собой соединение для модулирования биогенеза меланосом. Соединение представляет собой химический аналог соединения, продуцируемого дрожжами *Malassezia*, или его кристаллическую форму, гидрат или косметически или фармацевтически приемлемую соль.

[0017] Другой вариант осуществления согласно настоящему изобретению представляет собой соединение для модулирования переноса меланосом. Соединение представляет собой химический аналог соединения, продуцируемого дрожжами *Malassezia*, или его кристаллическую форму, гидрат или косметически или фармацевтически приемлемую соль.

[0018] Дополнительный вариант осуществления согласно настоящему изобретению

представляет собой композицию. Композиция содержит дрожжи *Malassezia* и косметически или фармацевтически приемлемую несущую среду, разбавитель или носитель.

Дополнительный вариант осуществления согласно настоящему изобретению представляет собой композицию. Композиция содержит соединение, выделенное или возможное к выделению из дрожжей *Malassezia*, и косметически или фармацевтически приемлемую несущую среду, разбавитель или носитель.

[0019] Другой вариант осуществления согласно настоящему изобретению представляет собой композицию. Композиция содержит любое из раскрытых в настоящем документе соединений, включая аналоги, и косметически или фармацевтически приемлемую несущую среду, разбавитель или носитель.

[0020] Дополнительный вариант осуществления согласно настоящему изобретению представляет собой способ осветления кожи у субъекта. Способ включает в себя приведение субъекта в контакт с любым из соединений или композиций, описанных в настоящем документе.

[0021] Дополнительный вариант осуществления согласно настоящему изобретению представляет собой способ индукции апоптоза меланоцитов у субъекта. Способ включает в себя приведение субъекта в контакт с любым из соединений или композиций, описанных в настоящем документе.

[0022] Другой вариант осуществления согласно настоящему изобретению представляет собой способ модулирования активности меланоцитов у субъекта. Способ включает в себя приведение субъекта в контакт с любым из соединений или композиций, описанных в настоящем документе.

[0023] Дополнительный вариант осуществления согласно настоящему изобретению представляет собой способ агонистического воздействия на рецептор ароматических углеводородов (AhR) у субъекта. Способ включает в себя приведение субъекта в контакт с любым из соединений или композиций, описанных в настоящем документе.

[0024] Дополнительный вариант осуществления согласно настоящему изобретению представляет собой способ уменьшения гиперпигментации, вызванной гиперпигментационным нарушением, у нуждающегося в этом субъекта. Способ включает в себя приведение субъекта в контакт с любым из соединений или композиций, описанных в настоящем документе.

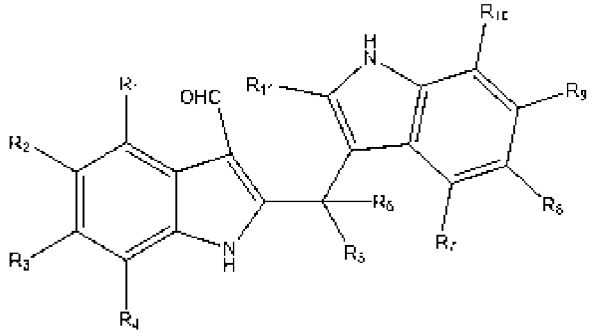
[0025] Другой вариант осуществления согласно настоящему изобретению представляет собой способ модулирования продукции меланина у субъекта. Способ включает в себя приведение субъекта в контакт с любым из соединений или композиций, описанных в настоящем документе.

[0026] Дополнительный вариант осуществления согласно настоящему изобретению представляет собой способ модулирования биогенеза меланосом у субъекта. Способ включает в себя приведение субъекта в контакт с любым из соединений или композиций, описанных в настоящем документе.

[0027] Дополнительный вариант осуществления согласно настоящему изобретению

представляет собой способ модулирования переноса меланосом у субъекта. Способ включает в себя приведение субъекта в контакт с любым из соединений или композиций, описанных в настоящем документе.

[0028] Другой вариант осуществления согласно настоящему изобретению представляет собой соединение. Соединение характеризуется структурой формулы (II):

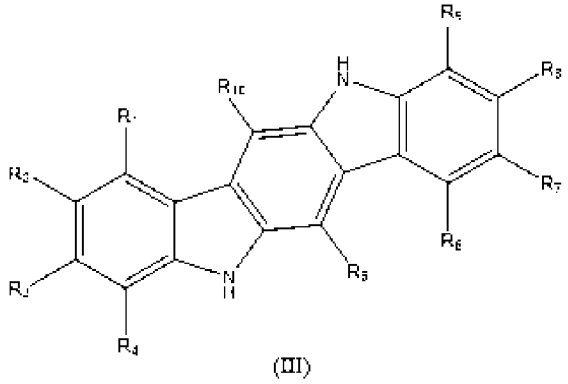


(II)

где:

R_1, R_2, R_3, R_4, R_5, R_6, R_7, R_8, R_9, R_{10} и R_{11} независимо выбраны из группы, состоящей из водорода и метила, и по меньшей мере один из R_1, R_2, R_3, R_4, R_5, R_6, R_7, R_8, R_9, R_{10} и R_{11} представляет собой метил; или его кристаллической формой, гидратом или косметически или фармацевтически приемлемой солью.

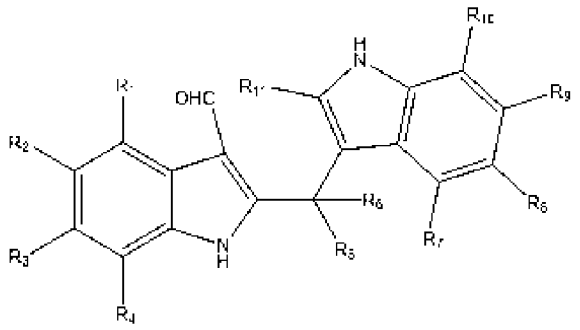
[0029] Дополнительный вариант осуществления согласно настоящему изобретению представляет собой соединение. Соединение характеризуется структурой формулы (III):



(III)

где: R_1, R_2, R_3, R_4, R_5, R_6, R_7, R_8, R_9 и R_{10} независимо выбраны из группы, состоящей из водорода и метила, и по меньшей мере один из R_1, R_2, R_3, R_4, R_5, R_6, R_7, R_8, R_9 и R_{10} представляет собой метил; или его кристаллической формой, гидратом или косметически или фармацевтически приемлемой солью.

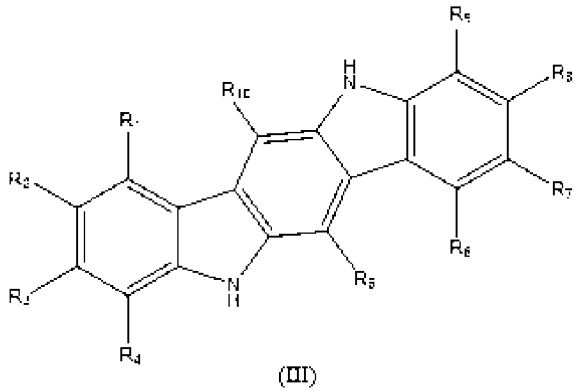
[0030] Дополнительный вариант осуществления согласно настоящему изобретению представляет собой соединение для осветления кожи. Соединение характеризуется структурой формулы (II):



(II)

где: R_1, R_2, R_3, R_4, R_5, R_6, R_7, R_8, R_9, R_{10} и R_{11} независимо выбраны из группы, состоящей из водорода и метила; или его кристаллической формой, гидратом или косметически или фармацевтически приемлемой солью.

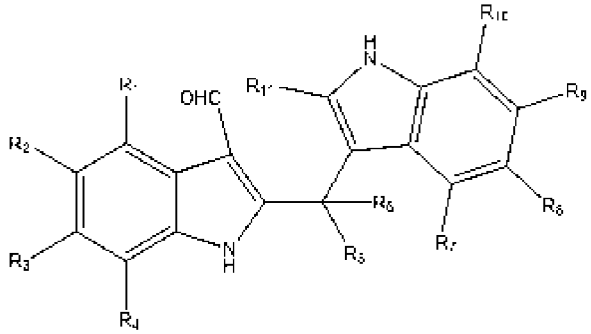
[0031] Другой вариант осуществления согласно настоящему изобретению представляет собой соединение для осветления кожи. Соединение характеризуется структурой формулы (III):



(III)

где: R_1, R_2, R_3, R_4, R_5, R_6, R_7, R_8, R_9 и R_{10} независимо выбраны из группы, состоящей из водорода и метила; или его кристаллической формой, гидратом или косметически или фармацевтически приемлемой солью.

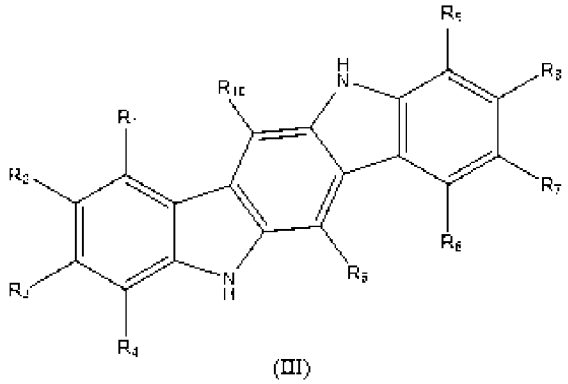
[0032] Дополнительный вариант осуществления согласно настоящему изобретению представляет собой соединение для индукции апоптоза меланоцитов. Соединение характеризуется структурой формулы (II):



(II)

где: R_1, R_2, R_3, R_4, R_5, R_6, R_7, R_8, R_9, R_{10} и R_{11} независимо выбраны из группы, состоящей из водорода и метила; или его кристаллической формой, гидратом или косметически или фармацевтически приемлемой солью.

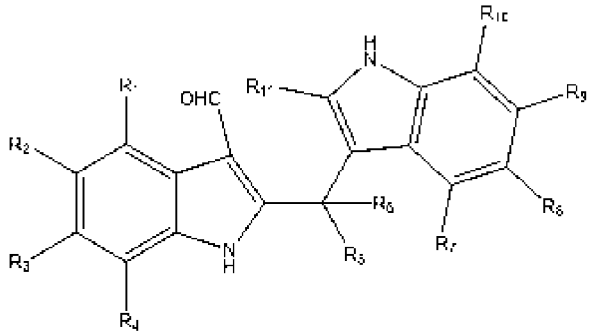
[0033] Дополнительный вариант осуществления согласно настоящему изобретению представляет собой соединение для индукции апоптоза меланоцитов. Соединение характеризуется структурой формулы (III):



(III)

где: R_1, R_2, R_3, R_4, R_5, R_6, R_7, R_8, R_9 и R_{10} независимо выбраны из группы, состоящей из водорода и метила; или его кристаллической формой, гидратом или косметически или фармацевтически приемлемой солью.

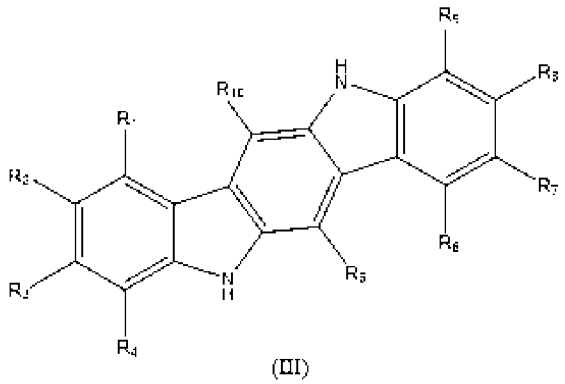
[0034] Другой вариант осуществления согласно настоящему изобретению представляет собой соединение для агонистического воздействия на рецептор ароматических углеводородов (AhR). Соединение характеризуется структурой формулы (II):



(II)

где: R_1, R_2, R_3, R_4, R_5, R_6, R_7, R_8, R_9, R_{10} и R_{11} независимо выбраны из группы, состоящей из водорода и метила; или его кристаллической формой, гидратом или косметически или фармацевтически приемлемой солью.

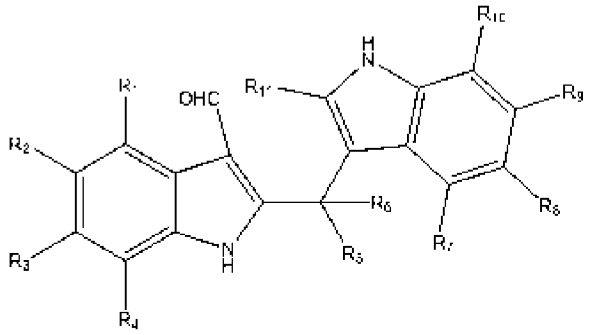
[0035] Дополнительный вариант осуществления согласно настоящему изобретению представляет собой соединение для агонистического воздействия на рецептор ароматических углеводородов (AhR). Соединение характеризуется структурой формулы (III):



(III)

где: R_1, R_2, R_3, R_4, R_5, R_6, R_7, R_8, R_9 и R_{10} независимо выбраны из группы, состоящей из водорода и метила; или его кристаллической формой, гидратом или косметически или фармацевтически приемлемой солью.

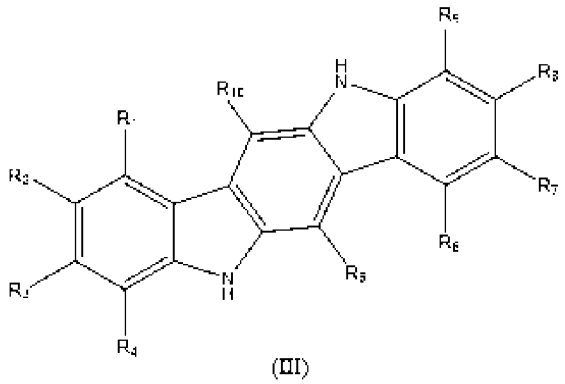
[0036] Дополнительный вариант осуществления согласно настоящему изобретению представляет собой композицию. Композиция содержит соединение, характеризующееся структурой формулы (II):



(II)

где: R_1, R_2, R_3, R_4, R_5, R_6, R_7, R_8, R_9, R_{10} и R_{11} независимо выбраны из группы, состоящей из водорода и метила; или его кристаллическую форму, гидрат или косметически или фармацевтически приемлемую соль, и косметически или фармацевтически приемлемую несущую среду, разбавитель или носитель.

[0037] Другой вариант осуществления согласно настоящему изобретению представляет собой композицию. Композиция содержит соединение, характеризующееся структурой формулы (III):

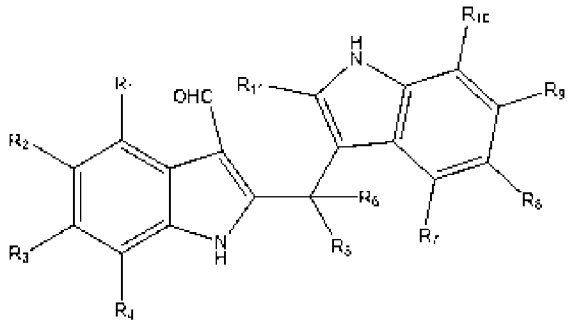


(III)

где: R_1, R_2, R_3, R_4, R_5, R_6, R_7, R_8, R_9 и R_{10} независимо выбраны из группы, состоящей из водорода и метила; или его кристаллическую форму, гидрат или косметически или

фармацевтически приемлемую соль, и косметически или фармацевтически приемлемую несущую среду, разбавитель или носитель.

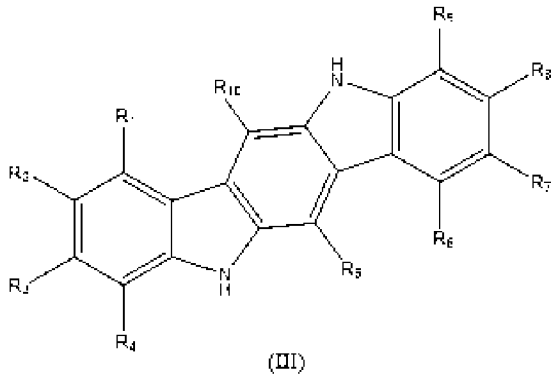
[0038] Дополнительный вариант осуществления согласно настоящему изобретению представляет собой способ осветления кожи у субъекта. Способ включает в себя приведение субъекта в контакт с соединением, характеризующимся структурой формулы (II):



(II)

где: R_1, R_2, R_3, R_4, R_5, R_6, R_7, R_8, R_9, R_{10} и R_{11} независимо выбраны из группы, состоящей из водорода и метила; или его кристаллической формой, гидратом или косметически или фармацевтически приемлемой солью.

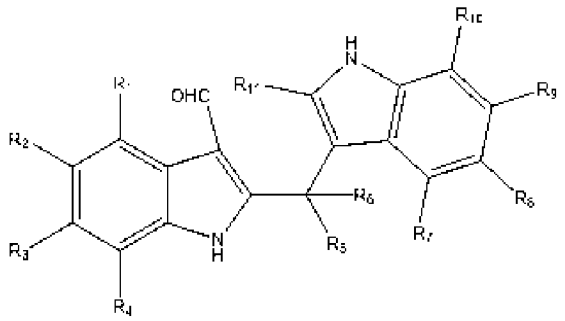
[0039] Дополнительный вариант осуществления согласно настоящему изобретению представляет собой способ осветления кожи у субъекта. Способ включает в себя приведение субъекта в контакт с соединением, характеризующимся структурой формулы (III):



(III)

где: R_1, R_2, R_3, R_4, R_5, R_6, R_7, R_8, R_9 и R_{10} независимо выбраны из группы, состоящей из водорода и метила; или его кристаллической формой, гидратом или косметически или фармацевтически приемлемой солью.

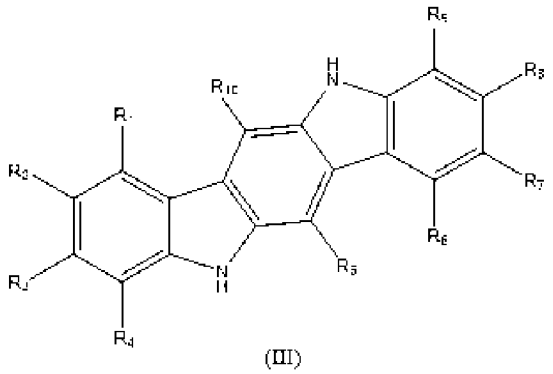
[0040] Другой вариант осуществления согласно настоящему изобретению представляет собой способ индукции апоптоза меланоцитов у субъекта. Способ включает в себя приведение субъекта в контакт с соединением, характеризующимся структурой формулы (II):



(II)

где: R_1, R_2, R_3, R_4, R_5, R_6, R_7, R_8, R_9, R_{10} и R_{11} независимо выбраны из группы, состоящей из водорода и метила; или его кристаллической формой, гидратом или косметически или фармацевтически приемлемой солью.

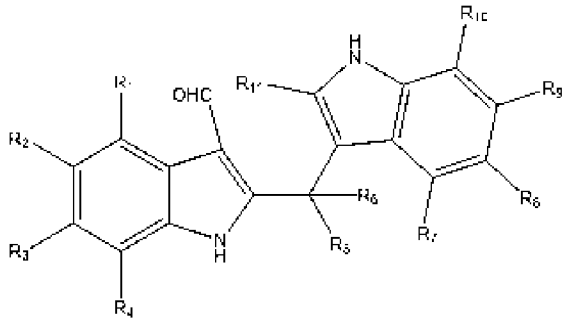
[0041] Дополнительный вариант осуществления согласно настоящему изобретению представляет собой способ индукции апоптоза меланоцитов у субъекта. Способ включает в себя приведение субъекта в контакт с соединением, характеризующимся структурой формулы (III):



(III)

где: R_1, R_2, R_3, R_4, R_5, R_6, R_7, R_8, R_9 и R_{10} независимо выбраны из группы, состоящей из водорода и метила; или его кристаллической формой, гидратом или косметически или фармацевтически приемлемой солью.

[0042] Другой вариант осуществления согласно настоящему изобретению представляет собой способ агонистического воздействия на рецептор ароматических углеводородов (AhR) у субъекта. Способ включает в себя приведение субъекта в контакт с соединением, характеризующимся структурой формулы (II):

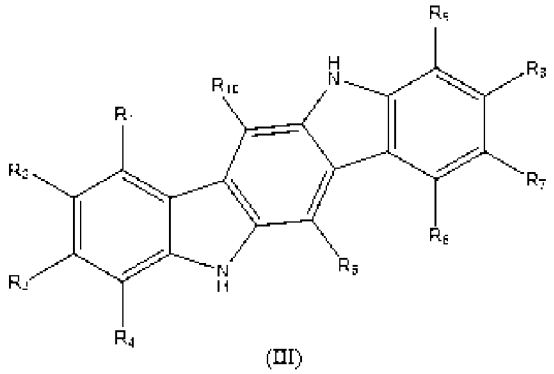


(II)

где: R_1, R_2, R_3, R_4, R_5, R_6, R_7, R_8, R_9, R_{10} и R_{11} независимо выбраны из группы, состоящей из водорода и метила; или его кристаллической формой, гидратом или

косметически или фармацевтически приемлемой солью.

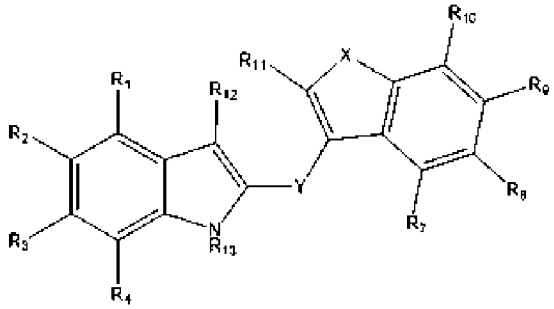
[0043] Дополнительный вариант осуществления согласно настоящему изобретению представляет собой способ агонистического воздействия на рецептор ароматических углеводородов (AhR) у субъекта. Способ включает в себя приведение субъекта в контакт с соединением, характеризующимся структурой формулы (III):



(III)

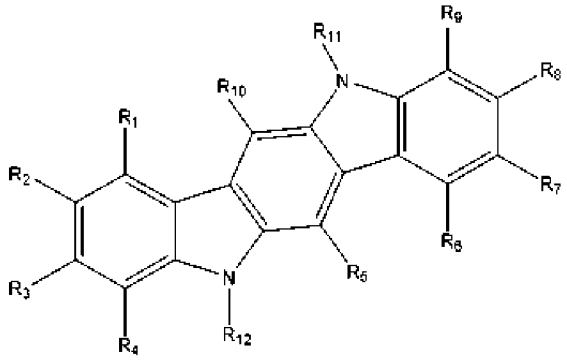
где: R_1, R_2, R_3, R_4, R_5, R_6, R_7, R_8, R_9 и R_{10} независимо выбраны из группы, состоящей из водорода и метила; или его кристаллической формой, гидратом или косметически или фармацевтически приемлемой солью.

[0044] Один вариант осуществления согласно настоящему изобретению представляет собой соединение. Соединение характеризуется структурой следующей формулы:



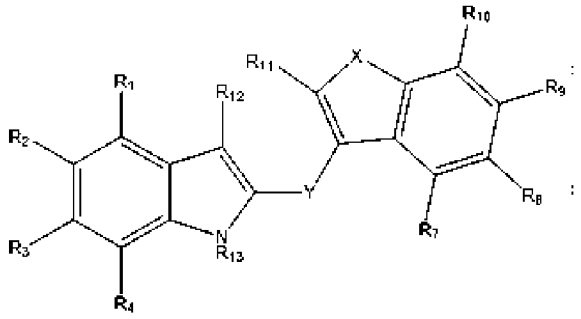
где: X выбран из группы, состоящей из NR_{14} и O; Y представляет собой ковалентную связь, CR_5R_6, O или NR_{15}; R_1, R_2, R_3, R_4, R_7, R_8, R_9, R_{10} и R_{11} независимо выбраны из группы, состоящей из водорода, галогена, CN, гидроксила, R_{16} или OR_{16}; R_{13}, R_{14} и R_{15} независимо представляют собой водород или R_{16}; R_5 и R_6 независимо выбраны из группы, состоящей из водорода, гидроксила, OR_{16}, R_{16} и $C_{3\text{-}6}$циклоакила, или R_5 и R_6 объединены с формированием оксо (=O) группы или $C_{3\text{-}6}$циклоакила; R_{12} выбран из группы, состоящей из водорода, $-COR^a$ и R_{16}; каждый R_{16} независимо представляет собой формил, $C_{1\text{-}9}$алкил, $C_{2\text{-}9}$алкенил или $C_{2\text{-}9}$алкинил; и R^a выбран из группы, состоящей из водорода, гидроксила и OR_{16}; где: если R^a представляет собой водород, Y представляет собой CR_5R_6, и R_{13} и R_{14} оба представляют собой водород, то по меньшей мере один из R_1, R_2, R_3, R_4, R_5, R_6, R_7, R_8, R_9, R_{10} и R_{11} представляет собой R_{16}; или R_5 выбран из группы, состоящей из гидроксила, OR_{16}, R_{16} и $C_{3\text{-}6}$циклоакила, или R_5 и R_6 объединены с формированием оксо (=O) группы или $C_{3\text{-}6}$циклоакила; или его кристаллической формой, гидратом или косметически или фармацевтически приемлемой солью.

[0045] Другой вариант осуществления согласно настоящему изобретению представляет собой соединение. Соединение характеризуется структурой следующей формулы:



где: R_1, R_4, R_5, R_6, R_9 и R_{10} независимо выбраны из группы, состоящей из водорода, гидроксила, галогена, CN, R_{13}, OR_{13}, $OCOR_{13}$ и -CHO; R_2 и R_3 независимо выбраны из группы, состоящей из водорода, гидроксила, галогена, CN, R_{13}, OR_{13}, $OCOR_{13}$ и CHO, или R_2 и R_3 объединены с формированием 5- или 6-членного гетероциклила; R_7 и R_8 независимо выбраны из группы, состоящей из водорода, гидроксила, галогена, CN, R_{13}, OR_{13}, $OCOR_{13}$ и CHO, или R_7 и R_8 объединены с формированием 5- или 6-членного гетероциклила; R_{11} и R_{12} независимо представляют собой водород или R_{13}; каждый R_{13} независимо представляет собой C_{1-9}алкил, C_{2-9}алкенил или C_{2-9}алкинил; и по меньшей мере один из R_1, R_2, R_3, R_4, R_5, R_6, R_7, R_8, R_9 и R_{10} не представляет собой водород; или его кристаллической формой, гидратом или косметически или фармацевтически приемлемой солью.

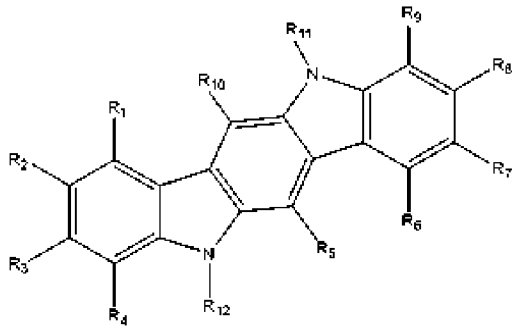
[0046] Дополнительный вариант осуществления согласно настоящему изобретению представляет собой соединение для осветления кожи. Соединение характеризуется структурой следующей формулы:



где: X выбран из группы, состоящей из NR_{14} и O; Y представляет собой ковалентную связь, CR_5R_6, O или NR_{15}; R_1, R_2, R_3, R_4, R_7, R_8, R_9, R_{10} и R_{11} независимо выбраны из группы, состоящей из водорода, галогена, CN, гидроксила, R_{16} или OR_{16}; R_{13}, R_{14} и R_{15} независимо представляют собой водород или R_{16}; R_5 и R_6 независимо выбраны из группы, состоящей из водорода, гидроксила, OR_{16}, R_{16} и C_{3-6}циклоакила, или R_5 и R_6 объединены с формированием оксо (=O) группы или C_{3-6}циклоакила; R_{12} выбран из группы, состоящей из водорода, $-COR^a$ и R_{16}; каждый R_{16} независимо представляет собой формил, C_{1-9}алкил, C_{2-9}алкенил или C_{2-9}алкинил; и R^a выбран из группы, состоящей из водорода, гидроксила и OR_{16}; или его кристаллической формой, гидратом или косметически или фармацевтически

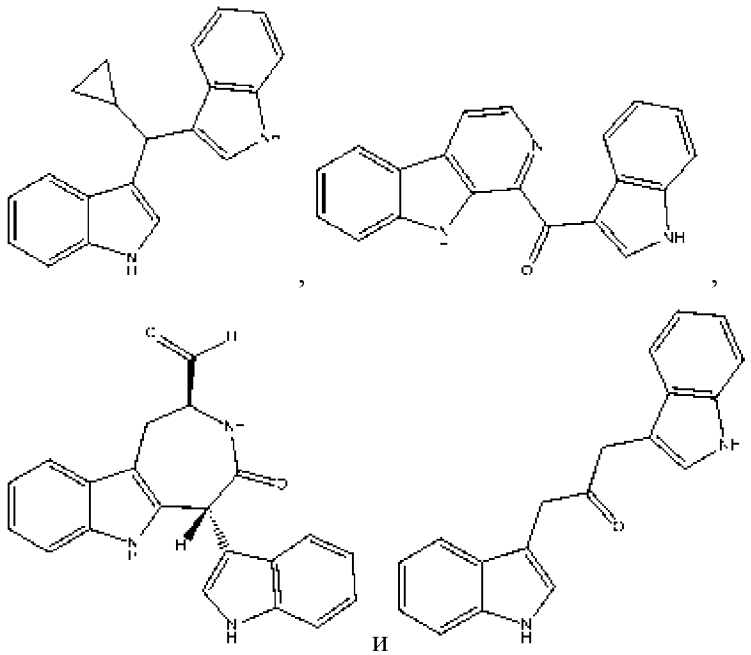
приемлемой солью.

[0047] Дополнительный вариант осуществления согласно настоящему изобретению представляет собой соединение для осветления кожи. Соединение характеризуется структурой следующей формулы:

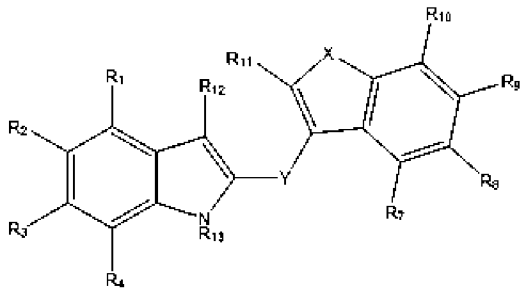


где: R_1, R_4, R_5, R_6, R_9 и R_{10} независимо выбраны из группы, состоящей из водорода, гидроксила, галогена, CN, R_{13}, OR_{13}, $OCOR_{13}$ и -CHO; R_2 и R_3 независимо выбраны из группы, состоящей из водорода, гидроксила, галогена, CN, R_{13}, OR_{13}, $OCOR_{13}$ и CHO, или R_2 и R_3 объединены с формированием 5- или 6-членного гетероциклила; R_7 и R_8 независимо выбраны из группы, состоящей из водорода, гидроксила, галогена, CN, R_{13}, OR_{13}, $OCOR_{13}$ и CHO, или R_7 и R_8 объединены с формированием 5- или 6-членного гетероциклила; R_{11} и R_{12} независимо представляют собой водород или R_{13}; и каждый R_{13} независимо представляет собой C_{1-9}алкил, C_{2-9}алкенил или C_{2-9}алкинил; или его кристаллической формой, гидратом или косметически или фармацевтически приемлемой солью.

[0048] Другой вариант осуществления согласно настоящему изобретению представляет собой соединение для осветления кожи. Соединение выбрано из группы, состоящей из:

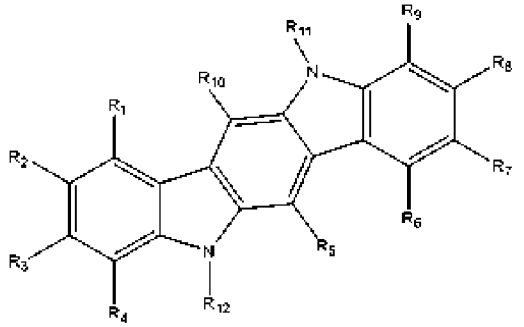


[0049] Дополнительный вариант осуществления согласно настоящему изобретению представляет собой соединение для индукции апоптоза меланоцитов. Соединение характеризуется структурой следующей формулы:



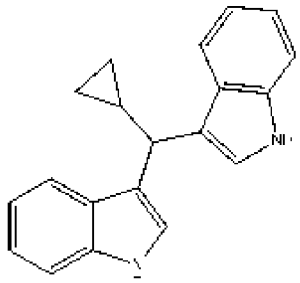
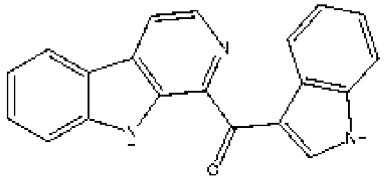
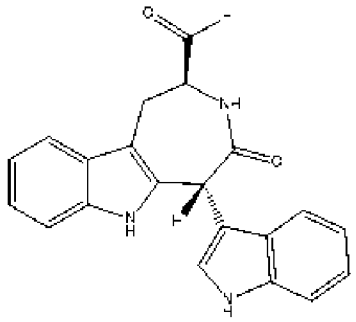
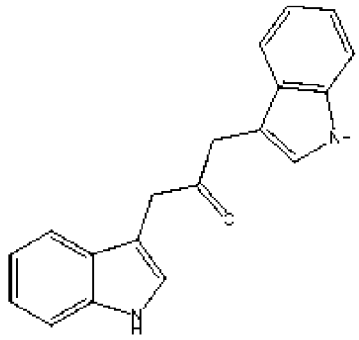
где: X выбран из группы, состоящей из NR_{14} и O; Y представляет собой ковалентную связь, CR_5R_6, O или NR_{15}; R_1, R_2, R_3, R_4, R_7, R_8, R_9, R_{10} и R_{11} независимо выбраны из группы, состоящей из водорода, галогена, CN, гидроксила, R_{16} или OR_{16}; R_{13}, R_{14} и R_{15} независимо представляют собой водород или R_{16}; R_5 и R_6 независимо выбраны из группы, состоящей из водорода, гидроксила, OR_{16}, R_{16} и C_{3-6}циклоакила, или R_5 и R_6 объединены с формированием оксо (=O) группы или C_{3-6}циклоакила; R_{12} выбран из группы, состоящей из водорода, $-COR^a$ и R_{16}; каждый R_{16} независимо представляет собой формил, C_{1-9}алкил, C_{2-9}алкенил или C_{2-9}алкинил; и R^a выбран из группы, состоящей из водорода, гидроксила и OR_{16}; или его кристаллической формой, гидратом или косметически или фармацевтически приемлемой солью.

[0050] Дополнительный вариант осуществления согласно настоящему изобретению представляет собой соединение для индукции апоптоза меланоцитов. Соединение характеризуется структурой следующей формулы:

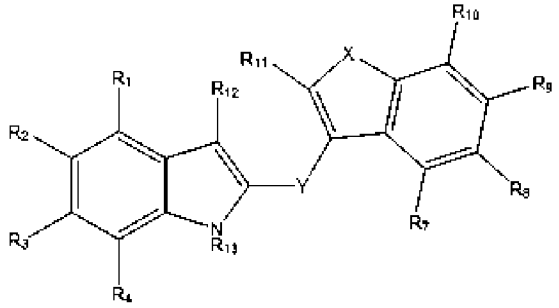


где: R_1, R_4, R_5, R_6, R_9 и R_{10} независимо выбраны из группы, состоящей из водорода, гидроксила, галогена, CN, R_{13}, OR_{13}, $OCOR_{13}$ и -CHO; R_2 и R_3 независимо выбраны из группы, состоящей из водорода, гидроксила, галогена, CN, R_{13}, OR_{13}, $OCOR_{13}$ и CHO, или R_2 и R_3 объединены с формированием 5- или 6-членного гетероциклила; R_7 и R_8 независимо выбраны из группы, состоящей из водорода, гидроксила, галогена, CN, R_{13}, OR_{13}, $OCOR_{13}$ и CHO, или R_7 и R_8 объединены с формированием 5- или 6-членного гетероциклила; R_{11} и R_{12} независимо представляют собой водород или R_{13}; и каждый R_{13} независимо представляет собой C_{1-9}алкил, C_{2-9}алкенил или C_{2-9}алкинил; или его кристаллической формой, гидратом или косметически или фармацевтически приемлемой солью.

[0051] Другой вариант осуществления согласно настоящему изобретению представляет собой соединение для индукции апоптоза меланоцитов. Соединение выбрано из группы, состоящей из:

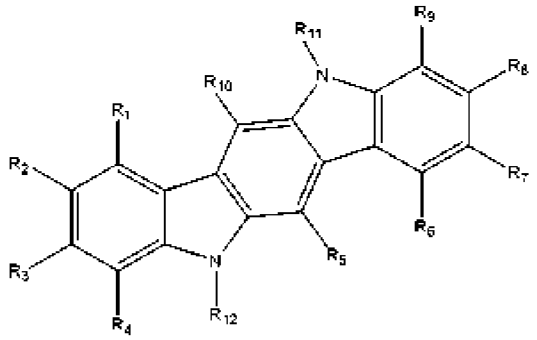

,

,

и

.

[0052] Дополнительный вариант осуществления согласно настоящему изобретению представляет собой соединение для модулирования активности рецептора ароматических углеводородов (AhR). Соединение характеризуется структурой следующей формулы:



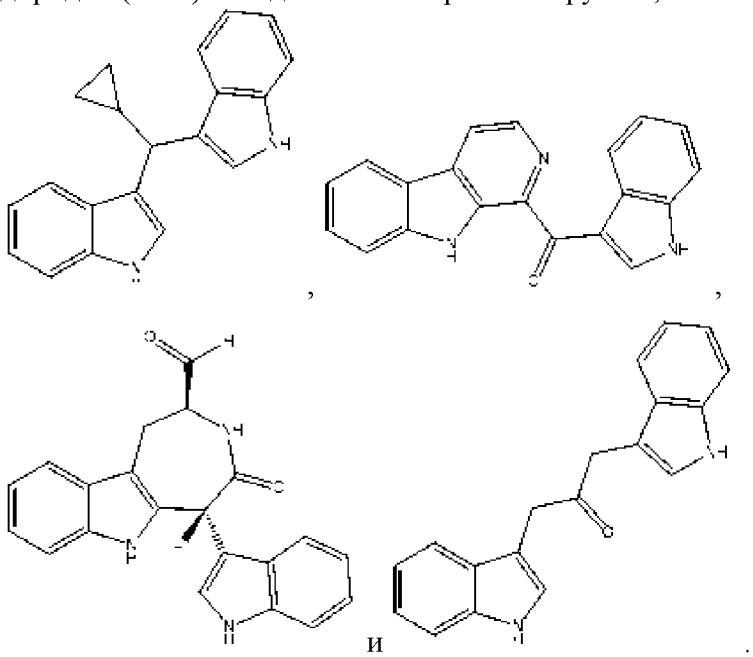
где: X выбран из группы, состоящей из NR_{14} и O; Y представляет собой ковалентную связь, CR_5R_6, O или NR_{15}; R_1, R_2, R_3, R_4, R_7, R_8, R_9, R_{10} и R_{11} независимо выбраны из группы, состоящей из водорода, галогена, CN, гидроксила, R_{16} или OR_{16}; R_{13}, R_{14} и R_{15} независимо представляют собой водород или R_{16}; R_5 и R_6 независимо выбраны из группы, состоящей из водорода, гидроксила, OR_{16}, R_{16} и $C_{3\text{-}6}$циклоакила, или R_5 и R_6 объединены с формированием оксо (=O) группы или $C_{3\text{-}6}$циклоакила; R_{12} выбран из группы, состоящей из водорода, $-COR^a$ и R_{16}; каждый R_{16} независимо представляет собой формил, $C_{1\text{-}9}$алкил, $C_{2\text{-}9}$алкенил или $C_{2\text{-}9}$алкинил; и R^a выбран из группы, состоящей из водорода, гидроксила и OR_{16}; или его кристаллической формой, гидратом или косметически или фармацевтически приемлемой солью.

[0053] Дополнительный вариант осуществления согласно настоящему изобретению представляет собой соединение для модулирования активности рецептора ароматических углеводородов (AhR). Соединение характеризуется структурой следующей формулы:

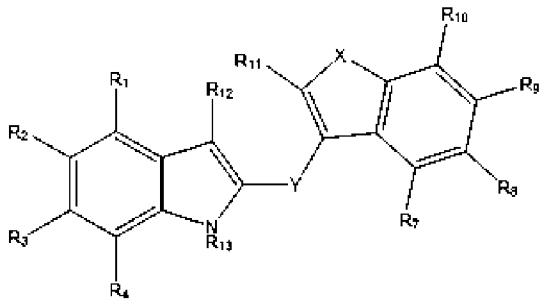


где: R_1, R_4, R_5, R_6, R_9 и R_{10} независимо выбраны из группы, состоящей из водорода, гидроксила, галогена, CN, R_{13}, OR_{13}, $OCOR_{13}$ и -CHO; R_2 и R_3 независимо выбраны из группы, состоящей из водорода, гидроксила, галогена, CN, R_{13}, OR_{13}, $OCOR_{13}$ и CHO, или R_2 и R_3 объединены с формированием 5- или 6-членного гетероциклила; R_7 и R_8 независимо выбраны из группы, состоящей из водорода, гидроксила, галогена, CN, R_{13}, OR_{13}, $OCOR_{13}$ и CHO, или R_7 и R_8 объединены с формированием 5- или 6-членного гетероциклила; R_{11} и R_{12} независимо представляют собой водород или R_{13}; и каждый R_{13} независимо представляет собой C_{1-9}алкил, C_{2-9}алкенил или C_{2-9}алкинил; или его кристаллической формой, гидратом или косметически или фармацевтически приемлемой солью.

[0054] Другой вариант осуществления согласно настоящему изобретению представляет собой соединение для модулирования активности рецептора ароматических углеводородов (AhR). Соединение выбрано из группы, состоящей из:

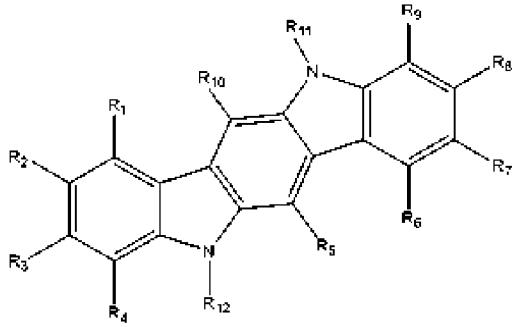


[0055] Дополнительный вариант осуществления согласно настоящему изобретению представляет собой соединение для модулирования меланогенеза. Соединение характеризуется структурой следующей формулы:



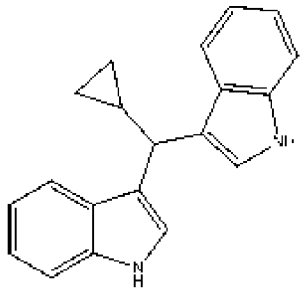
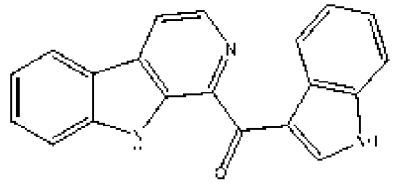
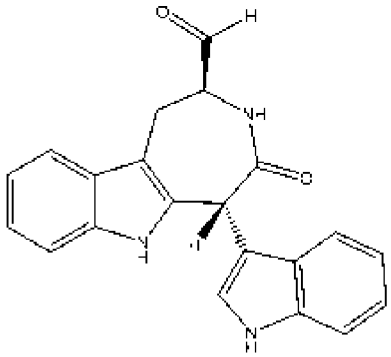
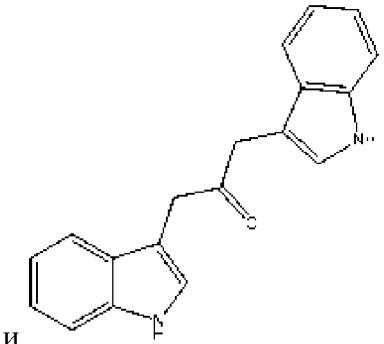
где: X выбран из группы, состоящей из NR_{14} и O; Y представляет собой ковалентную связь, CR_5R_6, O или NR_{15}; R_1, R_2, R_3, R_4, R_7, R_8, R_9, R_{10} и R_{11} независимо выбраны из группы, состоящей из водорода, галогена, CN, гидроксила, R_{16} или OR_{16}; R_{13}, R_{14} и R_{15} независимо представляют собой водород или R_{16}; R_5 и R_6 независимо выбраны из группы, состоящей из водорода, гидроксила, OR_{16}, R_{16} и C_{3-6}циклоакила, или R_5 и R_6 объединены с формированием оксо (=O) группы или C_{3-6}циклоакила; R_{12} выбран из группы, состоящей из водорода, $-COR^a$ и R_{16}; каждый R_{16} независимо представляет собой формил, C_{1-9}алкил, C_{2-9}алкенил или C_{2-9}алкинил; и R^a выбран из группы, состоящей из водорода, гидроксила и OR_{16}; или его кристаллической формой, гидратом или косметически или фармацевтически приемлемой солью.

[0056] Дополнительный вариант осуществления согласно настоящему изобретению представляет собой соединение для модулирования меланогенеза. Соединение характеризуется структурой следующей формулы:

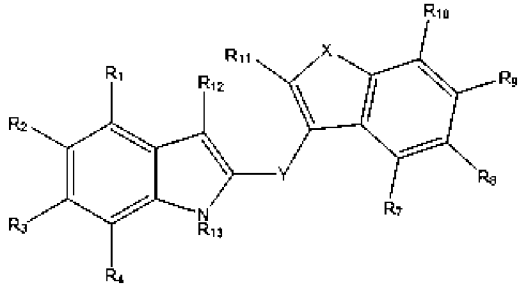


где: R_1, R_4, R_5, R_6, R_9 и R_{10} независимо выбраны из группы, состоящей из водорода, гидроксила, галогена, CN, R_{13}, OR_{13}, $OCOR_{13}$ и -CHO; R_2 и R_3 независимо выбраны из группы, состоящей из водорода, гидроксила, галогена, CN, R_{13}, OR_{13}, $OCOR_{13}$ и CHO, или R_2 и R_3 объединены с формированием 5- или 6-членного гетероциклила; R_7 и R_8 независимо выбраны из группы, состоящей из водорода, гидроксила, галогена, CN, R_{13}, OR_{13}, $OCOR_{13}$ и CHO, или R_7 и R_8 объединены с формированием 5- или 6-членного гетероциклила; R_{11} и R_{12} независимо представляют собой водород или R_{13}; и каждый R_{13} независимо представляет собой C_{1-9}алкил, C_{2-9}алкенил или C_{2-9}алкинил; или его кристаллической формой, гидратом или косметически или фармацевтически приемлемой солью.

[0057] Другой вариант осуществления согласно настоящему изобретению представляет собой соединение для модулирования меланогенеза. Соединение выбрано из группы, состоящей из:

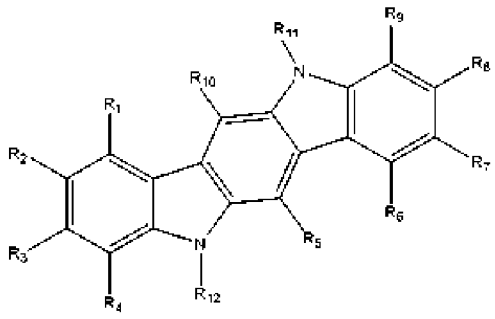





[0058] Дополнительный вариант осуществления согласно настоящему изобретению представляет собой соединение для модулирования концентрации меланина. Соединение характеризуется структурой следующей формулы:



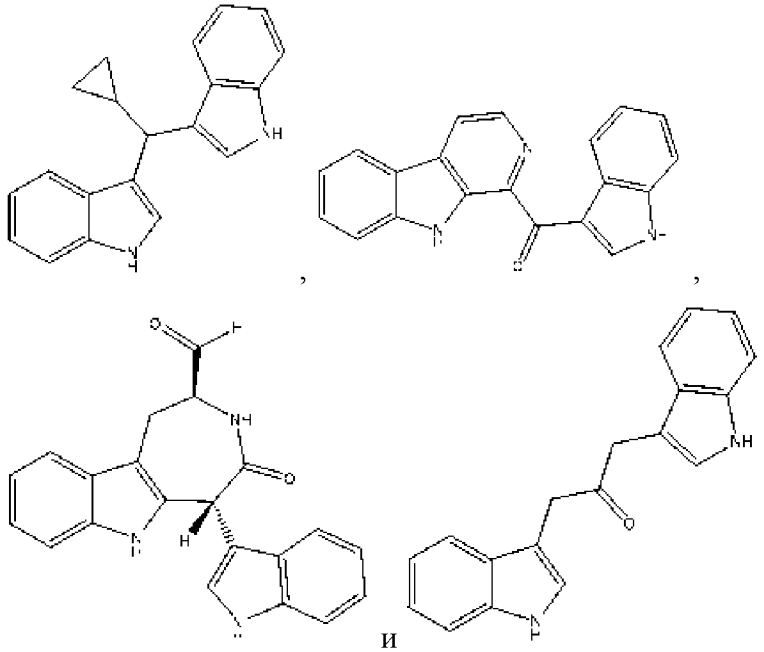
где: X выбран из группы, состоящей из NR_{14} и O; Y представляет собой ковалентную связь, CR_5R_6, O или NR_{15}; R_1, R_2, R_3, R_4, R_7, R_8, R_9, R_{10} и R_{11} независимо выбраны из группы, состоящей из водорода, галогена, CN, гидроксила, R_{16} или OR_{16}; R_{13}, R_{14} и R_{15} независимо представляют собой водород или R_{16}; R_5 и R_6 независимо выбраны из группы, состоящей из водорода, гидроксила, OR_{16}, R_{16} и $C_{3\text{-}6}$циклоакила, или R_5 и R_6 объединены с формированием оксо (=O) группы или $C_{3\text{-}6}$циклоакила; R_{12} выбран из группы, состоящей из водорода, $-COR^a$ и R_{16}; каждый R_{16} независимо представляет собой формил, $C_{1\text{-}9}$алкил, $C_{2\text{-}9}$алкенил или $C_{2\text{-}9}$алкинил; и R^a выбран из группы, состоящей из водорода, гидроксила и OR_{16}; или его кристаллической формой, гидратом или косметически или фармацевтически приемлемой солью.

[0059] Дополнительный вариант осуществления согласно настоящему изобретению представляет собой соединение для модулирования концентрации меланина. Соединение характеризуется структурой следующей формулы:

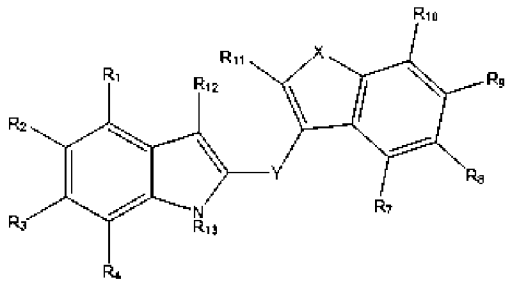


где: R_1, R_4, R_5, R_6, R_9 и R_{10} независимо выбраны из группы, состоящей из водорода, гидроксила, галогена, CN, R_{13}, OR_{13}, $OCOR_{13}$ и -CHO; R_2 и R_3 независимо выбраны из группы, состоящей из водорода, гидроксила, галогена, CN, R_{13}, OR_{13}, $OCOR_{13}$ и CHO, или R_2 и R_3 объединены с формированием 5- или 6-членного гетероциклила; R_7 и R_8 независимо выбраны из группы, состоящей из водорода, гидроксила, галогена, CN, R_{13}, OR_{13}, $OCOR_{13}$ и CHO, или R_7 и R_8 объединены с формированием 5- или 6-членного гетероциклила; R_{11} и R_{12} независимо представляют собой водород или R_{13}; и каждый R_{13} независимо представляет собой C_{1-9}алкил, C_{2-9}алкенил или C_{2-9}алкинил; или его кристаллической формой, гидратом или косметически или фармацевтически приемлемой солью.

[0060] Другой вариант осуществления согласно настоящему изобретению представляет собой соединение для модулирования концентрации меланина. Соединение выбрано из группы, состоящей из:

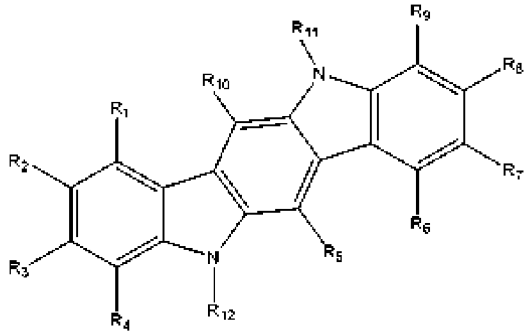


[0061] Дополнительный вариант осуществления согласно настоящему изобретению представляет собой композицию. Композиция содержит соединение, характеризующееся структурой следующей формулы:



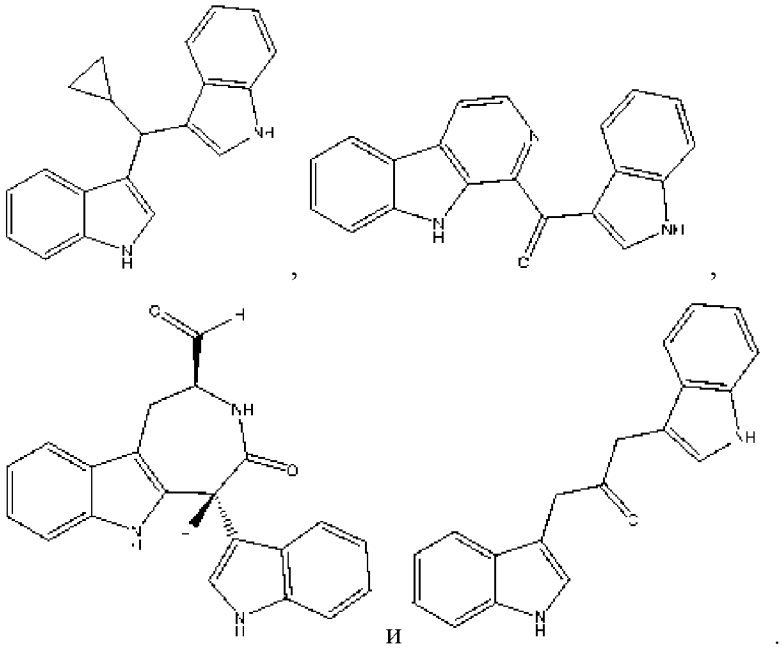
где: X выбран из группы, состоящей из NR_{14} и O; Y представляет собой ковалентную связь, CR_5R_6, O или NR_{15}; R_1, R_2, R_3, R_4, R_7, R_8, R_9, R_{10} и R_{11} независимо выбраны из группы, состоящей из водорода, галогена, CN, гидроксила, R_{16} или OR_{16}; R_{13}, R_{14} и R_{15} независимо представляют собой водород или R_{16}; R_5 и R_6 независимо выбраны из группы, состоящей из водорода, гидроксила, OR_{16}, R_{16} и C_{3-6}циклоакила, или R_5 и R_6 объединены с формированием оксо (=O) группы или C_{3-6}циклоакила; R_{12} выбран из группы, состоящей из водорода, -COR^a и R_{16}; каждый R_{16} независимо представляет собой формил, C_{1-9}алкил, C_{2-9}алкенил или C_{2-9}алкинил; и R^a выбран из группы, состоящей из водорода, гидроксила и OR_{16}; или его кристаллическую форму, гидрат или косметически или фармацевтически приемлемую соль.

[0062] Дополнительный вариант осуществления согласно настоящему изобретению представляет собой композицию. Композиция содержит соединение, характеризующееся структурой следующей формулы:

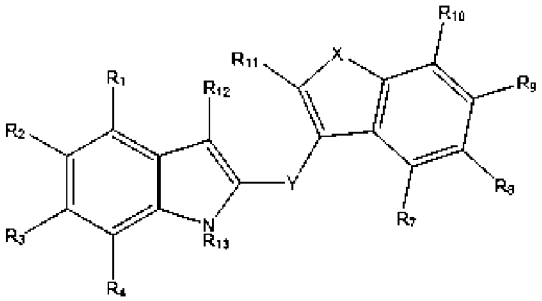


где: R_1, R_4, R_5, R_6, R_9 и R_{10} независимо выбраны из группы, состоящей из водорода, гидроксила, галогена, CN, R_{13}, OR_{13}, $OCOR_{13}$ и -CHO; R_2 и R_3 независимо выбраны из группы, состоящей из водорода, гидроксила, галогена, CN, R_{13}, OR_{13}, $OCOR_{13}$ и CHO, или R_2 и R_3 объединены с формированием 5- или 6-членного гетероциклила; R_7 и R_8 независимо выбраны из группы, состоящей из водорода, гидроксила, галогена, CN, R_{13}, OR_{13}, $OCOR_{13}$ и CHO, или R_7 и R_8 объединены с формированием 5- или 6-членного гетероциклила; R_{11} и R_{12} независимо представляют собой водород или R_{13}; и каждый R_{13} независимо представляет собой C_{1-9}алкил, C_{2-9}алкенил или C_{2-9}алкинил; или его кристаллическую форму, гидрат или косметически или фармацевтически приемлемую соль.

[0063] Другой вариант осуществления согласно настоящему изобретению представляет собой композицию. Композиция содержит соединение, выбранное из группы, состоящей из:

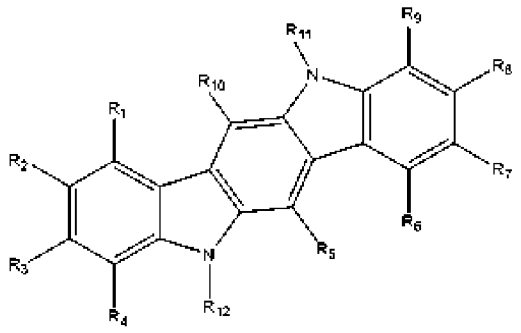


[0064] Дополнительный вариант осуществления согласно настоящему изобретению представляет собой способ осветления кожи у субъекта. Способ включает в себя приведение субъекта в контакт с соединением, характеризующимся структурой следующей формулы:



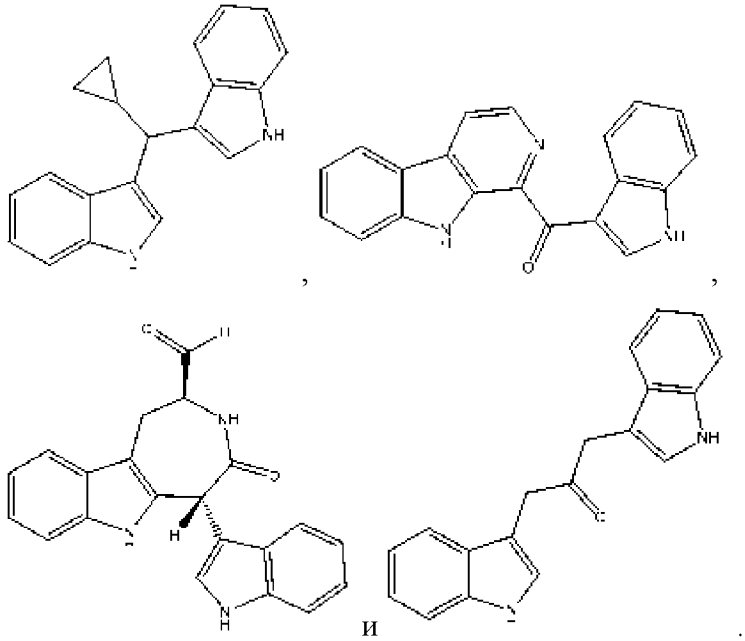
где: X выбран из группы, состоящей из NR_{14} и O; Y представляет собой ковалентную связь, CR_5R_6, O или NR_{15}; R_1, R_2, R_3, R_4, R_7, R_8, R_9, R_{10} и R_{11} независимо выбраны из группы, состоящей из водорода, галогена, CN, гидроксила, R_{16} или OR_{16}; R_{13}, R_{14} и R_{15} независимо представляют собой водород или R_{16}; R_5 и R_6 независимо выбраны из группы, состоящей из водорода, гидроксила, OR_{16}, R_{16} и $C_{3\text{-}6}$циклоакила, или R_5 и R_6 объединены с формированием оксо (=O) группы или $C_{3\text{-}6}$циклоакила; R_{12} выбран из группы, состоящей из водорода, $-COR^a$ и R_{16}; каждый R_{16} независимо представляет собой формил, $C_{1\text{-}9}$алкил, $C_{2\text{-}9}$алкенил или $C_{2\text{-}9}$алкинил; и R^a выбран из группы, состоящей из водорода, гидроксила и OR_{16}; или его кристаллической формой, гидратом или косметически или фармацевтически приемлемой солью.

[0065] Дополнительный вариант осуществления согласно настоящему изобретению представляет собой способ осветления кожи у субъекта. Способ включает в себя приведение субъекта в контакт с соединением, характеризующимся структурой следующей формулы:



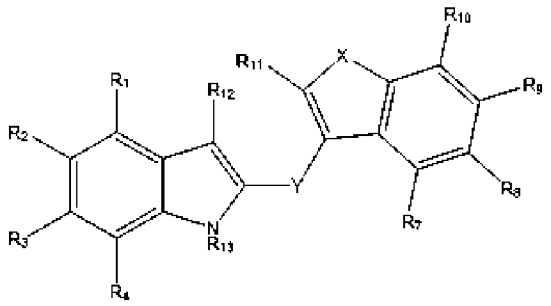
где: R_1, R_4, R_5, R_6, R_9 и R_{10} независимо выбраны из группы, состоящей из водорода, гидроксила, галогена, CN, R_{13}, OR_{13}, $OCOR_{13}$ и -CHO; R_2 и R_3 независимо выбраны из группы, состоящей из водорода, гидроксила, галогена, CN, R_{13}, OR_{13}, $OCOR_{13}$ и CHO, или R_2 и R_3 объединены с формированием 5- или 6-членного гетероциклила; R_7 и R_8 независимо выбраны из группы, состоящей из водорода, гидроксила, галогена, CN, R_{13}, OR_{13}, $OCOR_{13}$ и CHO, или R_7 и R_8 объединены с формированием 5- или 6-членного гетероциклила; R_{11} и R_{12} независимо представляют собой водород или R_{13}; и каждый R_{13} независимо представляет собой C_{1-9}алкил, C_{2-9}алкенил или C_{2-9}алкинил; или его кристаллической формой, гидратом или косметически или фармацевтически приемлемой солью.

[0066] Другой вариант осуществления согласно настоящему изобретению представляет собой способ осветления кожи у субъекта. Способ включает в себя приведение субъекта в контакт с соединением, выбранным из группы, состоящей из:



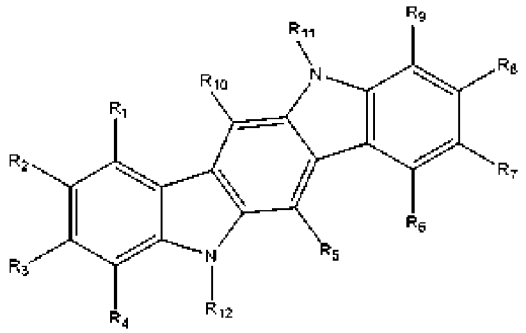
и .

[0067] Дополнительный вариант осуществления согласно настоящему изобретению представляет собой способ индукции апоптоза меланоцитов у субъекта. Способ включает в себя приведение субъекта в контакт с соединением, характеризующимся структурой следующей формулы:



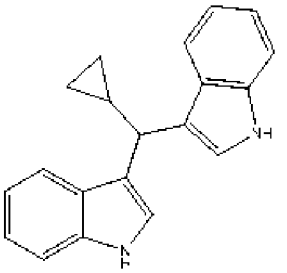
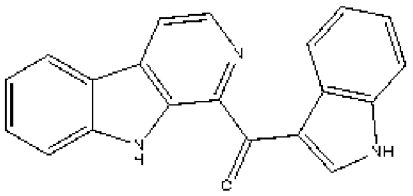
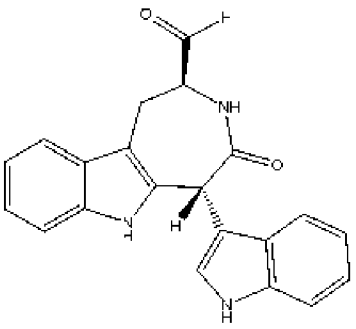
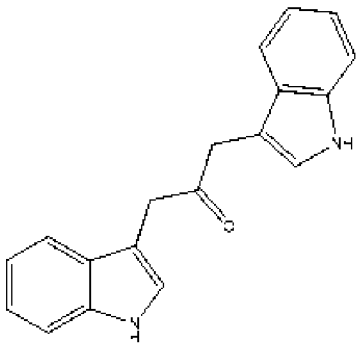
где: X выбран из группы, состоящей из NR_{14} и O; Y представляет собой ковалентную связь, CR_5R_6, O или NR_{15}; R_1, R_2, R_3, R_4, R_7, R_8, R_9, R_{10} и R_{11} независимо выбраны из группы, состоящей из водорода, галогена, CN, гидроксила, R_{16} или OR_{16}; R_{13}, R_{14} и R_{15} независимо представляют собой водород или R_{16}; R_5 и R_6 независимо выбраны из группы, состоящей из водорода, гидроксила, OR_{16}, R_{16} и C_{3-6}циклоакила, или R_5 и R_6 объединены с формированием оксо (=O) группы или C_{3-6}циклоакила; R_{12} выбран из группы, состоящей из водорода, $-COR^a$ и R_{16}; каждый R_{16} независимо представляет собой формил, C_{1-9}алкил, C_{2-9}алкенил или C_{2-9}алкинил; и R^a выбран из группы, состоящей из водорода, гидроксила и OR_{16}; или его кристаллической формой, гидратом или косметически или фармацевтически приемлемой солью.

[0068] Дополнительный вариант осуществления согласно настоящему изобретению представляет собой способ индукции апоптоза меланоцитов у субъекта. Способ включает в себя приведение субъекта в контакт с соединением, характеризующимся структурой следующей формулы:

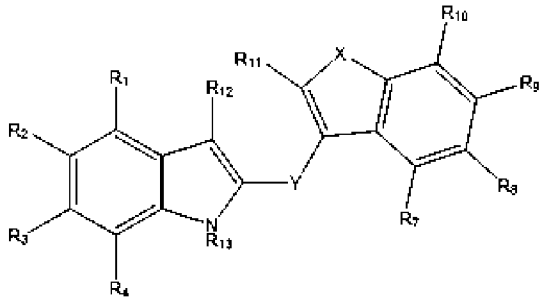


где: R_1, R_4, R_5, R_6, R_9 и R_{10} независимо выбраны из группы, состоящей из водорода, гидроксила, галогена, CN, R_{13}, OR_{13}, $OCOR_{13}$ и -CHO; R_2 и R_3 независимо выбраны из группы, состоящей из водорода, гидроксила, галогена, CN, R_{13}, OR_{13}, $OCOR_{13}$ и CHO, или R_2 и R_3 объединены с формированием 5- или 6-членного гетероциклила; R_7 и R_8 независимо выбраны из группы, состоящей из водорода, гидроксила, галогена, CN, R_{13}, OR_{13}, $OCOR_{13}$ и CHO, или R_7 и R_8 объединены с формированием 5- или 6-членного гетероциклила; R_{11} и R_{12} независимо представляют собой водород или R_{13}; и каждый R_{13} независимо представляет собой C_{1-9}алкил, C_{2-9}алкенил или C_{2-9}алкинил; или его кристаллической формой, гидратом или косметически или фармацевтически приемлемой солью.

[0069] Другой вариант осуществления согласно настоящему изобретению представляет собой способ индукции апоптоза меланоцитов у субъекта. Способ включает в себя приведение субъекта в контакт с соединением, выбранным из группы, состоящей из:

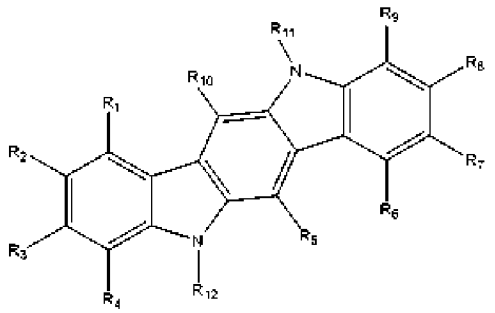





[0070] Дополнительный вариант осуществления согласно настоящему изобретению представляет собой способ модулирования активности рецептора ароматических углеводородов (AhR) у субъекта. Способ включает в себя приведение субъекта в контакт с соединением, характеризующимся структурой следующей формулы:



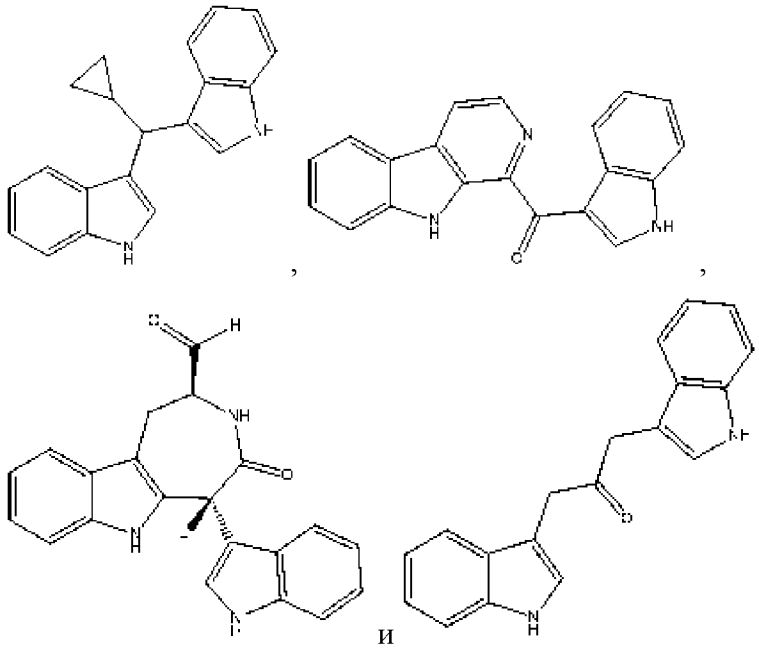
где: X выбран из группы, состоящей из NR_{14} и O; Y представляет собой ковалентную связь, CR_5R_6, O или NR_{15}; R_1, R_2, R_3, R_4, R_7, R_8, R_9, R_{10} и R_{11} независимо выбраны из группы, состоящей из водорода, галогена, CN, гидроксила, R_{16} или OR_{16}; R_{13}, R_{14} и R_{15} независимо представляют собой водород или R_{16}; R_5 и R_6 независимо выбраны из группы, состоящей из водорода, гидроксила, OR_{16}, R_{16} и $C_{3\text{-}6}$циклоакила, или R_5 и R_6 объединены с формированием оксо (=O) группы или $C_{3\text{-}6}$циклоакила; R_{12} выбран из группы, состоящей из водорода, $-COR^a$ и R_{16}; каждый R_{16} независимо представляет собой формил, $C_{1\text{-}9}$алкил, $C_{2\text{-}9}$алкенил или $C_{2\text{-}9}$алкинил; и R^a выбран из группы, состоящей из водорода, гидроксила и OR_{16}; или его кристаллической формой, гидратом или косметически или фармацевтически приемлемой солью.

[0071] Дополнительный вариант осуществления согласно настоящему изобретению представляет собой способ модулирования активности рецептора ароматических углеводородов (AhR) у субъекта. Способ включает в себя приведение субъекта в контакт с соединением, характеризующимся структурой следующей формулы:



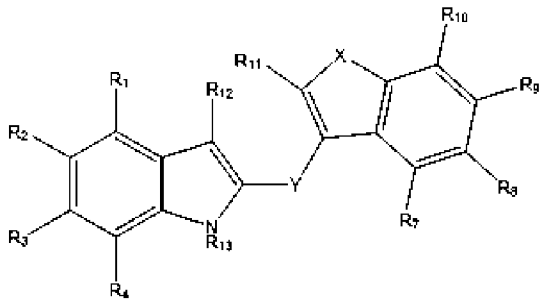
где: R_1, R_4, R_5, R_6, R_9 и R_{10} независимо выбраны из группы, состоящей из водорода, гидроксила, галогена, CN, R_{13}, OR_{13}, $OCOR_{13}$ и -CHO; R_2 и R_3 независимо выбраны из группы, состоящей из водорода, гидроксила, галогена, CN, R_{13}, OR_{13}, $OCOR_{13}$ и CHO, или R_2 и R_3 объединены с формированием 5- или 6-членного гетероциклила; R_7 и R_8 независимо выбраны из группы, состоящей из водорода, гидроксила, галогена, CN, R_{13}, OR_{13}, $OCOR_{13}$ и CHO, или R_7 и R_8 объединены с формированием 5- или 6-членного гетероциклила; R_{11} и R_{12} независимо представляют собой водород или R_{13}; и каждый R_{13} независимо представляет собой C_{1-9}алкил, C_{2-9}алкенил или C_{2-9}алкинил; или его кристаллической формой, гидратом или косметически или фармацевтически приемлемой солью.

[0072] Другой вариант осуществления согласно настоящему изобретению представляет собой способ модулирования активности рецептора ароматических углеводородов (AhR) у субъекта. Способ включает в себя приведение субъекта в контакт с соединением, выбранным из группы, состоящей из:



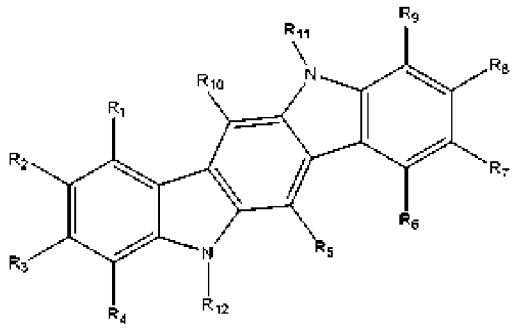
и .

[0073] Дополнительный вариант осуществления согласно настоящему изобретению представляет собой способ модулирования меланогенеза у субъекта. Способ включает в себя приведение субъекта в контакт с соединением, характеризующимся структурой следующей формулы:



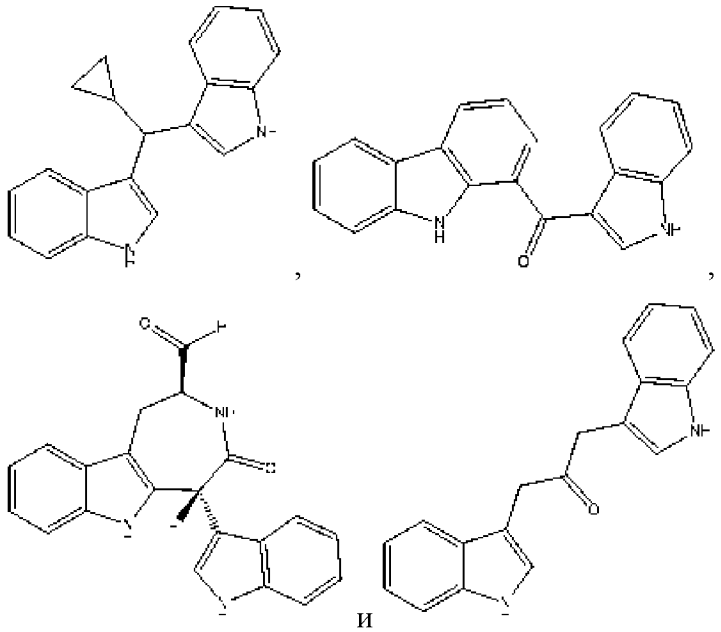
где: X выбран из группы, состоящей из NR_{14} и O; Y представляет собой ковалентную связь, CR_5R_6, O или NR_{15}; R_1, R_2, R_3, R_4, R_7, R_8, R_9, R_{10} и R_{11} независимо выбраны из группы, состоящей из водорода, галогена, CN, гидроксила, R_{16} или OR_{16}; R_{13}, R_{14} и R_{15} независимо представляют собой водород или R_{16}; R_5 и R_6 независимо выбраны из группы, состоящей из водорода, гидроксила, OR_{16}, R_{16} и C_{3-6}циклоакила, или R_5 и R_6 объединены с формированием оксо (=O) группы или C_{3-6}циклоакила; R_{12} выбран из группы, состоящей из водорода, $-COR^a$ и R_{16}; каждый R_{16} независимо представляет собой формил, C_{1-9}алкил, C_{2-9}алкенил или C_{2-9}алкинил; и R^a выбран из группы, состоящей из водорода, гидроксила и OR_{16}; или его кристаллической формой, гидратом или косметически или фармацевтически приемлемой солью.

[0074] Дополнительный вариант осуществления согласно настоящему изобретению представляет собой способ модулирования меланогенеза у субъекта. Способ включает в себя приведение субъекта в контакт с соединением, характеризующимся структурой следующей формулы:

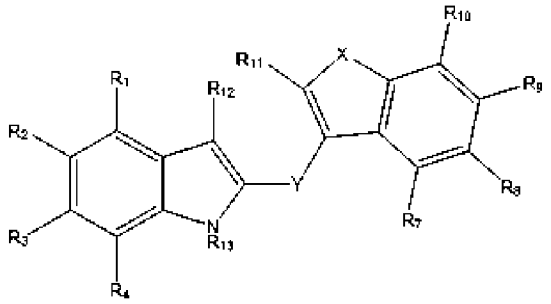


где: R_1, R_4, R_5, R_6, R_9 и R_{10} независимо выбраны из группы, состоящей из водорода, гидроксила, галогена, CN, R_{13}, OR_{13}, $OCOR_{13}$ и -CHO; R_2 и R_3 независимо выбраны из группы, состоящей из водорода, гидроксила, галогена, CN, R_{13}, OR_{13}, $OCOR_{13}$ и CHO, или R_2 и R_3 объединены с формированием 5- или 6-членного гетероциклила; R_7 и R_8 независимо выбраны из группы, состоящей из водорода, гидроксила, галогена, CN, R_{13}, OR_{13}, $OCOR_{13}$ и CHO, или R_7 и R_8 объединены с формированием 5- или 6-членного гетероциклила; R_{11} и R_{12} независимо представляют собой водород или R_{13}; и каждый R_{13} независимо представляет собой C_{1-9}алкил, C_{2-9}алкенил или C_{2-9}алкинил; или его кристаллической формой, гидратом или косметически или фармацевтически приемлемой солью.

[0075] Другой вариант осуществления согласно настоящему изобретению представляет собой способ модулирования меланогенеза у субъекта. Способ включает в себя приведение субъекта в контакт с соединением, выбранным из группы, состоящей из:

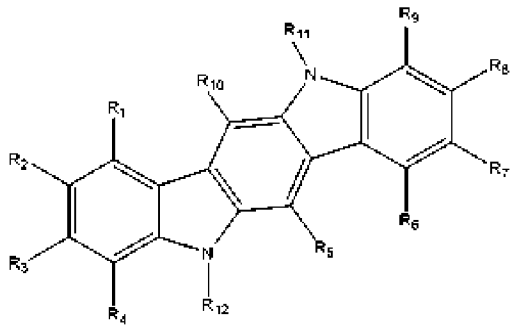


[0076] Дополнительный вариант осуществления согласно настоящему изобретению представляет собой способ модулирования концентрации меланина у субъекта. Способ включает в себя приведение субъекта в контакт с соединением, характеризующимся структурой следующей формулы:



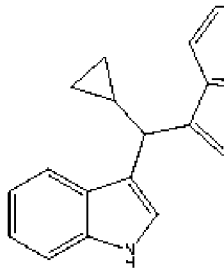
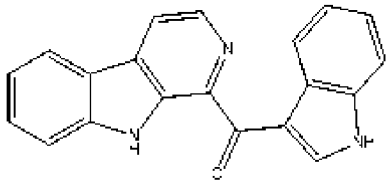
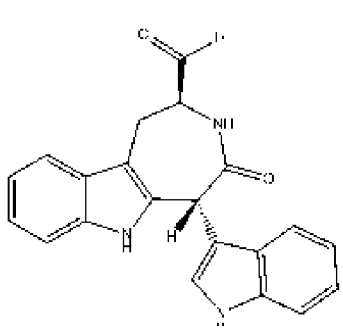
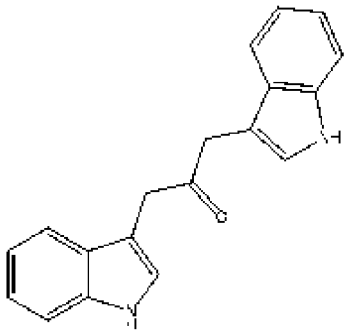
где: X выбран из группы, состоящей из NR_{14} и O; Y представляет собой ковалентную связь, CR_5R_6, O или NR_{15}; R_1, R_2, R_3, R_4, R_7, R_8, R_9, R_{10} и R_{11} независимо выбраны из группы, состоящей из водорода, галогена, CN, гидроксила, R_{16} или OR_{16}; R_{13}, R_{14} и R_{15} независимо представляют собой водород или R_{16}; R_5 и R_6 независимо выбраны из группы, состоящей из водорода, гидроксила, OR_{16}, R_{16} и C_{3-6}циклоакила, или R_5 и R_6 объединены с формированием оксо (=O) группы или C_{3-6}циклоакила; R_{12} выбран из группы, состоящей из водорода, $-COR^a$ и R_{16}; каждый R_{16} независимо представляет собой формил, C_{1-9}алкил, C_{2-9}алкенил или C_{2-9}алкинил; и R^a выбран из группы, состоящей из водорода, гидроксила и OR_{16}; или его кристаллической формой, гидратом или косметически или фармацевтически приемлемой солью.

[0077] Дополнительный вариант осуществления согласно настоящему изобретению представляет собой способ модулирования концентрации меланина у субъекта. Способ включает в себя приведение субъекта в контакт с соединением, характеризующимся структурой следующей формулы:

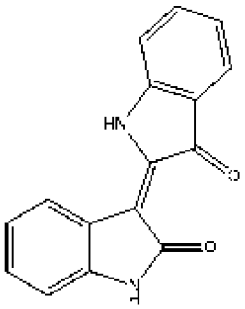


где: R_1, R_4, R_5, R_6, R_9 и R_{10} независимо выбраны из группы, состоящей из водорода, гидроксила, галогена, CN, R_{13}, OR_{13}, $OCOR_{13}$ и -CHO; R_2 и R_3 независимо выбраны из группы, состоящей из водорода, гидроксила, галогена, CN, R_{13}, OR_{13}, $OCOR_{13}$ и CHO, или R_2 и R_3 объединены с формированием 5- или 6-членного гетероциклила; R_7 и R_8 независимо выбраны из группы, состоящей из водорода, гидроксила, галогена, CN, R_{13}, OR_{13}, $OCOR_{13}$ и CHO, или R_7 и R_8 объединены с формированием 5- или 6-членного гетероциклила; R_{11} и R_{12} независимо представляют собой водород или R_{13}; и каждый R_{13} независимо представляет собой $C_{1\text{-}9}$алкил, $C_{2\text{-}9}$алкенил или $C_{2\text{-}9}$алкинил; или его кристаллической формой, гидратом или косметически или фармацевтически приемлемой солью.

[0078] Другой вариант осуществления согласно настоящему изобретению представляет собой способ модулирования концентрации меланина у субъекта. Способ включает в себя приведение субъекта в контакт с соединением, выбранным из группы, состоящей из:

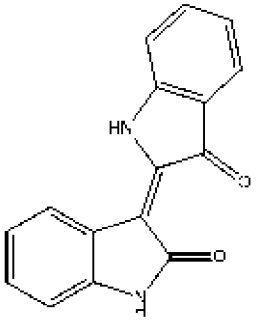

,

,

и

.

[0079] Один вариант осуществления согласно настоящему изобретению представляет собой соединение для осветления кожи. Соединение характеризуется структурой следующей формулы:



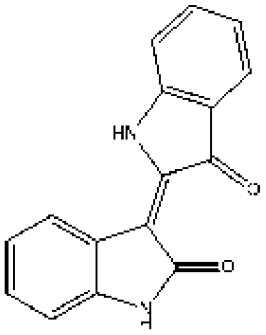
или его химическим аналогом, кристаллической формой, гидратом или фармацевтически или косметически приемлемой солью.

[0080] Другой вариант осуществления согласно настоящему изобретению представляет собой соединение для индукции апоптоза меланоцитов. Соединение характеризуется структурой следующей формулы:



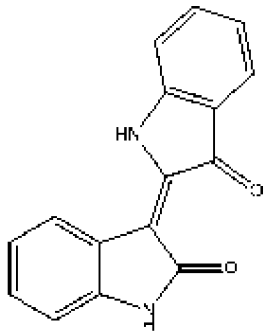
или его химическим аналогом, кристаллической формой, гидратом или фармацевтически или косметически приемлемой солью.

[0081] Дополнительный вариант осуществления согласно настоящему изобретению представляет собой соединение для модулирования активности рецептора ароматических углеводородов (AhR). Соединение характеризуется структурой следующей формулы:



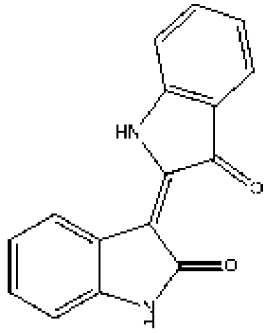
или его химическим аналогом, кристаллической формой, гидратом или фармацевтически или косметически приемлемой солью.

[0082] Дополнительный вариант осуществления согласно настоящему изобретению представляет собой соединение для модулирования меланогенеза. Соединение характеризуется структурой следующей формулы:



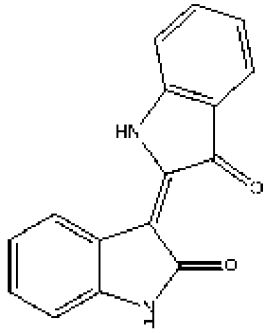
или его химическим аналогом, кристаллической формой, гидратом или фармацевтически или косметически приемлемой солью.

[0083] Другой вариант осуществления согласно настоящему изобретению представляет собой соединение для модулирования концентрации меланина. Соединение характеризуется структурой следующей формулы:



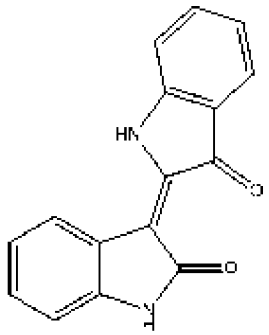
или его химическим аналогом, кристаллической формой, гидратом или фармацевтически или косметически приемлемой солью.

[0084] Дополнительный вариант осуществления согласно настоящему изобретению представляет собой композицию, содержащую соединение. Соединение характеризуется структурой следующей формулы:



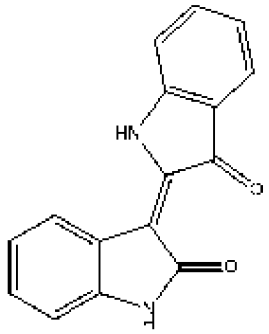
или его химическим аналогом, кристаллической формой, гидратом или фармацевтически или косметически приемлемой солью.

[0085] Дополнительный вариант осуществления согласно настоящему изобретению представляет собой способ осветления кожи у субъекта. Способ включает в себя приведение субъекта в контакт с соединением, причем соединение характеризуется структурой следующей формулы:



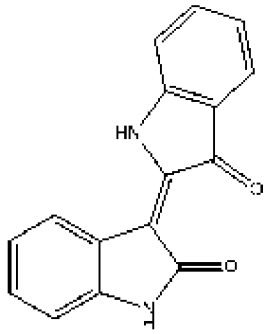
или его химическим аналогом, кристаллической формой, гидратом или фармацевтически или косметически приемлемой солью.

[0086] Другой вариант осуществления согласно настоящему изобретению представляет собой способ индукции апоптоза меланоцитов у субъекта. Способ включает в себя приведение субъекта в контакт с соединением, причем соединение характеризуется структурой следующей формулы:



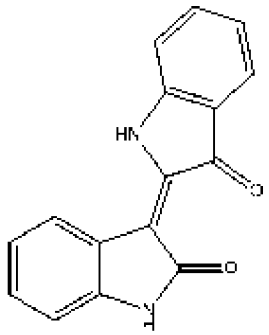
или его химическим аналогом, кристаллической формой, гидратом или фармацевтически или косметически приемлемой солью.

[0087] Дополнительный вариант осуществления согласно настоящему изобретению представляет собой способ модулирования активности рецептора ароматических углеводородов (AhR) у субъекта. Способ включает в себя приведение субъекта в контакт с соединением, причем соединение характеризуется структурой следующей формулы:



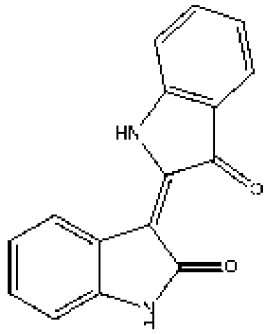
или его химическим аналогом, кристаллической формой, гидратом или фармацевтически или косметически приемлемой солью.

[0088] Дополнительный вариант осуществления согласно настоящему изобретению представляет собой способ модулирования меланогенеза у субъекта. Способ включает в себя приведение субъекта в контакт с соединением, причем соединение характеризуется структурой следующей формулы:



или его химическим аналогом, кристаллической формой, гидратом или фармацевтически или косметически приемлемой солью.

[0089] Другой вариант осуществления согласно настоящему изобретению представляет собой способ модулирования концентрации меланина у субъекта. Способ включает в себя приведение субъекта в контакт с соединением, причем соединение характеризуется структурой следующей формулы:



или его химическим аналогом, кристаллической формой, гидратом или фармацевтически или косметически приемлемой солью.

[0090] Дополнительный вариант осуществления согласно настоящему изобретению представляет собой композицию. Композиция содержит одно или несколько соединений, перечисленных в Таблице 5 или на Фиг. 130, или их химический аналог, кристаллическую форму, гидрат или фармацевтически или косметически приемлемую соль.

[0091] Дополнительный вариант осуществления согласно настоящему изобретению представляет собой способ осветления кожи у субъекта. Способ включает в себя приведение субъекта в контакт с одним или несколькими соединениями, перечисленными в Таблице 5 или на Фиг. 130, или их химическим аналогом, кристаллической формой, гидратом или фармацевтически или косметически приемлемой солью.

[0092] Другой вариант осуществления согласно настоящему изобретению представляет собой способ индукции апоптоза меланоцитов у субъекта. Способ включает в себя приведение субъекта в контакт с одним или несколькими соединениями, перечисленными в Таблице 5 или на Фиг. 130, или их химическим аналогом, кристаллической формой, гидратом или фармацевтически или косметически приемлемой солью.

[0093] Дополнительный вариант осуществления согласно настоящему изобретению представляет собой способ модулирования активности рецептора ароматических

углеводородов (AhR) у субъекта. Способ включает в себя приведение субъекта в контакт с одним или несколькими соединениями, перечисленными в Таблице 5 или на Фиг. 130, или их химическим аналогом, кристаллической формой, гидратом или фармацевтически или косметически приемлемой солью.

[0094] Дополнительный вариант осуществления согласно настоящему изобретению представляет собой способ модулирования меланогенеза у субъекта. Способ включает в себя приведение субъекта в контакт с одним или несколькими соединениями, перечисленными в Таблице 5 или на Фиг. 130, или их химическим аналогом, кристаллической формой, гидратом или фармацевтически или косметически приемлемой солью.

[0095] Другой вариант осуществления согласно настоящему изобретению представляет собой способ модулирования концентрации меланина у субъекта. Способ включает в себя приведение субъекта в контакт с одним или несколькими соединениями, перечисленными в Таблице 5 или на Фиг. 130, или их химическим аналогом, кристаллической формой, гидратом или фармацевтически или косметически приемлемой солью.

[0096] Дополнительный вариант осуществления согласно настоящему изобретению представляет собой композицию. Композиция содержит одно или несколько соединений, перечисленных в Таблице 5 или на Фиг. 130, или их химический аналог, кристаллическую форму, гидрат или фармацевтически или косметически приемлемую соль.

[0097] Дополнительный вариант осуществления согласно настоящему изобретению представляет собой композицию для осветления кожи. Композиция содержит одно или несколько соединений, перечисленных в Таблице 5 или на Фиг. 130, или их химический аналог, кристаллическую форму, гидрат или фармацевтически или косметически приемлемую соль.

[0098] Другой вариант осуществления согласно настоящему изобретению представляет собой композицию для индукции апоптоза меланоцитов. Композиция содержит одно или несколько соединений, перечисленных в Таблице 5 или на Фиг. 130, или их химический аналог, кристаллическую форму, гидрат или фармацевтически или косметически приемлемую соль.

[0099] Дополнительный вариант осуществления согласно настоящему изобретению представляет собой композицию для модулирования активности рецептора ароматических углеводородов (AhR). Композиция содержит одно или несколько соединений, перечисленных в Таблице 5 или на Фиг. 130, или их химический аналог, кристаллическую форму, гидрат или фармацевтически или косметически приемлемую соль.

[0100] Дополнительный вариант осуществления согласно настоящему изобретению представляет собой композицию для модулирования меланогенеза. Композиция содержит одно или несколько соединений, перечисленных в Таблице 5 или на Фиг. 130, или их химический аналог, кристаллическую форму, гидрат или фармацевтически или косметически приемлемую соль.

[0101] Другой вариант осуществления согласно настоящему изобретению представляет собой композицию для модулирования концентрации меланина. Композиция содержит одно или несколько соединений, перечисленных в Таблице 5 или на Фиг. 130, или их химический аналог, кристаллическую форму, гидрат или фармацевтически или косметически приемлемую соль.

[0102] Дополнительный вариант осуществления согласно настоящему изобретению представляет собой способ осветления кожи у субъекта. Способ включает в себя приведение субъекта в контакт с композицией, причем данная композиция содержит одно или несколько соединений, перечисленных в Таблице 5 или на Фиг. 130, или их химический аналог, кристаллическую форму, гидрат или фармацевтически или косметически приемлемую соль.

[0103] Дополнительный вариант осуществления согласно настоящему изобретению представляет собой способ индукции апоптоза меланоцитов у субъекта. Способ включает в себя приведение субъекта в контакт с композицией, причем данная композиция содержит одно или несколько соединений, перечисленных в Таблице 5 или на Фиг. 130, или их химический аналог, кристаллическую форму, гидрат или фармацевтически или косметически приемлемую соль.

[0104] Другой вариант осуществления согласно настоящему изобретению представляет собой способ модулирования активности рецептора ароматических углеводородов (AhR) у субъекта. Способ включает в себя приведение субъекта в контакт с композицией, причем данная композиция содержит одно или несколько соединений, перечисленных в Таблице 5 или на Фиг. 130, или их химический аналог, кристаллическую форму, гидрат или фармацевтически или косметически приемлемую соль.

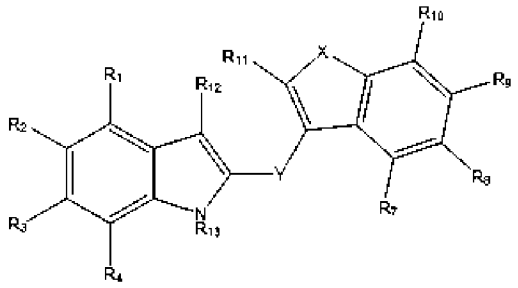
[0105] Дополнительный вариант осуществления согласно настоящему изобретению представляет собой способ модулирования меланогенеза у субъекта. Способ включает в себя приведение субъекта в контакт с композицией, причем данная композиция содержит одно или несколько соединений, перечисленных в Таблице 5 или на Фиг. 130, или их химический аналог, кристаллическую форму, гидрат или фармацевтически или косметически приемлемую соль.

Дополнительный вариант осуществления согласно настоящему изобретению представляет собой способ модулирования концентрации меланина у субъекта. Способ включает в себя приведение субъекта в контакт с композицией, причем данная композиция содержит одно или несколько соединений, перечисленных в Таблице 5 или на Фиг. 130, или их химический аналог, кристаллическую форму, гидрат или фармацевтически или косметически приемлемую соль.

[0106] Другой вариант осуществления согласно настоящему изобретению представляет собой композицию. Композиция содержит дрожжи *Malassezia* и косметически или фармацевтически приемлемую дрожжи несущую среду, разбавитель или носитель.

[0107] Дополнительный вариант осуществления согласно настоящему изобретению представляет собой композицию. Композиция содержит соединение, характеризующееся

структурой следующей формулы:



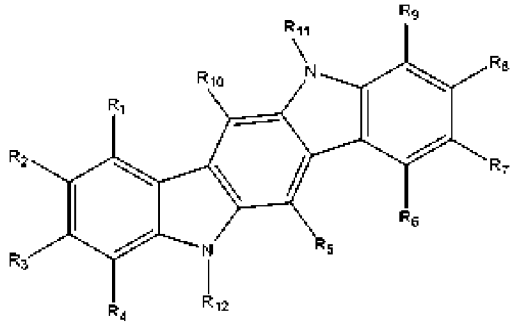
где:

X выбран из группы, состоящей из NR_{14} и O; Y представляет собой ковалентную связь, CR_5R_6, O или NR_{15}; R_1, R_2, R_3, R_4, R_7, R_8, R_9, R_{10} и R_{11} независимо выбраны из группы, состоящей из водорода, галогена, CN, гидроксила, R_{16} или OR_{16}; R_{13}, R_{14} и R_{15} независимо представляют собой водород или R_{16}; R_5 и R_6 независимо выбраны из группы, состоящей из водорода, гидроксила, OR_{16}, R_{16} и C_{3-6}циклоакила, или R_5 и R_6 объединены с формированием оксо (=O) группы или C_{3-6}циклоакила; R_{12} выбран из группы, состоящей из водорода, $-COR^a$ и R_{16}; каждый R_{16} независимо представляет собой формил, C_{1-9}алкил, C_{2-9}алкенил или C_{2-9}алкинил; и R^a выбран из группы, состоящей из водорода, гидроксила и OR_{16};

или его кристаллическую форму, гидрат или косметически или фармацевтически приемлемую соль,

и косметически или фармацевтически приемлемую несущую среду, разбавитель или носитель.

[0108] Дополнительный вариант осуществления согласно настоящему изобретению представляет собой композицию. Композиция содержит соединение, характеризующееся структурой следующей формулы:



где:

R_1, R_4, R_5, R_6, R_9 и R_{10} независимо выбраны из группы, состоящей из водорода, гидроксила, галогена, CN, R_{13}, OR_{13}, $OCOR_{13}$ и -CHO; R_2 и R_3 независимо выбраны из группы, состоящей из водорода, гидроксила, галогена, CN, R_{13}, OR_{13}, $OCOR_{13}$ и CHO, или R_2 и R_3 объединены с формированием 5- или 6-членного гетероциклила; R_7 и R_8 независимо выбраны из группы, состоящей из водорода, гидроксила, галогена, CN, R_{13}, OR_{13}, $OCOR_{13}$ и CHO, или R_7 и R_8 объединены с формированием 5- или 6-членного гетероциклила; R_{11} и R_{12} независимо представляют собой водород или R_{13}; и каждый R_{13} независимо

представляет собой C_{1-9}алкил, C_{2-9}алкенил или C_{2-9}алкинил;

или его кристаллическую форму, гидрат или косметически или фармацевтически приемлемую соль,

и косметически или фармацевтически приемлемую несущую среду, разбавитель или носитель.

[0109] Другой вариант осуществления согласно настоящему изобретению представляет собой композицию. Композиция содержит соединение, перечисленное в Таблице 5 или на Фиг. 130, или его химический аналог, кристаллическую форму, гидрат или косметически или фармацевтически приемлемую соль,

и косметически или фармацевтически приемлемую несущую среду, разбавитель или носитель.

[0110] Дополнительный вариант осуществления согласно настоящему изобретению представляет собой способ лечения или предупреждения УФ-индуцированного повреждения кожи у субъекта. Способ включает в себя приведение субъекта в контакт с любой из композиций, раскрытых в настоящем документе.

[0111] Дополнительный вариант осуществления согласно настоящему изобретению представляет собой способ лечения или предупреждения УФ-индуцированной эритемы у субъекта. Способ включает в себя приведение субъекта в контакт с любой из композиций, раскрытых в настоящем документе.

[0112] Другой вариант осуществления согласно настоящему изобретению представляет собой способ лечения или предупреждения УФ-индуцированного старения кожи у субъекта. Способ включает в себя приведение субъекта в контакт с любой из композиций, раскрытых в настоящем документе.

[0113] Дополнительный вариант осуществления согласно настоящему изобретению представляет собой способ лечения или предупреждения солнечного ожога у субъекта. Способ включает в себя приведение субъекта в контакт с любой из композиций, раскрытых в настоящем документе.

[0114] Дополнительный вариант осуществления согласно настоящему изобретению представляет собой способ лечения или предупреждения УФ-индуцированной гиперпигментации у субъекта. Способ включает в себя приведение субъекта в контакт с любой из композиций, раскрытых в настоящем документе.

[0115] Другой вариант осуществления согласно настоящему изобретению представляет собой способ осветления кожи у субъекта. Способ включает в себя приведение субъекта в контакт с любой из композиций, раскрытых в настоящем документе.

[0116] Дополнительный вариант осуществления согласно настоящему изобретению представляет собой способ индукции апоптоза меланоцитов у субъекта. Способ включает в себя приведение субъекта в контакт с любой из композиций, раскрытых в настоящем документе.

[0117] Дополнительный вариант осуществления согласно настоящему изобретению представляет собой способ модулирования активности рецептора ароматических

углеводородов (AhR) у субъекта. Способ включает в себя приведение субъекта в контакт с любой из композиций, раскрытых в настоящем документе.

[0118] Другой вариант осуществления согласно настоящему изобретению представляет собой способ модулирования меланогенеза у субъекта. Способ включает в себя приведение субъекта в контакт с любой из композиций, раскрытых в настоящем документе.

[0119] Дополнительный вариант осуществления согласно настоящему изобретению представляет собой способ модулирования концентрации меланина у субъекта. Способ включает в себя приведение субъекта в контакт с любой из композиций, раскрытых в настоящем документе.

КРАТКОЕ ОПИСАНИЕ ЧЕРТЕЖЕЙ

[0120] Файл патента или заявки содержит по меньшей мере один чертеж, выполненный в цвете. Копии настоящего патента или публикации заявки на выдачу патента будут предоставлены Офисом после запроса и внесения необходимой платы.

[0121] Фиг. 1A представляет собой схематическое изображение составляющих кожу слоев. На вставке представлен клеточный состав эпидермиса и дермы. Фиг. 1B представляет собой схематическое изображение потенциальных механизмов действия средств, вызывающих гипопигментацию.

[0122] Фиг. 2 представляет собой ряд схем синтеза малассезина и производных малассезина: Фиг. 2A: малассезин и индоло[3,2-b]карбазол; Фиг. 2B: соединения I и IV; Фиг. 2C: соединение II.

[0123] Фиг. 3A представляет собой сводную таблицу, в которой представлены значения EC_{50} для определенных соединений согласно настоящему изобретению применительно к индукции мечения аннексином V в клетках MeWo и WM115. Фиг. 3B-3M представляют собой линейные диаграммы, на которых представлены выраженное в процентах количество клеток MeWo (Фиг. 3B-3G) или WM115 (Фиг. 3H-3M), меченых аннексином V после воздействия различными концентрациями перечисленных соединений.

[0124] Фиг. 4A-4D представляют собой таблицы, в которых представлены значения относительного содержания аннексина V (%) в клетках MeWo и WM115 после воздействия различными концентрациями перечисленных соединений в течение 6, 24, 48 и 72 часов. Фиг. 4E-4J представляют собой гистограммы, на которых представлены результаты, приведенные на Фиг. 4A-4D. Фиг. 4K и 4L представляют собой гистограммы, на которых представлены выраженные в процентах доли клеток MeWo (Фиг. 4K) и WM115 (Фиг. 4L), меченых аннексином V, после воздействия в течение 6 часов перечисленными соединениями в указанных концентрациях.

[0125] Фиг. 5A-5K представляют собой микрофотографии, демонстрирующие морфологию клеток MeWo после воздействия различными концентрациями соединений CV-8684, CV-8685, CV-8688, DMSO и стауроспорина в течение 6 часов.

[0126] Фиг. 6A-6K представляют собой микрофотографии, демонстрирующие морфологию клеток MeWo после воздействия различными концентрациями соединений

CV-8684, CV-8685, CV-8688, DMSO и стауроспорина в течение 24 часов.

[0127] Фиг. 7A-7K представляют собой микрофотографии, демонстрирующие морфологию клеток MeWo после воздействия различными концентрациями соединений CV-8684, CV-8685, CV-8688, DMSO и стауроспорина в течение 48 часов.

[0128] Фиг. 8A-8K представляют собой микрофотографии, демонстрирующие морфологию клеток MeWo после воздействия различными концентрациями соединений CV-8684, CV-8685, CV-8688, DMSO и стауроспорина в течение 72 часов.

[0129] Фиг. 9A-9K представляют собой микрофотографии, демонстрирующие морфологию клеток WM115 после воздействия различными концентрациями соединений CV-8684, CV-8685, CV-8688, DMSO и стауроспорина в течение 6 часов.

[0130] Фиг. 10A-10K представляют собой микрофотографии, демонстрирующие морфологию клеток WM115 после воздействия различными концентрациями соединений CV-8684, CV-8685, CV-8688, DMSO и стауроспорина в течение 24 часов.

[0131] Фиг. 11A-11K представляют собой микрофотографии, демонстрирующие морфологию клеток WM115 после воздействия различными концентрациями соединений CV-8684, CV-8685, CV-8688, DMSO и стауроспорина в течение 48 часов.

[0132] Фиг. 12A-12K представляют собой микрофотографии, демонстрирующие морфологию клеток WM115 после воздействия различными концентрациями соединений CV-8684, CV-8685, CV-8688, DMSO и стауроспорина в течение 72 часов.

[0133] Фиг. 13A-13D представляют собой таблицы, в которых представлен процент жизнеспособных клеток MeWo и WM115 после обработки различными концентрациями соединений CV-8684 (Фиг. 13A), CV-8685 (Фиг. 13B), CV-8688 (Фиг. 13C) или стауроспорина (Фиг. 13D) в течение 6, 24, 48 и 72 часов. Жизнеспособность клеток анализировали с использованием CellTiter-Glo®. Фиг. 13E-13J представляют собой гистограммы, на которых представлены результаты, приведенные на Фиг. 13A-13D. Фиг. 13K представляет собой сводную таблицу, в которой сравнивается процент жизнеспособных клеток MeWo и WM115 после воздействия перечисленными концентрациями малассезина, индолокарбазола, соединения II и стауроспорина в течение 24, 48 и 72 часов.

[0134] Фиг. 14A-14D представляют собой таблицы, в которых представлены уровни высвобождения лактатдегидрогеназы («LDH») из клеток MeWo и WM115 после обработки различными концентрациями соединений CV-8684 (Фиг. 14A), CV-8685 (Фиг. 14B), CV-8688 (Фиг. 14C) или стауроспорин (Фиг. 14D) в течение 6, 24, 48 и 72 часов. Фиг. 14E-14J представляют собой гистограммы, на которых представлены результаты, приведенные на Фиг. 14A-14D. Фиг. 14K и 14L представляют собой гистограммы, на которых представлены уровни лактатдегидрогеназы после воздействия на клетки MeWo (Фиг. 14K) и WM115 (Фиг. 14L) перечисленными концентрациями малассезина, карбазола, соединения II и стауроспорина в течение 24 часов.

[0135] На Фиг. 15A-15E представлены исходные данные и линейные диаграммы активации рецептора ароматических углеводородов («AhR») в клетках HepG2, стабильно

трансфицированных плазмидой с AhR-чувствительным репортерным геном люциферазы, после воздействия различными концентрациями омепразола (Фиг. 15A), соединений CV-8684 (Фиг. 15B), CV-8685 (Фиг. 15C), CV-8686 (Фиг. 15D) и CV-8688 (Фиг. 15E). На Фиг. 15F представлены значения EC_{50} для каждого протестированного соединения.

[0136] Фиг. 16A-16K представляют собой матрицы MelanoDerm™ на сутки 0 или на сутки 7 при отсутствии воздействия (Фиг. 16A), после воздействия стерильной деионизированной водой (Фиг. 16B), 1% койевой кислотой (Фиг. 16C), 0,2% DMSO (Фиг. 16D), 0,05% DMSO (Фиг. 16E), 200 мкМ соединения CV-8684 (Фиг. 16F), 50 мкМ соединения CV-8684 (Фиг. 16G), 200 мкМ соединения CV-8686 (Фиг. 16H), 50 мкМ соединения CV-8686 (Фиг. 16I), 200 мкМ соединения CV-8688 (Фиг. 16J) и 50 мкМ соединения CV-8688 (Фиг. 16K).

[0137] Фиг. 17A-17K представляют собой выполненные с 15× увеличением микрофотографии матриц MelanoDerm™ на сутки 0 или на сутки 7 при отсутствии воздействия (Фиг. 17A), после воздействия стерильной деионизированной водой (Фиг. 17B), 1% койевой кислотой (Фиг. 17C), 0,2% DMSO (Фиг. 17D), 0,05% DMSO (Фиг. 17E), 200 мкМ соединения CV-8684 (Фиг. 17F), 50 мкМ соединения CV-8684 (Фиг. 17G), 200 мкМ соединения CV-8686 (Фиг. 17H), 50 мкМ соединения CV-8686 (Фиг. 17I), 200 мкМ соединения CV-8688 (Фиг. 17J) и 50 мкМ соединения CV-8688 (Фиг. 17K).

[0138] Фиг. 18A-18F представляют собой фотографии данио без обработки (Фиг. 18A), подвергнутых обработке DMSO (Фиг. 18B), фенилтиомочевиной («PTU») (Фиг. 18C) и соединением II в концентрациях 2,5 мкМ (Фиг. 18D), 5 мкМ (Фиг. 18E) и 10 мкМ (Фиг. 18F). Красные стрелки указывают на нормальные меланоциты.

[0139] Фиг. 19A-19F представляют собой фотографии данио без обработки (Фиг. 19A), подвергнутых обработке DMSO (Фиг. 19B), фенилтиомочевиной («PTU») (Фиг. 19C) и соединением II в концентрациях 0,3 мкМ (Фиг. 19D), 1 мкМ (Фиг. 19E) и 3 мкМ (Фиг. 19F). Красные стрелки указывают на нормальные меланоциты. Желтые стрелки указывают на аномально малые меланоциты.

[0140] Фиг. 20 представляет собой сводную таблицу, в которой представлено число и выраженная в процентах доля данио со сниженной пигментацией кожи после воздействия перечисленными условиями. На последних шести столбцах представлены эффекты различных концентраций соединения II.

Фиг. 21A-21E представляют собой фотографии данио без обработки (Фиг. 21A), подвергнутых обработке DMSO (Фиг. 21B), PTU (Фиг. 21C), 0,5 мкМ (Фиг. 21D) и 1,5 мкМ (Фиг. 21E). На нижних панелях представлены участки инверсии цветовой гаммы.

[0141] Фиг. 22A и 22B представляют собой гистограммы, на которых представлена плотность пигментации, измеренная в пигментированных пикселях/мм^3 (Фиг. 22A) и общих пикселях (Фиг. 22B) исходя из фотографий эмбрионов данио, представленных на Фиг. 21A-21E.

[0142] Фиг. 23A-23C представляют собой масс-спектры соединения CV-8684 в DMSO (Фиг. 23A), средах RPMI (Фиг. 23B) и DMEM (Фиг. 23C). Фиг. 23D-23F

представляют собой масс-спектры соединения CV-8686 в DMSO (Фиг. 23D), средах RPMI (Фиг. 23E) и DMEM (Фиг. 23F). Фиг. 23G-23I представляют собой масс-спектры соединения CV-8688 в DMSO (Фиг. 23G), средах RPMI (Фиг. 23H) и DMEM (Фиг. 23I). Фиг. 23J представляет собой сводную таблицу, в которой представлена выраженная в процентах доля тестируемого соединения, оставшегося в перечисленном растворителе после инкубации в течение 2 часов.

[0143] На Фиг. 24A-24S представлены схемы синтеза производных малассезина согласно настоящему изобретению: Фиг. 24A: соединение C (CV-8802); Фиг. 24B: соединение K (CV-8803); Фиг. 24C: соединение A (CV-8804); Фиг. 24D: соединение E (AB12508); Фиг. 24E: соединение A5 (CV-8819); Фиг. 24F: соединение H (AB12509); Фиг. 24G: соединение B (CV-8877); Фиг. 24H: соединение B10; Фиг. 24I: соединение AB11644; Фиг. 24J: O52 (AB12976); Фиг. 24K: *Malassezia* индол A (AB17011); Фиг. 24L: питириацитрин (AB17014); Фиг. 24M: AB17151; Фиг. 24N: соединение VI (AB17225); Фиг. 24O: *Malassezia* молочная кислота (AB17227); Фиг. 24P: AB12507; Фиг. 24Q: соединение V (AB17219); Фиг. 24R: соединение VIII (AB17220) и Фиг. 24S: соединение VII (AB17221).

[0144] На Фиг. 25A-25D представлены таблицы данных, содержащие выраженные в процентах доли аннексин V-положительных клеток через 6 часов (Фиг. 25A), 24 часа (Фиг. 25B), 48 часов (Фиг. 25C) и 72 часа (Фиг. 25D) после воздействия представленными вариантами обработки.

[0145] На Фиг. 26A-26D представлены таблицы данных, содержащие значения кратности индукции каспазы-3/7 через 6 часов (Фиг. 26A), 24 часа (Фиг. 26B), 48 часов (Фиг. 26C) и 72 часа (Фиг. 26D) после воздействия представленными вариантами обработки.

[0146] На Фиг. 27A-27B представлены выраженные в процентах значения жизнеспособности оставшихся клеток для клеток MeWo (Фиг. 27A) и WM115 (Фиг. 27B) после воздействия соединением AB12508 (соединение E).

[0147] На Фиг. 28A-28B представлены выраженные в процентах значения жизнеспособности оставшихся клеток для клеток MeWo (Фиг. 28A) и WM115 (Фиг. 28B) после воздействия неизвестной композицией.

[0148] На Фиг. 29A-29B представлены выраженные в процентах значения жизнеспособности оставшихся клеток для клеток MeWo (Фиг. 29A) и WM115 (Фиг. 29B) после воздействия соединением CV-8803 (соединение K).

[0149] На Фиг. 30A-30B представлены выраженные в процентах значения жизнеспособности оставшихся клеток для клеток MeWo (Фиг. 30A) и WM115 (Фиг. 30B) после воздействия соединением CV-8804 (соединение A).

[0150] На Фиг. 31A-31B представлены выраженные в процентах значения жизнеспособности оставшихся клеток для клеток MeWo (Фиг. 31A) и WM115 (Фиг. 31B) после воздействия соединением CV-8684 (малассезин).

[0151] На Фиг. 32A-32B представлены выраженные в процентах значения жизнеспособности оставшихся клеток для клеток MeWo (Фиг. 32A) и WM115 (Фиг. 32B)

после воздействия соединением CV-8685 (индоло[3,2-b]карбазол).

[0152] На Фиг. 33A-33B представлены выраженные в процентах значения жизнеспособности оставшихся клеток для клеток MeWo (Фиг. 33A) и WM115 (Фиг. 33B) после воздействия соединением CV-8686 (соединение I).

[0153] На Фиг. 34A-34B представлены выраженные в процентах значения жизнеспособности оставшихся клеток для клеток MeWo (Фиг. 34A) и WM115 (Фиг. 34B) после воздействия соединением CV-8688 (соединение II).

[0154] На Фиг. 35A-35B представлены выраженные в процентах значения жизнеспособности оставшихся клеток для клеток MeWo (Фиг. 35A) и WM115 (Фиг. 35B) после воздействия стауроспорином.

[0155] На Фиг. 36A представлены полученные при анализе с HepG2-AhR-Luc результаты активности AhR после воздействия различными концентрациями омепразола. Фиг. 36B представляет собой линейную диаграмму на основе данных, представленных на Фиг. 36A, тогда как на вставке представлены измеренные значения EC_{50}.

[0156] На Фиг. 37A представлены полученные при анализе с HepG2-AhR-Luc результаты активности AhR после воздействия различными концентрациями соединения CV-8684 (малассезин). Фиг. 37B представляет собой линейную диаграмму на основе данных, представленных на Фиг. 37A, тогда как на вставке представлены измеренные значения EC_{50}.

[0157] На Фиг. 38A представлены полученные при анализе с HepG2-AhR-Luc результаты активности AhR после воздействия различными концентрациями соединения CV-8685 (индоло[3,2-b]карбазол). Фиг. 38B представляет собой линейную диаграмму на основе данных, представленных на Фиг. 38A, тогда как на вставке представлены измеренные значения EC_{50}.

[0158] На Фиг. 39A представлены полученные при анализе с HepG2-AhR-Luc результаты активности AhR после воздействия различными концентрациями соединения CV-8686 (соединение I). Фиг. 39B представляет собой линейную диаграмму на основе данных, представленных на Фиг. 39A, тогда как на вставке представлены измеренные значения EC_{50}.

[0159] На Фиг. 40A представлены полученные при анализе с HepG2-AhR-Luc результаты активности AhR после воздействия различными концентрациями неизвестной композиции. Фиг. 40B представляет собой линейную диаграмму на основе данных, представленных на Фиг. 40A, тогда как на вставке представлены измеренные значения EC_{50}.

[0160] На Фиг. 41A представлены полученные при анализе с HepG2-AhR-Luc результаты активности AhR после воздействия различными концентрациями соединения CV-8803 (соединение K). Фиг. 41B представляет собой линейную диаграмму на основе данных, представленных на Фиг. 41A, тогда как на вставке представлены измеренные значения EC_{50}.

[0161] На Фиг. 42A представлены полученные при анализе с HepG2-AhR-Luc результаты активности AhR после воздействия различными концентрациями соединения

CV-8804 (соединение A). Фиг. 42B представляет собой линейную диаграмму на основе данных, представленных на Фиг. 42A, тогда как на вставке представлены измеренные значения EC_{50}.

[0162] На Фиг. 43A представлены полученные при анализе с HepG2-AhR-Luc результаты активности AhR после воздействия различными концентрациями соединения AB12508 (соединение E). Фиг. 43B представляет собой линейную диаграмму на основе данных, представленных на Фиг. 43A, тогда как на вставке представлены измеренные значения EC_{50}.

[0163] На Фиг. 44A представлены полученные при анализе с HepG2-AhR-Luc результаты активности AhR после воздействия различными концентрациями соединения CV-8688 (соединение II). Фиг. 44B представляет собой линейную диаграмму на основе данных, представленных на Фиг. 44A, тогда как на вставке представлены измеренные значения EC_{50}.

[0164] На Фиг. 45A представлены полученные при анализе с HepG2-AhR-Luc результаты активности AhR после воздействия различными концентрациями омепразола. Фиг. 45B представляет собой линейную диаграмму на основе данных, представленных на Фиг. 45A.

[0165] На Фиг. 46A представлены полученные при анализе с HepG2-AhR-Luc результаты активности AhR после воздействия различными концентрациями неизвестной композиции. Фиг. 46B представляет собой линейную диаграмму на основе данных, представленных на Фиг. 46A.

[0166] На Фиг. 47A представлены полученные при анализе с HepG2-AhR-Luc результаты активности AhR после воздействия различными концентрациями 2,3,7,8-тетрахлордибензодиоксина (TCDD). Фиг. 47B представляет собой линейную диаграмму на основе данных, представленных на Фиг. 47A.

[0167] На Фиг. 48A представлены полученные при анализе с HepG2-AhR-Luc результаты активности AhR после воздействия различными концентрациями соединения CV-8819 (соединение A5). Фиг. 48B представляет собой линейную диаграмму на основе данных, представленных на Фиг. 48A.

[0168] На Фиг. 49A представлены полученные при анализе с HepG2-AhR-Luc результаты активности AhR после воздействия различными концентрациями соединения CV-8684 (малассезин). Фиг. 49B представляет собой линейную диаграмму на основе данных, представленных на Фиг. 49A.

[0169] На Фиг. 50A представлены полученные при анализе с HepG2-AhR-Luc результаты активности AhR после воздействия различными концентрациями соединения AB12508 (соединение E). Фиг. 50B представляет собой линейную диаграмму на основе данных, представленных на Фиг. 50A.

[0170] На Фиг. 51A представлены полученные при анализе с HepG2-AhR-Luc результаты активности AhR после воздействия различными концентрациями соединения CV-8686 (соединение I). Фиг. 51B представляет собой линейную диаграмму на основе

данных, представленных на Фиг. 51A.

[0171] На Фиг. 52A представлены полученные при анализе с HepG2-AhR-Luc результаты активности AhR после воздействия различными концентрациями соединения AB12509 (соединение H). Фиг. 52B представляет собой линейную диаграмму на основе данных, представленных на Фиг. 52A.

[0172] На Фиг. 53A представлены полученные при анализе с HepG2-AhR-Luc результаты активности AhR после воздействия различными концентрациями соединения CV-8688 (соединение II). Фиг. 53B представляет собой линейную диаграмму на основе данных, представленных на Фиг. 53A.

[0173] На Фиг. 54A представлены полученные при анализе с HepG2-AhR-Luc результаты активности AhR после воздействия различными концентрациями соединения CV-8877 (соединение B). Фиг. 54B представляет собой линейную диаграмму на основе данных, представленных на Фиг. 54A.

[0174] На Фиг. 55A представлены полученные при анализе с HepG2-AhR-Luc результаты активности AhR после воздействия различными концентрациями соединения CV-8685 (индоло[3,2-b]карбазол). Фиг. 55B представляет собой линейную диаграмму на основе данных, представленных на Фиг. 55A.

[0175] На Фиг. 56A представлены полученные при анализе с HepG2-AhR-Luc результаты активности AhR после воздействия различными концентрациями соединения B10. Фиг. 56B представляет собой линейную диаграмму на основе данных, представленных на Фиг. 56A.

[0176] На Фиг. 57A представлены полученные при анализе с HepG2-AhR-Luc результаты активности AhR после воздействия различными концентрациями соединения CV-8687 (соединение IV). Фиг. 57B представляет собой линейную диаграмму на основе данных, представленных на Фиг. 57A.

[0177] На Фиг. 58A представлены полученные при анализе с HepG2-AhR-Luc результаты активности AhR после воздействия различными концентрациями омепразола. Фиг. 58B представляет собой линейную диаграмму на основе данных, представленных на Фиг. 58A.

[0178] На Фиг. 59A представлены полученные при анализе с HepG2-AhR-Luc результаты активности AhR после воздействия различными концентрациями TCDD. Фиг. 59B представляет собой линейную диаграмму на основе данных, представленных на Фиг. 59A.

[0179] На Фиг. 60A представлены полученные при анализе с HepG2-AhR-Luc результаты активности AhR после воздействия различными концентрациями предшественника малассезина. Фиг. 60B представляет собой линейную диаграмму на основе данных, представленных на Фиг. 60A.

[0180] На Фиг. 61A представлены полученные при анализе с HepG2-AhR-Luc результаты активности AhR после воздействия различными концентрациями соединения AB11644. Фиг. 61B представляет собой линейную диаграмму на основе данных,

представленных на Фиг. 61A.

[0181] На Фиг. 62A представлены полученные при анализе с HepG2-AhR-Luc результаты активности AhR после воздействия различными концентрациями 3-метилхолантрена (3-MC). Фиг. 62B представляет собой линейную диаграмму на основе данных, представленных на Фиг. 62A.

[0182] На Фиг. 63A представлены полученные при анализе с HepG2-AhR-Luc результаты активности AhR после воздействия различными концентрациями соединения AB12976 (O52). Фиг. 63B представляет собой линейную диаграмму на основе данных, представленных на Фиг. 63A.

[0183] На Фиг. 64A представлены полученные при анализе с HepG2-AhR-Luc результаты активности AhR после воздействия различными концентрациями соединения AB17011 (*Malassezia* индол A). Фиг. 64B представляет собой линейную диаграмму на основе данных, представленных на Фиг. 64A.

[0184] На Фиг. 65A представлены полученные при анализе с HepG2-AhR-Luc результаты активности AhR после воздействия различными концентрациями соединения AB17014 (питириацитрин). Фиг. 65B представляет собой линейную диаграмму на основе данных, представленных на Фиг. 65A.

[0185] На Фиг. 66A представлены полученные при анализе с HepG2-AhR-Luc результаты активности AhR после воздействия различными концентрациями соединения AB17151. Фиг. 66B представляет собой линейную диаграмму на основе данных, представленных на Фиг. 66A.

[0186] На Фиг. 67A представлены полученные при анализе с HepG2-AhR-Luc результаты активности AhR после воздействия различными концентрациями соединения AB17225. Фиг. 67B представляет собой линейную диаграмму на основе данных, представленных на Фиг. 67A.

[0187] Фиг. 68 представляет собой таблицу, в которой представлены данные анализа жизнеспособности с MTT, полученные на субстратах MelanoDerm™, обработанных различными концентрациями представленных соединений.

[0188] Фиг. 69 представляет собой таблицу, в которой представлены данные анализа концентрации меланина, полученные на субстратах MelanoDerm™, обработанных различными концентрациями представленных соединений.

[0189] На Фиг. 70 представлены макроскопические фотографии образцов MelanoDerm™, обработанных соединениями CV-8686 (соединение I) и AB11644, полученные на указанные сутки, на которые образцы подвергались указанным воздействиям.

[0190] На Фиг. 71 представлены типичные микроскопические (15×) фотографии образцов MelanoDerm™, обработанных соединениями CV-8686 (соединение I) и AB11644, полученные на указанные сутки, на которые образцы подвергались указанным воздействиям.

[0191] На Фиг. 72 представлены типичные микроскопические (15×) фотографии

образцов MelanoDerm™, обработанных соединением CV-8686 (соединение I) и койевой кислотой, полученные на указанные сутки, на которые образцы подвергались указанным воздействиям.

[0192] На Фиг. 73 представлены макроскопические фотографии образцов MelanoDerm™, обработанных соединением CV-8686 (соединение I) и койевой кислотой, полученные на указанные сутки, на которые образцы подвергались указанным воздействиям.

[0193] На Фиг. 74 представлены макроскопические фотографии образцов MelanoDerm™, обработанных соединением CV-8686 (соединение I) и койевой кислотой, полученные на указанные сутки, на которые образцы подвергались указанным воздействиям.

[0194] На Фиг. 75 представляет собой таблицу, в которой представлены данные относительно средней жизнеспособности тканей и концентрации меланина, полученные на субстратах MelanoDerm™, обработанных различными концентрациями представленных соединений. Если в обозначении спонсора стоит пустое поле, то образец представлял собой неизвестную композицию.

[0195] На Фиг. 76 представлены макроскопические фотографии образцов MelanoDerm™, подвергнутых указанным видам обработки, полученные на указанные сутки.

[0196] На Фиг. 77 представлены макроскопические фотографии образцов MelanoDerm™, подвергнутых указанным видам обработки, полученные на сутки 7 после обработки. Если в названии соединения стоит пустое поле, то образец представлял собой неизвестную композицию.

[0197] На Фиг. 78 представлены типичные микроскопические (15×) фотографии образцов MelanoDerm™, подвергнутых указанным видам обработки, полученные на указанные сутки.

[0198] На Фиг. 79 представлены типичные микроскопические (15×) фотографии образцов MelanoDerm™, подвергнутых указанным видам обработки, полученные на указанные сутки. Если в названии соединения стоит пустое поле, то образец представлял собой неизвестную композицию.

[0199] На Фиг. 80-87 представлены типичные макроскопические фотографии образцов MelanoDerm™, подвергнутых указанным видам обработки, полученные на сутки 7. На Фиг. 85, где в названии соединения стоит пустое поле, образец представлял собой неизвестную композицию.

[0200] Фиг. 88 представляет собой таблицу, в которой представлены средние значения жизнеспособности тканей и концентрации меланина, полученные на субстратах MelanoDerm™, обработанных различными концентрациями представленных соединений.

[0201] На Фиг. 89A-89X представлены гистограммы с выраженными в процентах значениями жизнеспособности и изменения содержания меланина в меланоцитах B16 после представленных вариантов обработки. На Фиг. 89M-89N, где название соединения

представляет собой пустое поле, образец представлял собой неизвестную композицию.

[0202] На Фиг. 90A, 90C и 90E представлены таблицы данных, содержащие выраженную в процентах долю аннексин V-положительных клеток B16F1 (Фиг. 90A), клеток MeWo (Фиг. 90C) и клеток WM115 (Фиг. 90E) после воздействия стауроспорином в течение 6, 24, 48 и 72 часов. На Фиг. 90B, 90D и 90F представлены таблицы данных, содержащие выраженную в процентах долю пропидий йодид (PI)-положительных клеток B16F1 (Фиг. 90B), клеток MeWo (Фиг. 90D) и клеток WM115 (Фиг. 90F) после воздействия стауроспорином в течение 6, 24, 48 и 72 часов.

[0203] На Фиг. 91A, 91C и 91E представлены таблицы данных, содержащие выраженную в процентах долю аннексин V-положительных клеток B16F1 (Фиг. 91A), клеток MeWo (Фиг. 91C) и клеток WM115 (Фиг. 91E) после воздействия соединением H (AB12509) в течение 6, 24, 48 и 72 часов. На Фиг. 91B, 91D и 91F представлены таблицы данных, содержащие выраженную в процентах долю пропидий йодид (PI)-положительных клеток B16F1 (Фиг. 91B), клеток MeWo (Фиг. 91D) и клеток WM115 (Фиг. 91F) после воздействия соединением H (AB12509) в течение 6, 24, 48 и 72 часов.

[0204] На Фиг. 92A, 92C и 92E представлены таблицы данных, содержащие выраженную в процентах долю аннексин V-положительных клеток B16F1 (Фиг. 92A), клеток MeWo (Фиг. 92C) и клеток WM115 (Фиг. 92E) после воздействия малассезином (CV-8684) в течение 6, 24, 48 и 72 часов. На Фиг. 92B, 92D и 92F представлены таблицы данных, содержащие выраженную в процентах долю пропидий йодид (PI)-положительных клеток B16F1 (Фиг. 92B), клеток MeWo (Фиг. 92D) и клеток WM115 (Фиг. 92F) после воздействия малассезином (CV-8684) в течение 6, 24, 48 и 72 часов.

[0205] На Фиг. 93A, 93C и 93E представлены таблицы данных, содержащие выраженную в процентах долю аннексин V-положительных клеток B16F1 (Фиг. 93A), клеток MeWo (Фиг. 93C) и клеток WM115 (Фиг. 93E) после воздействия соединением B (CV-8877) в течение 6, 24, 48 и 72 часов. На Фиг. 93B, 93D и 93F представлены таблицы данных, содержащие выраженную в процентах долю пропидий йодид (PI)-положительных клеток B16F1 (Фиг. 93B), клеток MeWo (Фиг. 93D) и клеток WM115 (Фиг. 93F) после воздействия соединением B (CV-8877) в течение 6, 24, 48 и 72 часов.

[0206] На Фиг. 94A, 94C и 94E представлены таблицы данных, содержащие выраженную в процентах долю аннексин V-положительных клеток B16F1 (Фиг. 94A), клеток MeWo (Фиг. 94C) и клеток WM115 (Фиг. 94E) после воздействия соединением I (CV-8686) в течение 6, 24, 48 и 72 часов. На Фиг. 94B, 94D и 94F представлены таблицы данных, содержащие выраженную в процентах долю пропидий йодид (PI)-положительных клеток B16F1 (Фиг. 94B), клеток MeWo (Фиг. 94D) и клеток WM115 (Фиг. 94F) после воздействия соединением I (CV-8686) в течение 6, 24, 48 и 72 часов.

[0207] На Фиг. 95A, 95C и 95E представлены таблицы данных, содержащие выраженную в процентах долю аннексин V-положительных клеток B16F1 (Фиг. 95A), клеток MeWo (Фиг. 95C) и клеток WM115 (Фиг. 95E) после воздействия соединением B10 в течение 6, 24, 48 и 72 часов. На Фиг. 95B, 95D и 95F представлены таблицы данных,

содержащие выраженную в процентах долю пропидий йодид (PI)-положительных клеток B16F1 (Фиг. 95B), клеток MeWo (Фиг. 95D) и клеток WM115 (Фиг. 95F) после воздействия соединением B10 в течение 6, 24, 48 и 72 часов.

[0208] На Фиг. 96A, 96C и 96E представлены таблицы данных, содержащие выраженную в процентах долю аннексин V-положительных клеток B16F1 (Фиг. 96A), клеток MeWo (Фиг. 96C) и клеток WM115 (Фиг. 96E) после воздействия соединением II (CV-8688) в течение 6, 24, 48 и 72 часов. На Фиг. 96B, 96D и 96F представлены таблицы данных, содержащие выраженную в процентах долю пропидий йодид (PI)-положительных клеток B16F1 (Фиг. 96B), клеток MeWo (Фиг. 96D) и клеток WM115 (Фиг. 96F) после воздействия соединением II (CV-8688) в течение 6, 24, 48 и 72 часов.

[0209] На Фиг. 97A, 97C и 97E представлены таблицы данных, содержащие выраженную в процентах долю аннексин V-положительных клеток B16F1 (Фиг. 97A), клеток MeWo (Фиг. 97C) и клеток WM115 (Фиг. 97E) после воздействия предшественником малассезина в течение 6, 24, 48 и 72 часов. На Фиг. 97B, 97D и 97F представлены таблицы данных, содержащие выраженную в процентах долю пропидий йодид (PI)-положительных клеток B16F1 (Фиг. 97B), клеток MeWo (Фиг. 97D) и клеток WM115 (Фиг. 97F) после воздействия предшественником малассезина в течение 6, 24, 48 и 72 часов.

[0210] На Фиг. 98A, 98C и 98E представлены таблицы данных, содержащие выраженную в процентах долю аннексин V-положительных клеток B16F1 (Фиг. 98A), клеток MeWo (Фиг. 98C) и клеток WM115 (Фиг. 98E) после воздействия индоло[3,2-b]карбазолом (CV-8685) в течение 6, 24, 48 и 72 часов. На Фиг. 98B, 98D и 98F представлены таблицы данных, содержащие выраженную в процентах долю пропидий йодид (PI)-положительных клеток B16F1 (Фиг. 98B), клеток MeWo (Фиг. 98D) и клеток WM115 (Фиг. 98F) после воздействия индоло[3,2-b]карбазолом (CV-8685) в течение 6, 24, 48 и 72 часов.

[0211] На Фиг. 99A, 99C и 99E представлены таблицы данных, содержащие выраженную в процентах долю аннексин V-положительных клеток B16F1 (Фиг. 99A), клеток MeWo (Фиг. 99C) и клеток WM115 (Фиг. 99E) после воздействия соединением AB17151 в течение 6, 24, 48 и 72 часов. На Фиг. 99B, 99D и 99F представлены таблицы данных, содержащие выраженную в процентах долю пропидий йодид (PI)-положительных клеток B16F1 (Фиг. 99B), клеток MeWo (Фиг. 99D) и клеток WM115 (Фиг. 99F) после воздействия соединением AB17151 в течение 6, 24, 48 и 72 часов.

[0212] На Фиг. 100A, 100C и 100E представлены таблицы данных, содержащие выраженную в процентах долю аннексин V-положительных клеток B16F1 (Фиг. 100A), клеток MeWo (Фиг. 100C) и клеток WM115 (Фиг. 100E) после воздействия соединением IV (CV-8687) в течение 6, 24, 48 и 72 часов. На Фиг. 100B, 100D и 100F представлены таблицы данных, содержащие выраженную в процентах долю пропидий йодид (PI)-положительных клеток B16F1 (Фиг. 100B), клеток MeWo (Фиг. 100D) и клеток WM115 (Фиг. 100F) после воздействия соединением IV (CV-8687) в течение 6, 24, 48 и 72 часов.

[0213] На Фиг. 101A, 101C и 101E представлены таблицы данных, содержащие выраженную в процентах долю аннексин V-положительных клеток B16F1 (Фиг. 101A),

клеток MeWo (Фиг. 101C) и клеток WM115 (Фиг. 101E) после воздействия соединением AB17011 в течение 6, 24, 48 и 72 часов. На Фиг. 101B, 101D и 101F представлены таблицы данных, содержащие выраженную в процентах долю пропидий йодид (PI)-положительных клеток B16F1 (Фиг. 101B), клеток MeWo (Фиг. 101D) и клеток WM115 (Фиг. 101F) после воздействия соединением AB17011 в течение 6, 24, 48 и 72 часов.

[0214] На Фиг. 102A, 102C и 102E представлены таблицы данных, содержащие выраженную в процентах долю аннексин V-положительных клеток B16F1 (Фиг. 102A), клеток MeWo (Фиг. 102C) и клеток WM115 (Фиг. 102E) после воздействия соединением AB11644 в течение 6, 24, 48 и 72 часов. На Фиг. 102B, 102D и 102F представлены таблицы данных, содержащие выраженную в процентах долю пропидий йодид (PI)-положительных клеток B16F1 (Фиг. 102B), клеток MeWo (Фиг. 102D) и клеток WM115 (Фиг. 102F) после воздействия соединением AB11644 в течение 6, 24, 48 и 72 часов.

[0215] На Фиг. 103A, 103C и 103E представлены таблицы данных, содержащие выраженную в процентах долю аннексин V-положительных клеток B16F1 (Фиг. 103A), клеток MeWo (Фиг. 103C) и клеток WM115 (Фиг. 103E) после воздействия соединением AB17014 в течение 6, 24, 48 и 72 часов. На Фиг. 103B, 103D и 103F представлены таблицы данных, содержащие выраженную в процентах долю пропидий йодид (PI)-положительных клеток B16F1 (Фиг. 103B), клеток MeWo (Фиг. 103D) и клеток WM115 (Фиг. 103F) после воздействия соединением AB17014 в течение 6, 24, 48 и 72 часов.

[0216] На Фиг. 104A, 104C и 104E представлены таблицы данных, содержащие выраженную в процентах долю аннексин V-положительных клеток B16F1 (Фиг. 104A), клеток MeWo (Фиг. 104C) и клеток WM115 (Фиг. 104E) после воздействия неизвестной композицией в течение 6, 24, 48 и 72 часов. На Фиг. 104B, 104D и 104F представлены таблицы данных, содержащие выраженную в процентах долю пропидий йодид (PI)-положительных клеток B16F1 (Фиг. 104B), клеток MeWo (Фиг. 104D) и клеток WM115 (Фиг. 104F) после воздействия неизвестной композицией в течение 6, 24, 48 и 72 часов.

[0217] На Фиг. 105A, 105C и 105E представлены таблицы данных, содержащие выраженную в процентах долю аннексин V-положительных клеток B16F1 (Фиг. 105A), клеток MeWo (Фиг. 105C) и клеток WM115 (Фиг. 105E) после воздействия соединением AB17225 в течение 6, 24, 48 и 72 часов. На Фиг. 105B, 105D и 105F представлены таблицы данных, содержащие выраженную в процентах долю пропидий йодид (PI)-положительных клеток B16F1 (Фиг. 105B), клеток MeWo (Фиг. 105D) и клеток WM115 (Фиг. 105F) после воздействия соединением AB17225 в течение 6, 24, 48 и 72 часов.

[0218] На Фиг. 106A, 106C и 106E представлены таблицы данных, содержащие выраженную в процентах долю аннексин V-положительных клеток B16F1 (Фиг. 106A), клеток MeWo (Фиг. 106C) и клеток WM115 (Фиг. 106E) после воздействия соединением A5 (CV-8819) в течение 6, 24, 48 и 72 часов. На Фиг. 106B, 106D и 106F представлены таблицы данных, содержащие выраженную в процентах долю пропидий йодид (PI)-положительных клеток B16F1 (Фиг. 106B), клеток MeWo (Фиг. 106D) и клеток WM115 (Фиг. 106F) после воздействия соединением A5 (CV-8819) в течение 6, 24, 48 и 72 часов.

[0219] На Фиг. 107A, 107C и 107E представлены таблицы данных, содержащие выраженную в процентах долю аннексин V-положительных клеток B16F1 (Фиг. 107A), клеток MeWo (Фиг. 107C) и клеток WM115 (Фиг. 107E) после воздействия соединением AB12976 в течение 6, 24, 48 и 72 часов. На Фиг. 107B, 107D и 107F представлены таблицы данных, содержащие выраженную в процентах долю пропидий йодид (PI)-положительных клеток B16F1 (Фиг. 107B), клеток MeWo (Фиг. 107D) и клеток WM115 (Фиг. 107F) после воздействия соединением AB12976 в течение 6, 24, 48 и 72 часов.

[0220] На Фиг. 108A, 108C и 108E представлены таблицы данных, содержащие выраженную в процентах долю аннексин V-положительных клеток B16F1 (Фиг. 108A), клеток MeWo (Фиг. 108C) и клеток WM115 (Фиг. 108E) после воздействия соединением E (AB12508) в течение 6, 24, 48 и 72 часов. На Фиг. 108B, 108D и 108F представлены таблицы данных, содержащие выраженную в процентах долю пропидий йодид (PI)-положительных клеток B16F1 (Фиг. 108B), клеток MeWo (Фиг. 108D) и клеток WM115 (Фиг. 108F) после воздействия соединением E (AB12508) в течение 6, 24, 48 и 72 часов.

[0221] На Фиг. 109A, 109B и 109C представлены таблицы данных, содержащие выраженную в процентах индукцию каспазы-3/7 по сравнению с контролем с несущей средой, для клеток B16F1, клеток MeWo и клеток WM115, соответственно, после воздействия стауроспорином в течение 6, 24, 48 и 72 часов.

[0222] На Фиг. 110A, 110B и 11°C представлены таблицы данных, содержащие выраженную в процентах индукцию каспазы-3/7 по сравнению с контролем с несущей средой, для клеток B16F1, клеток MeWo и клеток WM115, соответственно, после воздействия малассезином (CV-8684) в течение 6, 24, 48 и 72 часов.

[0223] На Фиг. 111A, 111B и 111C представлены таблицы данных, содержащие выраженную в процентах индукцию каспазы-3/7 по сравнению с контролем с несущей средой, для клеток B16F1, клеток MeWo и клеток WM115, соответственно, после воздействия соединением I (CV-8686) в течение 6, 24, 48 и 72 часов.

[0224] На Фиг. 112A, 112B и 112C представлены таблицы данных, содержащие выраженную в процентах индукцию каспазы-3/7 по сравнению с контролем с несущей средой, для клеток B16F1, клеток MeWo и клеток WM115, соответственно, после воздействия соединением II (CV-8688) в течение 6, 24, 48 и 72 часов.

[0225] На Фиг. 113A, 113B и 113C представлены таблицы данных, содержащие выраженную в процентах индукцию каспазы-3/7 по сравнению с контролем с несущей средой, для клеток B16F1, клеток MeWo и клеток WM115, соответственно, после воздействия индоло[3,2-b]карбазолом (CV-8685) в течение 6, 24, 48 и 72 часов.

[0226] На Фиг. 114A, 114B и 114C представлены таблицы данных, содержащие выраженную в процентах индукцию каспазы-3/7 по сравнению с контролем с несущей средой, для клеток B16F1, клеток MeWo и клеток WM115, соответственно, после воздействия соединением IV (CV-8687) в течение 6, 24, 48 и 72 часов.

[0227] На Фиг. 115A, 115B и 115C представлены таблицы данных, содержащие выраженную в процентах индукцию каспазы-3/7 по сравнению с контролем с несущей

средой, для клеток B16F1, клеток MeWo и клеток WM115, соответственно, после воздействия соединением AB11644 в течение 6, 24, 48 и 72 часов.

[0228] На Фиг. 116A, 116B и 116C представлены таблицы данных, содержащие выраженную в процентах индукцию каспазы-3/7 по сравнению с контролем с несущей средой, для клеток B16F1, клеток MeWo и клеток WM115, соответственно, после воздействия неизвестной композицией в течение 6, 24, 48 и 72 часов.

[0229] На Фиг. 117A, 117B и 117C представлены таблицы данных, содержащие выраженную в процентах индукцию каспазы-3/7 по сравнению с контролем с несущей средой, для клеток B16F1, клеток MeWo и клеток WM115, соответственно, после воздействия соединением A5 (CV-8819) в течение 6, 24, 48 и 72 часов.

[0230] На Фиг. 118A, 118B и 118C представлены таблицы данных, содержащие выраженную в процентах индукцию каспазы-3/7 по сравнению с контролем с несущей средой, для клеток B16F1, клеток MeWo и клеток WM115, соответственно, после воздействия соединением E (AB12508) в течение 6, 24, 48 и 72 часов.

[0231] На Фиг. 119A, 119B и 119C представлены таблицы данных, содержащие выраженную в процентах индукцию каспазы-3/7 по сравнению с контролем с несущей средой, для клеток B16F1, клеток MeWo и клеток WM115, соответственно, после воздействия соединением H (AB12509) в течение 6, 24, 48 и 72 часов.

[0232] На Фиг. 120A, 120B и 12°C представлены таблицы данных, содержащие выраженную в процентах индукцию каспазы-3/7 по сравнению с контролем с несущей средой, для клеток B16F1, клеток MeWo и клеток WM115, соответственно, после воздействия соединением B (CV-8877) в течение 6, 24, 48 и 72 часов.

[0233] На Фиг. 121A, 121B и 121C представлены таблицы данных, содержащие выраженную в процентах индукцию каспазы-3/7 по сравнению с контролем с несущей средой, для клеток B16F1, клеток MeWo и клеток WM115, соответственно, после воздействия соединением B10 в течение 6, 24, 48 и 72 часов.

[0234] На Фиг. 122A, 122B и 122C представлены таблицы данных, содержащие выраженную в процентах индукцию каспазы-3/7 по сравнению с контролем с несущей средой, для клеток B16F1, клеток MeWo и клеток WM115, соответственно, после воздействия предшественником малассезина в течение 6, 24, 48 и 72 часов.

[0235] На Фиг. 123A, 123B и 123C представлены таблицы данных, содержащие выраженную в процентах индукцию каспазы-3/7 по сравнению с контролем с несущей средой, для клеток B16F1, клеток MeWo и клеток WM115, соответственно, после воздействия соединением AB17151 в течение 6, 24, 48 и 72 часов.

[0236] На Фиг. 124A, 124B и 124C представлены таблицы данных, содержащие выраженную в процентах индукцию каспазы-3/7 по сравнению с контролем с несущей средой, для клеток B16F1, клеток MeWo и клеток WM115, соответственно, после воздействия соединением AB17011 в течение 6, 24, 48 и 72 часов.

[0237] На Фиг. 125A, 125B и 125C представлены таблицы данных, содержащие выраженную в процентах индукцию каспазы-3/7 по сравнению с контролем с несущей

средой, для клеток B16F1, клеток MeWo и клеток WM115, соответственно, после воздействия соединением AB17014 в течение 6, 24, 48 и 72 часов.

[0238] На Фиг. 126A, 126B и 126C представлены таблицы данных, содержащие выраженную в процентах индукцию каспазы-3/7 по сравнению с контролем с несущей средой, для клеток B16F1, клеток MeWo и клеток WM115, соответственно, после воздействия соединением AB17225 в течение 6, 24, 48 и 72 часов.

[0239] На Фиг. 127A, 127B и 127C представлены таблицы данных, содержащие выраженную в процентах индукцию каспазы-3/7 по сравнению с контролем с несущей средой, для клеток B16F1, клеток MeWo и клеток WM115, соответственно, после воздействия соединением AB12976 в течение 6, 24, 48 и 72 часов.

[0240] Фиг. 128-129 представляют собой таблицы, в которых представлены средние значения жизнеспособности тканей и концентрации меланина, полученные из независимых экспериментов с субстратами MelanoDerm™, обработанными различными концентрациями представленных тестируемых образцов.

[0241] На Фиг. 130 представлены соединения, продуцируемые *Malassezia*.

[0242] Фиг. 131-132 представляют собой таблицы, в которых представлены средние значения жизнеспособности тканей и концентрации меланина, полученные из независимых экспериментов с субстратами MelanoDerm™, обработанными различными концентрациями представленных тестируемых образцов/тестируемых композиций.

[0243] На Фиг. 133A-133B представлены схемы синтеза соединений AB17590 (Фиг. 133A) и AB17653, AB17654, AB17655, AB17656, AB17657 и AB17658 (Фиг. 133B).

[0244] Фиг. 134 представляет собой схематическое изображение шаблона для обработки кожи для пациентов с IV типом кожи. Значения означают дозу УФ в мДж/см^2 для данного участка.

[0245] Фиг. 135 представляет собой таблицу со шкалой Dualight для I-VI типов кожи.

[0246] Фиг. 136 представляет собой таблицу с измерениями меланина и эритемы, полученными на сутки 8 с использованием Mexameter MX 16 после облучения на сутки 7.

[0247] Фиг. 137 представляет собой таблицу с измерениями меланина и эритемы, полученными на сутки 15 с использованием Mexameter MX 16 после облучения на сутки 14.

[0248] Фиг. 138 представляет собой таблицу со шкалой эритемы, выраженной в числовых значениях, ассоциированных с различными степенями эритемы.

[0249] Фиг. 139 представляет собой фотографию с изображением кожи субъекта спустя 24 часа после облучения различными дозами УФ в соответствии с шаблоном для обработки кожи, представленным на Фиг. 7. Минимальная эритемная доза («МЭД») составила 120 мДж/см^2 УФ-B спустя 24 часа после облучения.

[0250] Фиг. 140 представляет собой фотографию с изображением участков тестирования кожи субъекта на сутки 7.

[0251] Фиг. 141 представляет собой фотографию с изображением участков тестирования кожи субъекта на сутки 8 спустя 24 часа после облучения 120 мДж/см^2 УФ-

B.

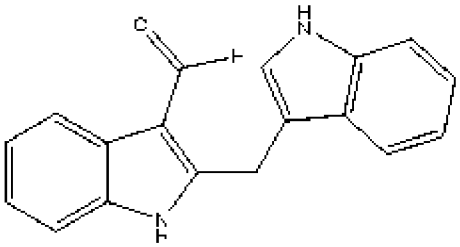
[0252] Фиг. 142 представляет собой фотографию с изображением участков тестирования кожи субъекта на сутки 14 после дополнительной терапии малассезином в течение недели. Участки обрабатывали УФ-В в дозе 120 мДж/см^2.

[0253] Фиг. 143 представляет собой фотографию с изображением участков тестирования кожи субъекта на сутки 15 спустя 24 часа после облучения 120 мДж/см^2 УФ-В. Отмечается эритема для участка с обработкой несущей средой для суток 7 и 9. Также отмечена эритема (от слабой до умеренной) для участков с обработкой 1% малассезином на сутки 14, 10 и 8, и остаточной эритемой на сутки 1 и 3.

ПОДРОБНОЕ ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ

[0254] Один вариант осуществления согласно настоящему изобретению представляет собой соединение для осветления кожи. Соединение представляет собой химический аналог соединения, продуцируемого дрожжами *Malassezia*, или его кристаллическую форму, гидрат или косметически или фармацевтически приемлемую соль.

[0255] Согласно одному аспекту данного варианта осуществления, соединение, продуцируемое дрожжами *Malassezia*, характеризуется структурой формулы (I):

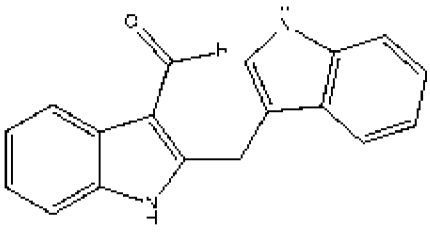


(I)

[0256] Согласно другому аспекту данного варианта осуществления, соединение представляет собой химический аналог малассезина.

[0257] Другой вариант осуществления согласно настоящему изобретению представляет собой соединение для индукции апоптоза меланоцитов. Соединение представляет собой химический аналог соединения, продуцируемого дрожжами *Malassezia*, или его кристаллическую форму, гидрат или косметически или фармацевтически приемлемую соль.

[0258] Согласно одному аспекту данного варианта осуществления, соединение, продуцируемое дрожжами *Malassezia*, характеризуется структурой формулы (I):

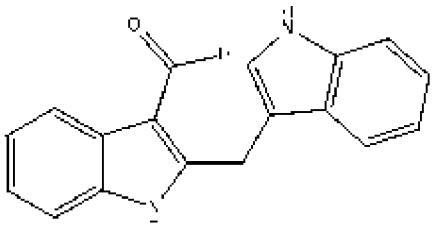


(I)

[0259] Согласно другому аспекту данного варианта осуществления, соединение представляет собой химический аналог малассезина.

[0260] Дополнительный вариант осуществления согласно настоящему изобретению представляет собой соединение для модулирования активности меланоцитов. Соединение представляет собой химический аналог соединения, продуцируемого дрожжами *Malassezia*, или его кристаллическую форму, гидрат или косметически или фармацевтически приемлемую соль.

[0261] Согласно одному аспекту данного варианта осуществления, соединение, продуцируемое дрожжами *Malassezia*, характеризуется структурой формулы (I):

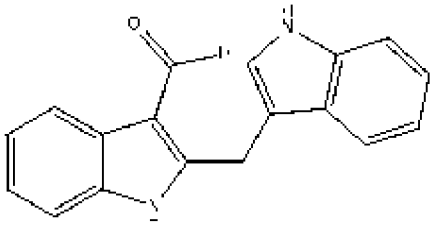


(I)

[0262] Согласно другому аспекту данного варианта осуществления, соединение представляет собой химический аналог малассезина.

[0263] Дополнительный вариант осуществления согласно настоящему изобретению представляет собой соединение для агонистического воздействия на рецептор ароматических углеводородов (AhR). Соединение представляет собой химический аналог соединения, продуцируемого дрожжами *Malassezia*, или его кристаллическую форму, гидрат или косметически или фармацевтически приемлемую соль.

[0264] Согласно одному аспекту данного варианта осуществления, соединение, продуцируемое дрожжами *Malassezia*, характеризуется структурой формулы (I):

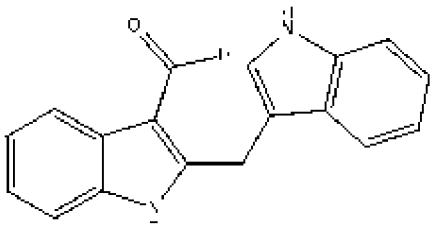


(I)

[0265] Согласно другому аспекту данного варианта осуществления, соединение представляет собой химический аналог малассезина.

[0266] Другой вариант осуществления согласно настоящему изобретению представляет собой соединение для уменьшения гиперпигментации, вызванной гиперпигментационным нарушением. Соединение представляет собой химический аналог соединения, продуцируемого дрожжами *Malassezia*, или его кристаллическую форму, гидрат или косметически или фармацевтически приемлемую соль.

[0267] Согласно одному аспекту данного варианта осуществления, соединение, продуцируемое дрожжами *Malassezia*, характеризуется структурой формулы (I):

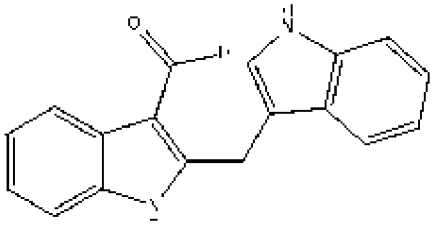


(I)

[0268] Согласно другому аспекту данного варианта осуществления, соединение представляет собой химический аналог малассезина.

[0269] Дополнительный вариант осуществления согласно настоящему изобретению представляет собой соединение для модулирования продукции меланина. Соединение представляет собой химический аналог соединения, продуцируемого дрожжами *Malassezia*, или его кристаллическую форму, гидрат или косметически или фармацевтически приемлемую соль.

[0270] Согласно одному аспекту данного варианта осуществления, соединение, продуцируемое дрожжами *Malassezia*, характеризуется структурой формулы (I):

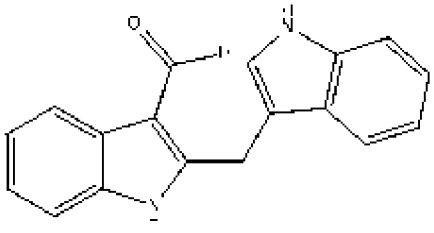


(I)

[0271] Согласно другому аспекту данного варианта осуществления, соединение представляет собой химический аналог малассезина.

[0272] Дополнительный вариант осуществления согласно настоящему изобретению представляет собой соединение для модулирования биогенеза меланосом. Соединение представляет собой химический аналог соединения, продуцируемого дрожжами *Malassezia*, или его кристаллическую форму, гидрат или косметически или фармацевтически приемлемую соль.

[0273] Согласно одному аспекту данного варианта осуществления, соединение, продуцируемое дрожжами *Malassezia*, характеризуется структурой формулы (I):

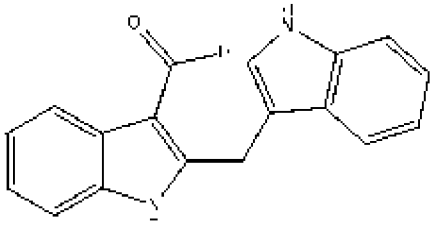


(I)

[0274] Согласно другому аспекту данного варианта осуществления, соединение представляет собой химический аналог малассезина.

[0275] Другой вариант осуществления согласно настоящему изобретению представляет собой соединение для модулирования переноса меланосом. Соединение представляет собой химический аналог соединения, продуцируемого дрожжами *Malassezia*, или его кристаллическую форму, гидрат или косметически или фармацевтически приемлемую соль.

[0276] Согласно одному аспекту данного варианта осуществления, соединение, продуцируемое дрожжами *Malassezia*, характеризуется структурой формулы (I):



(I)

[0277] Согласно другому аспекту данного варианта осуществления, соединение представляет собой химический аналог малассезина.

[0278] Дополнительный вариант осуществления согласно настоящему изобретению представляет собой композицию. Композиция содержит дрожжи *Malassezia* и косметически или фармацевтически приемлемую несущую среду, разбавитель или носитель.

[0279] Дополнительный вариант осуществления согласно настоящему изобретению представляет собой композицию. Композиция содержит соединение, выделенное или возможное к выделению из дрожжей *Malassezia*, и косметически или фармацевтически приемлемую несущую среду, разбавитель или носитель.

[0280] Другой вариант осуществления согласно настоящему изобретению представляет собой композицию. Композиция содержит любое из раскрытых в настоящем документе соединений, включая аналоги, и косметически или фармацевтически приемлемую несущую среду, разбавитель или носитель.

[0281] Дополнительный вариант осуществления согласно настоящему изобретению представляет собой способ осветления кожи у субъекта. Способ включает в себя приведение субъекта в контакт с любым из соединений или композиций, описанных в настоящем документе.

[0282] Дополнительный вариант осуществления согласно настоящему изобретению представляет собой способ индукции апоптоза меланоцитов у субъекта. Способ включает в себя приведение субъекта в контакт с любым из соединений или композиций, описанных в настоящем документе.

[0283] Другой вариант осуществления согласно настоящему изобретению представляет собой способ модулирования активности меланоцитов у субъекта. Способ включает в себя приведение субъекта в контакт с любым из соединений или композиций, описанных в настоящем документе.

[0284] Дополнительный вариант осуществления согласно настоящему изобретению

представляет собой способ агонистического воздействия на рецептор ароматических углеводородов (AhR). Способ включает в себя приведение субъекта в контакт с любым из соединений или композиций, описанных в настоящем документе.

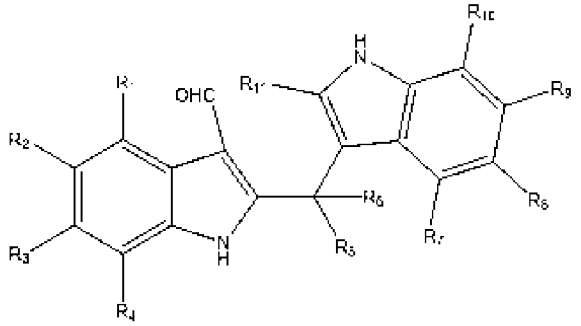
[0285] Дополнительный вариант осуществления согласно настоящему изобретению представляет собой способ уменьшения гиперпигментации, вызванной гиперпигментационным нарушением у нуждающегося в этом субъекта. Способ включает в себя приведение субъекта в контакт с любым из соединений или композиций, описанных в настоящем документе.

[0286] Другой вариант осуществления согласно настоящему изобретению представляет собой способ модулирования продукции меланина у субъекта. Способ включает в себя приведение субъекта в контакт с любым из соединений или композиций, описанных в настоящем документе.

[0287] Дополнительный вариант осуществления согласно настоящему изобретению представляет собой способ модулирования биогенеза меланосом у субъекта. Способ включает в себя приведение субъекта в контакт с любым из соединений или композиций, описанных в настоящем документе.

[0288] Дополнительный вариант осуществления согласно настоящему изобретению представляет собой способ модулирования переноса меланосом у субъекта. Способ включает в себя приведение субъекта в контакт с любым из соединений или композиций, описанных в настоящем документе.

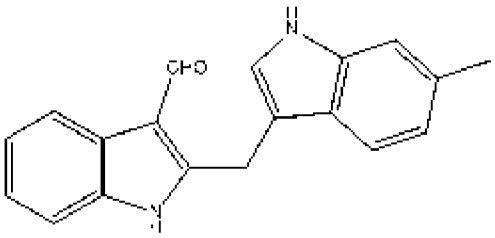
[0289] Другой вариант осуществления согласно настоящему изобретению представляет собой соединение. Соединение характеризуется структурой формулы (II):



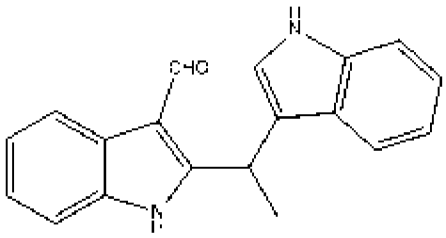
(II)

где: R_1, R_2, R_3, R_4, R_5, R_6, R_7, R_8, R_9, R_{10} и R_{11} независимо выбраны из группы, состоящей из водорода и метила, и по меньшей мере один из R_1, R_2, R_3, R_4, R_5, R_6, R_7, R_8, R_9, R_{10} и R_{11} представляет собой метил; или его кристаллической формой, гидратом или косметически или фармацевтически приемлемой солью.

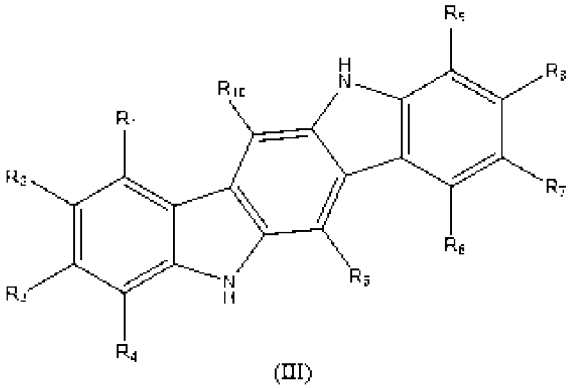
[0290] Согласно одному аспекту данного варианта осуществления, соединение выбрано из группы, состоящей из:



и



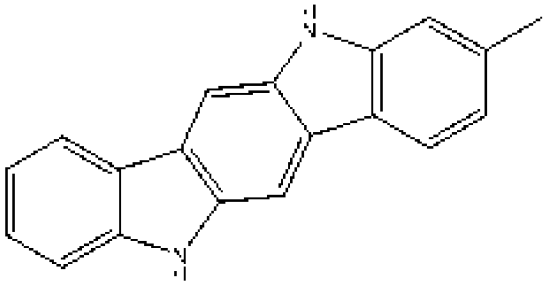
[0291] Дополнительный вариант осуществления согласно настоящему изобретению представляет собой соединение. Соединение характеризуется структурой формулы (III):



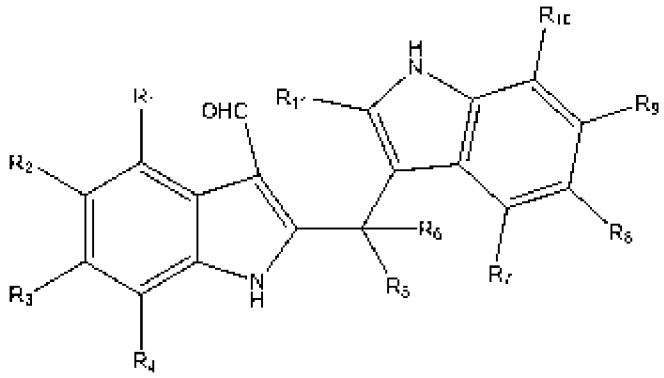
(III)

где: R_1, R_2, R_3, R_4, R_5, R_6, R_7, R_8, R_9 и R_{10} независимо выбраны из группы, состоящей из водорода и метила, и по меньшей мере один из R_1, R_2, R_3, R_4, R_5, R_6, R_7, R_8, R_9 и R_{10} представляет собой метил; или его кристаллической формой, гидратом или косметически или фармацевтически приемлемой солью.

[0292] Согласно одному аспекту данного варианта осуществления, соединение представляет собой:



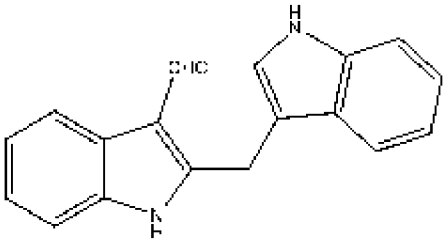
[0293] Дополнительный вариант осуществления согласно настоящему изобретению представляет собой соединение для осветления кожи. Соединение характеризуется структурой формулы (II):



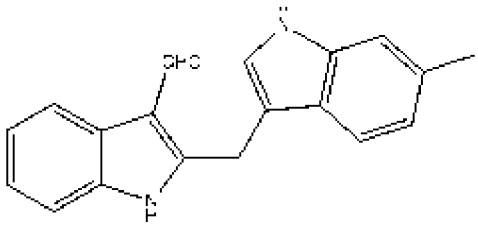
(II)

где: R_1, R_2, R_3, R_4, R_5, R_6, R_7, R_8, R_9, R_{10} и R_{11} независимо выбраны из группы, состоящей из водорода и метила; или его кристаллической формой, гидратом или косметически или фармацевтически приемлемой солью.

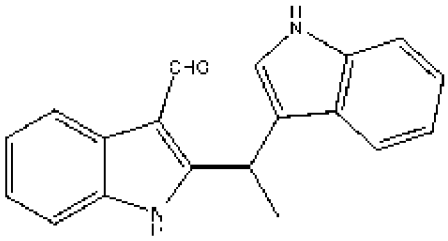
[0294] Согласно одному аспекту данного варианта осуществления, соединение выбрано из группы, состоящей из:



,

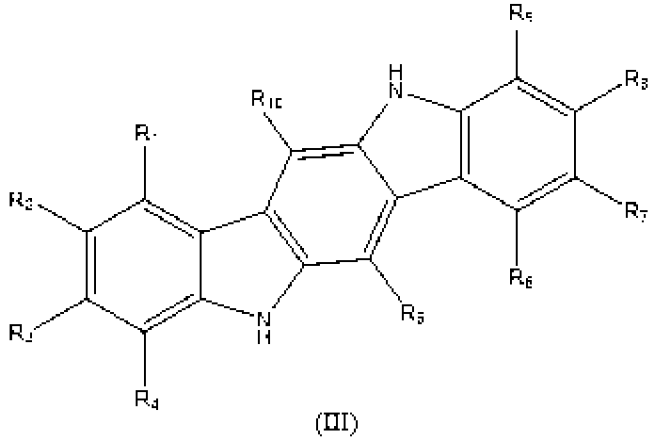


и



.

[0295] Другой вариант осуществления согласно настоящему изобретению представляет собой соединение для осветления кожи. Соединение характеризуется структурой формулы (III):

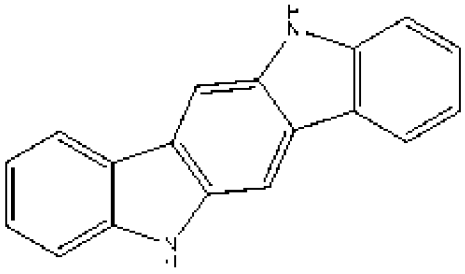


(III)

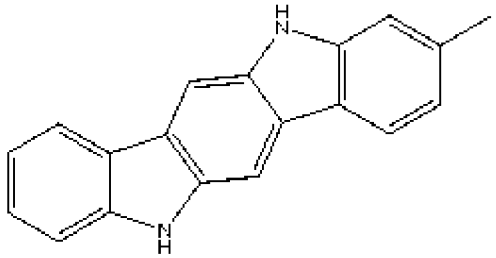
где: R_1, R_2, R_3, R_4, R_5, R_6, R_7, R_8, R_9 и R_{10} независимо выбраны из группы, состоящей из водорода и метила; или его кристаллической формой, гидратом или косметически или

фармацевтически приемлемой солью.

[0296] Согласно одному аспекту данного варианта осуществления, соединение выбрано из группы, состоящей из:

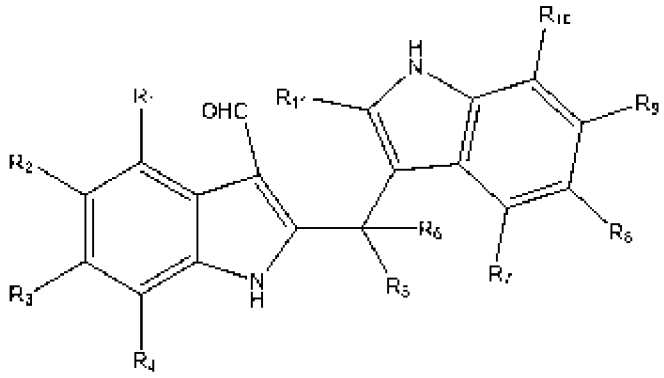


и



.

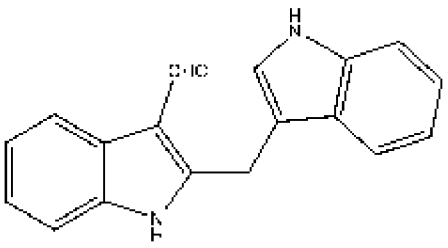
[0297] Дополнительный вариант осуществления согласно настоящему изобретению представляет собой соединение для индукции апоптоза меланоцитов. Соединение характеризуется структурой формулы (II):



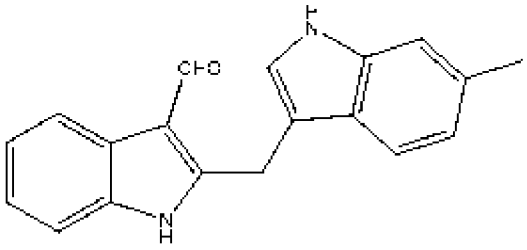
(II)

где: R_1, R_2, R_3, R_4, R_5, R_6, R_7, R_8, R_9, R_{10} и R_{11} независимо выбраны из группы, состоящей из водорода и метила; или его кристаллической формой, гидратом или косметически или фармацевтически приемлемой солью.

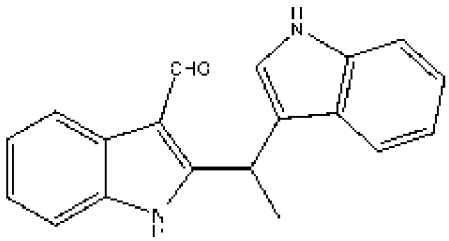
[0298] Согласно одному аспекту данного варианта осуществления, соединение выбрано из группы, состоящей из:



,



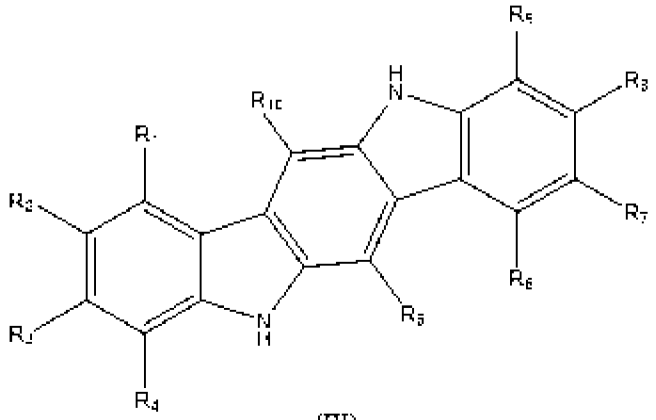
и



.

[0299] Дополнительный вариант осуществления согласно настоящему изобретению представляет собой соединение для индукции апоптоза меланоцитов. Соединение

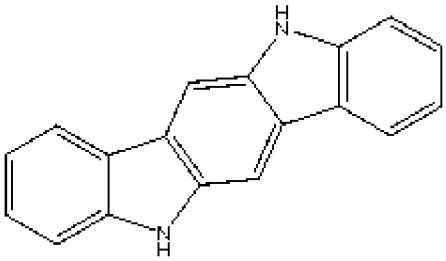
характеризуется структурой формулы (III):



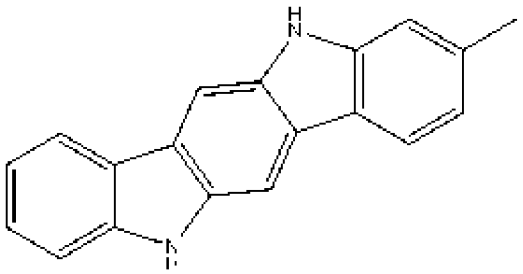
(III)

где: R_1, R_2, R_3, R_4, R_5, R_6, R_7, R_8, R_9 и R_{10} независимо выбраны из группы, состоящей из водорода и метила; или его кристаллической формой, гидратом или косметически или фармацевтически приемлемой солью.

[0300] Согласно одному аспекту данного варианта осуществления, соединение выбрано из группы, состоящей из:

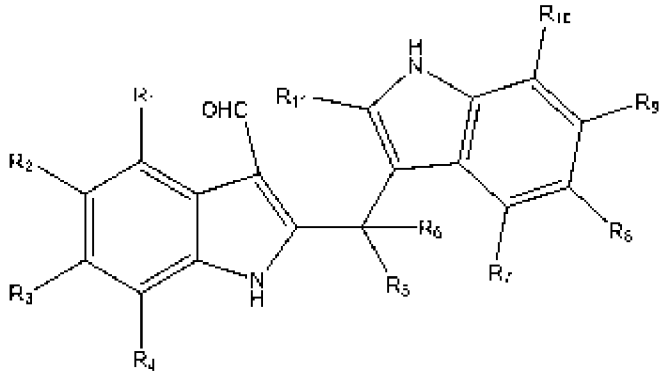


и



.

[0301] Другой вариант осуществления согласно настоящему изобретению представляет собой соединение для агонистического воздействия на рецептор ароматических углеводородов (AhR). Соединение характеризуется структурой формулы (II):

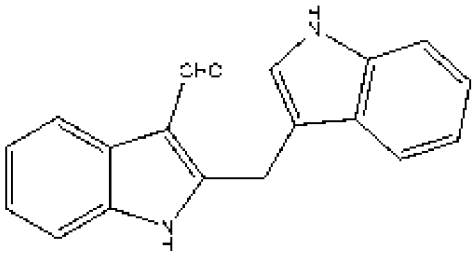
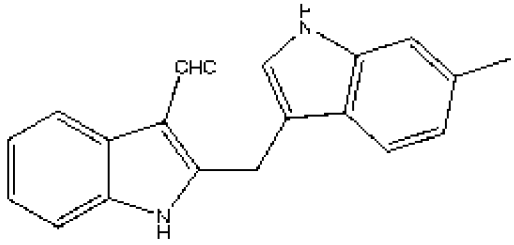
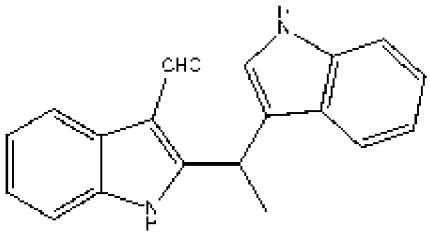


(II)

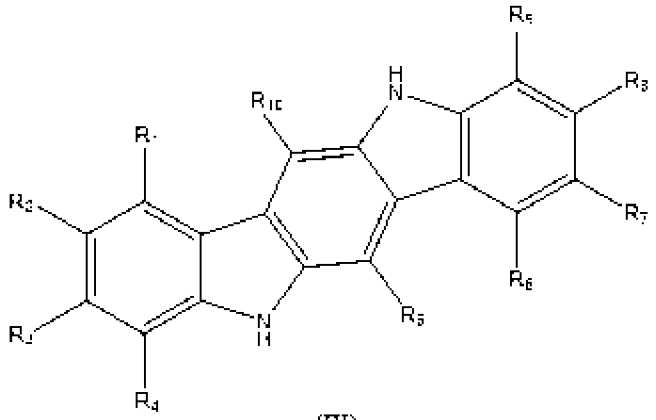
где: R_1, R_2, R_3, R_4, R_5, R_6, R_7, R_8, R_9, R_{10} и R_{11} независимо выбраны из группы, состоящей из водорода и метила; или его кристаллической формой, гидратом или косметически или фармацевтически приемлемой солью.

[0302] Согласно одному аспекту данного варианта осуществления, соединение

выбрано из группы, состоящей из:

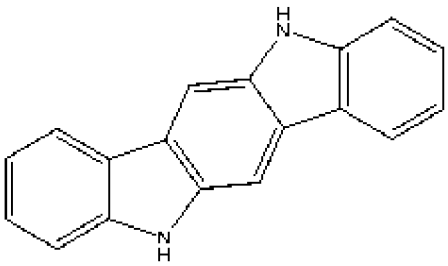
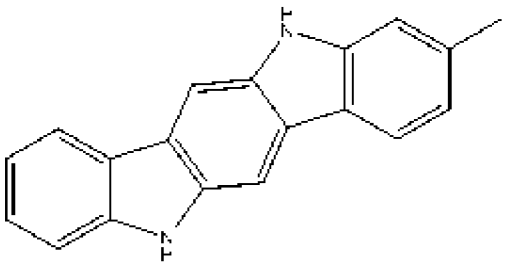
[0303] Дополнительный вариант осуществления согласно настоящему изобретению представляет собой соединение для агонистического воздействия на рецептор ароматических углеводородов (AhR). Соединение характеризуется структурой формулы (III):



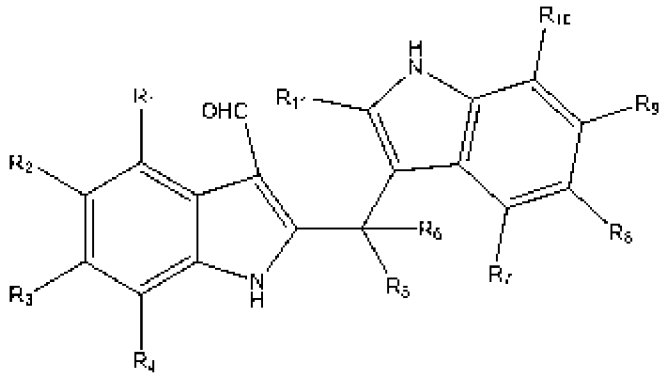
(III)

где: R_1, R_2, R_3, R_4, R_5, R_6, R_7, R_8, R_9 и R_{10} независимо выбраны из группы, состоящей из водорода и метила; или его кристаллической формой, гидратом или косметически или фармацевтически приемлемой солью.

[0304] Согласно одному аспекту данного варианта осуществления, соединение выбрано из группы, состоящей из:

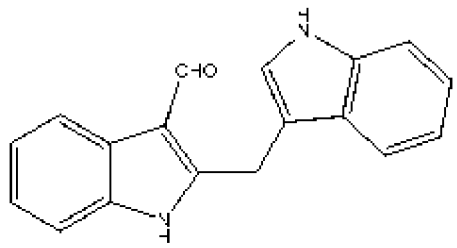
[0305] Дополнительный вариант осуществления согласно настоящему изобретению представляет собой композицию. Композиция содержит соединение, характеризующееся структурой формулы (II)



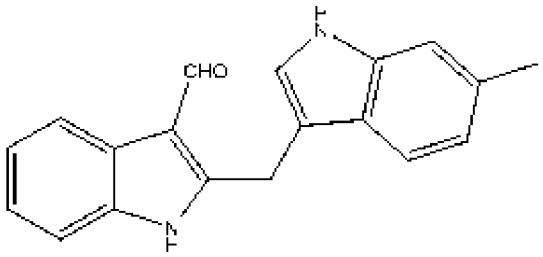
(II)

где: R_1, R_2, R_3, R_4, R_5, R_6, R_7, R_8, R_9, R_{10} и R_{11} независимо выбраны из группы, состоящей из водорода и метила; или его кристаллическую форму, гидрат или косметически или фармацевтически приемлемую соль, и косметически или фармацевтически приемлемую несущую среду, разбавитель или носитель.

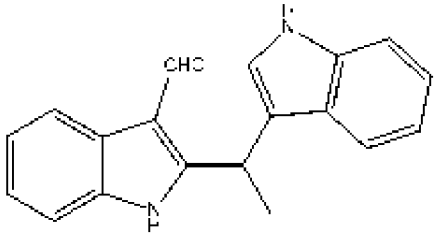
[0306] Согласно одному аспекту данного варианта осуществления, соединение выбрано из группы, состоящей из:



,

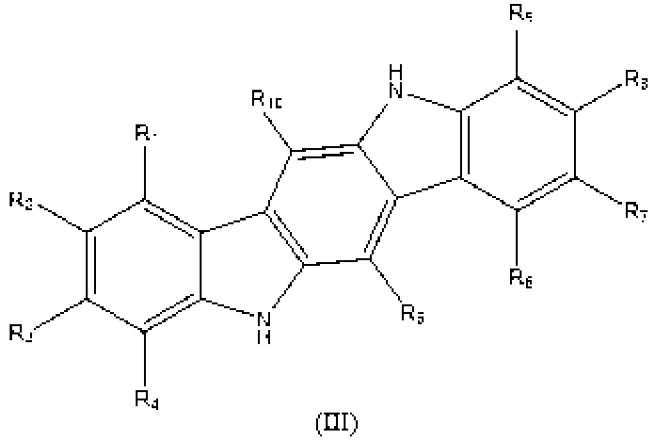


и



.

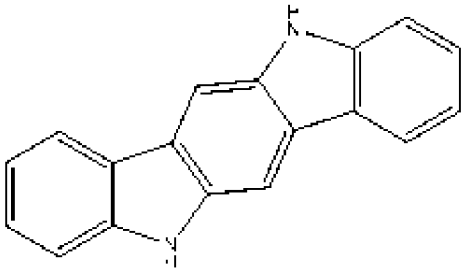
[0307] Другой вариант осуществления согласно настоящему изобретению представляет собой композицию. Композиция содержит соединение, характеризующееся структурой формулы (III):



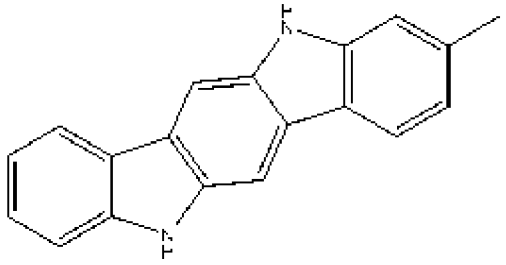
(III)

где: R_1, R_2, R_3, R_4, R_5, R_6, R_7, R_8, R_9 и R_{10} независимо выбраны из группы, состоящей из водорода и метила; или его кристаллическую форму, гидрат или косметически или фармацевтически приемлемую соль, и косметически или фармацевтически приемлемую несущую среду, разбавитель или носитель.

[0308] Согласно одному аспекту данного варианта осуществления, соединение выбрано из группы, состоящей из:

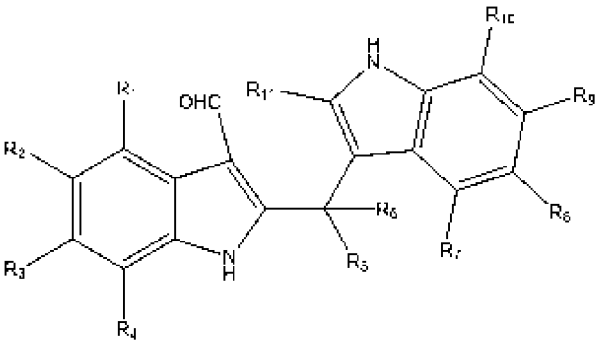


и



.

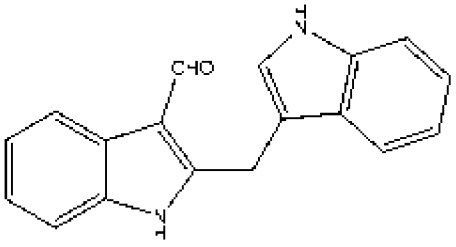
[0309] Дополнительный вариант осуществления согласно настоящему изобретению представляет собой способ осветления кожи у субъекта. Способ включает в себя приведение субъекта в контакт с соединением, характеризующимся структурой формулы (II):



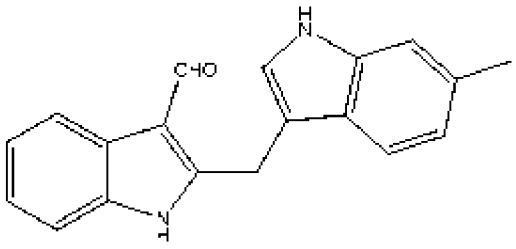
(II)

где: R_1, R_2, R_3, R_4, R_5, R_6, R_7, R_8, R_9, R_{10} и R_{11} независимо выбраны из группы, состоящей из водорода и метила; или его кристаллической формой, гидратом или косметически или фармацевтически приемлемой солью.

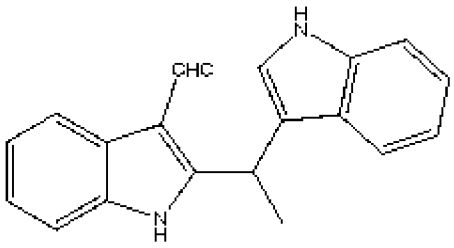
[0310] Согласно одному аспекту данного варианта осуществления, соединение выбрано из группы, состоящей из:



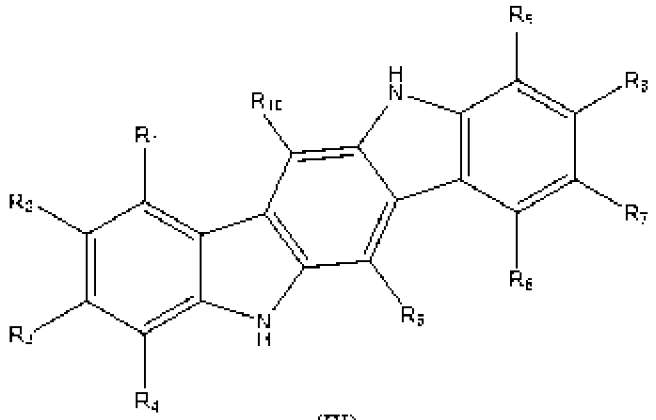
,



и



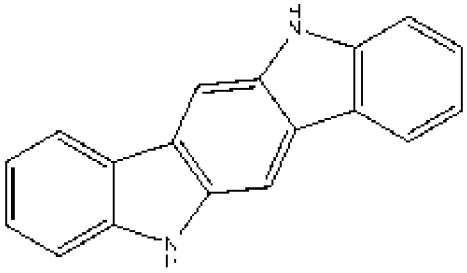
[0311] Дополнительный вариант осуществления согласно настоящему изобретению представляет собой способ осветления кожи у субъекта. Способ включает в себя приведение субъекта в контакт с соединением, характеризующимся структурой формулы (III):



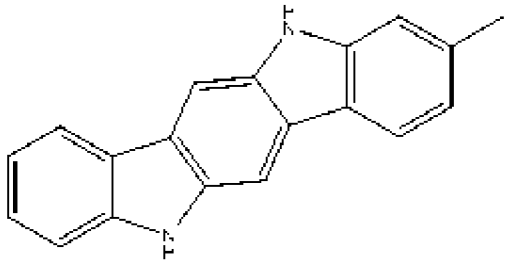
(III)

где: R_1, R_2, R_3, R_4, R_5, R_6, R_7, R_8, R_9 и R_{10} независимо выбраны из группы, состоящей из водорода и метила; или его кристаллической формой, гидратом или косметически или фармацевтически приемлемой солью.

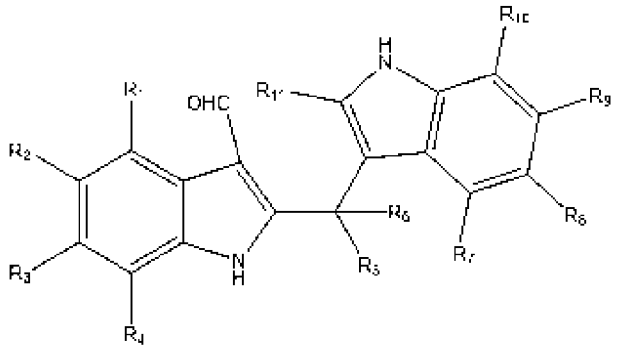
[0312] Согласно одному аспекту данного варианта осуществления, соединение выбрано из группы, состоящей из:



и



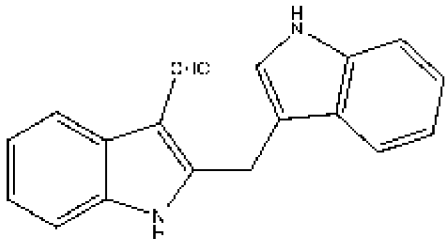
[0313] Другой вариант осуществления согласно настоящему изобретению представляет собой способ индукции апоптоза меланоцитов у субъекта. Способ включает в себя приведение субъекта в контакт с соединением, характеризующимся структурой формулы (II):



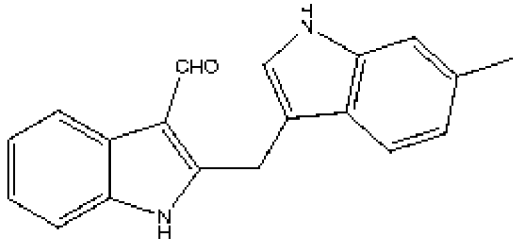
(II)

где: R_1, R_2, R_3, R_4, R_5, R_6, R_7, R_8, R_9, R_{10} и R_{11} независимо выбраны из группы, состоящей из водорода и метила; или его кристаллической формой, гидратом или косметически или фармацевтически приемлемой солью.

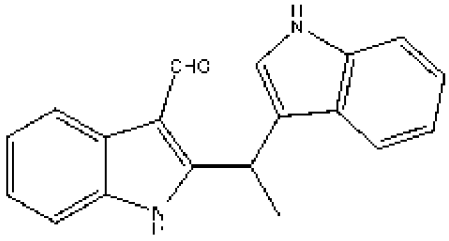
[0314] Согласно одному аспекту данного варианта осуществления, соединение выбрано из группы, состоящей из:



,

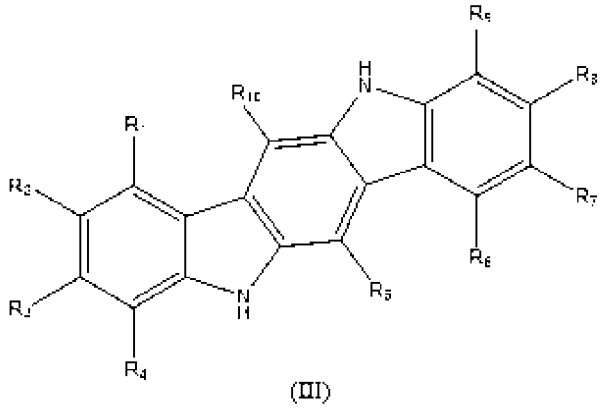


и



.

[0315] Дополнительный вариант осуществления согласно настоящему изобретению представляет собой способ индукции апоптоза меланоцитов у субъекта. Способ включает в себя приведение субъекта в контакт с соединением, характеризующимся структурой формулы (III):

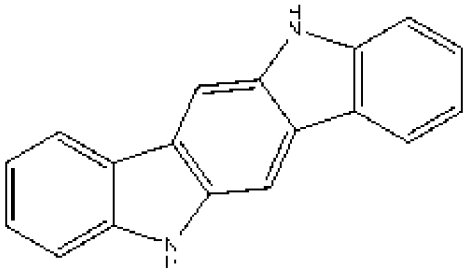


(III)

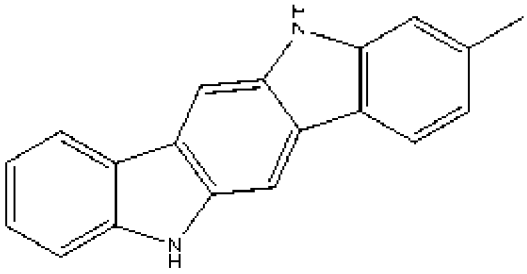
где: R_1, R_2, R_3, R_4, R_5, R_6, R_7, R_8, R_9 и R_{10} независимо выбраны из группы, состоящей из водорода и метила; или его кристаллической формой, гидратом или косметически или

фармацевтически приемлемой солью.

[0316] Согласно одному аспекту данного варианта осуществления, соединение выбрано из группы, состоящей из:

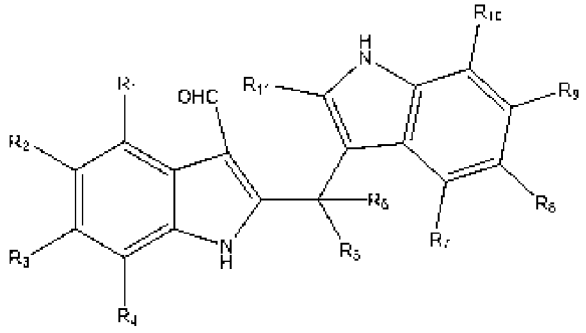


и



.

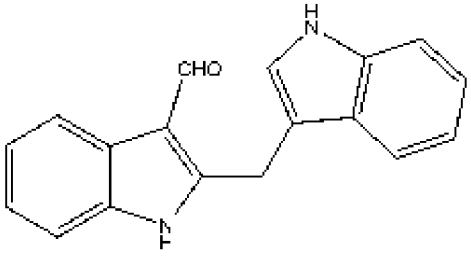
[0317] Дополнительный вариант осуществления согласно настоящему изобретению представляет собой способ агонистического воздействия на рецептор ароматических углеводородов (AhR) у субъекта. Способ включает в себя приведение субъекта в контакт с соединением, характеризующимся структурой формулы (II):



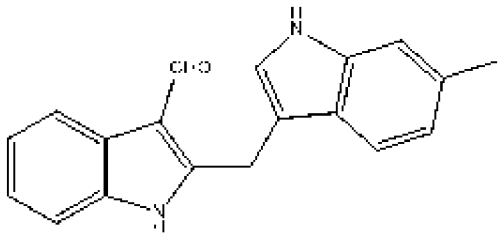
(II)

где: R_1, R_2, R_3, R_4, R_5, R_6, R_7, R_8, R_9, R_{10} и R_{11} независимо выбраны из группы, состоящей из водорода и метила; или его кристаллической формой, гидратом или косметически или фармацевтически приемлемой солью.

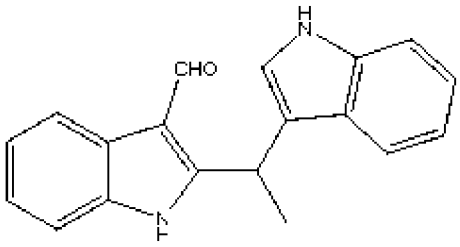
[0318] Согласно одному аспекту данного варианта осуществления, соединение выбрано из группы, состоящей из:



,



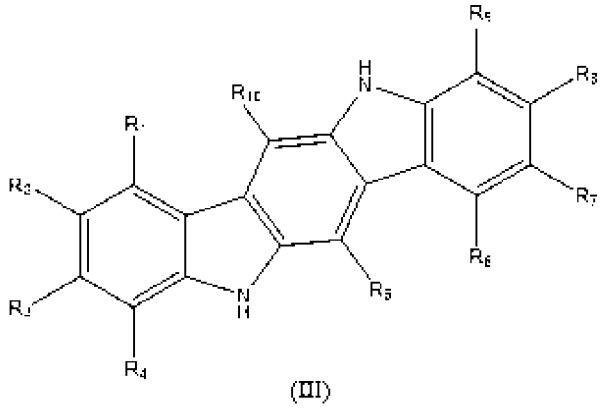
и



.

[0319] Другой вариант осуществления согласно настоящему изобретению представляет собой способ агонистического воздействия на рецептор ароматических

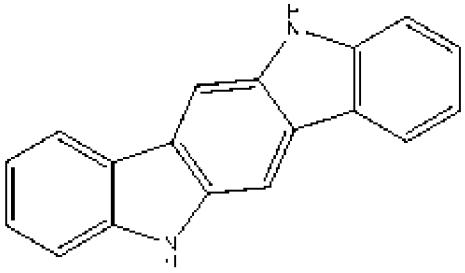
углеводородов (AhR) у субъекта. Способ включает в себя приведение субъекта в контакт с соединением, характеризующимся структурой формулы (III):



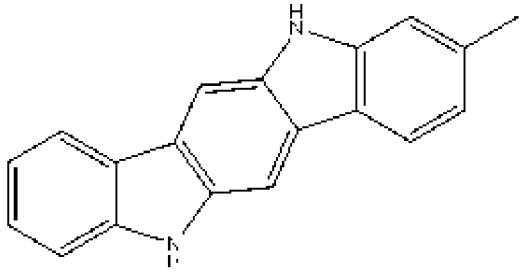
(III)

где: R_1, R_2, R_3, R_4, R_5, R_6, R_7, R_8, R_9 и R_{10} независимо выбраны из группы, состоящей из водорода и метила; или его кристаллической формой, гидратом или косметически или фармацевтически приемлемой солью.

[0320] Согласно одному аспекту данного варианта осуществления, соединение выбрано из группы, состоящей из:

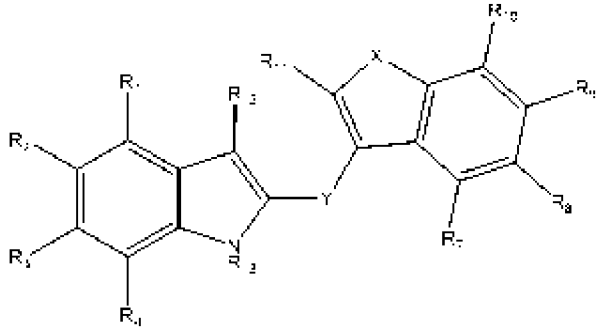


и



.

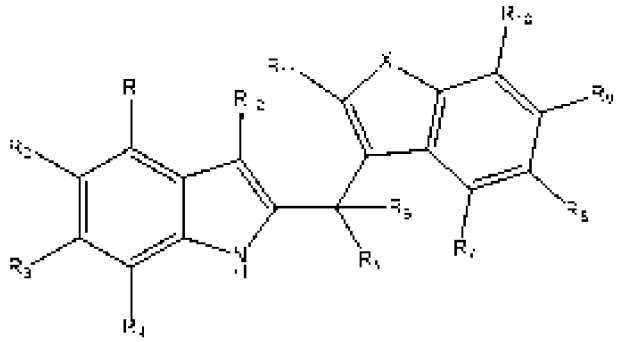
[0321] Один вариант осуществления согласно настоящему изобретению представляет собой соединение. Соединение характеризуется структурой следующей формулы:



где: X выбран из группы, состоящей из NR_{14} и O; Y представляет собой ковалентную связь, CR_5R_6, O или NR_{15}; R_1, R_2, R_3, R_4, R_7, R_8, R_9, R_{10} и R_{11} независимо выбраны из группы, состоящей из водорода, галогена, CN, гидроксила, R_{16} или OR_{16}; R_{13}, R_{14} и R_{15} независимо представляют собой водород или R_{16}; R_5 и R_6 независимо выбраны из группы, состоящей из водорода, гидроксила, OR_{16}, R_{16} и $C_{3\text{-}6}$циклоакила, или R_5 и R_6 объединены с формированием оксо (=O) группы или $C_{3\text{-}6}$циклоакила; R_{12} выбран из группы, состоящей из водорода, $-COR^a$ и R_{16}; каждый R_{16} независимо представляет собой формил, $C_{1\text{-}9}$алкил, $C_{2\text{-}}$

$_9$алкенил или C_{2-9}алкинил; и R^a выбран из группы, состоящей из водорода, гидроксила и OR_{16}; где: если R^a представляет собой водород, Y представляет собой CR_5R_6, и R_{13} и R_{14} оба представляют собой водород, то по меньшей мере один из R_1, R_2, R_3, R_4, R_5, R_6, R_7, R_8, R_9, R_{10} и R_{11} представляет собой R_{16}; или R_5 выбран из группы, состоящей из гидроксила, OR_{16}, R_{16} и C_{3-6}циклоакила, или R_5 и R_6 объединены с формированием оксо (=O) группы или C_{3-6}циклоакила; или его кристаллической формой, гидратом или косметически или фармацевтически приемлемой солью.

[0322] Согласно одному аспекту данного варианта осуществления, соединение характеризуется следующей структурой:



(I);

,

или его кристаллической формой, гидратом или косметически или фармацевтически приемлемой солью.

[0323] Согласно другому аспекту данного варианта осуществления, X представляет собой NH.

[0324] Согласно дополнительному аспекту данного варианта осуществления, Y представляет собой CR_5R_6; R_5 представляет собой водород, и R_6 представляет собой водород, C_{1-4}алкил, C_{3-6}циклоакил или O-(C_{1-4}алкил); или R_5 и R_6 объединены с формированием оксо (=O) группы.

[0325] Предпочтительно, CR_5R_6 представляет собой CH_2, $CHCH_3$, $CHOCH_3$, C=O или $CH(C_3H_5)$.

[0326] Согласно дополнительному аспекту данного варианта осуществления, по меньшей мере один из R_1, R_2, R_3, R_4, R_7, R_8, R_9, R_{10} и R_{11} представляет собой C_{1-4}алкил.

[0327] Предпочтительно, R_2 представляет собой C_{1-4}алкил.

[0328] Более предпочтительно, R_2 представляет собой метил.

[0329] Согласно другому аспекту данного варианта осуществления, каждый из R_1, R_2, R_3, R_4, R_7, R_8, R_9, R_{10} и R_{11} представляет собой водород.

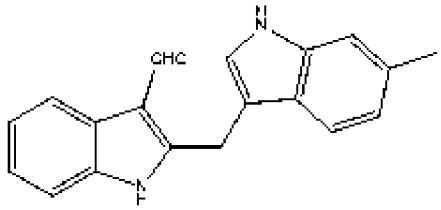
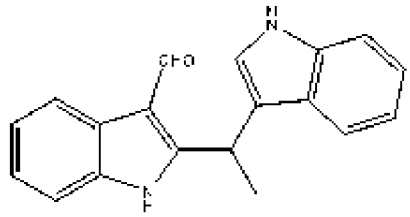
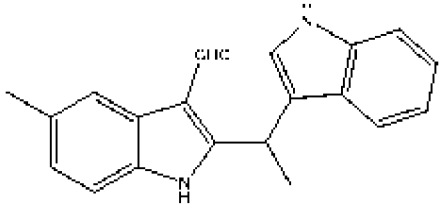
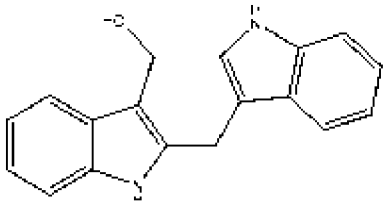
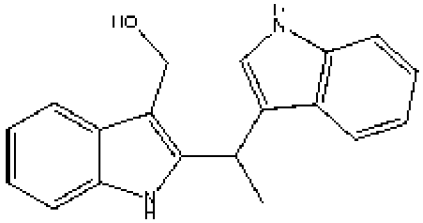
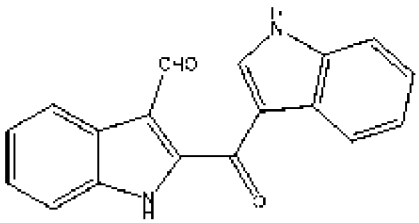
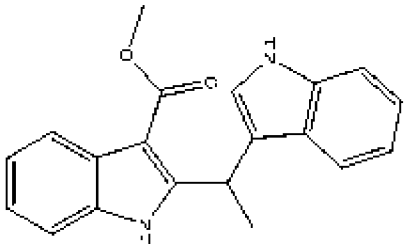
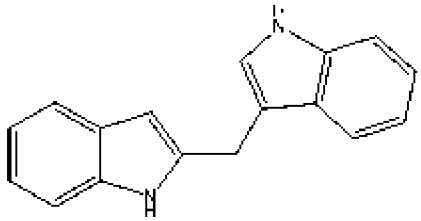
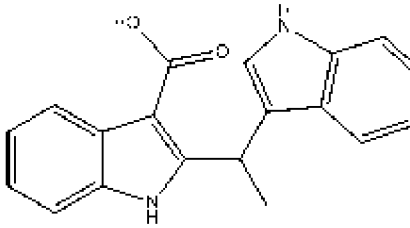
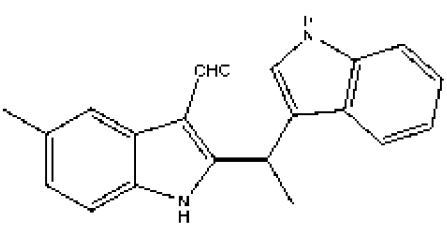
[0330] Согласно дополнительному аспекту данного варианта осуществления, R_{12} представляет собой -COR^a или C_{1-4}гидроксиалкил; и R^a представляет собой водород или C_{1-4}алкил.

[0331] Предпочтительно, R_{12} представляет собой CHO, CH_2OH или C(=O)-O-(C_{1-4}алкил).

[0332] Более предпочтительно, R_{12} представляет собой CHO, CH_2OH или CO_2CH_3.

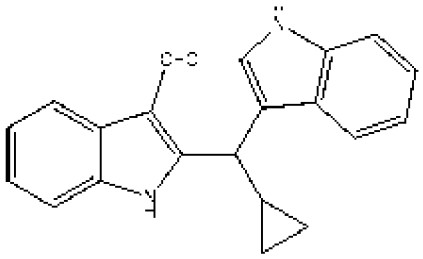
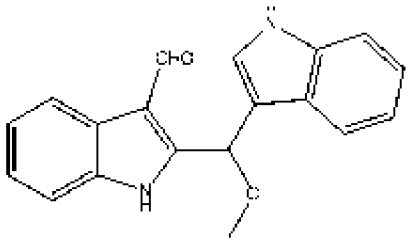
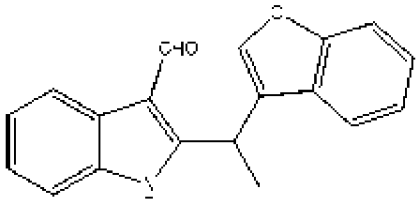
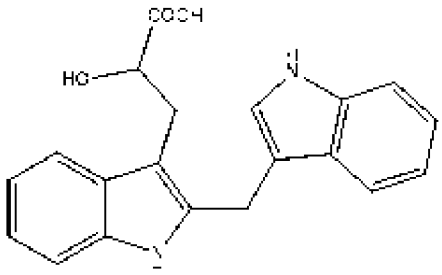
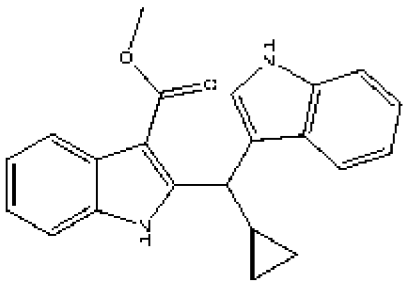
[0333] Согласно дополнительному аспекту данного варианта осуществления, X представляет собой NH; Y представляет собой CR_5R_6; каждый из R_1, R_3, R_4, R_7, R_8, R_9, R_{10}, R_{11} и R_{13} представляет собой водород; R_2 представляет собой водород или C_{1-4}алкил; R_5 представляет собой водород, и R_6 представляет собой водород, C_{1-4}алкил, C_{3-6}циклоакил или O-(C_{1-4}алкил); или R_5 и R_6 объединены с формированием оксо (=O) группы; R_{12} представляет собой -COR^a или C_{1-4}гидроксиалкил; и R^a представляет собой водород или C_{1-4}алкил.

[0334] Согласно другому аспекту данного варианта осуществления, соединение выбрано из группы, состоящей из:

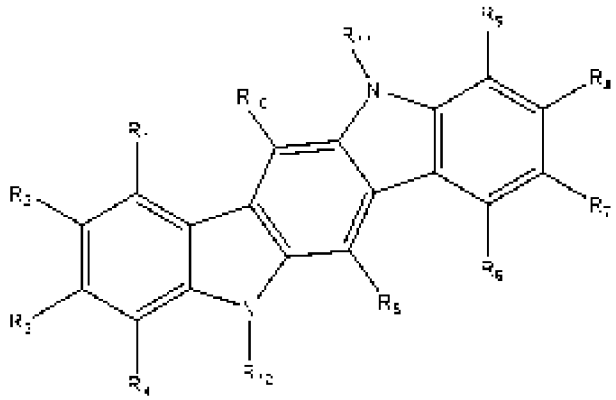

,

,

,

,

,

,

,

,

,

,

,

,

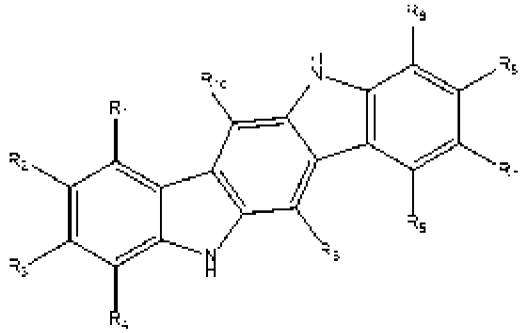






[0335] Другой вариант осуществления согласно настоящему изобретению представляет собой соединение. Соединение характеризуется следующей структурой:



где: R_1, R_4, R_5, R_6, R_9 и R_{10} независимо выбраны из группы, состоящей из водорода, гидроксила, галогена, CN, R_{13}, OR_{13}, $OCOR_{13}$ и -CHO; R_2 и R_3 независимо выбраны из группы, состоящей из водорода, гидроксила, галогена, CN, R_{13}, OR_{13}, $OCOR_{13}$ и CHO, или R_2 и R_3 объединены с формированием 5- или 6-членного гетероциклила; R_7 и R_8 независимо выбраны из группы, состоящей из водорода, гидроксила, галогена, CN, R_{13}, OR_{13}, $OCOR_{13}$ и CHO, или R_7 и R_8 объединены с формированием 5- или 6-членного гетероциклила; R_{11} и R_{12} независимо представляют собой водород или R_{13}; каждый R_{13} независимо представляет собой $C_{1\text{-}9}$алкил, $C_{2\text{-}9}$алкенил или $C_{2\text{-}9}$алкинил; и по меньшей мере один из R_1, R_2, R_3, R_4, R_5, R_6, R_7, R_8, R_9 и R_{10} не представляет собой водород; или его кристаллической формой, гидратом или косметически или фармацевтически приемлемой солью.

[0336] Согласно одному аспекту данного варианта осуществления, соединение характеризуется структурой в соответствии с формулой (II)



(II)

,

или его кристаллической формой, гидратом или косметически или фармацевтически приемлемой солью.

[0337] Согласно другому аспекту данного варианта осуществления, R_1, R_2, R_3, R_4, R_5, R_6, R_7, R_8, R_9 и R_{10} независимо выбраны из группы, состоящей из водорода и C_{1-4}алкила.

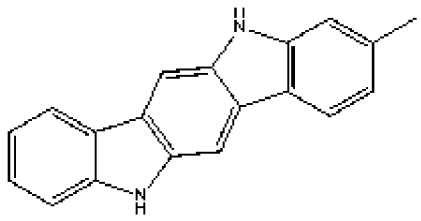
[0338] Предпочтительно, один или два из R_1, R_2, R_3, R_4, R_5, R_6, R_7, R_8, R_9 и R_{10} представляют собой C_{1-4}алкил, и оставшиеся группы представляют собой водород.

[0339] Согласно дополнительному аспекту данного варианта осуществления, один из R_5 и R_{10} представляет собой C_{1-4}алкил, и другой представляет собой водород.

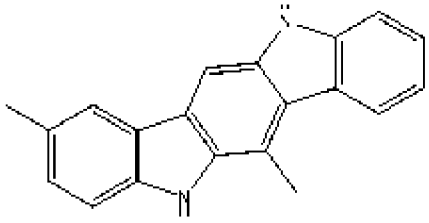
[0340] Согласно дополнительному аспекту данного варианта осуществления, один из R_1, R_2, R_3, R_4, R_6, R_7, R_8 и R_9 представляет собой C_{1-4}алкил, и оставшиеся группы представляют собой водород.

[0341] Предпочтительно, R_{11} и R_{12} каждые представляют собой водород; и один, два, три или четыре из R_1, R_2, R_3, R_4, R_5, R_6, R_7, R_8, R_9 и R_{10} представляют собой метил, и оставшиеся группы представляют собой водород.

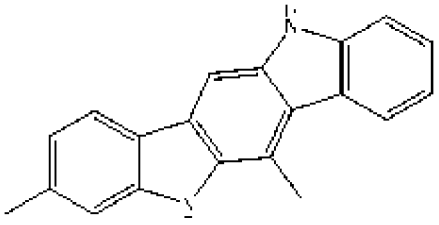
[0342] Согласно другому аспекту данного варианта осуществления, соединение выбрано из группы, состоящей из:



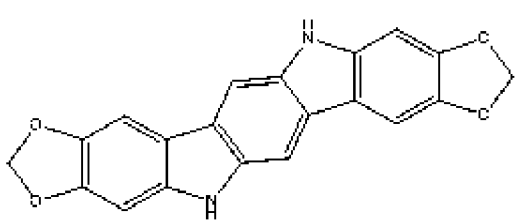
,



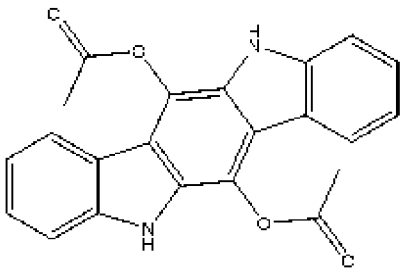
,



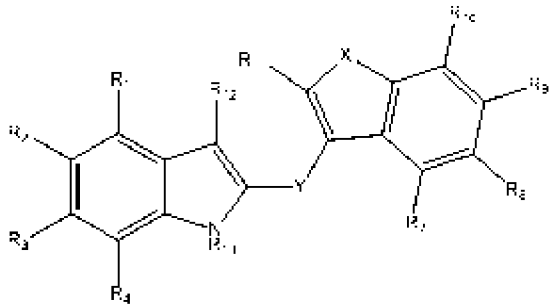
,



и



[0343] Дополнительный вариант осуществления согласно настоящему изобретению представляет собой соединение для осветления кожи. Соединение характеризуется структурой следующей формулы:



где: X выбран из группы, состоящей из NR_{14} и O; Y представляет собой ковалентную связь, CR_5R_6, O или NR_{15}; R_1, R_2, R_3, R_4, R_7, R_8, R_9, R_{10} и R_{11} независимо выбраны из группы, состоящей из водорода, галогена, CN, гидроксила, R_{16} или OR_{16}; R_{13}, R_{14} и R_{15} независимо представляют собой водород или R_{16}; R_5 и R_6 независимо выбраны из группы, состоящей из водорода, гидроксила, OR_{16}, R_{16} и $C_{3\text{-}6}$циклоакила, или R_5 и R_6 объединены с формированием оксо (=O) группы или $C_{3\text{-}6}$циклоакила; R_{12} выбран из группы, состоящей из водорода, $-COR^a$ и R_{16}; каждый R_{16} независимо представляет собой формил, $C_{1\text{-}9}$алкил, $C_{2\text{-}9}$алкенил или $C_{2\text{-}9}$алкинил; и R^a выбран из группы, состоящей из водорода, гидроксила и OR_{16}; или его кристаллической формой, гидратом или косметически или фармацевтически приемлемой солью.

[0344] Согласно одному аспекту данного варианта осуществления, соединение характеризуется следующей структурой:



(I)

,

или его кристаллической формой, гидратом или косметически или фармацевтически приемлемой солью.

[0345] Согласно другому аспекту данного варианта осуществления, X представляет

собой NH.

[0346] Согласно дополнительному аспекту данного варианта осуществления, Y представляет собой CR_5R_6; R_5 представляет собой водород, и R_6 представляет собой водород, C_{1-4}алкил, C_{3-6}циклоакил или O-(C_{1-4}алкил); или R_5 и R_6 объединены с формированием оксо (=O) группы.

[0347] Предпочтительно, CR_5R_6 представляет собой CH_2, $CHCH_3$, $CHOCH_3$, C=O или $CH(C_3H_5)$.

[0348] Согласно дополнительному аспекту данного варианта осуществления, по меньшей мере один из R_1, R_2, R_3, R_4, R_7, R_8, R_9, R_{10} и R_{11} представляет собой C_{1-4}алкил.

[0349] Предпочтительно, R_2 представляет собой C_{1-4}алкил.

[0350] Более предпочтительно, R_2 представляет собой метил.

[0351] Согласно другому аспекту данного варианта осуществления, каждый из R_1, R_2, R_3, R_4, R_7, R_8, R_9, R_{10} и R_{11} представляет собой водород.

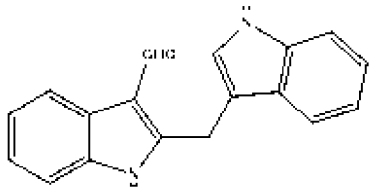
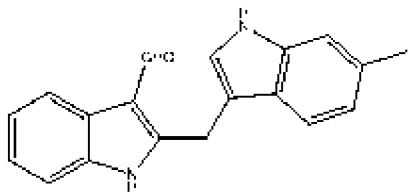
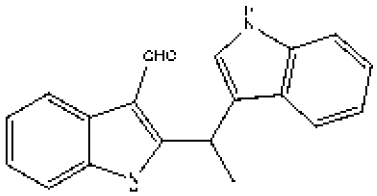
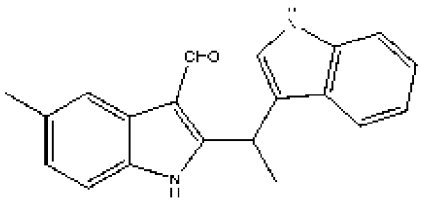
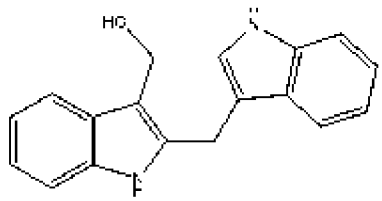
[0352] Согласно дополнительному аспекту данного варианта осуществления, R_{12} представляет собой -COR^a или C_{1-4}гидроксиалкил; и R^a представляет собой водород или C_{1-4}алкил.

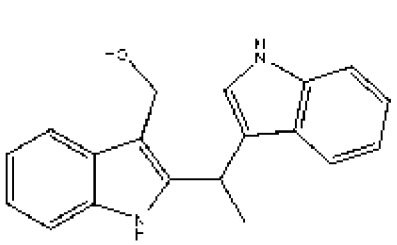
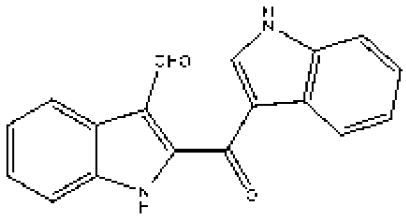
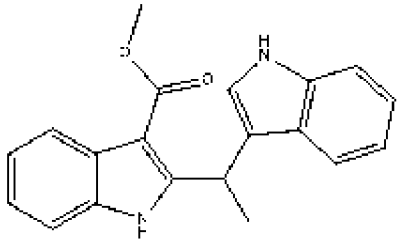
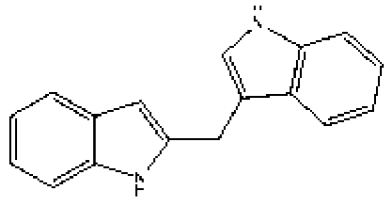
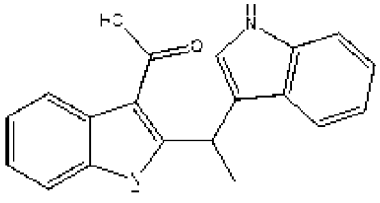
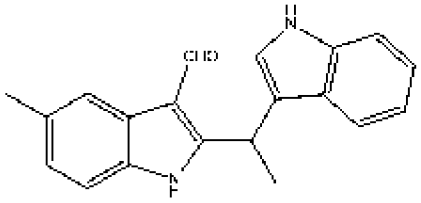
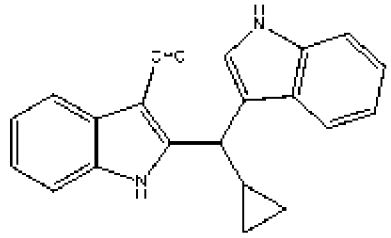
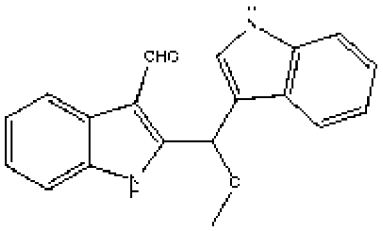
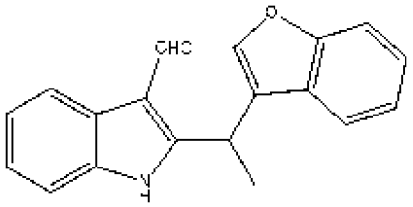
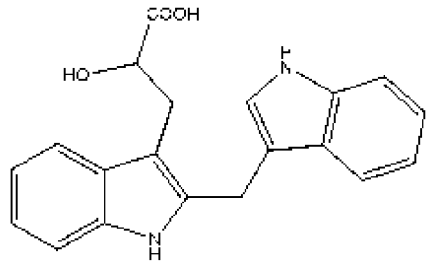
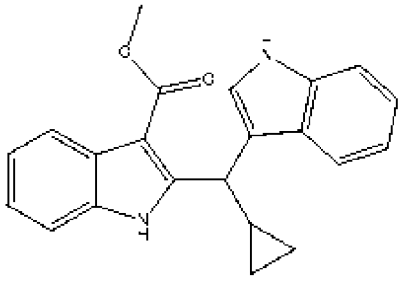
[0353] Предпочтительно, R_{12} представляет собой CHO, CH_2OH или C(=O)-O-(C_{1-4}алкил).

[0354] Более предпочтительно, R_{12} представляет собой CHO, CH_2OH или CO_2CH_3.

[0355] Согласно дополнительному аспекту данного варианта осуществления, X представляет собой NH; Y представляет собой CR_5R_6; каждый из R_1, R_3, R_4, R_7, R_8, R_9, R_{10}, R_{11} и R_{13} представляет собой водород; R_2 представляет собой водород или C_{1-4}алкил; R_5 представляет собой водород, и R_6 представляет собой водород, C_{1-4}алкил, C_{3-6}циклоакил или O-(C_{1-4}алкил); или R_5 и R_6 объединены с формированием оксо (=O) группы; R_{12} представляет собой -COR^a или C_{1-4}гидроксиалкил; и R^a представляет собой водород или C_{1-4}алкил.

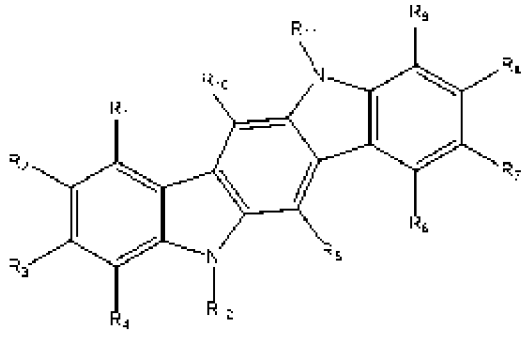
[0356] Согласно другому аспекту данного варианта осуществления, соединение выбрано из группы, состоящей из:


,

,

,

,

,


,

,

,

,

,

,

,

,

,

и

.

[0357] Согласно дополнительному аспекту данного варианта осуществления, если R^a представляет собой водород, Y представляет собой CR_5R_6, и R_{13} и R_{14} оба представляют собой водород, то по меньшей мере один из R_1, R_2, R_3, R_4, R_5, R_6, R_7, R_8, R_9, R_{10} и R_{11} представляет собой R_{16}; или R_5 выбран из группы, состоящей из гидроксила, OR_{16}, R_{16} и C_{3-6}циклоакила, или R5 и R6 объединены с формированием оксо (=O) группы или C_{3-6}циклоакил.

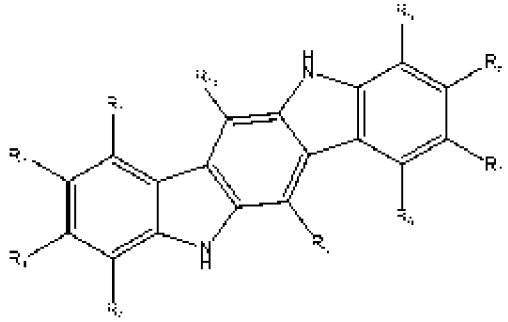
[0358] Дополнительный вариант осуществления согласно настоящему изобретению представляет собой соединение для осветления кожи. Соединение характеризуется следующей формулой:



где: R_1, R_4, R_5, R_6, R_9 и R_{10} независимо выбраны из группы, состоящей из водорода,

гидроксила, галогена, CN, R_{13}, OR_{13}, $OCOR_{13}$ и -CHO; R_2 и R_3 независимо выбраны из группы, состоящей из водорода, гидроксила, галогена, CN, R_{13}, OR_{13}, $OCOR_{13}$ и CHO, или R_2 и R_3 объединены с формированием 5- или 6-членного гетероциклила; R_7 и R_8 независимо выбраны из группы, состоящей из водорода, гидроксила, галогена, CN, R_{13}, OR_{13}, $OCOR_{13}$ и CHO, или R_7 и R_8 объединены с формированием 5- или 6-членного гетероциклила; R_{11} и R_{12} независимо представляют собой водород или R_{13}; и каждый R_{13} независимо представляет собой C_{1-9}алкил, C_{2-9}алкенил или C_{2-9}алкинил; или его кристаллической формой, гидратом или косметически или фармацевтически приемлемой солью.

[0359] Согласно одному аспекту данного варианта осуществления, соединение характеризуется структурой в соответствии с формулой (II)



(II)

,

или его кристаллической формой, гидратом или косметически или фармацевтически приемлемой солью.

[0360] Согласно другому аспекту данного варианта осуществления, R_1, R_2, R_3, R_4, R_5, R_6, R_7, R_8, R_9 и R_{10} независимо выбраны из группы, состоящей из водорода и C_{1-4}алкила.

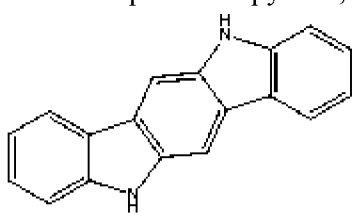
[0361] Предпочтительно, один или два из R_1, R_2, R_3, R_4, R_5, R_6, R_7, R_8, R_9 и R_{10} представляют собой C_{1-4}алкил, и оставшиеся группы представляют собой водород.

[0362] Согласно дополнительному аспекту данного варианта осуществления, один из R_5 и R_{10} представляет собой C_{1-4}алкил, и другой представляет собой водород.

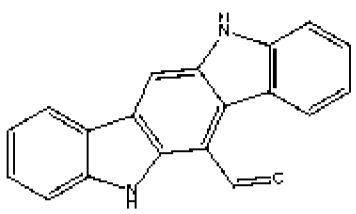
[0363] Согласно дополнительному аспекту данного варианта осуществления, один из R_1, R_2, R_3, R_4, R_6, R_7, R_8 и R_9 представляет собой C_{1-4}алкил, и оставшиеся группы представляют собой водород.

[0364] Согласно другому аспекту данного варианта осуществления, R_{11} и R_{12} каждые представляют собой водород; и один, два, три или четыре из R_1, R_2, R_3, R_4, R_5, R_6, R_7, R_8, R_9 и R_{10} представляют собой метил, и оставшиеся группы представляют собой водород.

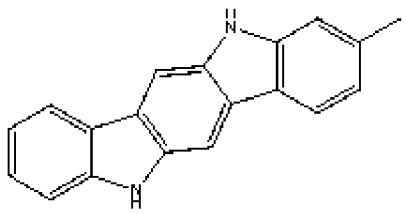
[0365] Согласно дополнительному аспекту данного варианта осуществления, соединение выбрано из группы, состоящей из:

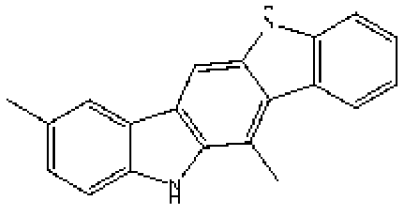
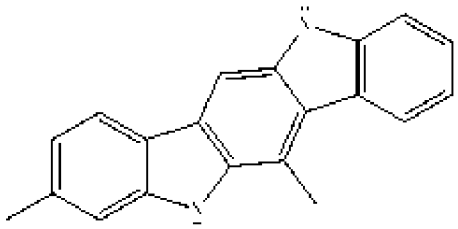
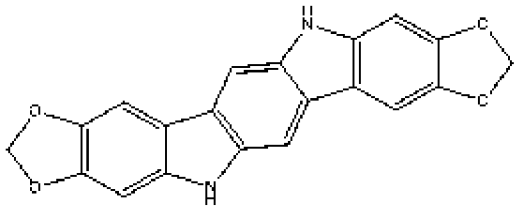
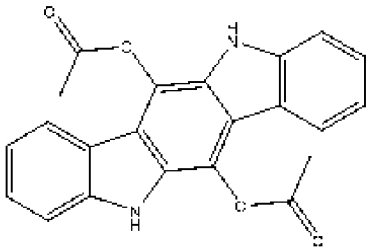


,



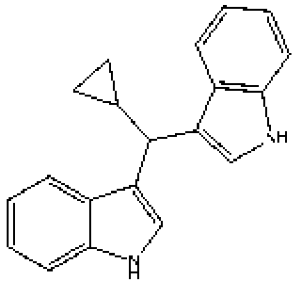
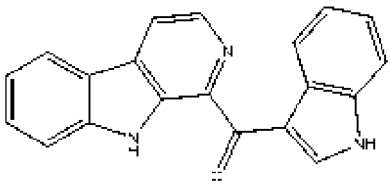
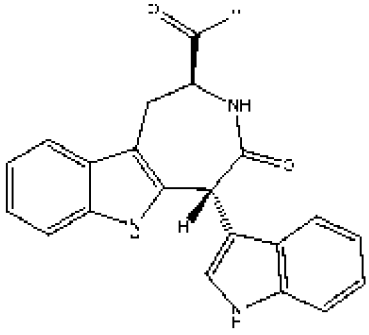
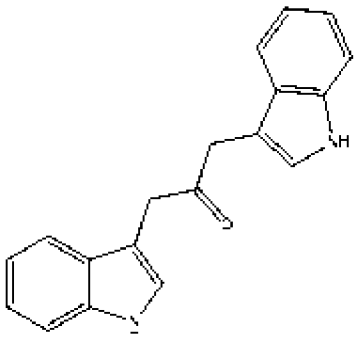
,



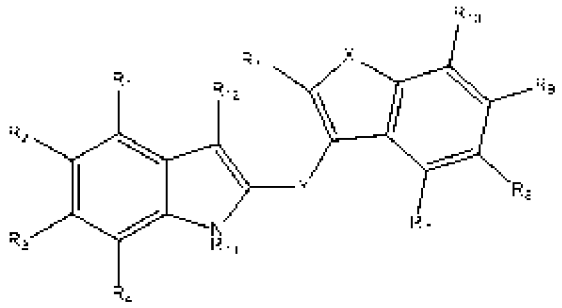

,

,

и

.

[0366] Согласно дополнительному аспекту данного варианта осуществления, по меньшей мере один из R_1, R_2, R_3, R_4, R_5, R_6, R_7, R_8, R_9 и R_{10} не представляет собой водород.

[0367] Другой вариант осуществления согласно настоящему изобретению представляет собой соединение для осветления кожи. Соединение выбрано из группы, состоящей из:

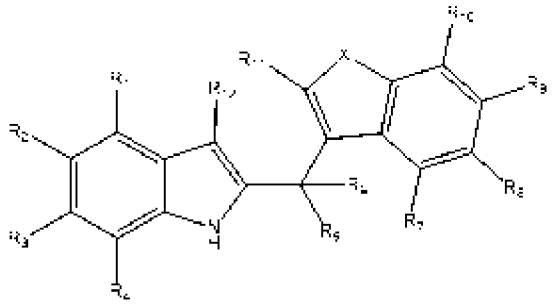

,

,

и

.

[0368] Дополнительный вариант осуществления согласно настоящему изобретению представляет собой соединение для индукции апоптоза меланоцитов. Соединение характеризуется структурой следующей формулы:



где: X выбран из группы, состоящей из NR_{14} и O; Y представляет собой ковалентную связь, CR_5R_6, O или NR_{15}; R_1, R_2, R_3, R_4, R_7, R_8, R_9, R_{10} и R_{11} независимо выбраны из группы, состоящей из водорода, галогена, CN, гидроксила, R_{16} или OR_{16}; R_{13}, R_{14} и R_{15} независимо представляют собой водород или R_{16}; R_5 и R_6 независимо выбраны из группы, состоящей из водорода, гидроксила, OR_{16}, R_{16} и C_{3-6}циклоакила, или R_5 и R_6 объединены с формированием оксо (=O) группы или C_{3-6}циклоакила; R_{12} выбран из группы, состоящей из водорода, $-COR^a$ и R_{16}; каждый R_{16} независимо представляет собой формил, C_{1-9}алкил, C_{2-9}алкенил или C_{2-9}алкинил; и R^a выбран из группы, состоящей из водорода, гидроксила и OR_{16}; или его кристаллической формой, гидратом или косметически или фармацевтически приемлемой солью.

[0369] Согласно одному аспекту данного варианта осуществления, соединение характеризуется следующей структурой:



(I) ,

или его кристаллической формой, гидратом или косметически или фармацевтически приемлемой солью.

[0370] Согласно другому аспекту данного варианта осуществления, X представляет собой NH.

[0371] Согласно дополнительному аспекту данного варианта осуществления, Y представляет собой CR_5R_6; R_5 представляет собой водород, и R_6 представляет собой водород, C_{1-4}алкил, C_{3-6}циклоакил или O-(C_{1-4}алкил); или R_5 и R_6 объединены с формированием оксо (=O) группы.

[0372] Предпочтительно, CR_5R_6 представляет собой CH_2, $CHCH_3$, $CHOCH_3$, C=O или $CH(C_3H_5)$.

[0373] Согласно дополнительному аспекту данного варианта осуществления, по меньшей мере один из R_1, R_2, R_3, R_4, R_7, R_8, R_9, R_{10} и R_{11} представляет собой C_{1-4}алкил.

[0374] Предпочтительно, R_2 представляет собой C_{1-4}алкил.

[0375] Более предпочтительно, R_2 представляет собой метил.

[0376] Согласно другому аспекту данного варианта осуществления, каждый из R_1, R_2, R_3, R_4, R_7, R_8, R_9, R_{10} и R_{11} представляет собой водород.

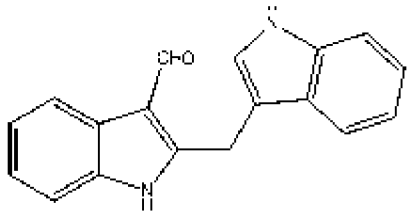
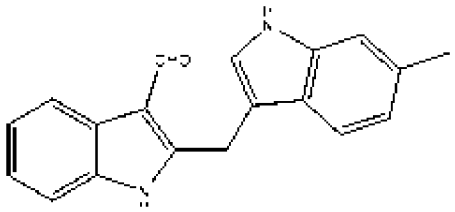
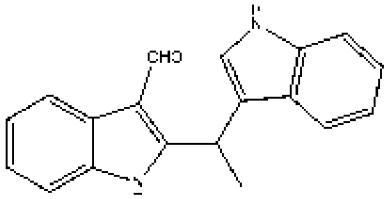
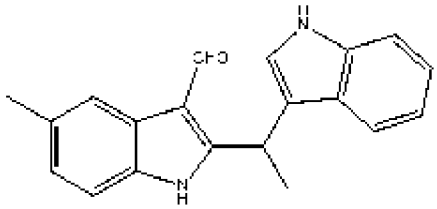
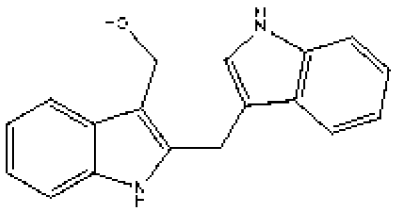
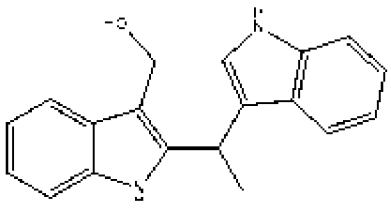
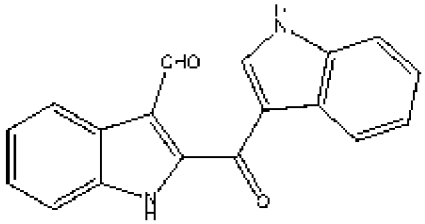
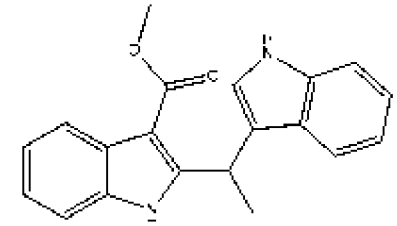
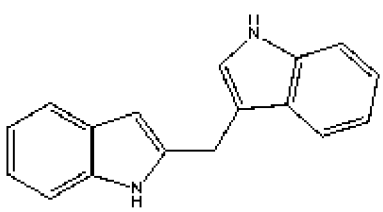
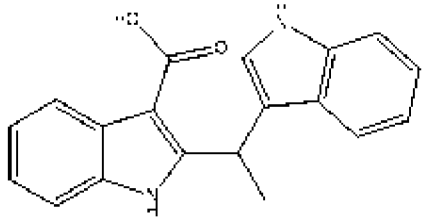
[0377] Согласно дополнительному аспекту данного варианта осуществления, R_{12} представляет собой $-COR^a$ или C_{1-4}гидроксиалкил; и R^a представляет собой водород или C_{1-4}алкил.

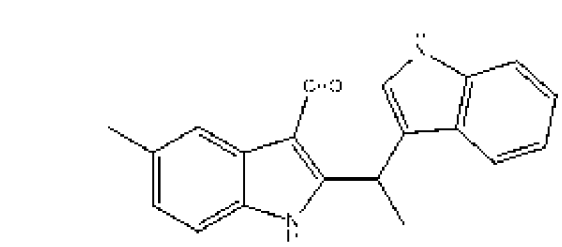
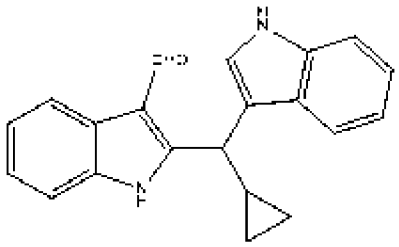
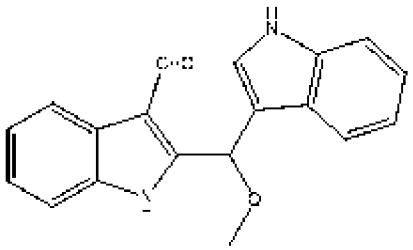
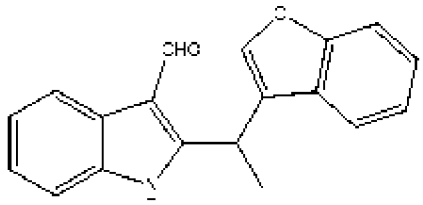
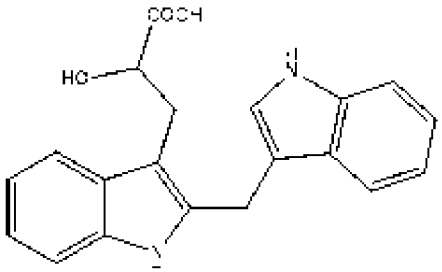
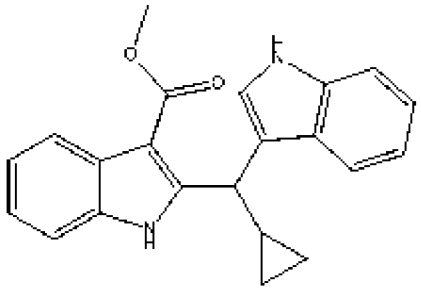
[0378] Предпочтительно, R_{12} представляет собой CHO, CH_2OH или C(=O)-O-(C_{1-4}алкил).

[0379] Более предпочтительно, R_{12} представляет собой CHO, CH_2OH или CO_2CH_3.

[0380] Согласно дополнительному аспекту данного варианта осуществления, X представляет собой NH; Y представляет собой CR_5R_6; каждый из R_1, R_3, R_4, R_7, R_8, R_9, R_{10}, R_{11} и R_{13} представляет собой водород; R_2 представляет собой водород или C_{1-4}алкил; R_5 представляет собой водород, и R_6 представляет собой водород, C_{1-4}алкил, C_{3-6}циклоакил или O-(C_{1-4}алкил); или R_5 и R_6 объединены с формированием оксо (=O) группы; R_{12} представляет собой $-COR^a$ или C_{1-4}гидроксиалкил; и R^a представляет собой водород или C_{1-4}алкил.

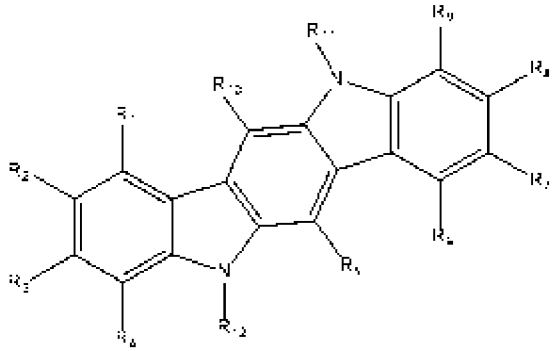
[0381] Согласно другому аспекту данного варианта осуществления, соединение выбрано из группы, состоящей из:


,

,

,

,

,

,

,

,

,

,


,

,

,

,


и .

[0382] Согласно дополнительному аспекту данного варианта осуществления, если R^a представляет собой водород, Y представляет собой CR_5R_6, и R_{13} и R_{14} оба представляют собой водород, то по меньшей мере один из R_1, R_2, R_3, R_4, R_5, R_6, R_7, R_8, R_9, R_{10} и R_{11} представляет собой R_{16}; или R_5 выбран из группы, состоящей из гидроксила, OR_{16}, R_{16} и C_{3-6}циклоакила, или R_5 и R_6 объединены с формированием оксо (=O) группы или C_{3-6}циклоакил.

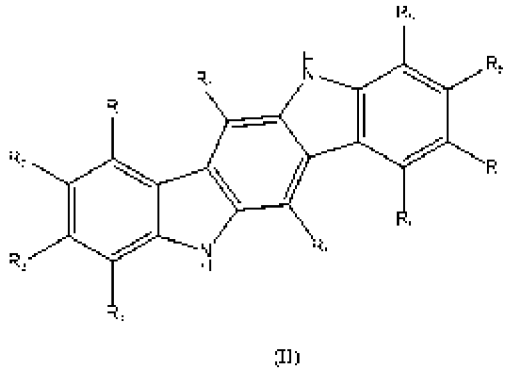
[0383] Дополнительный вариант осуществления согласно настоящему изобретению представляет собой соединение для индукции апоптоза меланоцитов, причем соединение характеризуется следующей формулой:



где: R_1, R_4, R_5, R_6, R_9 и R_{10} независимо выбраны из группы, состоящей из водорода, гидроксила, галогена, CN, R_{13}, OR_{13}, $OCOR_{13}$ и -CHO; R_2 и R_3 независимо выбраны из группы, состоящей из водорода, гидроксила, галогена, CN, R_{13}, OR_{13}, $OCOR_{13}$ и CHO, или R_2 и R_3 объединены с формированием 5- или 6-членного гетероциклила; R_7 и R_8 независимо выбраны из группы, состоящей из водорода, гидроксила, галогена, CN, R_{13}, OR_{13}, $OCOR_{13}$

и CHO, или R_7 и R_8 объединены с формированием 5- или 6-членного гетероциклила; R_{11} и R_{12} независимо представляют собой водород или R_{13}; и каждый R_{13} независимо представляет собой C_{1-9}алкил, C_{2-9}алкенил или C_{2-9}алкинил; или его кристаллической формой, гидратом или косметически или фармацевтически приемлемой солью.

[0384] Согласно одному аспекту данного варианта осуществления, соединение характеризуется структурой в соответствии с формулой (II)



(II)

,

или его кристаллической формой, гидратом или косметически или фармацевтически приемлемой солью.

[0385] Согласно другому аспекту данного варианта осуществления, R_1, R_2, R_3, R_4, R_5, R_6, R_7, R_8, R_9 и R_{10} независимо выбраны из группы, состоящей из водорода и C_{1-4}алкила.

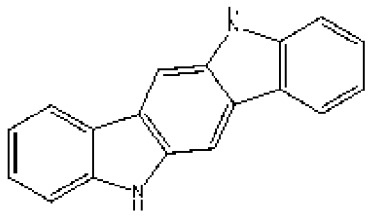
[0386] Предпочтительно, один или два из R_1, R_2, R_3, R_4, R_5, R_6, R_7, R_8, R_9 и R_{10} представляют собой C_{1-4}алкил, и оставшиеся группы представляют собой водород.

[0387] Согласно дополнительному аспекту данного варианта осуществления, один из R_5 и R_{10} представляет собой C_{1-4}алкил, и другой представляет собой водород.

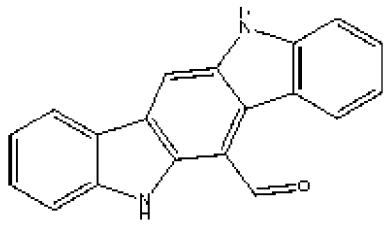
[0388] Согласно дополнительному аспекту данного варианта осуществления, один из R_1, R_2, R_3, R_4, R_6, R_7, R_8 и R_9 представляет собой C_{1-4}алкил, и оставшиеся группы представляют собой водород.

[0389] Согласно другому аспекту данного варианта осуществления, R_{11} и R_{12} каждые представляют собой водород; и один, два, три или четыре из R_1, R_2, R_3, R_4, R_5, R_6, R_7, R_8, R_9 и R_{10} представляют собой метил, и оставшиеся группы представляют собой водород.

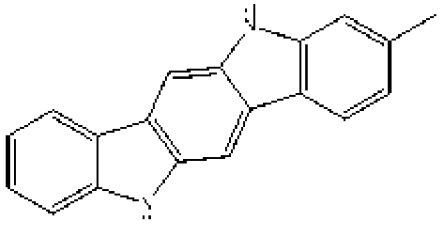
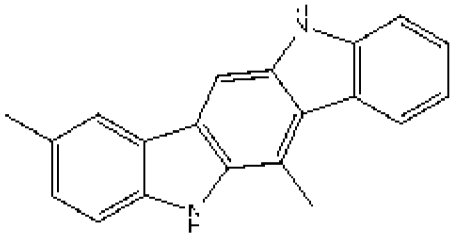
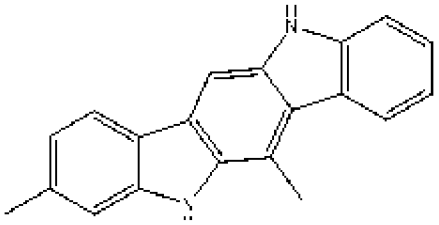
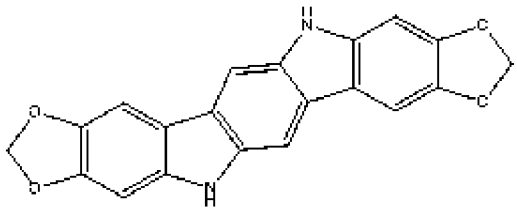
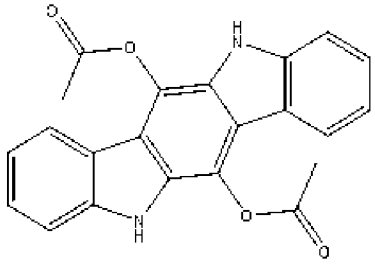
[0390] Согласно дополнительному аспекту данного варианта осуществления, соединение выбрано из группы, состоящей из:



,

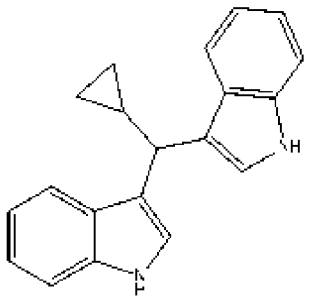
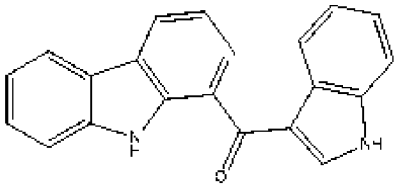
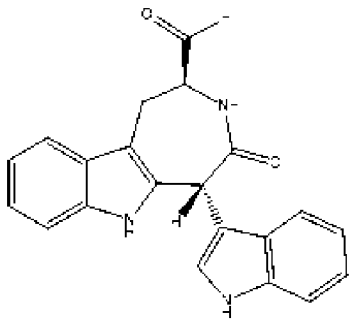
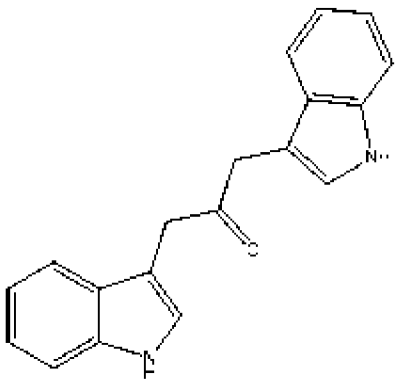


,


,

,

,

и

.

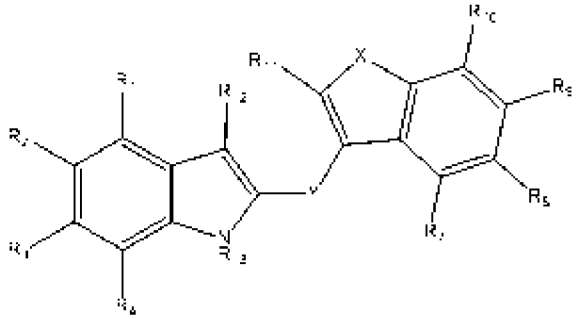
[0391] Согласно дополнительному аспекту данного варианта осуществления, по меньшей мере один из R_1, R_2, R_3, R_4, R_5, R_6, R_7, R_8, R_9 и R_{10} не представляет собой водород.

[0392] Другой вариант осуществления согласно настоящему изобретению представляет собой соединение для индукции апоптоза меланоцитов. Соединение выбрано из группы, состоящей из:


,

,

и

.

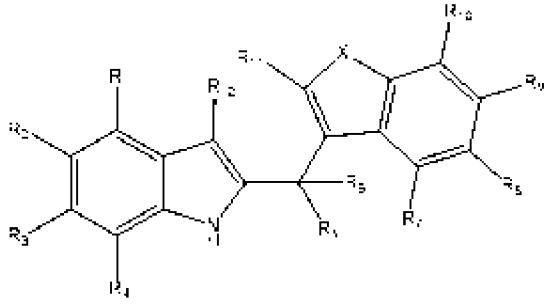
[0393] Дополнительный вариант осуществления согласно настоящему изобретению представляет собой соединение для модулирования активности рецептора ароматических

углеводородов (AhR). Соединение характеризуется структурой следующей формулы:



где: X выбран из группы, состоящей из NR_{14} и O; Y представляет собой ковалентную связь, CR_5R_6, O или NR_{15}; R_1, R_2, R_3, R_4, R_7, R_8, R_9, R_{10} и R_{11} независимо выбраны из группы, состоящей из водорода, галогена, CN, гидроксила, R_{16} или OR_{16}; R_{13}, R_{14} и R_{15} независимо представляют собой водород или R_{16}; R_5 и R_6 независимо выбраны из группы, состоящей из водорода, гидроксила, OR_{16}, R_{16} и C_{3-6}циклоакила, или R_5 и R_6 объединены с формированием оксо (=O) группы или C_{3-6}циклоакила; R_{12} выбран из группы, состоящей из водорода, -COR^a и R_{16}; каждый R_{16} независимо представляет собой формил, C_{1-9}алкил, C_{2-9}алкенил или C_{2-9}алкинил; и R^a выбран из группы, состоящей из водорода, гидроксила и OR_{16}; или его кристаллической формой, гидратом или косметически или фармацевтически приемлемой солью.

[0394] Согласно одному аспекту данного варианта осуществления, соединение характеризуется следующей структурой:



(I)

,

или его кристаллической формой, гидратом или косметически или фармацевтически приемлемой солью.

[0395] Согласно другому аспекту данного варианта осуществления, X представляет собой NH.

[0396] Согласно дополнительному аспекту данного варианта осуществления, Y представляет собой CR_5R_6; R_5 представляет собой водород, и R_6 представляет собой водород, C_{1-4}алкил, C_{3-6}циклоакил или O-(C_{1-4}алкил); или R_5 и R_6 объединены с формированием оксо (=O) группы.

[0397] Предпочтительно, CR_5R_6 представляет собой CH_2, $CHCH_3$, $CHOCH_3$, C=O или $CH(C_3H_5)$.

[0398] Согласно дополнительному аспекту данного варианта осуществления, по меньшей мере один из R_1, R_2, R_3, R_4, R_7, R_8, R_9, R_{10} и R_{11} представляет собой C_{1-4}алкил.

[0399] Предпочтительно, R_2 представляет собой C_{1-4}алкил.

[0400] Более предпочтительно, R_2 представляет собой метил.

[0401] Согласно другому аспекту данного варианта осуществления, каждый из R_1, R_2, R_3, R_4, R_7, R_8, R_9, R_{10} и R_{11} представляет собой водород.

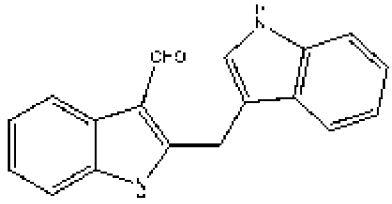
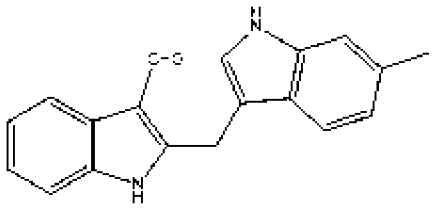
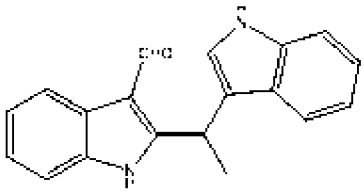
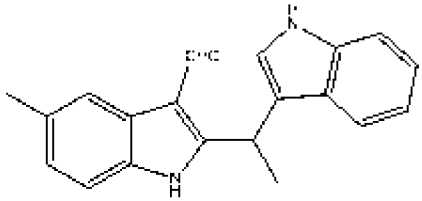
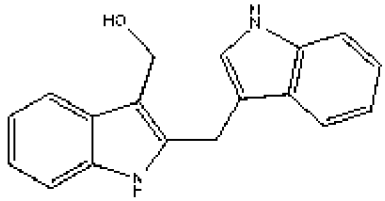
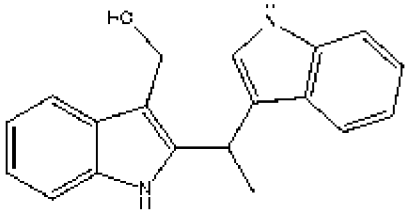
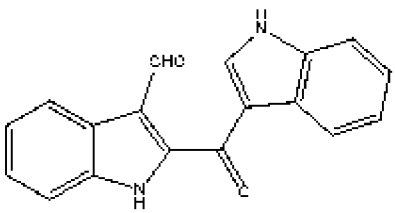
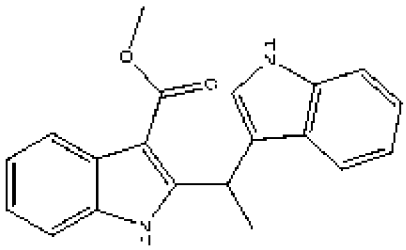
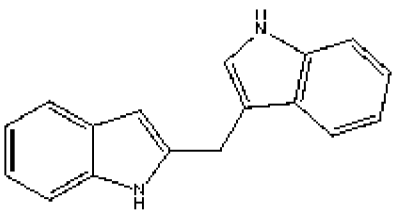
[0402] Согласно дополнительному аспекту данного варианта осуществления, R_{12} представляет собой -COR^a или C_{1-4}гидроксиалкил; и R^a представляет собой водород или C_{1-4}алкил.

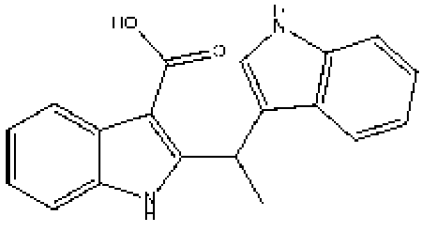
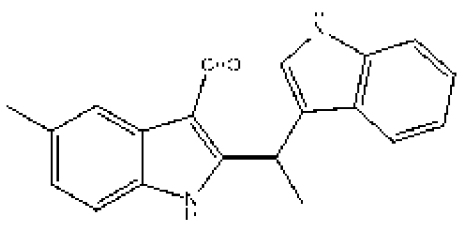
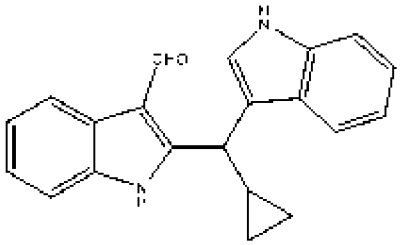
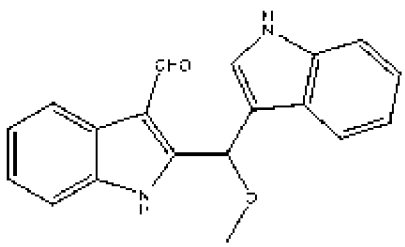
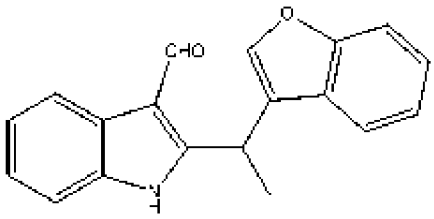
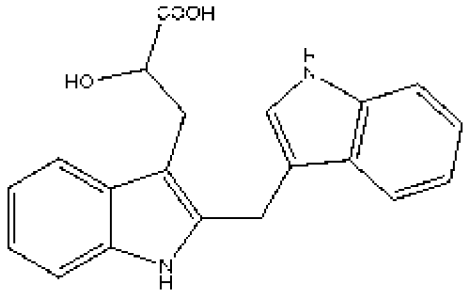
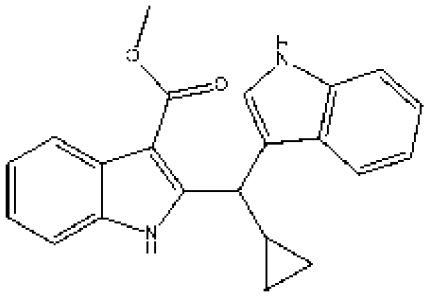
[0403] Предпочтительно, R_{12} представляет собой CHO, CH_2OH или C(=O)-O-(C_{1-4}алкил).

[0404] Более предпочтительно, R_{12} представляет собой CHO, CH_2OH или CO_2CH_3.

[0405] Согласно дополнительному аспекту данного варианта осуществления, X представляет собой NH; Y представляет собой CR_5R_6; каждый из R_1, R_3, R_4, R_7, R_8, R_9, R_{10}, R_{11} и R_{13} представляет собой водород; R_2 представляет собой водород или C_{1-4}алкил; R_5 представляет собой водород, и R_6 представляет собой водород, C_{1-4}алкил, C_{3-6}циклоакил или O-(C_{1-4}алкил); или R_5 и R_6 объединены с формированием оксо (=O) группы; R_{12} представляет собой -COR^a или C_{1-4}гидроксиалкил; и R^a представляет собой водород или C_{1-4}алкил.

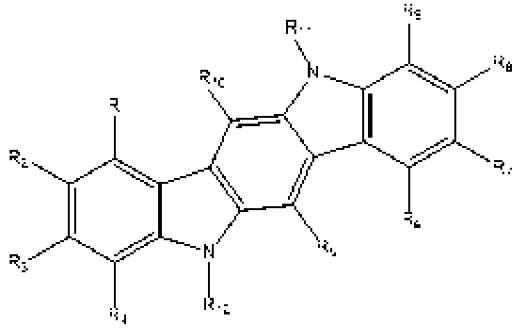
[0406] Согласно другому аспекту данного варианта осуществления, соединение выбрано из группы, состоящей из:


,

,

,

,

,

,

,

,

,


,

,

,

,

,

и

.

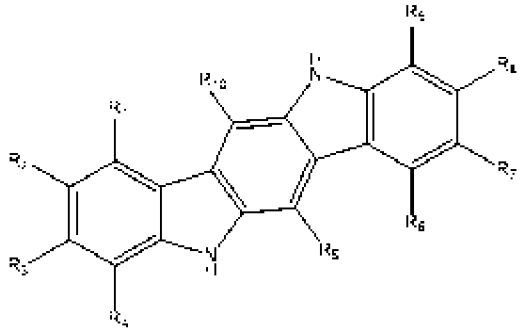
[0407] Согласно дополнительному аспекту данного варианта осуществления, если R^a представляет собой водород, Y представляет собой CR_5R_6, и R_{13} и R_{14} оба представляют собой водород, то по меньшей мере один из R_1, R_2, R_3, R_4, R_5, R_6, R_7, R_8, R_9, R_{10} и R_{11} представляет собой R_{16}; или R_5 выбран из группы, состоящей из гидроксила, OR_{16}, R_{16} и C_{3-6}циклоакила, или R_5 и R_6 объединены с формированием оксо (=O) группы или C_{3-6}циклоакил.

[0408] Дополнительный вариант осуществления согласно настоящему изобретению представляет собой соединение для модулирования активности рецептора ароматических углеводородов (AhR). Соединение характеризуется следующей формулой:



где: R_1, R_4, R_5, R_6, R_9 и R_{10} независимо выбраны из группы, состоящей из водорода, гидроксила, галогена, CN, R_{13}, OR_{13}, $OCOR_{13}$ и -CHO; R_2 и R_3 независимо выбраны из группы, состоящей из водорода, гидроксила, галогена, CN, R_{13}, OR_{13}, $OCOR_{13}$ и CHO, или R_2 и R_3 объединены с формированием 5- или 6-членного гетероциклила; R_7 и R_8 независимо выбраны из группы, состоящей из водорода, гидроксила, галогена, CN, R_{13}, OR_{13}, $OCOR_{13}$ и CHO, или R_7 и R_8 объединены с формированием 5- или 6-членного гетероциклила; R_{11} и R_{12} независимо представляют собой водород или R_{13}; и каждый R_{13} независимо представляет собой C_{1-9}алкил, C_{2-9}алкенил или C_{2-9}алкинил; или его кристаллической формой, гидратом или косметически или фармацевтически приемлемой солью.

[0409] Согласно одному аспекту данного варианта осуществления, соединение характеризуется структурой в соответствии с формулой (II)



(II)

,

или его кристаллической формой, гидратом или косметически или фармацевтически приемлемой солью.

[0410] Согласно другому аспекту данного варианта осуществления, R_1, R_2, R_3, R_4, R_5, R_6, R_7, R_8, R_9 и R_{10} независимо выбраны из группы, состоящей из водорода и C_{1-4}алкила.

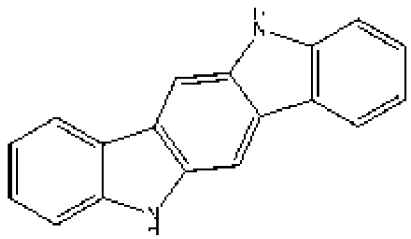
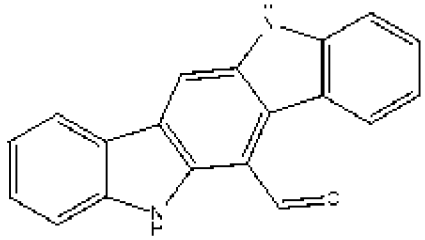
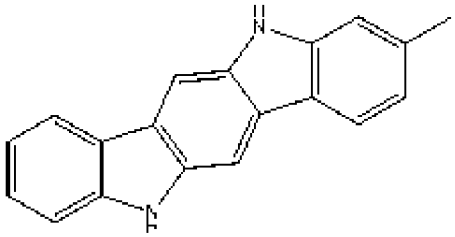
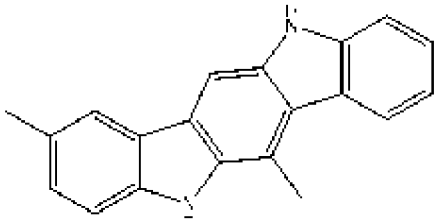
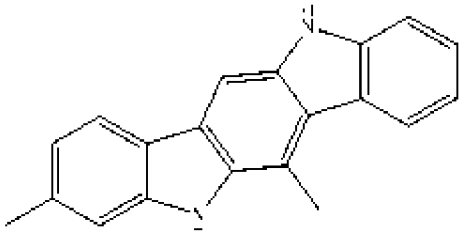
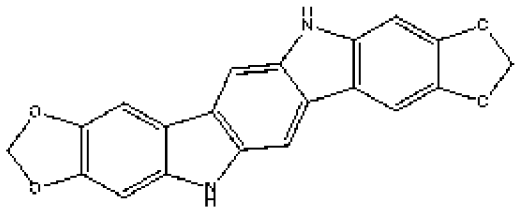
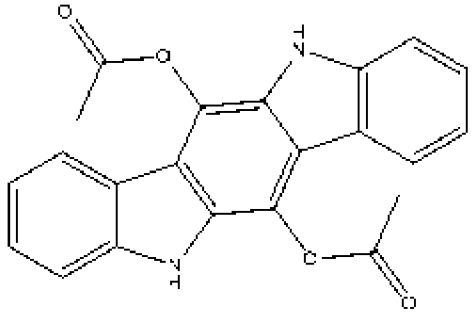
[0411] Предпочтительно, один или два из R_1, R_2, R_3, R_4, R_5, R_6, R_7, R_8, R_9 и R_{10} представляют собой C_{1-4}алкил, и оставшиеся группы представляют собой водород.

[0412] Согласно дополнительному аспекту данного варианта осуществления, один из R_5 и R_{10} представляет собой C_{1-4}алкил, и другой представляет собой водород.

[0413] Согласно дополнительному аспекту данного варианта осуществления, один из R_1, R_2, R_3, R_4, R_6, R_7, R_8 и R_9 представляет собой C_{1-4}алкил, и оставшиеся группы представляют собой водород.

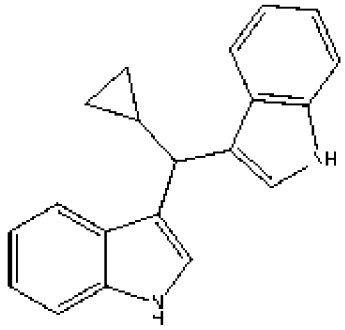
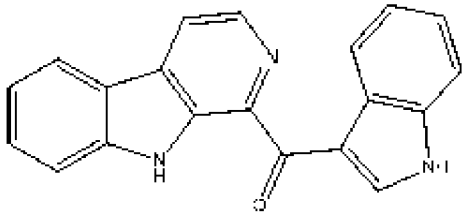
[0414] Согласно другому аспекту данного варианта осуществления, R_{11} и R_{12} каждые представляют собой водород; и один, два, три или четыре из R_1, R_2, R_3, R_4, R_5, R_6, R_7, R_8, R_9 и R_{10} представляют собой метил, и оставшиеся группы представляют собой водород.

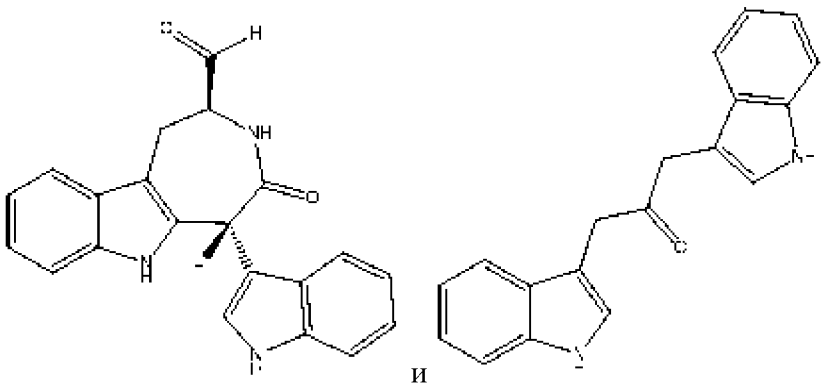
[0415] Согласно дополнительному аспекту данного варианта осуществления, соединение выбрано из группы, состоящей из:


,

,

,

,

,

и

.

[0416] Согласно дополнительному аспекту данного варианта осуществления, по меньшей мере один из R_1, R_2, R_3, R_4, R_5, R_6, R_7, R_8, R_9 и R_{10} не представляет собой водород.

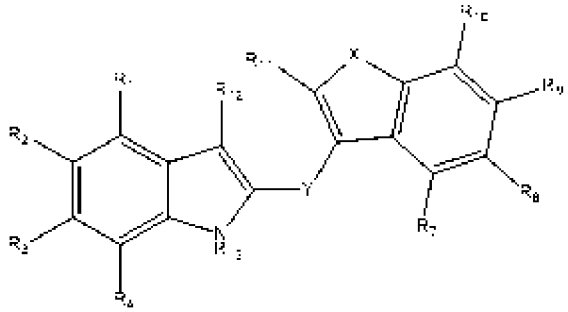
[0417] Другой вариант осуществления согласно настоящему изобретению представляет собой соединение для модулирования активности рецептора ароматических углеводородов (AhR). Соединение выбрано из группы, состоящей из:


,

,



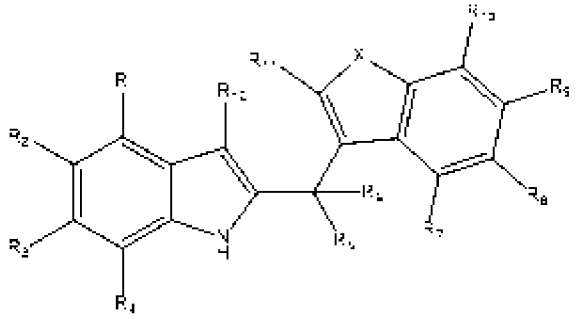
и

[0418] Дополнительный вариант осуществления согласно настоящему изобретению представляет собой соединение для модулирования меланогенеза. Соединение характеризуется структурой следующей формулы:



где: X выбран из группы, состоящей из NR_{14} и O; Y представляет собой ковалентную связь, CR_5R_6, O или NR_{15}; R_1, R_2, R_3, R_4, R_7, R_8, R_9, R_{10} и R_{11} независимо выбраны из группы, состоящей из водорода, галогена, CN, гидроксила, R_{16} или OR_{16}; R_{13}, R_{14} и R_{15} независимо представляют собой водород или R_{16}; R_5 и R_6 независимо выбраны из группы, состоящей из водорода, гидроксила, OR_{16}, R_{16} и C_{3-6}циклоакила, или R_5 и R_6 объединены с формированием оксо (=O) группы или C_{3-6}циклоакила; R_{12} выбран из группы, состоящей из водорода, $-COR^a$ и R_{16}; каждый R_{16} независимо представляет собой формил, C_{1-9}алкил, C_{2-9}алкенил или C_{2-9}алкинил; и R^a выбран из группы, состоящей из водорода, гидроксила и OR_{16}; или его кристаллической формой, гидратом или косметически или фармацевтически приемлемой солью.

[0419] Согласно одному аспекту данного варианта осуществления, соединение характеризуется следующей структурой:



(I)

,

или его кристаллической формой, гидратом или косметически или фармацевтически

приемлемой солью.

[0420] Согласно другому аспекту данного варианта осуществления, X представляет собой NH.

[0421] Согласно дополнительному аспекту данного варианта осуществления, Y представляет собой CR_5R_6; R_5 представляет собой водород, и R_6 представляет собой водород, C_{1-4}алкил, C_{3-6}циклоакил или O-(C_{1-4}алкил); или R_5 и R_6 объединены с формированием оксо (=O) группы.

[0422] Предпочтительно, CR_5R_6 представляет собой CH_2, $CHCH_3$, $CHOCH_3$, C=O или $CH(C_3H_5)$.

[0423] Согласно дополнительному аспекту данного варианта осуществления, по меньшей мере один из R_1, R_2, R_3, R_4, R_7, R_8, R_9, R_{10} и R_{11} представляет собой C_{1-4}алкил.

[0424] Предпочтительно, R_2 представляет собой C_{1-4}алкил.

[0425] Более предпочтительно, R_2 представляет собой метил.

[0426] Согласно другому аспекту данного варианта осуществления, каждый из R_1, R_2, R_3, R_4, R_7, R_8, R_9, R_{10} и R_{11} представляет собой водород.

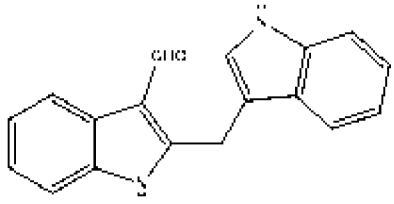
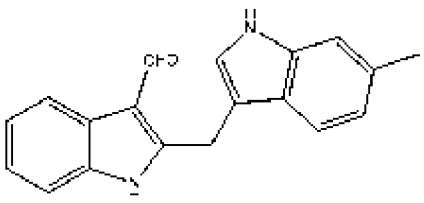
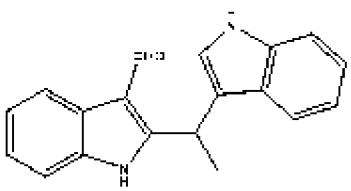
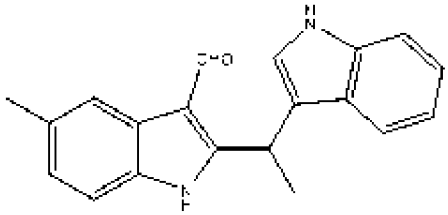
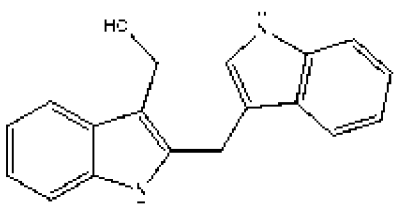
[0427] Согласно дополнительному аспекту данного варианта осуществления, R_{12} представляет собой -COR^a или C_{1-4}гидроксиалкил; и R^a представляет собой водород или C_{1-4}алкил.

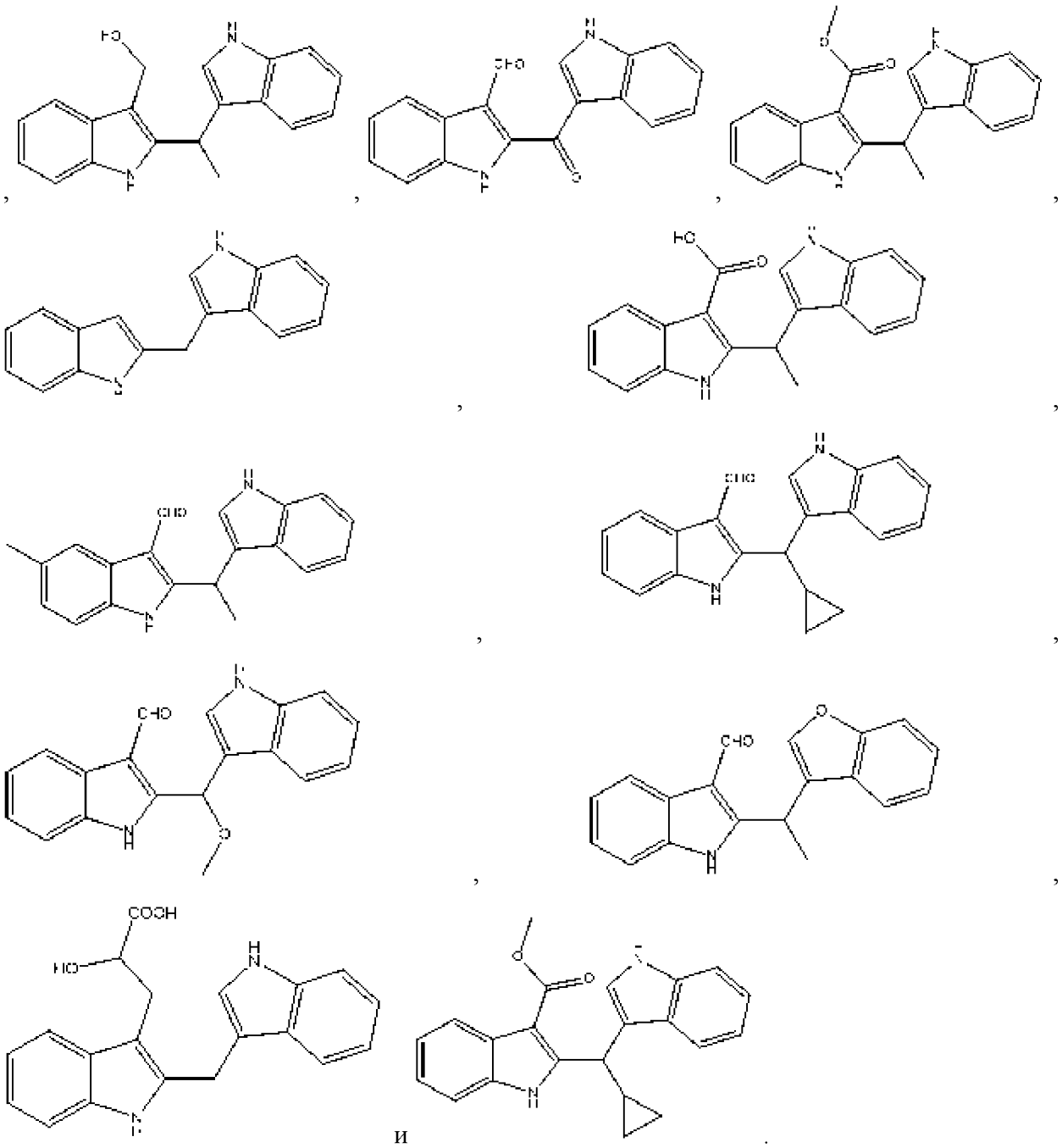
[0428] Предпочтительно, R_{12} представляет собой CHO, CH_2OH или C(=O)-O-(C_{1-4}алкил).

[0429] Более предпочтительно, R_{12} представляет собой CHO, CH_2OH или CO_2CH_3.

[0430] Согласно дополнительному аспекту данного варианта осуществления, X представляет собой NH; Y представляет собой CR_5R_6; каждый из R_1, R_3, R_4, R_7, R_8, R_9, R_{10}, R_{11} и R_{13} представляет собой водород; R_2 представляет собой водород или C_{1-4}алкил; R_5 представляет собой водород, и R_6 представляет собой водород, C_{1-4}алкил, C_{3-6}циклоакил или O-(C_{1-4}алкил); или R_5 и R_6 объединены с формированием оксо (=O) группы; R_{12} представляет собой -COR^a или C_{1-4}гидроксиалкил; и R^a представляет собой водород или C_{1-4}алкил.

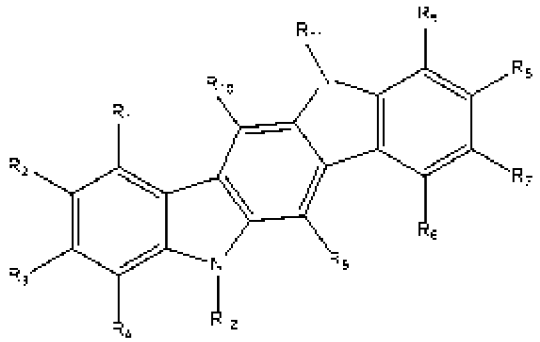
[0431] Согласно другому аспекту данного варианта осуществления, соединение выбрано из группы, состоящей из:


,

,

,

,




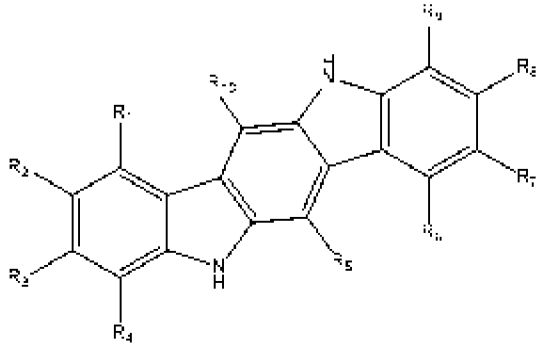
[0432] Согласно дополнительному аспекту данного варианта осуществления, если R^a представляет собой водород, Y представляет собой CR_5R_6, и R_{13} и R_{14} оба представляют собой водород, то по меньшей мере один из R_1, R_2, R_3, R_4, R_5, R_6, R_7, R_8, R_9, R_{10} и R_{11} представляет собой R_{16}; или R_5 выбран из группы, состоящей из гидроксила, OR_{16}, R_{16} и C_{3-6}циклоакила, или R_5 и R_6 объединены с формированием оксо (=O) группы или C_{3-6}циклоакил.

[0433] Дополнительный вариант осуществления согласно настоящему изобретению представляет собой соединение для модулирования меланогенеза. Соединение характеризуется следующей формулой:



где: R_1, R_4, R_5, R_6, R_9 и R_{10} независимо выбраны из группы, состоящей из водорода, гидроксила, галогена, CN, R_{13}, OR_{13}, $OCOR_{13}$ и -CHO; R_2 и R_3 независимо выбраны из группы, состоящей из водорода, гидроксила, галогена, CN, R_{13}, OR_{13}, $OCOR_{13}$ и CHO, или R_2 и R_3 объединены с формированием 5- или 6-членного гетероциклила; R_7 и R_8 независимо выбраны из группы, состоящей из водорода, гидроксила, галогена, CN, R_{13}, OR_{13}, $OCOR_{13}$ и CHO, или R_7 и R_8 объединены с формированием 5- или 6-членного гетероциклила; R_{11} и R_{12} независимо представляют собой водород или R_{13}; и каждый R_{13} независимо представляет собой C_{1-9}алкил, C_{2-9}алкенил или C_{2-9}алкинил; или его кристаллической формой, гидратом или косметически или фармацевтически приемлемой солью.

[0434] Согласно одному аспекту данного варианта осуществления, соединение характеризуется структурой в соответствии с формулой (II)



(II)

,

или его кристаллической формой, гидратом или косметически или фармацевтически приемлемой солью.

[0435] Согласно другому аспекту данного варианта осуществления, R_1, R_2, R_3, R_4, R_5, R_6, R_7, R_8, R_9 и R_{10} независимо выбраны из группы, состоящей из водорода и C_{1-4}алкила.

[0436] Предпочтительно, один или два из R_1, R_2, R_3, R_4, R_5, R_6, R_7, R_8, R_9 и R_{10} представляют собой C_{1-4}алкил, и оставшиеся группы представляют собой водород.

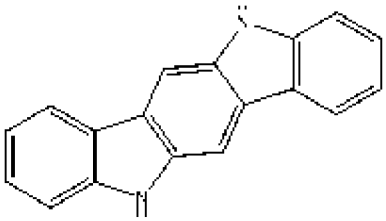
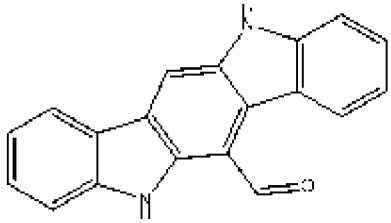
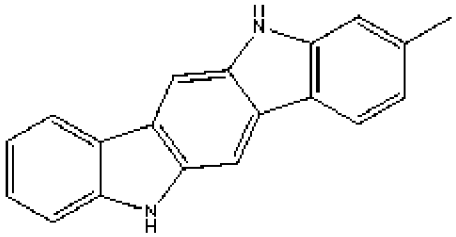
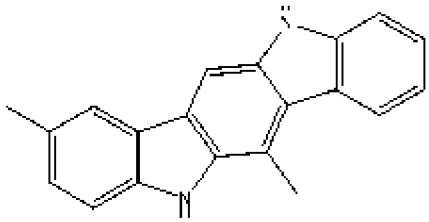
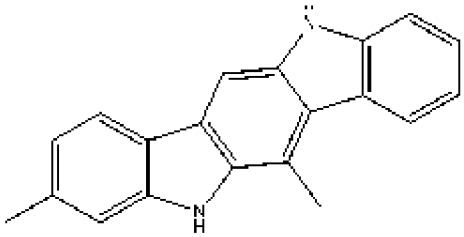
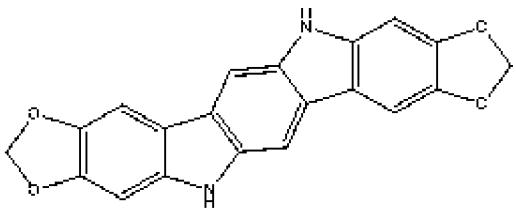
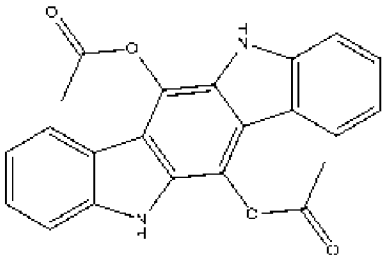
[0437] Согласно другому аспекту данного варианта осуществления, один из R_5 и R_{10} представляет собой C_{1-4}алкил, и другой представляет собой водород.

[0438] Согласно дополнительному аспекту данного варианта осуществления, один из R_1, R_2, R_3, R_4, R_6, R_7, R_8 и R_9 представляет собой C_{1-4}алкил, и оставшиеся группы представляют собой водород.

[0439] Согласно дополнительному аспекту данного варианта осуществления, R_{11} и R_{12} каждые представляют собой водород; и один, два, три или четыре из R_1, R_2, R_3, R_4, R_5,

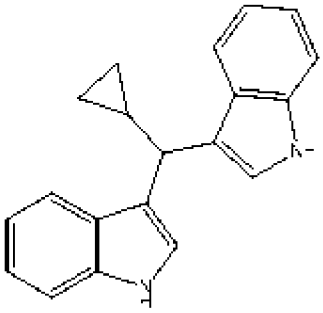
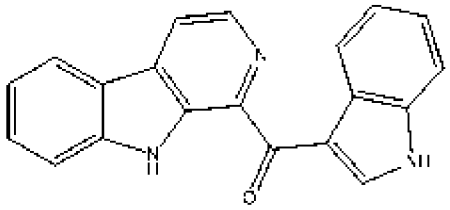
R_6, R_7, R_8, R_9 и R_{10} представляют собой метил, и оставшиеся группы представляют собой водород.

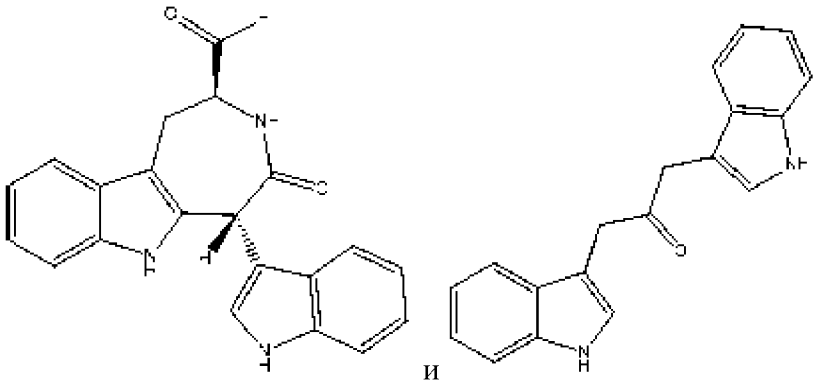
[0440] Согласно другому аспекту данного варианта осуществления, соединение выбрано из группы, состоящей из:


,

,

,

,

,

и

.

[0441] Согласно дополнительному аспекту данного варианта осуществления, по меньшей мере один из R_1, R_2, R_3, R_4, R_5, R_6, R_7, R_8, R_9 и R_{10} не представляет собой водород.

[0442] Другой вариант осуществления согласно настоящему изобретению представляет собой соединение для модулирования меланогенеза. Соединение выбрано из группы, состоящей из:

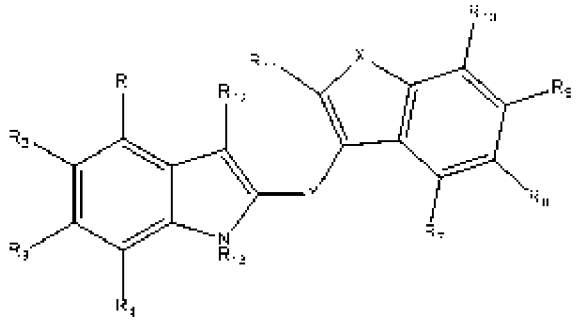

,

,



и

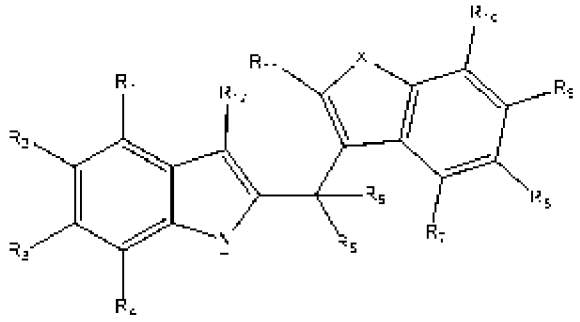
.

[0443] Дополнительный вариант осуществления согласно настоящему изобретению представляет собой соединение для модулирования концентрации меланина. Соединение характеризуется структурой следующей формулы:



где: X выбран из группы, состоящей из NR_{14} и O; Y представляет собой ковалентную связь, CR_5R_6, O или NR_{15}; R_1, R_2, R_3, R_4, R_7, R_8, R_9, R_{10} и R_{11} независимо выбраны из группы, состоящей из водорода, галогена, CN, гидроксила, R_{16} или OR_{16}; R_{13}, R_{14} и R_{15} независимо представляют собой водород или R_{16}; R_5 и R_6 независимо выбраны из группы, состоящей из водорода, гидроксила, OR_{16}, R_{16} и C_{3-6}циклоакила, или R_5 и R_6 объединены с формированием оксо (=O) группы или C_{3-6}циклоакила; R_{12} выбран из группы, состоящей из водорода, $-COR^a$ и R_{16}; каждый R_{16} независимо представляет собой формил, C_{1-9}алкил, C_{2-9}алкенил или C_{2-9}алкинил; и R^a выбран из группы, состоящей из водорода, гидроксила и OR_{16}; или его кристаллической формой, гидратом или косметически или фармацевтически приемлемой солью.

[0444] Согласно одному аспекту данного варианта осуществления, соединение характеризуется следующей структурой:



O

,

или его кристаллической формой, гидратом или косметически или фармацевтически

приемлемой солью.

[0445] Согласно другому аспекту данного варианта осуществления, X представляет собой NH.

[0446] Согласно дополнительному аспекту данного варианта осуществления, Y представляет собой CR_5R_6; R_5 представляет собой водород, и R_6 представляет собой водород, C_{1-4}алкил, C_{3-6}циклоакил или O-(C_{1-4}алкил); или R_5 и R_6 объединены с формированием оксо (=O) группы.

[0447] Предпочтительно, CR_5R_6 представляет собой CH_2, $CHCH_3$, $CHOCH_3$, C=O или $CH(C_3H_5)$.

[0448] Согласно дополнительному аспекту данного варианта осуществления, по меньшей мере один из R_1, R_2, R_3, R_4, R_7, R_8, R_9, R_{10} и R_{11} представляет собой C_{1-4}алкил.

[0449] Предпочтительно, R_2 представляет собой C_{1-4}алкил.

[0450] Более предпочтительно, R_2 представляет собой метил.

[0451] Согласно другому аспекту данного варианта осуществления, каждый из R_1, R_2, R_3, R_4, R_7, R_8, R_9, R_{10} и R_{11} представляет собой водород.

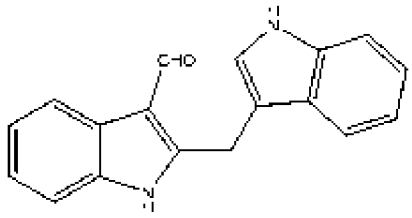
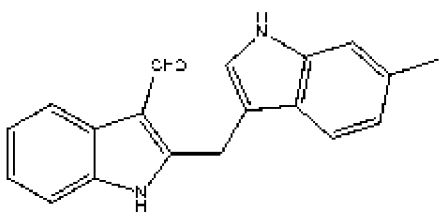
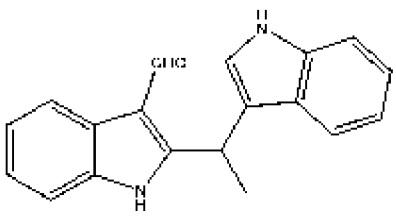
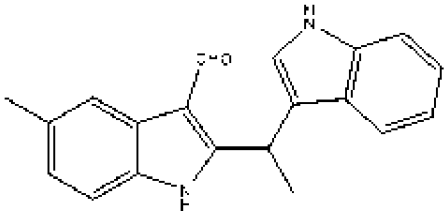
[0452] Согласно дополнительному аспекту данного варианта осуществления, R_{12} представляет собой -COR^a или C_{1-4}гидроксиалкил; и R^a представляет собой водород или C_{1-4}алкил.

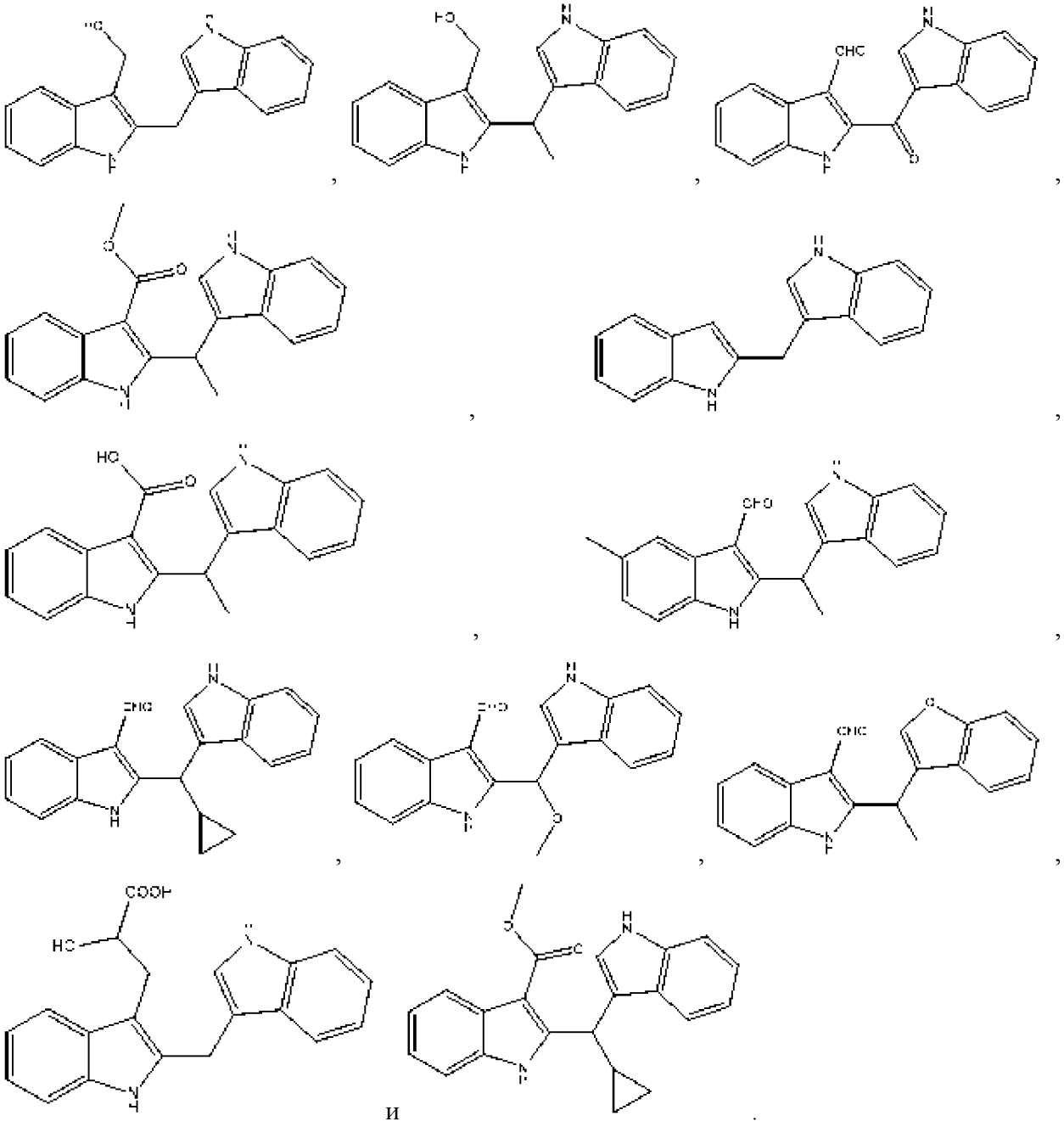
[0453] Предпочтительно, R_{12} представляет собой CHO, CH_2OH или C(=O)-O-(C_{1-4}алкил).

[0454] Более предпочтительно, R_{12} представляет собой CHO, CH_2OH или CO_2CH_3.

[0455] Согласно дополнительному аспекту данного варианта осуществления, X представляет собой NH; Y представляет собой CR_5R_6; каждый из R_1, R_3, R_4, R_7, R_8, R_9, R_{10}, R_{11} и R_{13} представляет собой водород; R_2 представляет собой водород или C_{1-4}алкил; R_5 представляет собой водород, и R_6 представляет собой водород, C_{1-4}алкил, C_{3-6}циклоакил или O-(C_{1-4}алкил); или R_5 и R_6 объединены с формированием оксо (=O) группы; R_{12} представляет собой -COR^a или C_{1-4}гидроксиалкил; и R^a представляет собой водород или C_{1-4}алкил.

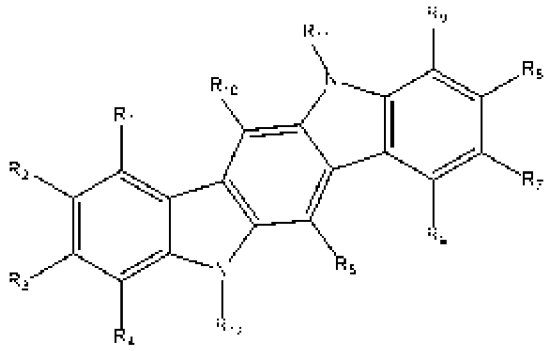
[0456] Согласно другому аспекту данного варианта осуществления, соединение выбрано из группы, состоящей из:


,

,

,

,



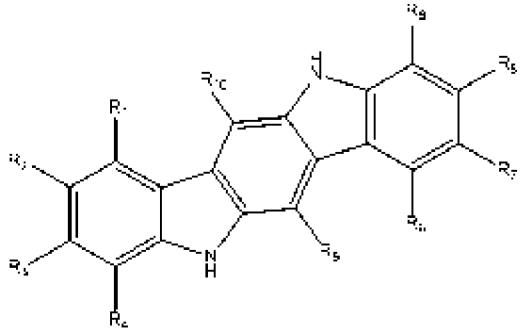
[0457] Согласно дополнительному аспекту данного варианта осуществления, если R^a представляет собой водород, Y представляет собой CR_5R_6, и R_{13} и R_{14} оба представляют собой водород, то по меньшей мере один из R_1, R_2, R_3, R_4, R_5, R_6, R_7, R_8, R_9, R_{10} и R_{11} представляет собой R_{16}; или R_5 выбран из группы, состоящей из гидроксила, OR_{16}, R_{16} и C_{3-6}циклоакила, или R_5 и R_6 объединены с формированием оксо (=O) группы или C_{3-6}циклоакил.

[0458] Дополнительный вариант осуществления согласно настоящему изобретению представляет собой соединение для модулирования концентрации меланина. Соединение характеризуется следующей формулой:



где: R_1, R_4, R_5, R_6, R_9 и R_{10} независимо выбраны из группы, состоящей из водорода, гидроксила, галогена, CN, R_{13}, OR_{13}, $OCOR_{13}$ и -CHO; R_2 и R_3 независимо выбраны из группы, состоящей из водорода, гидроксила, галогена, CN, R_{13}, OR_{13}, $OCOR_{13}$ и CHO, или R_2 и R_3 объединены с формированием 5- или 6-членного гетероциклила; R_7 и R_8 независимо выбраны из группы, состоящей из водорода, гидроксила, галогена, CN, R_{13}, OR_{13}, $OCOR_{13}$ и CHO, или R_7 и R_8 объединены с формированием 5- или 6-членного гетероциклила; R_{11} и R_{12} независимо представляют собой водород или R_{13}; и каждый R_{13} независимо представляет собой C_{1-9}алкил, C_{2-9}алкенил или C_{2-9}алкинил; или его кристаллической формой, гидратом или косметически или фармацевтически приемлемой солью.

[0459] Согласно одному аспекту данного варианта осуществления, соединение характеризуется структурой в соответствии с формулой (II)



(II)

,

или его кристаллической формой, гидратом или косметически или фармацевтически приемлемой солью.

[0460] Согласно другому аспекту данного варианта осуществления, R_1, R_2, R_3, R_4, R_5, R_6, R_7, R_8, R_9 и R_{10} независимо выбраны из группы, состоящей из водорода и C_{1-4}алкила.

[0461] Предпочтительно, один или два из R_1, R_2, R_3, R_4, R_5, R_6, R_7, R_8, R_9 и R_{10} представляют собой C_{1-4}алкил, и оставшиеся группы представляют собой водород.

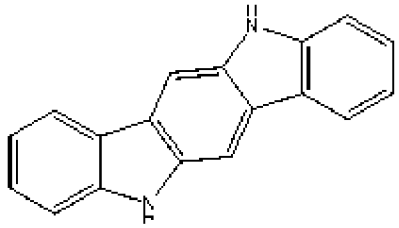
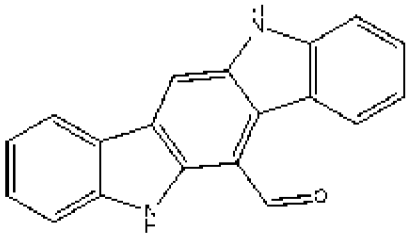
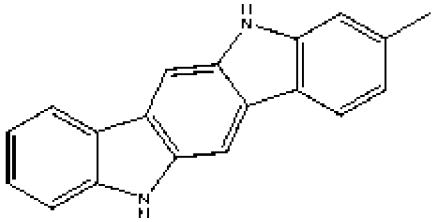
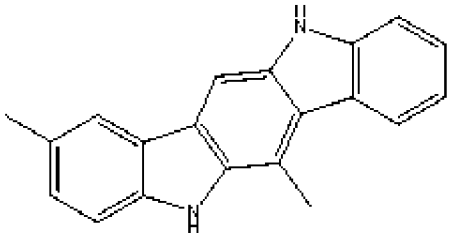
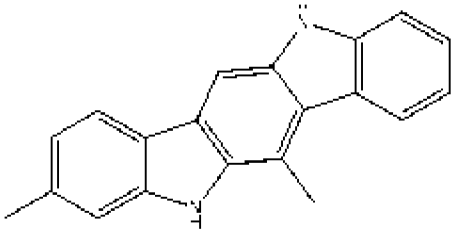
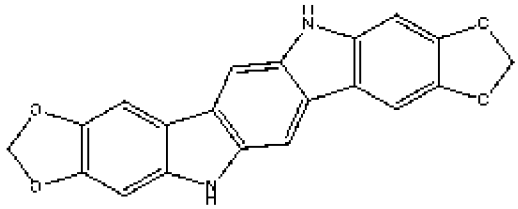
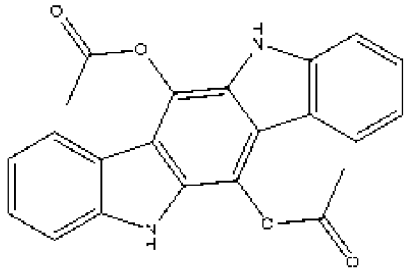
[0462] Согласно дополнительному аспекту данного варианта осуществления, один из R_5 и R_{10} представляет собой C_{1-4}алкил, и другой представляет собой водород.

[0463] Согласно дополнительному аспекту данного варианта осуществления, один из R_1, R_2, R_3, R_4, R_6, R_7, R_8 и R_9 представляет собой C_{1-4}алкил, и оставшиеся группы представляют собой водород.

[0464] Согласно другому аспекту данного варианта осуществления, R_{11} и R_{12} каждые представляют собой водород; и один, два, три или четыре из R_1, R_2, R_3, R_4, R_5, R_6, R_7, R_8, R_9

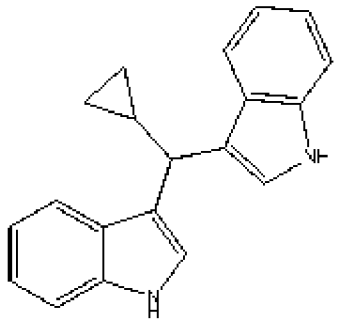
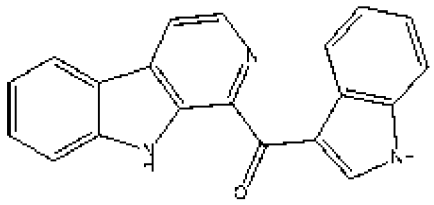
и R_{10} представляют собой метил, и оставшиеся группы представляют собой водород.

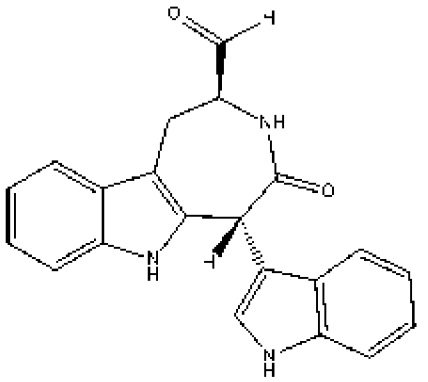
[0465] Согласно дополнительному аспекту данного варианта осуществления, соединение выбрано из группы, состоящей из:

 ,  ,  ,  ,  ,  и  .

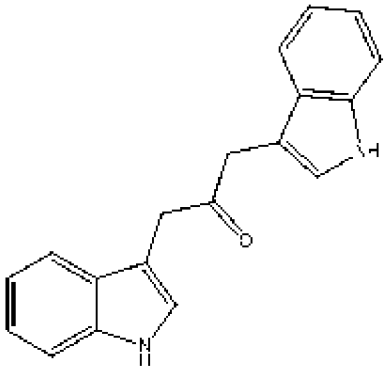
[0466] Согласно дополнительному аспекту данного варианта осуществления, по меньшей мере один из R_1, R_2, R_3, R_4, R_5, R_6, R_7, R_8, R_9 и R_{10} не представляет собой водород.

[0467] Другой вариант осуществления согласно настоящему изобретению представляет собой соединение для модулирования концентрации меланина. Соединение выбрано из группы, состоящей из:

 ,  ,

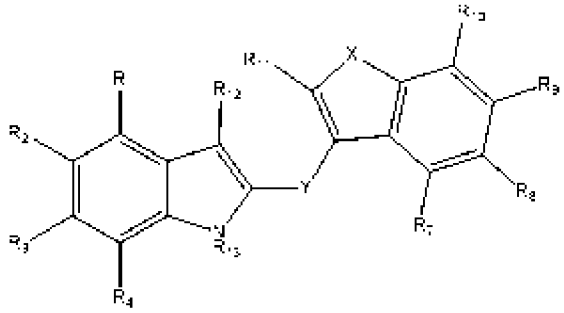


и



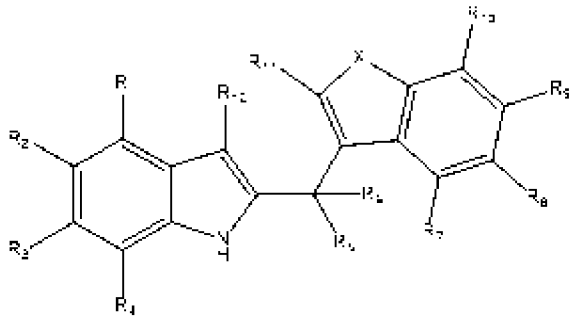
.

[0468] Дополнительный вариант осуществления согласно настоящему изобретению представляет собой композицию, содержащую соединение. Соединение характеризуется структурой следующей формулы:



где: X выбран из группы, состоящей из NR_{14} и O; Y представляет собой ковалентную связь, CR_5R_6, O или NR_{15}; R_1, R_2, R_3, R_4, R_7, R_8, R_9, R_{10} и R_{11} независимо выбраны из группы, состоящей из водорода, галогена, CN, гидроксила, R_{16} или OR_{16}; R_{13}, R_{14} и R_{15} независимо представляют собой водород или R_{16}; R_5 и R_6 независимо выбраны из группы, состоящей из водорода, гидроксила, OR_{16}, R_{16} и $C_{3\text{-}6}$циклоакила, или R_5 и R_6 объединены с формированием оксо (=O) группы или $C_{3\text{-}6}$циклоакила; R_{12} выбран из группы, состоящей из водорода, $-COR^a$ и R_{16}; каждый R_{16} независимо представляет собой формил, $C_{1\text{-}9}$алкил, $C_{2\text{-}9}$алкенил или $C_{2\text{-}9}$алкинил; и R^a выбран из группы, состоящей из водорода, гидроксила и OR_{16}; или его кристаллической формой, гидратом или косметически или фармацевтически приемлемой солью.

[0469] Согласно одному аспекту данного варианта осуществления, соединение характеризуется следующей структурой:



(I)

,

или его кристаллической формой, гидратом или косметически или фармацевтически

приемлемой солью.

[0470] Согласно другому аспекту данного варианта осуществления, X представляет собой NH.

[0471] Согласно дополнительному аспекту данного варианта осуществления, Y представляет собой CR_5R_6; R_5 представляет собой водород, и R_6 представляет собой водород, C_{1-4}алкил, C_{3-6}циклоакил или O-(C_{1-4}алкил); или R_5 и R_6 объединены с формированием оксо (=O) группы.

[0472] Предпочтительно, CR_5R_6 представляет собой CH_2, $CHCH_3$, $CHOCH_3$, C=O или $CH(C_3H_5)$.

[0473] Согласно дополнительному аспекту данного варианта осуществления, по меньшей мере один из R_1, R_2, R_3, R_4, R_7, R_8, R_9, R_{10} и R_{11} представляет собой C_{1-4}алкил.

[0474] Предпочтительно, R_2 представляет собой C_{1-4}алкил.

[0475] Более предпочтительно, R_2 представляет собой метил.

[0476] Согласно другому аспекту данного варианта осуществления, каждый из R_1, R_2, R_3, R_4, R_7, R_8, R_9, R_{10} и R_{11} представляет собой водород.

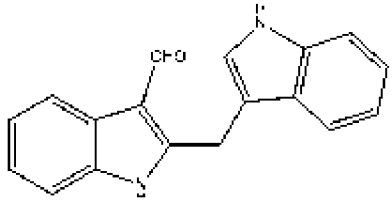
[0477] Согласно дополнительному аспекту данного варианта осуществления, R_{12} представляет собой -COR^a или C_{1-4}гидроксиалкил; и R^a представляет собой водород или C_{1-4}алкил.

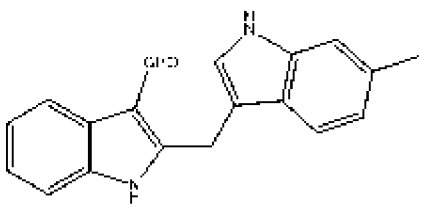
[0478] Предпочтительно, R_{12} представляет собой CHO, CH_2OH или C(=O)-O-(C_{1-4}алкил).

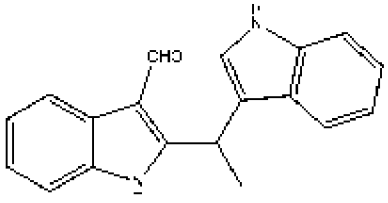
[0479] Более предпочтительно, R_{12} представляет собой CHO, CH_2OH или CO_2CH_3.

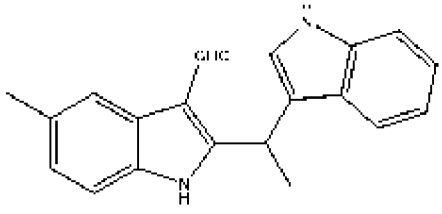
[0480] Согласно дополнительному аспекту данного варианта осуществления, X представляет собой NH; Y представляет собой CR_5R_6; каждый из R_1, R_3, R_4, R_7, R_8, R_9, R_{10}, R_{11} и R_{13} представляет собой водород; R_2 представляет собой водород или C_{1-4}алкил; R_5 представляет собой водород, и R_6 представляет собой водород, C_{1-4}алкил, C_{3-6}циклоакил или O-(C_{1-4}алкил); или R_5 и R_6 объединены с формированием оксо (=O) группы; R_{12} представляет собой -COR^a или C_{1-4}гидроксиалкил; и R^a представляет собой водород или C_{1-4}алкил.

[0481] Согласно другому аспекту данного варианта осуществления, соединение выбрано из группы, состоящей из:

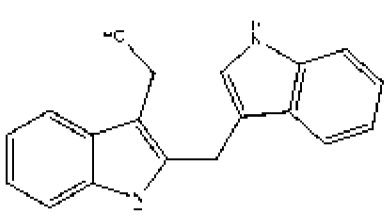
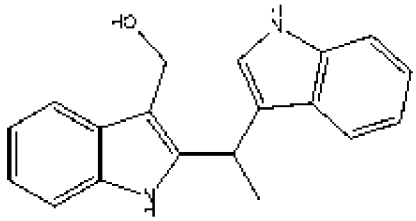
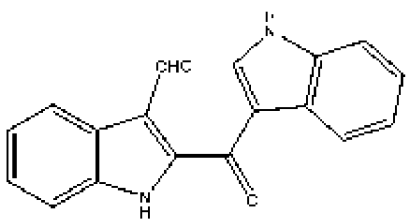
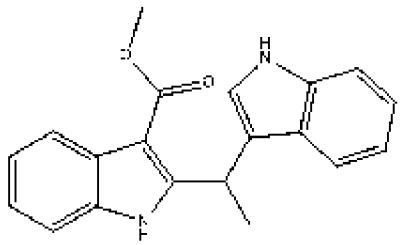
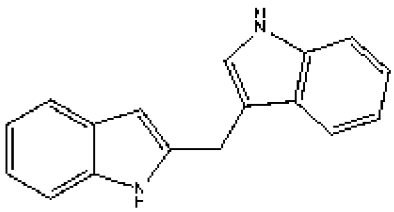
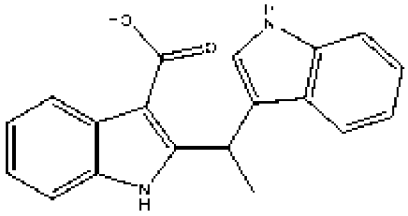
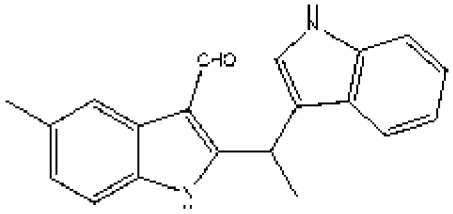
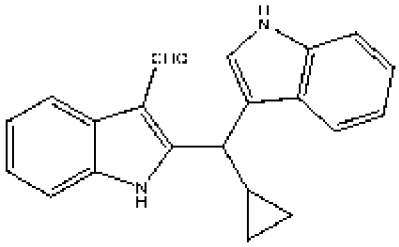
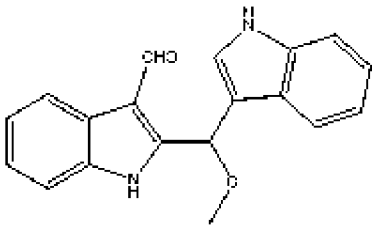
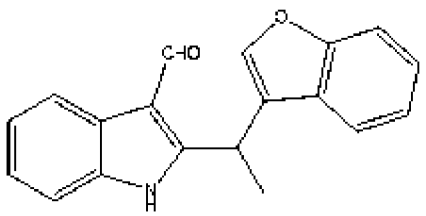
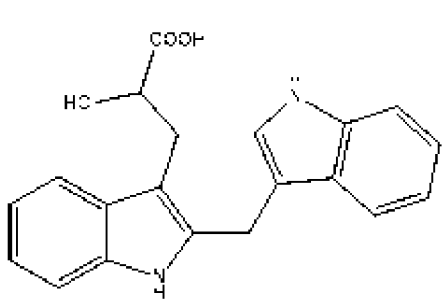
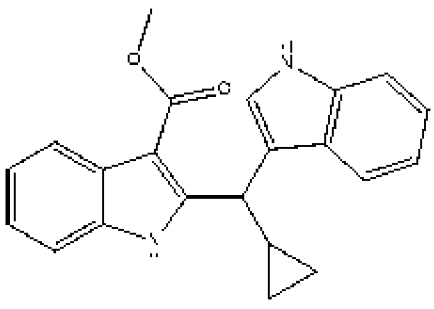


,


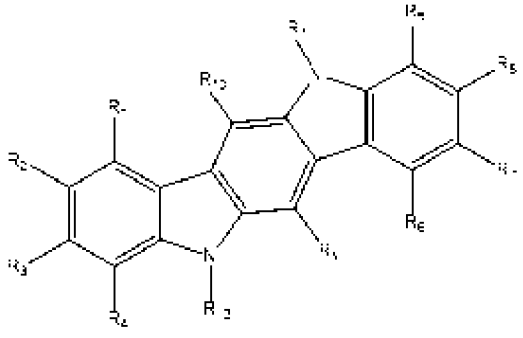
,


,


,


,

,

,

,

,

,

,

,

,

,

,

и
.

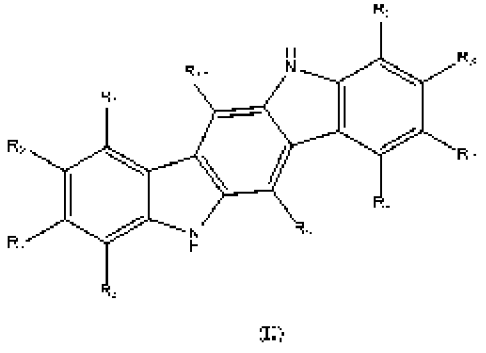
[0482] Дополнительный вариант осуществления согласно настоящему изобретению представляет собой композицию, содержащую соединение. Соединение характеризуется следующей формулой:



где: R_1, R_4, R_5, R_6, R_9 и R_{10} независимо выбраны из группы, состоящей из водорода,

гидроксила, галогена, CN, R_{13}, OR_{13}, $OCOR_{13}$ и -CHO; R_2 и R_3 независимо выбраны из группы, состоящей из водорода, гидроксила, галогена, CN, R_{13}, OR_{13}, $OCOR_{13}$ и CHO, или R_2 и R_3 объединены с формированием 5- или 6-членного гетероциклила; R_7 и R_8 независимо выбраны из группы, состоящей из водорода, гидроксила, галогена, CN, R_{13}, OR_{13}, $OCOR_{13}$ и CHO, или R_7 и R_8 объединены с формированием 5- или 6-членного гетероциклила; R_{11} и R_{12} независимо представляют собой водород или R_{13}; и каждый R_{13} независимо представляет собой C_{1-9}алкил, C_{2-9}алкенил или C_{2-9}алкинил; или его кристаллической формой, гидратом или косметически или фармацевтически приемлемой солью.

[0483] Согласно одному аспекту данного варианта осуществления, соединение характеризуется структурой в соответствии с формулой (II)



(II),

или его кристаллической формой, гидратом или косметически или фармацевтически приемлемой солью.

[0484] Согласно другому аспекту данного варианта осуществления, R_1, R_2, R_3, R_4, R_5, R_6, R_7, R_8, R_9 и R_{10} независимо выбраны из группы, состоящей из водорода и C_{1-4}алкила.

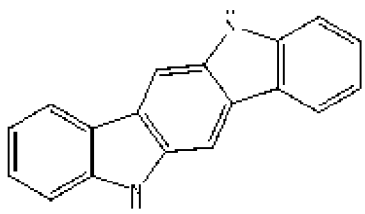
[0485] Предпочтительно, один или два из R_1, R_2, R_3, R_4, R_5, R_6, R_7, R_8, R_9 и R_{10} представляют собой C_{1-4}алкил, и оставшиеся группы представляют собой водород.

[0486] Согласно дополнительному аспекту данного варианта осуществления, один из R_5 и R_{10} представляет собой C_{1-4}алкил, и другой представляет собой водород.

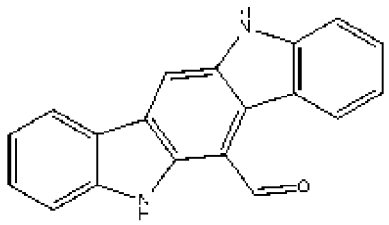
[0487] Согласно дополнительному аспекту данного варианта осуществления, один из R_1, R_2, R_3, R_4, R_6, R_7, R_8 и R_9 представляет собой C_{1-4}алкил, и оставшиеся группы представляют собой водород.

[0488] Согласно другому аспекту данного варианта осуществления, R_{11} и R_{12} каждые представляют собой водород; и один, два, три или четыре из R_1, R_2, R_3, R_4, R_5, R_6, R_7, R_8, R_9 и R_{10} представляют собой метил, и оставшиеся группы представляют собой водород.

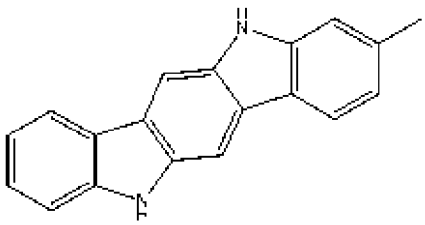
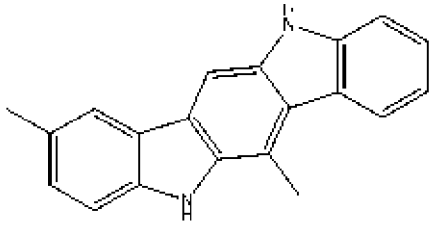
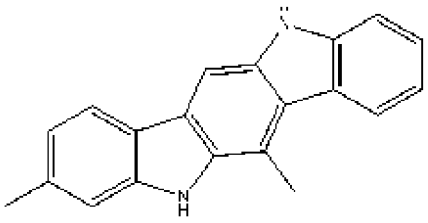
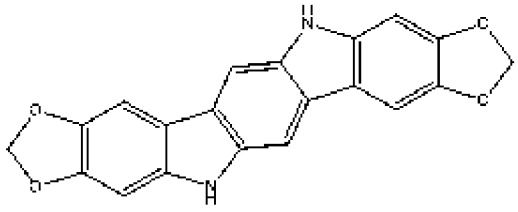
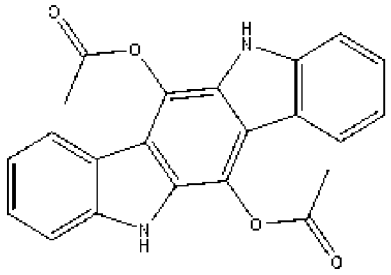
[0489] Согласно дополнительному аспекту данного варианта осуществления, соединение выбрано из группы, состоящей из:



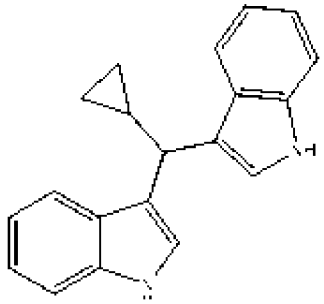
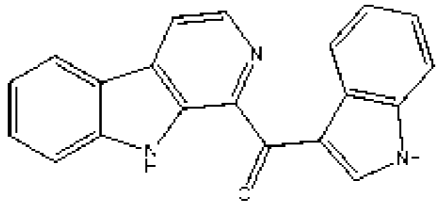
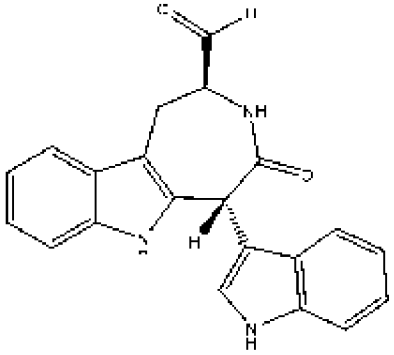
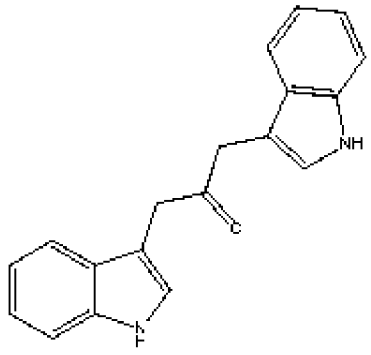
,



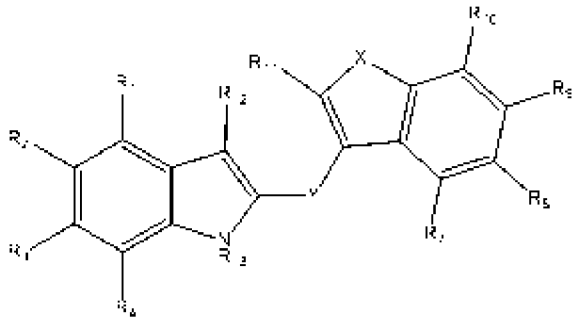
,


,

,

,

и

.

[0490] Другой вариант осуществления согласно настоящему изобретению представляет собой композицию, содержащую соединение. Соединение выбрано из группы, состоящей из:

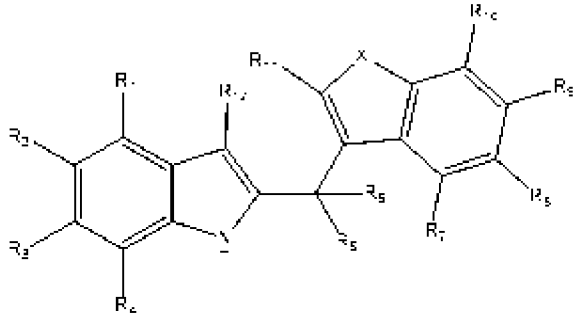

,

,

и

.

[0491] Дополнительный вариант осуществления согласно настоящему изобретению представляет собой способ осветления кожи у субъекта. Способ включает в себя приведение субъекта в контакт с соединением, причем соединение характеризуется структурой следующей формулы:



где: X выбран из группы, состоящей из NR_{14} и O; Y представляет собой ковалентную связь, CR_5R_6, O или NR_{15}; R_1, R_2, R_3, R_4, R_7, R_8, R_9, R_{10} и R_{11} независимо выбраны из группы, состоящей из водорода, галогена, CN, гидроксила, R_{16} или OR_{16}; R_{13}, R_{14} и R_{15} независимо представляют собой водород или R_{16}; R_5 и R_6 независимо выбраны из группы, состоящей из водорода, гидроксила, OR_{16}, R_{16} и C_{3-6}циклоакила, или R_5 и R_6 объединены с формированием оксо (=O) группы или C_{3-6}циклоакила; R_{12} выбран из группы, состоящей из водорода, $-COR^a$ и R_{16}; каждый R_{16} независимо представляет собой формил, C_{1-9}алкил, C_{2-9}алкенил или C_{2-9}алкинил; и R^a выбран из группы, состоящей из водорода, гидроксила и OR_{16}; или его кристаллической формой, гидратом или косметически или фармацевтически приемлемой солью.

[0492] Согласно одному аспекту данного варианта осуществления, соединение характеризуется следующей структурой:



(I)

,

или его кристаллической формой, гидратом или косметически или фармацевтически приемлемой солью.

[0493] Согласно другому аспекту данного варианта осуществления, X представляет собой NH.

[0494] Согласно дополнительному аспекту данного варианта осуществления, Y представляет собой CR_5R_6; R_5 представляет собой водород, и R_6 представляет собой водород, C_{1-4}алкил, C_{3-6}циклоакил или O-(C_{1-4}алкил); или R_5 и R_6 объединены с формированием оксо (=O) группы.

[0495] Предпочтительно, CR_5R_6 представляет собой CH_2, $CHCH_3$, $CHOCH_3$, C=O или $CH(C_3H_5)$.

[0496] Согласно дополнительному аспекту данного варианта осуществления, по меньшей мере один из R_1, R_2, R_3, R_4, R_7, R_8, R_9, R_{10} и R_{11} представляет собой C_{1-4}алкил.

[0497] Предпочтительно, R_2 представляет собой C_{1-4}алкил.

[0498] Более предпочтительно, R_2 представляет собой метил.

[0499] Согласно другому аспекту данного варианта осуществления, каждый из R_1, R_2, R_3, R_4, R_7, R_8, R_9, R_{10} и R_{11} представляет собой водород.

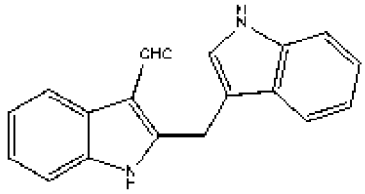
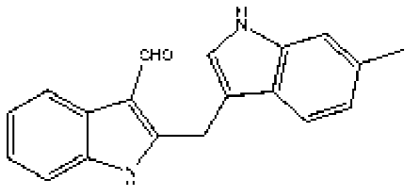
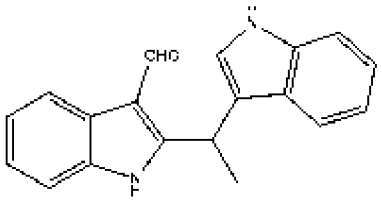
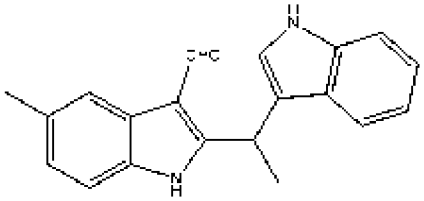
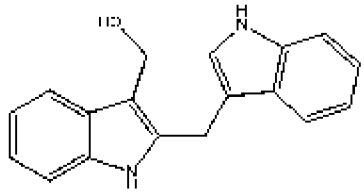
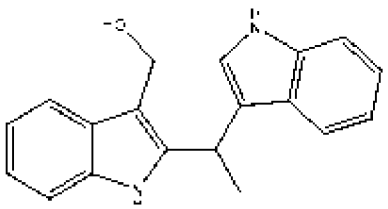
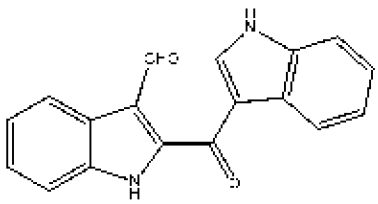
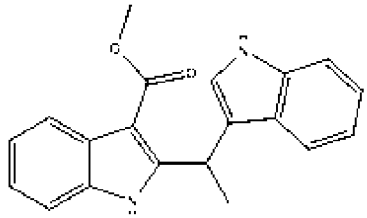
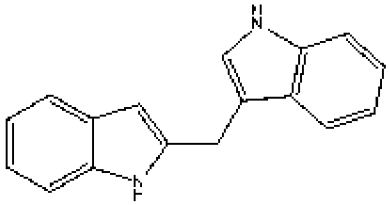
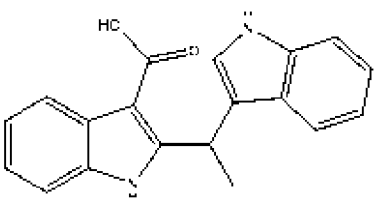
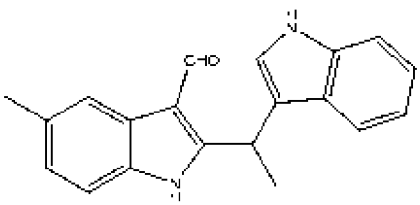
[0500] Согласно дополнительному аспекту данного варианта осуществления, R_{12} представляет собой -COR^a или C_{1-4}гидроксиалкил; и R^a представляет собой водород или C_{1-4}алкил.

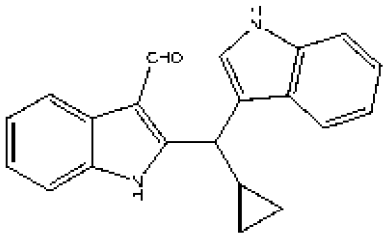
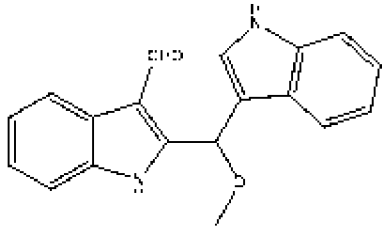
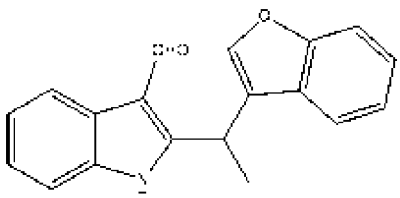
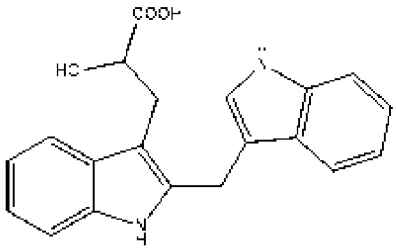
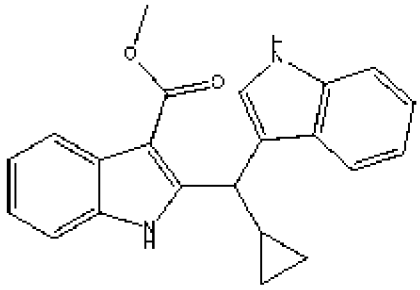
[0501] Предпочтительно, R_{12} представляет собой CHO, CH_2OH или C(=O)-O-(C_{1-4}алкил).

[0502] Более предпочтительно, R_{12} представляет собой CHO, CH_2OH или CO_2CH_3.

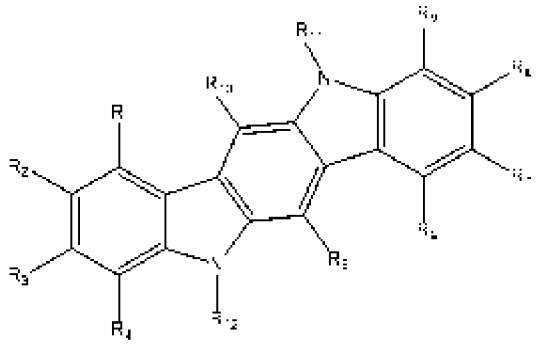
[0503] Согласно дополнительному аспекту данного варианта осуществления, X представляет собой NH; Y представляет собой CR_5R_6; каждый из R_1, R_3, R_4, R_7, R_8, R_9, R_{10}, R_{11} и R_{13} представляет собой водород; R_2 представляет собой водород или C_{1-4}алкил; R_5 представляет собой водород, и R_6 представляет собой водород, C_{1-4}алкил, C_{3-6}циклоакил или O-(C_{1-4}алкил); или R_5 и R_6 объединены с формированием оксо (=O) группы; R_{12} представляет собой -COR^a или C_{1-4}гидроксиалкил; и R^a представляет собой водород или C_{1-4}алкил.

[0504] Согласно другому аспекту данного варианта осуществления, соединение выбрано из группы, состоящей из:


,

,

,

,

,

,

,

,

,

,

,

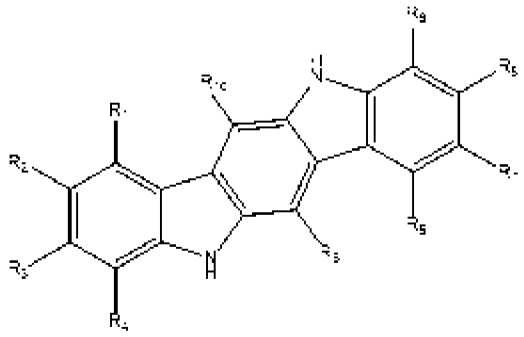

,

,

,

и

.

[0505] Дополнительный вариант осуществления согласно настоящему изобретению представляет собой способ осветления кожи у субъекта. Способ включает в себя приведение субъекта в контакт с соединением, причем соединение характеризуется следующей формулой:



где: R_1, R_4, R_5, R_6, R_9 и R_{10} независимо выбраны из группы, состоящей из водорода, гидроксила, галогена, CN, R_{13}, OR_{13}, $OCOR_{13}$ и -CHO; R_2 и R_3 независимо выбраны из группы, состоящей из водорода, гидроксила, галогена, CN, R_{13}, OR_{13}, $OCOR_{13}$ и CHO, или R_2 и R_3 объединены с формированием 5- или 6-членного гетероциклила; R_7 и R_8 независимо выбраны из группы, состоящей из водорода, гидроксила, галогена, CN, R_{13}, OR_{13}, $OCOR_{13}$ и CHO, или R_7 и R_8 объединены с формированием 5- или 6-членного гетероциклила; R_{11} и R_{12} независимо представляют собой водород или R_{13}; и каждый R_{13} независимо представляет собой $C_{1\text{-}9}$алкил, $C_{2\text{-}9}$алкенил или $C_{2\text{-}9}$алкинил; или его кристаллической формой, гидратом или косметически или фармацевтически приемлемой солью.

[0506] Согласно одному аспекту данного варианта осуществления, соединение характеризуется структурой в соответствии с формулой (II)



(I)

,

или его кристаллической формой, гидратом или косметически или фармацевтически приемлемой солью.

[0507] Согласно другому аспекту данного варианта осуществления, R_1, R_2, R_3, R_4, R_5, R_6, R_7, R_8, R_9 и R_{10} независимо выбраны из группы, состоящей из водорода и C_{1-4}алкила.

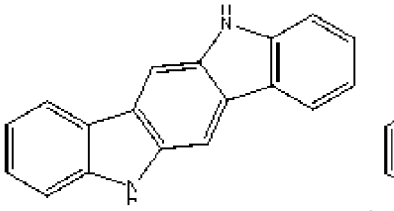
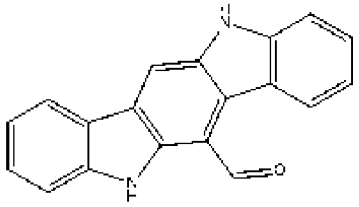
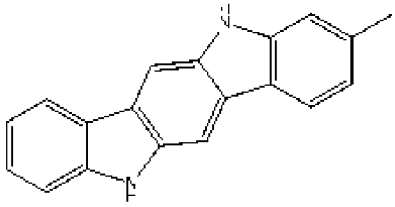
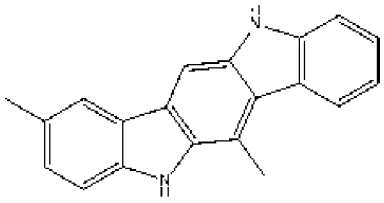
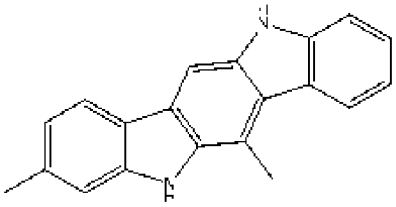
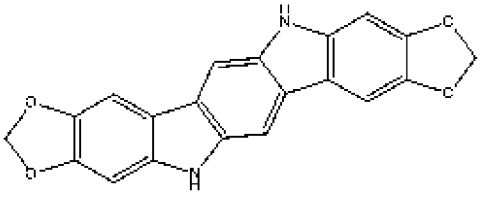
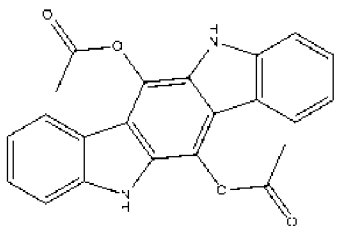
[0508] Предпочтительно, один или два из R_1, R_2, R_3, R_4, R_5, R_6, R_7, R_8, R_9 и R_{10} представляют собой C_{1-4}алкил, и оставшиеся группы представляют собой водород.

[0509] Согласно дополнительному аспекту данного варианта осуществления, один из R_5 и R_{10} представляет собой C_{1-4}алкил, и другой представляет собой водород.

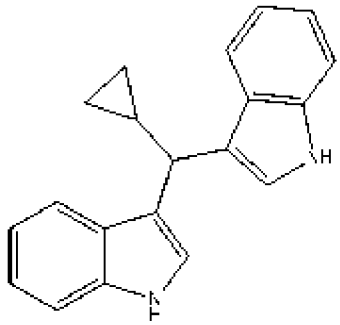
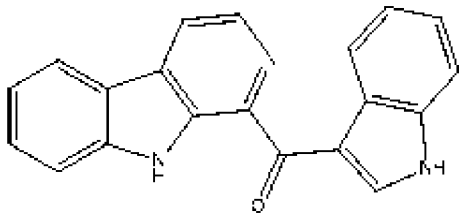
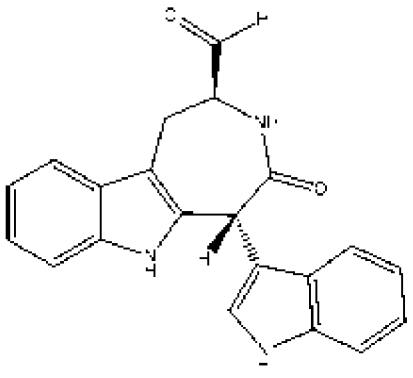
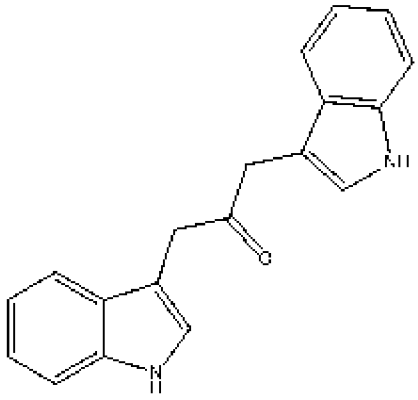
[0510] Согласно дополнительному аспекту данного варианта осуществления, один из R_1, R_2, R_3, R_4, R_6, R_7, R_8 и R_9 представляет собой C_{1-4}алкил, и оставшиеся группы представляют собой водород.

[0511] Согласно другому аспекту данного варианта осуществления, R_{11} и R_{12} каждые представляют собой водород; и один, два, три или четыре из R_1, R_2, R_3, R_4, R_5, R_6, R_7, R_8, R_9 и R_{10} представляют собой метил, и оставшиеся группы представляют собой водород.

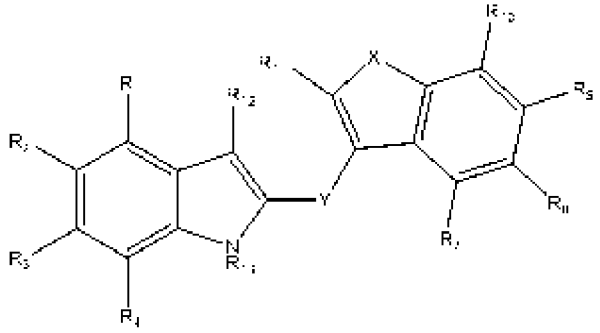
[0512] Согласно дополнительному аспекту данного варианта осуществления, соединение выбрано из группы, состоящей из:


,

,

,

,

,

и

.

[0513] Другой вариант осуществления согласно настоящему изобретению представляет собой способ осветления кожи у субъекта. Способ включает в себя приведение субъекта в контакт с соединением, причем соединение выбрано из группы, состоящей из:


,

,

и

.

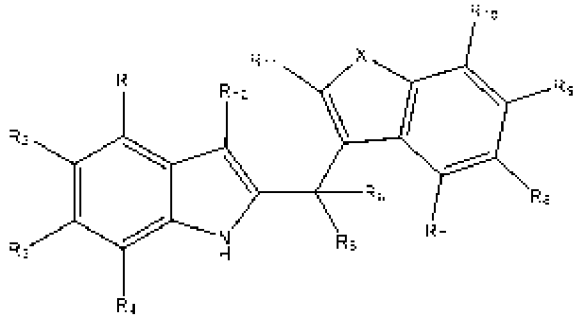
[0514] Дополнительный вариант осуществления согласно настоящему изобретению представляет собой способ индукции апоптоза меланоцитов у субъекта. Способ включает в себя приведение субъекта в контакт с соединением, причем соединение характеризуется структурой следующей формулы:



где: X выбран из группы, состоящей из NR_{14} и O; Y представляет собой ковалентную связь, CR_5R_6, O или NR_{15}; R_1, R_2, R_3, R_4, R_7, R_8, R_9, R_{10} и R_{11} независимо выбраны из группы, состоящей из водорода, галогена, CN, гидроксила, R_{16} или OR_{16}; R_{13}, R_{14} и R_{15} независимо представляют собой водород или R_{16}; R_5 и R_6 независимо выбраны из группы, состоящей из водорода, гидроксила, OR_{16}, R_{16} и C_{3-6}циклоакила, или R_5 и R_6 объединены с формированием оксо (=O) группы или C_{3-6}циклоакила; R_{12} выбран из группы, состоящей из водорода, $-COR^a$ и R_{16}; каждый R_{16} независимо представляет собой формил, C_{1-9}алкил, C_{2-9}алкенил или C_{2-9}алкинил; иR^a выбран из группы, состоящей из водорода, гидроксила и

OR_{16}; или его кристаллической формой, гидратом или косметически или фармацевтически приемлемой солью.

[0515] Согласно одному аспекту данного варианта осуществления, соединение характеризуется следующей структурой:



(I)

,

или его кристаллической формой, гидратом или косметически или фармацевтически приемлемой солью.

[0516] Согласно другому аспекту данного варианта осуществления, X представляет собой NH.

[0517] Согласно дополнительному аспекту данного варианта осуществления, Y представляет собой CR_5R_6; R_5 представляет собой водород, и R_6 представляет собой водород, C_{1-4}алкил, C_{3-6}циклоакил или O-(C_{1-4}алкил); или R_5 и R_6 объединены с формированием оксо (=O) группы.

[0518] Предпочтительно, CR_5R_6 представляет собой CH_2, $CHCH_3$, $CHOCH_3$, C=O или $CH(C_3H_5)$.

[0519] Согласно дополнительному аспекту данного варианта осуществления, по меньшей мере один из R_1, R_2, R_3, R_4, R_7, R_8, R_9, R_{10} и R_{11} представляет собой C_{1-4}алкил.

[0520] Предпочтительно, R_2 представляет собой C_{1-4}алкил.

[0521] Более предпочтительно, R_2 представляет собой метил.

[0522] Согласно другому аспекту данного варианта осуществления, каждый из R_1, R_2, R_3, R_4, R_7, R_8, R_9, R_{10} и R_{11} представляет собой водород.

[0523] Согласно дополнительному аспекту данного варианта осуществления, R_{12} представляет собой -COR^a или C_{1-4}гидроксиалкил; и R^a представляет собой водород или C_{1-4}алкил.

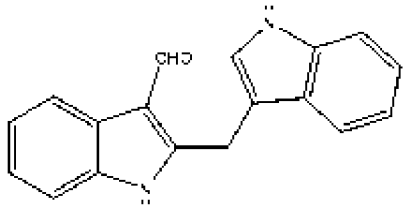
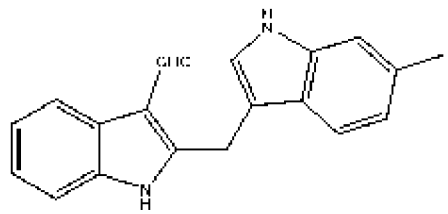
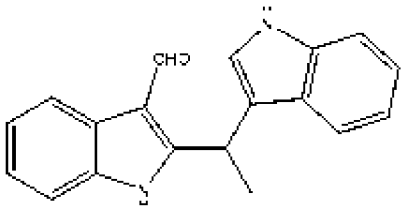
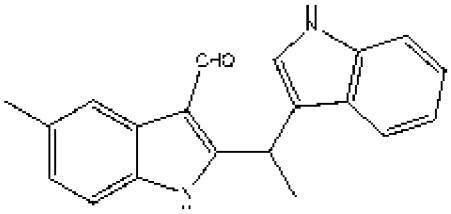
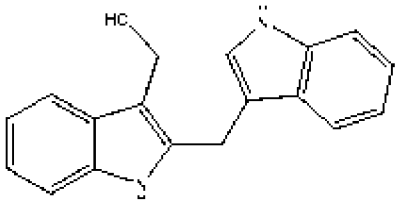
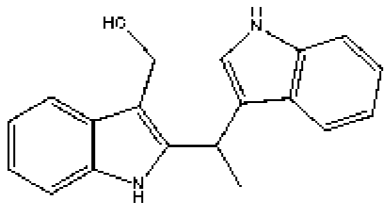
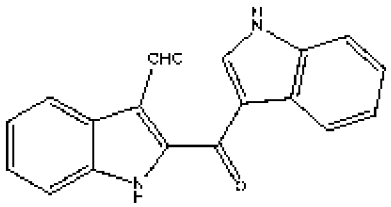
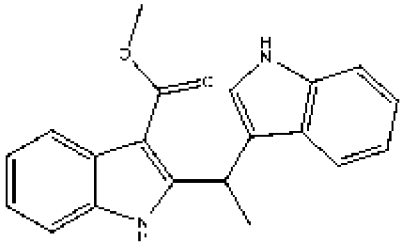
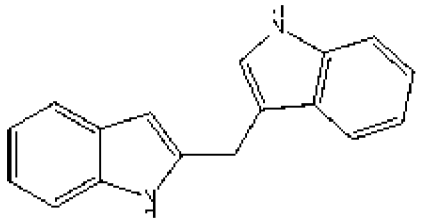
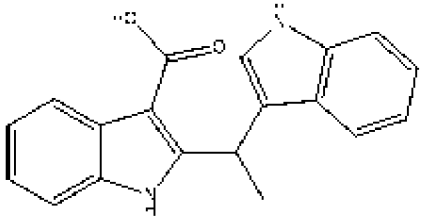
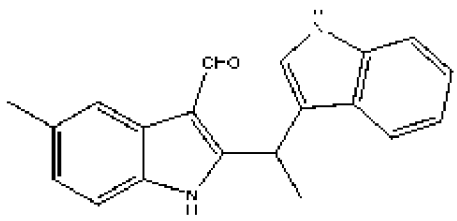
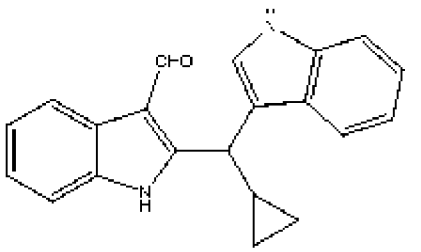
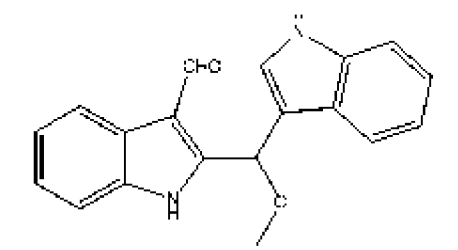
[0524] Предпочтительно, R_{12} представляет собой CHO, CH_2OH или C(=O)-O-(C_{1-4}алкил).

[0525] Более предпочтительно, R_{12} представляет собой CHO, CH_2OH или CO_2CH_3.

[0526] Согласно дополнительному аспекту данного варианта осуществления, X представляет собой NH; Y представляет собой CR_5R_6; каждый из R_1, R_3, R_4, R_7, R_8, R_9, R_{10}, R_{11} и R_{13} представляет собой водород; R_2 представляет собой водород или C_{1-4}алкил; R_5 представляет собой водород, и R_6 представляет собой водород, C_{1-4}алкил, C_{3-6}циклоакил или O-(C_{1-4}алкил); или R_5 и R_6 объединены с формированием оксо (=O) группы; R_{12}

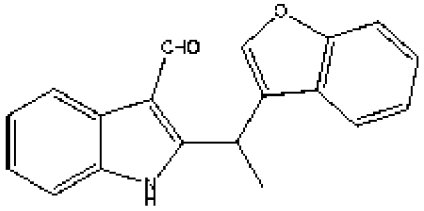
представляет собой -COR^a или C_{1-4}гидроксиалкил; и R^a представляет собой водород или C_{1-4}алкил.

[0527] Согласно другому аспекту данного варианта осуществления, соединение выбрано из группы, состоящей из:

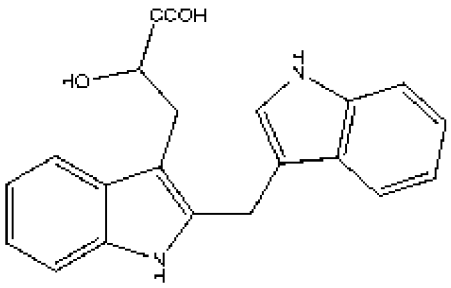

,

,

,

,

,

,

,

,

,

,

,

,

,

,

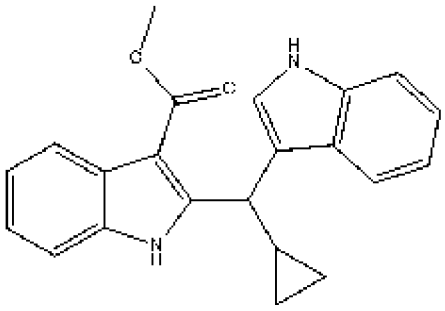
,



,

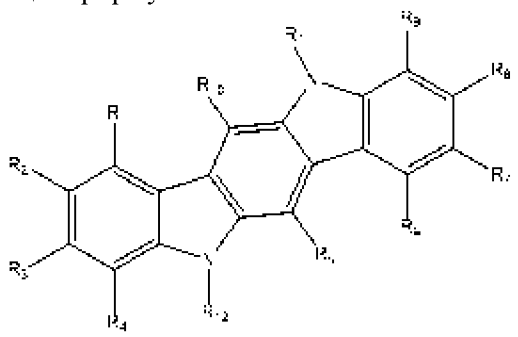


и



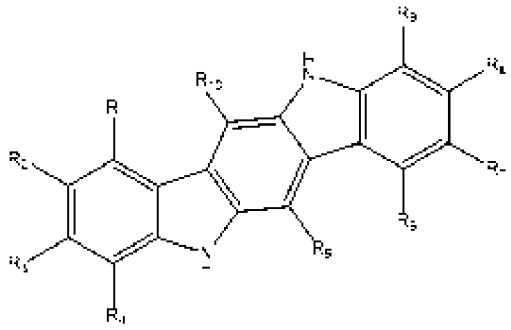
.

[0528] Дополнительный вариант осуществления согласно настоящему изобретению представляет собой способ индукции апоптоза меланоцитов у субъекта. Способ включает в себя приведение субъекта в контакт с соединением, причем соединение характеризуется следующей формулой:



где: R_1, R_4, R_5, R_6, R_9 и R_{10} независимо выбраны из группы, состоящей из водорода, гидроксила, галогена, CN, R_{13}, OR_{13}, $OCOR_{13}$ и -CHO; R_2 и R_3 независимо выбраны из группы, состоящей из водорода, гидроксила, галогена, CN, R_{13}, OR_{13}, $OCOR_{13}$ и CHO, или R_2 и R_3 объединены с формированием 5- или 6-членного гетероциклила; R_7 и R_8 независимо выбраны из группы, состоящей из водорода, гидроксила, галогена, CN, R_{13}, OR_{13}, $OCOR_{13}$ и CHO, или R_7 и R_8 объединены с формированием 5- или 6-членного гетероциклила; R_{11} и R_{12} независимо представляют собой водород или R_{13}; и каждый R_{13} независимо представляет собой C_{1-9}алкил, C_{2-9}алкенил или C_{2-9}алкинил; или его кристаллической формой, гидратом или косметически или фармацевтически приемлемой солью.

[0529] Согласно одному аспекту данного варианта осуществления, соединение характеризуется структурой в соответствии с формулой (II)



(I)

,

или его кристаллической формой, гидратом или косметически или фармацевтически приемлемой солью.

[0530] Согласно другому аспекту данного варианта осуществления, R_1, R_2, R_3, R_4, R_5, R_6, R_7, R_8, R_9 и R_{10} независимо выбраны из группы, состоящей из водорода и C_{1-4}алкила.

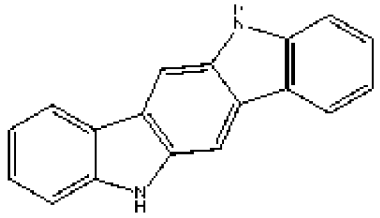
[0531] Предпочтительно, один или два из R_1, R_2, R_3, R_4, R_5, R_6, R_7, R_8, R_9 и R_{10} представляют собой C_{1-4}алкил, и оставшиеся группы представляют собой водород.

[0532] Согласно дополнительному аспекту данного варианта осуществления, один из R_5 и R_{10} представляет собой C_{1-4}алкил, и другой представляет собой водород.

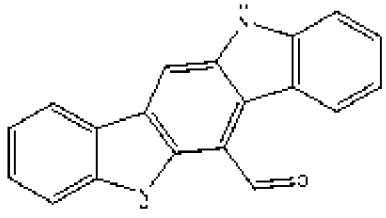
[0533] Согласно дополнительному аспекту данного варианта осуществления, один из R_1, R_2, R_3, R_4, R_6, R_7, R_8 и R_9 представляет собой C_{1-4}алкил, и оставшиеся группы представляют собой водород.

[0534] Согласно другому аспекту данного варианта осуществления, R_{11} и R_{12} каждые представляют собой водород; и один, два, три или четыре из R_1, R_2, R_3, R_4, R_5, R_6, R_7, R_8, R_9 и R_{10} представляют собой метил, и оставшиеся группы представляют собой водород.

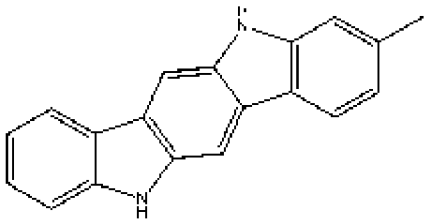
[0535] Согласно дополнительному аспекту данного варианта осуществления, соединение выбрано из группы, состоящей из:



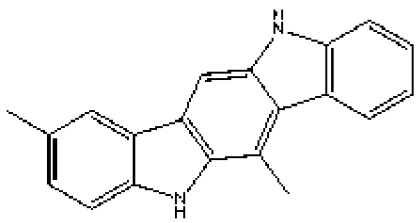
,



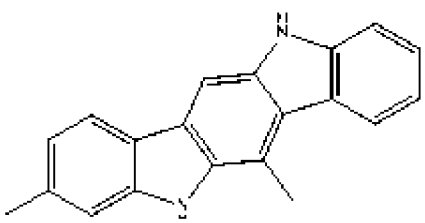
,



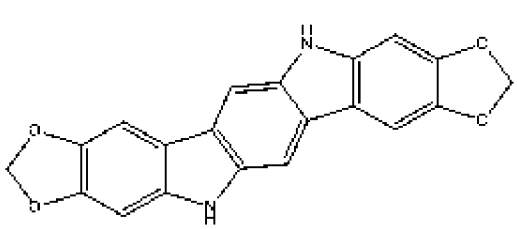
,



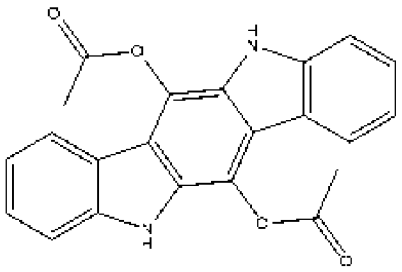
,



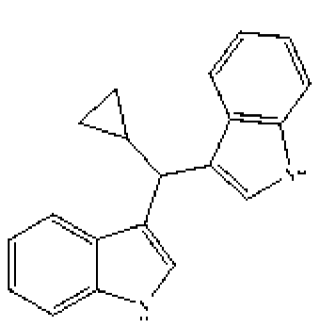
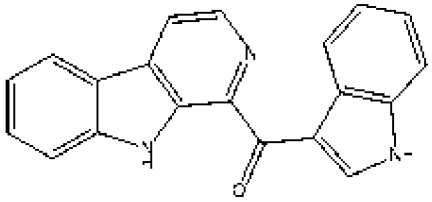
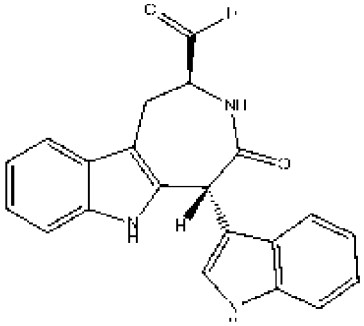
,



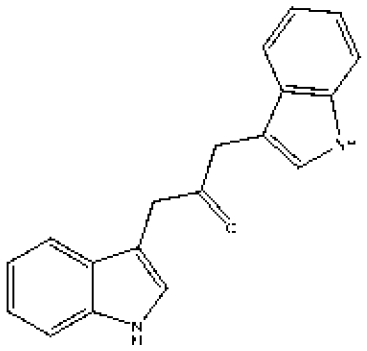
и



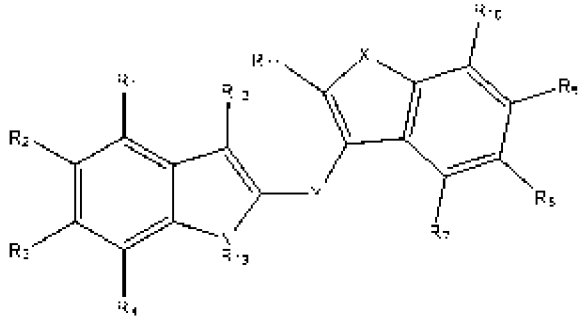
[0536] Другой вариант осуществления согласно настоящему изобретению представляет собой способ индукции апоптоза меланоцитов у субъекта. Способ включает в себя приведение субъекта в контакт с соединением, причем соединение выбрано из группы, состоящей из:


,

,


и



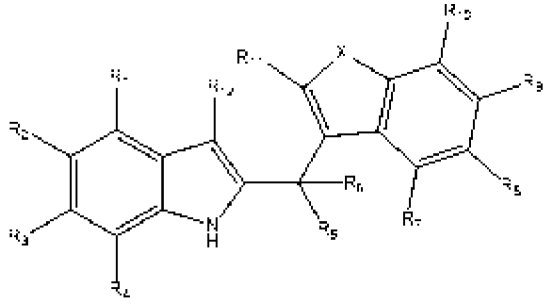
[0537] Дополнительный вариант осуществления согласно настоящему изобретению представляет собой способ модулирования активности рецептора ароматических углеводородов (AhR) у субъекта. Способ включает в себя приведение субъекта в контакт с соединением, причем соединение характеризуется структурой следующей формулы:



где: X выбран из группы, состоящей из NR_{14} и O; Y представляет собой ковалентную связь, CR_5R_6, O или NR_{15}; R_1, R_2, R_3, R_4, R_7, R_8, R_9, R_{10} и R_{11} независимо выбраны из группы, состоящей из водорода, галогена, CN, гидроксила, R_{16} или OR_{16}; R_{13}, R_{14} и R_{15} независимо

представляют собой водород или R_{16}; R_5 и R_6 независимо выбраны из группы, состоящей из водорода, гидроксила, OR_{16}, R_{16} и C_{3-6}циклоакила, или R_5 и R_6 объединены с формированием оксо (=O) группы или C_{3-6}циклоакила; R_{12} выбран из группы, состоящей из водорода, -COR^a и R_{16}; каждый R_{16} независимо представляет собой формил, C_{1-9}алкил, C_{2-9}алкенил или C_{2-9}алкинил; и R^a выбран из группы, состоящей из водорода, гидроксила и OR_{16}; или его кристаллической формой, гидратом или косметически или фармацевтически приемлемой солью.

[0538] Согласно одному аспекту данного варианта осуществления, соединение характеризуется следующей структурой:



,

или его кристаллической формой, гидратом или косметически или фармацевтически приемлемой солью.

[0539] Согласно другому аспекту данного варианта осуществления, X представляет собой NH.

[0540] Согласно дополнительному аспекту данного варианта осуществления, Y представляет собой CR_5R_6; R_5 представляет собой водород, и R_6 представляет собой водород, C_{1-4}алкил, C_{3-6}циклоакил или O-(C_{1-4}алкил); или R_5 и R_6 объединены с формированием оксо (=O) группы.

[0541] Предпочтительно, CR_5R_6 представляет собой CH_2, $CHCH_3$, $CHOCH_3$, C=O или $CH(C_3H_5)$.

[0542] Согласно дополнительному аспекту данного варианта осуществления, по меньшей мере один из R_1, R_2, R_3, R_4, R_7, R_8, R_9, R_{10} и R_{11} представляет собой C_{1-4}алкил.

[0543] Предпочтительно, R_2 представляет собой C_{1-4}алкил.

[0544] Более предпочтительно, R_2 представляет собой метил.

[0545] Согласно другому аспекту данного варианта осуществления, каждый из R_1, R_2, R_3, R_4, R_7, R_8, R_9, R_{10} и R_{11} представляет собой водород.

[0546] Согласно дополнительному аспекту данного варианта осуществления, R_{12} представляет собой -COR^a или C_{1-4}гидроксиалкил; и R^a представляет собой водород или C_{1-4}алкил.

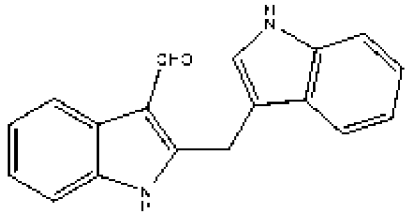
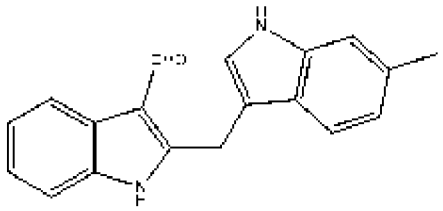
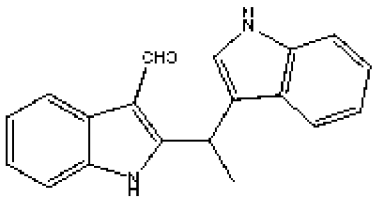
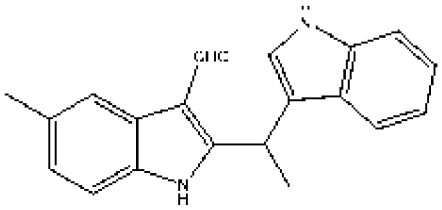
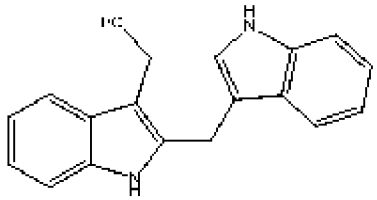
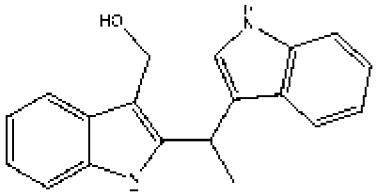
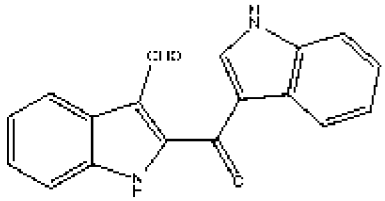
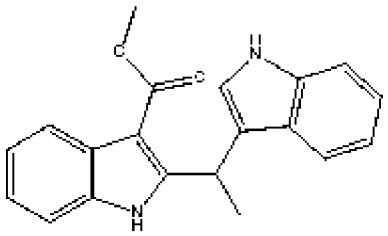
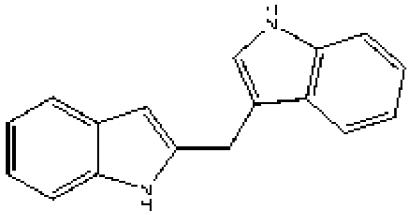
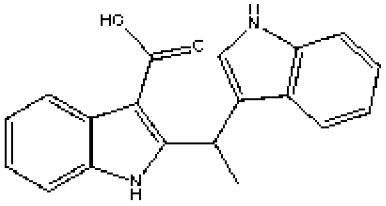
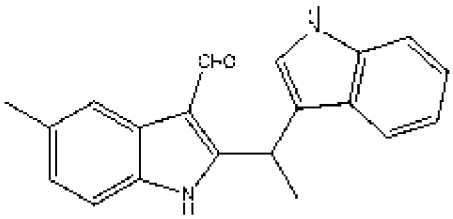
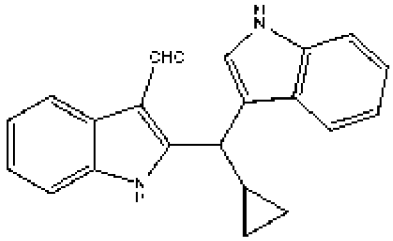
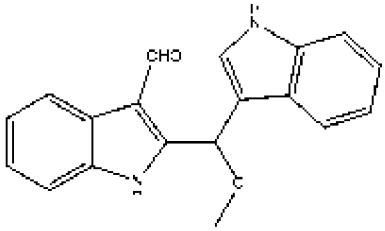
[0547] Предпочтительно, R_{12} представляет собой CHO, CH_2OH или C(=O)-O-(C_{1-4}алкил).

[0548] Более предпочтительно, R_{12} представляет собой CHO, CH_2OH или CO_2CH_3.

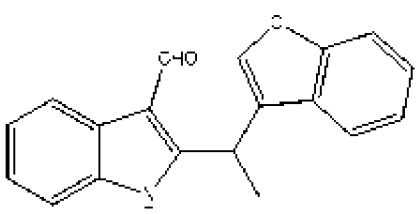
[0549] Согласно дополнительному аспекту данного варианта осуществления, X

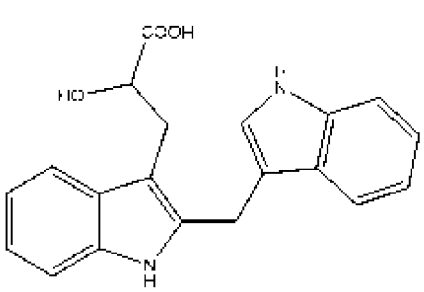
представляет собой NH; Y представляет собой CR_5R_6; каждый из R_1, R_3, R_4, R_7, R_8, R_9, R_{10}, R_{11} и R_{13} представляет собой водород; R_2 представляет собой водород или C_{1-4}алкил; R_5 представляет собой водород, и R_6 представляет собой водород, C_{1-4}алкил, C_{3-6}циклоакил или O-(C_{1-4}алкил); или R_5 и R_6 объединены с формированием оксо (=O) группы; R_{12} представляет собой -COR^a или C_{1-4}гидроксиалкил; и R^a представляет собой водород или C_{1-4}алкил.

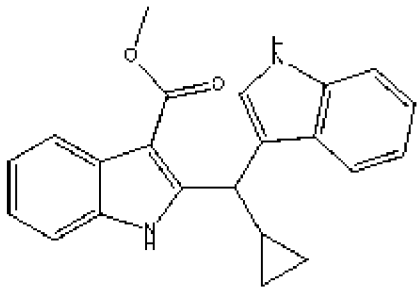
[0550] Согласно другому аспекту данного варианта осуществления, соединение выбрано из группы, состоящей из:


,

,

,

,

,

,

,

,

,

,

,

,

,

,

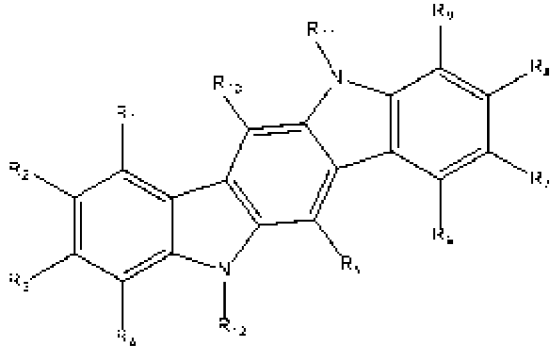
,

,





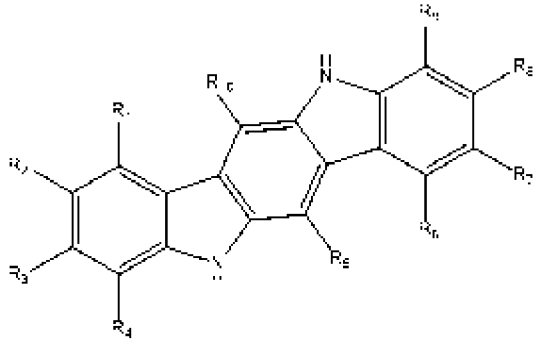
и .

[0551] Дополнительный вариант осуществления согласно настоящему изобретению представляет собой способ модулирования активности рецептора ароматических углеводородов (AhR) у субъекта. Способ включает в себя приведение субъекта в контакт с соединением, причем соединение характеризуется следующей формулой:



где: R_1, R_4, R_5, R_6, R_9 и R_{10} независимо выбраны из группы, состоящей из водорода, гидроксила, галогена, CN, R_{13}, OR_{13}, $OCOR_{13}$ и -CHO; R_2 и R_3 независимо выбраны из группы, состоящей из водорода, гидроксила, галогена, CN, R_{13}, OR_{13}, $OCOR_{13}$ и CHO, или R_2 и R_3 объединены с формированием 5- или 6-членного гетероциклила; R_7 и R_8 независимо выбраны из группы, состоящей из водорода, гидроксила, галогена, CN, R_{13}, OR_{13}, $OCOR_{13}$ и CHO, или R_7 и R_8 объединены с формированием 5- или 6-членного гетероциклила; R_{11} и R_{12} независимо представляют собой водород или R_{13}; и каждый R_{13} независимо представляет собой C_{1-9}алкил, C_{2-9}алкенил или C_{2-9}алкинил; или его кристаллической формой, гидратом или косметически или фармацевтически приемлемой солью.

[0552] Согласно одному аспекту данного варианта осуществления, соединение характеризуется структурой в соответствии с формулой (II)



(II) ,

или его кристаллической формой, гидратом или косметически или фармацевтически приемлемой солью.

[0553] Согласно другому аспекту данного варианта осуществления, R_1, R_2, R_3, R_4, R_5, R_6, R_7, R_8, R_9 и R_{10} независимо выбраны из группы, состоящей из водорода и C_{1-4}алкила.

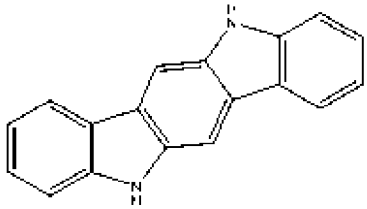
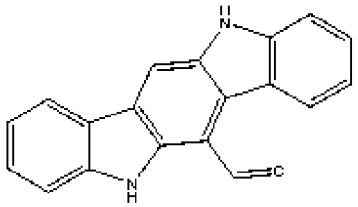
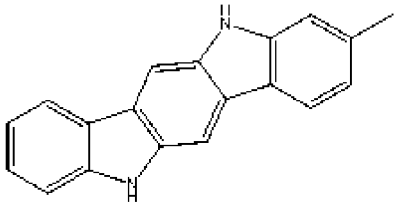
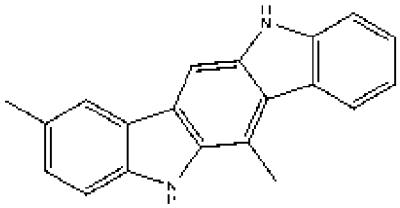
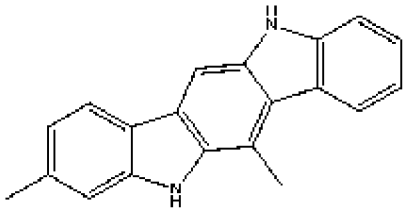
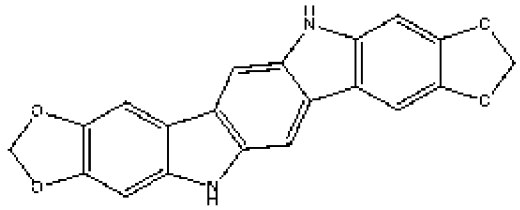
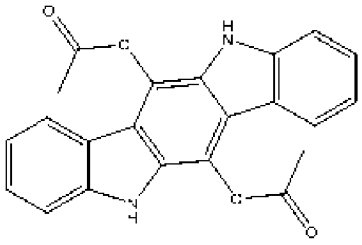
[0554] Предпочтительно, один или два из R_1, R_2, R_3, R_4, R_5, R_6, R_7, R_8, R_9 и R_{10} представляют собой C_{1-4}алкил, и оставшиеся группы представляют собой водород.

[0555] Согласно дополнительному аспекту данного варианта осуществления, один из R_5 и R_{10} представляет собой C_{1-4}алкил, и другой представляет собой водород.

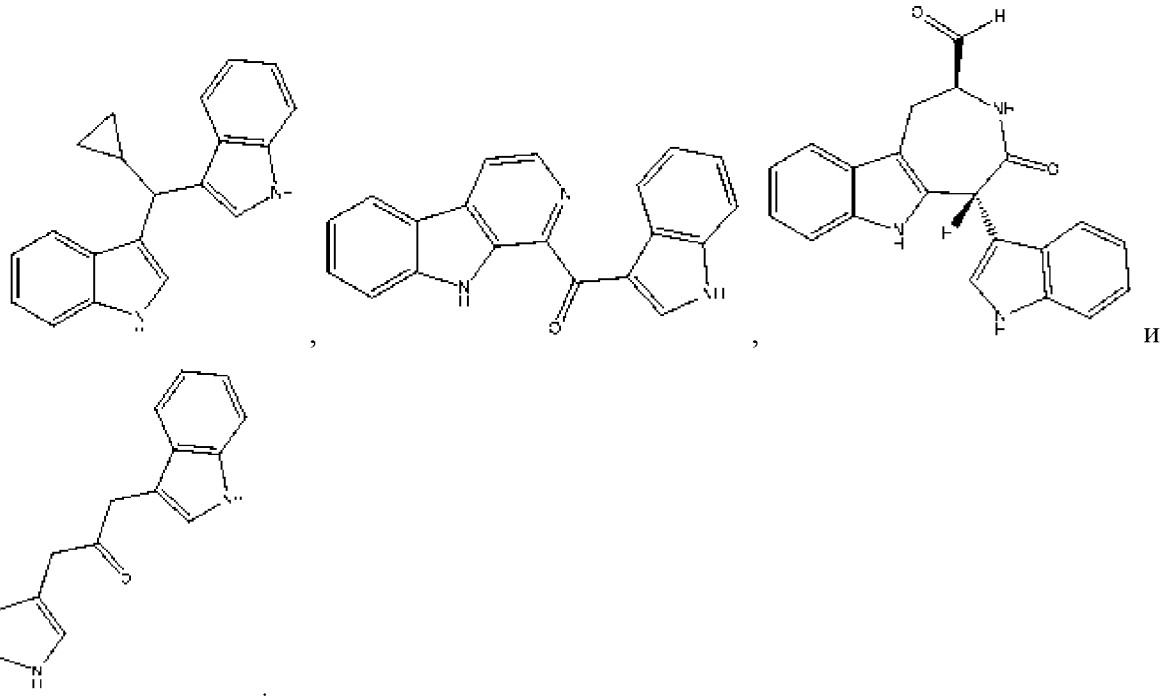
[0556] Согласно дополнительному аспекту данного варианта осуществления, один из R_1, R_2, R_3, R_4, R_6, R_7, R_8 и R_9 представляет собой C_{1-4}алкил, и оставшиеся группы представляют собой водород.

[0557] Согласно другому аспекту данного варианта осуществления, R_{11} и R_{12} каждые представляют собой водород; и один, два, три или четыре из R_1, R_2, R_3, R_4, R_5, R_6, R_7, R_8, R_9 и R_{10} представляют собой метил, и оставшиеся группы представляют собой водород.

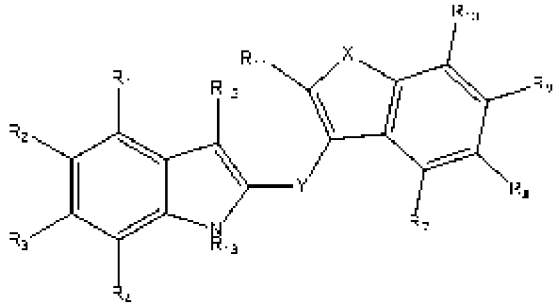
[0558] Согласно дополнительному аспекту данного варианта осуществления, соединение выбрано из группы, состоящей из:


,

,

,

,

,

,

и
.

[0559] Другой вариант осуществления согласно настоящему изобретению представляет собой способ модулирования активности рецептора ароматических углеводородов (AhR) у субъекта. Способ включает в себя приведение субъекта в контакт с соединением, причем соединение выбрано из группы, состоящей из:

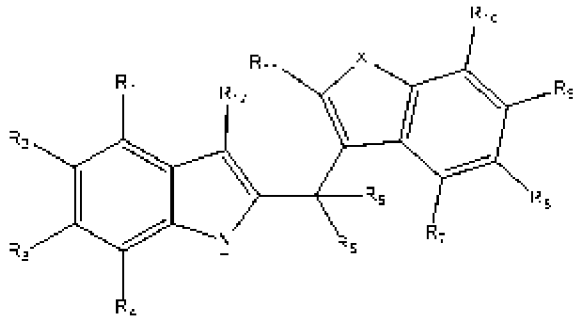


[0560] Дополнительный вариант осуществления согласно настоящему изобретению представляет собой способ модулирования меланогенеза у субъекта. Способ включает в себя приведение субъекта в контакт с соединением, причем соединение характеризуется структурой следующей формулы:



где: X выбран из группы, состоящей из NR_{14} и O; Y представляет собой ковалентную связь, CR_5R_6, O или NR_{15}; R_1, R_2, R_3, R_4, R_7, R_8, R_9, R_{10} и R_{11} независимо выбраны из группы, состоящей из водорода, галогена, CN, гидроксила, R_{16} или OR_{16}; R_{13}, R_{14} и R_{15} независимо представляют собой водород или R_{16}; R_5 и R_6 независимо выбраны из группы, состоящей из водорода, гидроксила, OR_{16}, R_{16} и C_{3-6}циклоакила, или R_5 и R_6 объединены с формированием оксо (=O) группы или C_{3-6}циклоакила; R_{12} выбран из группы, состоящей из водорода, $-COR^a$ и R_{16}; каждый R_{16} независимо представляет собой формил, C_{1-9}алкил, C_{2-9}алкенил или C_{2-9}алкинил; и R^a выбран из группы, состоящей из водорода, гидроксила и OR_{16}; или его кристаллической формой, гидратом или косметически или фармацевтически приемлемой солью.

[0561] Согласно одному аспекту данного варианта осуществления, соединение характеризуется следующей структурой:



(I)

,

или его кристаллической формой, гидратом или косметически или фармацевтически приемлемой солью.

[0562] Согласно другому аспекту данного варианта осуществления, X представляет собой NH.

[0563] Согласно дополнительному аспекту данного варианта осуществления, Y представляет собой CR_5R_6; R_5 представляет собой водород, и R_6 представляет собой водород, C_{1-4}алкил, C_{3-6}циклоакил или O-(C_{1-4}алкил); или R_5 и R_6 объединены с формированием оксо (=O) группы.

[0564] Предпочтительно, CR_5R_6 представляет собой CH_2, $CHCH_3$, $CHOCH_3$, C=O или $CH(C_3H_5)$.

[0565] Согласно дополнительному аспекту данного варианта осуществления, по меньшей мере один из R_1, R_2, R_3, R_4, R_7, R_8, R_9, R_{10} и R_{11} представляет собой C_{1-4}алкил.

[0566] Предпочтительно, R_2 представляет собой C_{1-4}алкил.

[0567] Более предпочтительно, R_2 представляет собой метил.

[0568] Согласно другому аспекту данного варианта осуществления, каждый из R_1, R_2, R_3, R_4, R_7, R_8, R_9, R_{10} и R_{11} представляет собой водород.

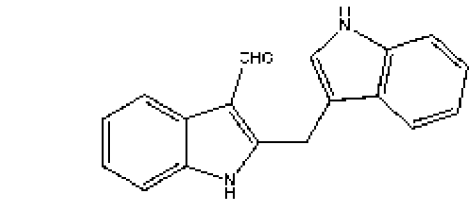
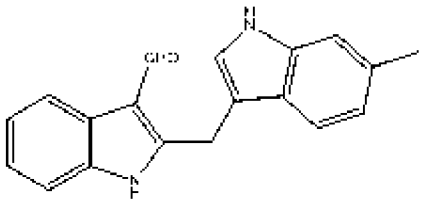
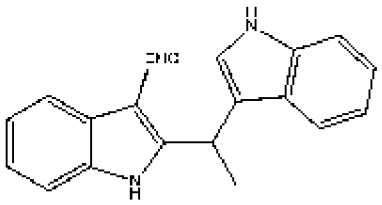
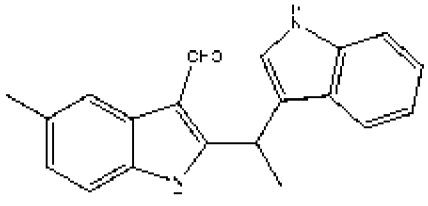
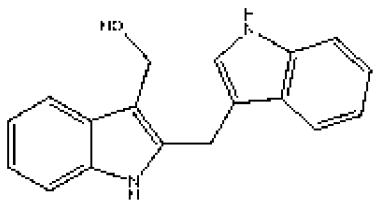
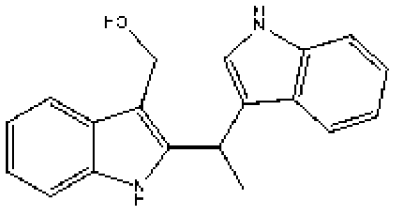
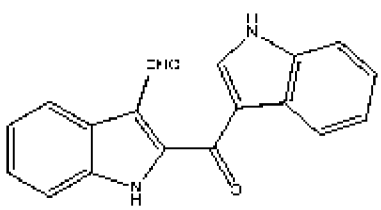
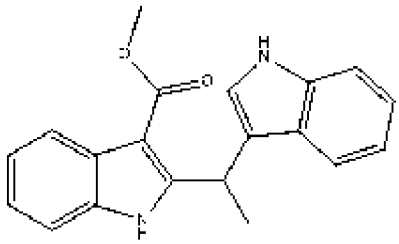
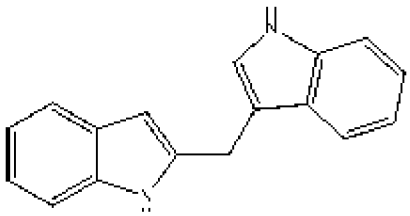
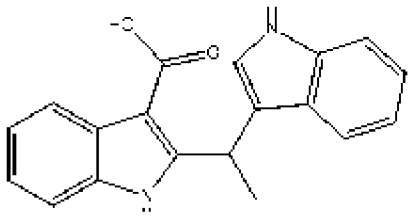
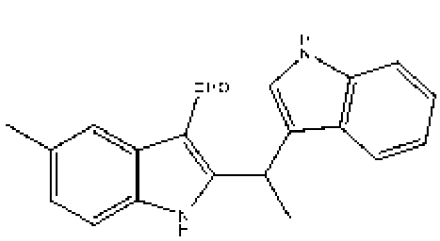
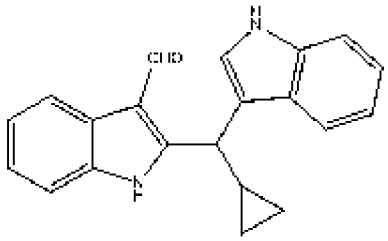
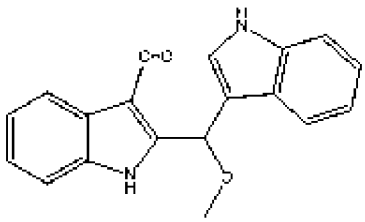
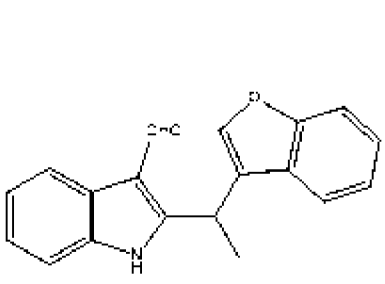
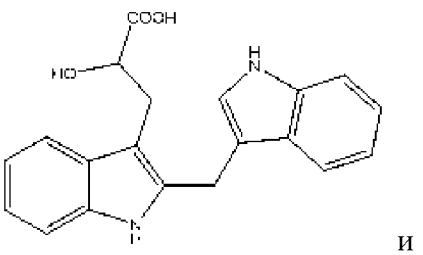
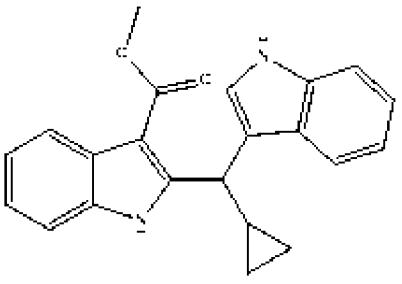
[0569] Согласно дополнительному аспекту данного варианта осуществления, R_{12} представляет собой -COR^a или C_{1-4}гидроксиалкил; и R^a представляет собой водород или C_{1-4}алкил.

[0570] Предпочтительно, R_{12} представляет собой CHO, CH_2OH или C(=O)-O-(C_{1-4}алкил).

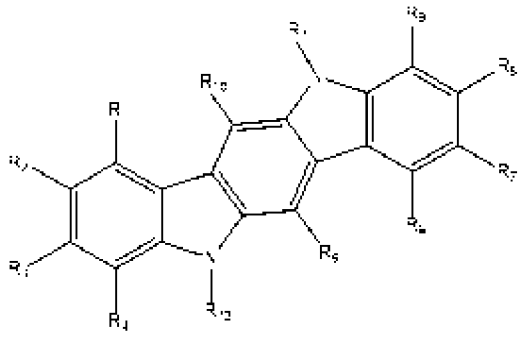
[0571] Более предпочтительно, R_{12} представляет собой CHO, CH_2OH или CO_2CH_3.

[0572] Согласно дополнительному аспекту данного варианта осуществления, X представляет собой NH; Y представляет собой CR_5R_6; каждый из R_1, R_3, R_4, R_7, R_8, R_9, R_{10}, R_{11} и R_{13} представляет собой водород; R_2 представляет собой водород или C_{1-4}алкил; R_5 представляет собой водород, и R_6 представляет собой водород, C_{1-4}алкил, C_{3-6}циклоакил или O-(C_{1-4}алкил); или R_5 и R_6 объединены с формированием оксо (=O) группы; R_{12} представляет собой -COR^a или C_{1-4}гидроксиалкил; и R^a представляет собой водород или C_{1-4}алкил.

[0573] Согласно другому аспекту данного варианта осуществления, соединение выбрано из группы, состоящей из:

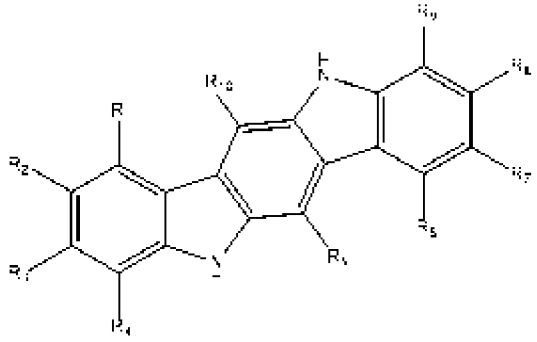

,

,

,

,

,

,

,

,

,

,

,

,

,

,

и

.

[0574] Дополнительный вариант осуществления согласно настоящему изобретению представляет собой способ модулирования меланогенеза у субъекта. Способ включает в себя приведение субъекта в контакт с соединением, причем соединение характеризуется следующей формулой:



где: R_1, R_4, R_5, R_6, R_9 и R_{10} независимо выбраны из группы, состоящей из водорода, гидроксила, галогена, CN, R_{13}, OR_{13}, $OCOR_{13}$ и -CHO; R_2 и R_3 независимо выбраны из группы, состоящей из водорода, гидроксила, галогена, CN, R_{13}, OR_{13}, $OCOR_{13}$ и CHO, или R_2 и R_3 объединены с формированием 5- или 6-членного гетероциклила; R_7 и R_8 независимо выбраны из группы, состоящей из водорода, гидроксила, галогена, CN, R_{13}, OR_{13}, $OCOR_{13}$ и CHO, или R_7 и R_8 объединены с формированием 5- или 6-членного гетероциклила; R_{11} и R_{12} независимо представляют собой водород или R_{13}; и каждый R_{13} независимо представляет собой C_{1-9}алкил, C_{2-9}алкенил или C_{2-9}алкинил; или его кристаллической формой, гидратом или косметически или фармацевтически приемлемой солью.

[0575] Согласно одному аспекту данного варианта осуществления, соединение характеризуется структурой в соответствии с формулой (II)



(II),

или его кристаллической формой, гидратом или косметически или фармацевтически приемлемой солью.

[0576] Согласно другому аспекту данного варианта осуществления, R_1, R_2, R_3, R_4, R_5, R_6, R_7, R_8, R_9 и R_{10} независимо выбраны из группы, состоящей из водорода и C_{1-4}алкила.

[0577] Предпочтительно, один или два из R_1, R_2, R_3, R_4, R_5, R_6, R_7, R_8, R_9 и R_{10} представляют собой C_{1-4}алкил, и оставшиеся группы представляют собой водород.

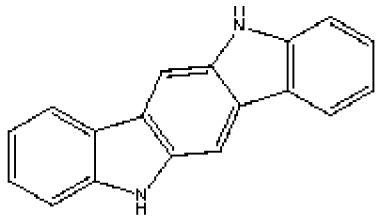
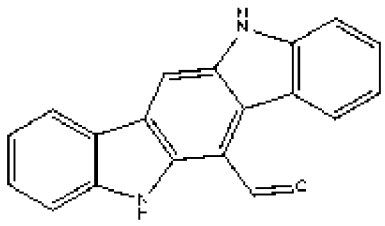
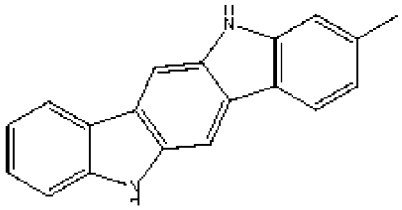
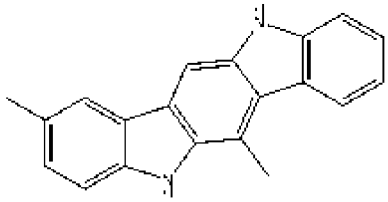
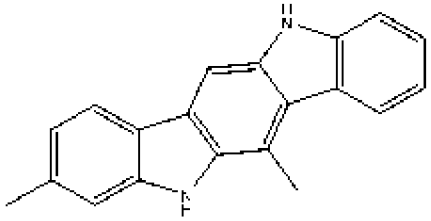
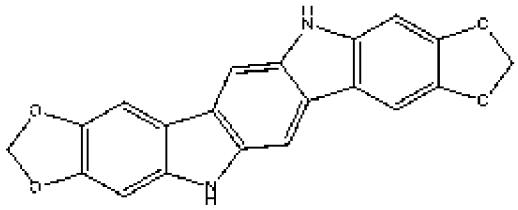
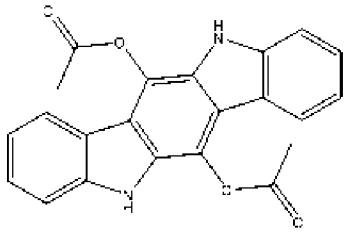
[0578] Согласно дополнительному аспекту данного варианта осуществления, один из R_5 и R_{10} представляет собой C_{1-4}алкил, и другой представляет собой водород.

[0579] Согласно дополнительному аспекту данного варианта осуществления, один из R_1, R_2, R_3, R_4, R_6, R_7, R_8 и R_9 представляет собой C_{1-4}алкил, и оставшиеся группы представляют собой водород.

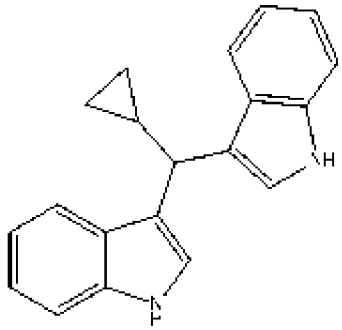
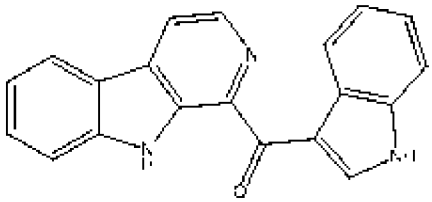
[0580] Согласно другому аспекту данного варианта осуществления, R_{11} и R_{12} каждые представляют собой водород; и один, два, три или четыре из R_1, R_2, R_3, R_4, R_5, R_6, R_7, R_8, R_9

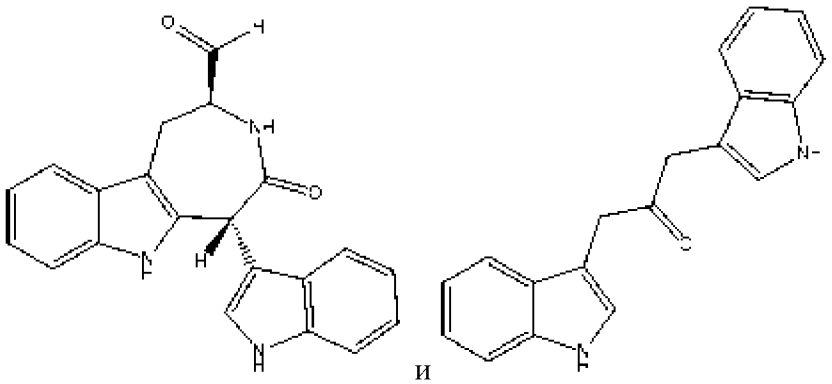
и R_{10} представляют собой метил, и оставшиеся группы представляют собой водород.

[0581] Согласно дополнительному аспекту данного варианта осуществления, соединение выбрано из группы, состоящей из:


,

,

,

,

,

и

.

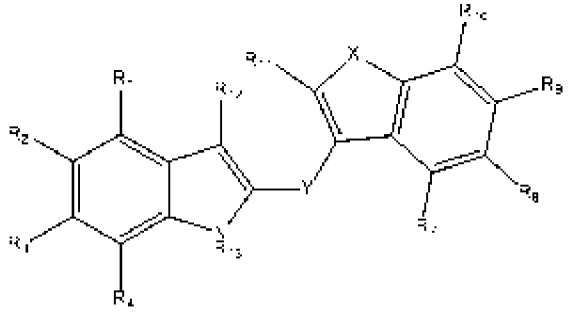
[0582] Другой вариант осуществления согласно настоящему изобретению представляет собой способ модулирования меланогенеза у субъекта. Способ включает в себя приведение субъекта в контакт с соединением, причем соединение выбрано из группы, состоящей из:


,

,



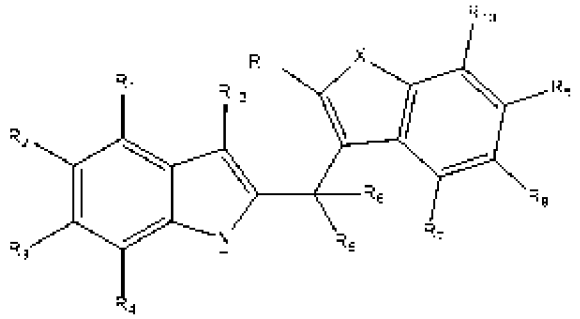
и .

[0583] Дополнительный вариант осуществления согласно настоящему изобретению представляет собой способ модулирования концентрации меланина у субъекта. Способ включает в себя приведение субъекта в контакт с соединением, причем соединение характеризуется структурой следующей формулы:



где: X выбран из группы, состоящей из NR_{14} и O; Y представляет собой ковалентную связь, CR_5R_6, O или NR_{15}; R_1, R_2, R_3, R_4, R_7, R_8, R_9, R_{10} и R_{11} независимо выбраны из группы, состоящей из водорода, галогена, CN, гидроксила, R_{16} или OR_{16}; R_{13}, R_{14} и R_{15} независимо представляют собой водород или R_{16}; R_5 и R_6 независимо выбраны из группы, состоящей из водорода, гидроксила, OR_{16}, R_{16} и C_{3-6}циклоакила, или R_5 и R_6 объединены с формированием оксо (=O) группы или C_{3-6}циклоакила; R_{12} выбран из группы, состоящей из водорода, $-COR^a$ и R_{16}; каждый R_{16} независимо представляет собой формил, C_{1-9}алкил, C_{2-9}алкенил или C_{2-9}алкинил; и R^a выбран из группы, состоящей из водорода, гидроксила и OR_{16}; или его кристаллической формой, гидратом или косметически или фармацевтически приемлемой солью.

[0584] Согласно одному аспекту данного варианта осуществления, соединение характеризуется следующей структурой:



(I)

,

или его кристаллической формой, гидратом или косметически или фармацевтически приемлемой солью.

[0585] Согласно другому аспекту данного варианта осуществления, X представляет собой NH.

[0586] Согласно дополнительному аспекту данного варианта осуществления, Y представляет собой CR_5R_6; R_5 представляет собой водород, и R_6 представляет собой водород, C_{1-4}алкил, C_{3-6}циклоакил или O-(C_{1-4}алкил); или R_5 и R_6 объединены с формированием оксо (=O) группы.

[0587] Предпочтительно, CR_5R_6 представляет собой CH_2, $CHCH_3$, $CHOCH_3$, C=O или $CH(C_3H_5)$.

[0588] Согласно дополнительному аспекту данного варианта осуществления, по меньшей мере один из R_1, R_2, R_3, R_4, R_7, R_8, R_9, R_{10} и R_{11} представляет собой C_{1-4}алкил.

[0589] Предпочтительно, R_2 представляет собой C_{1-4}алкил.

[0590] Более предпочтительно, R_2 представляет собой метил.

[0591] Согласно другому аспекту данного варианта осуществления, каждый из R_1, R_2, R_3, R_4, R_7, R_8, R_9, R_{10} и R_{11} представляет собой водород.

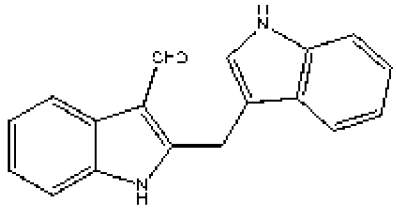
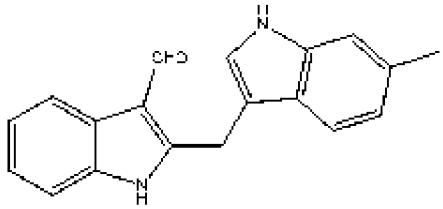
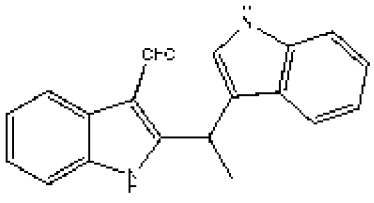
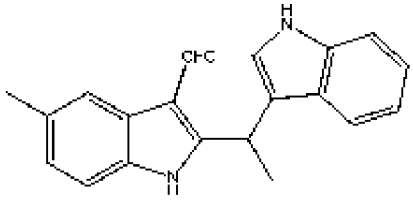
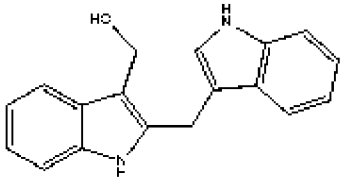
[0592] Согласно дополнительному аспекту данного варианта осуществления, R_{12} представляет собой -COR^a или C_{1-4}гидроксиалкил; и R^a представляет собой водород или C_{1-4}алкил.

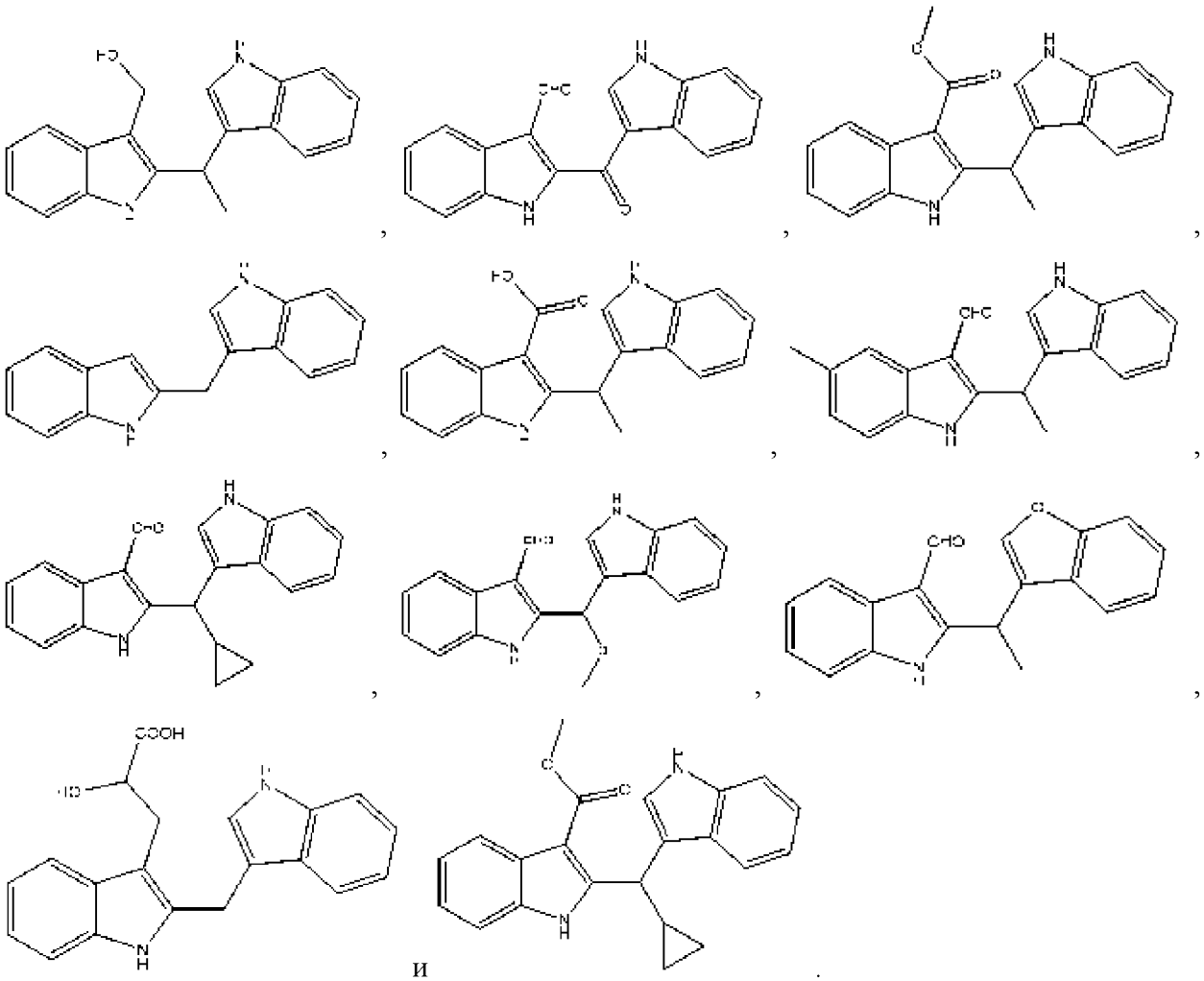
[0593] Предпочтительно, R_{12} представляет собой CHO, CH_2OH или C(=O)-O-(C_{1-4}алкил).

[0594] Более предпочтительно, R_{12} представляет собой CHO, CH_2OH или CO_2CH_3.

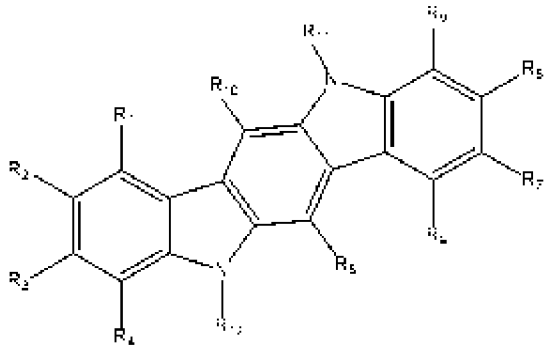
[0595] Согласно дополнительному аспекту данного варианта осуществления, X представляет собой NH; Y представляет собой CR_5R_6; каждый из R_1, R_3, R_4, R_7, R_8, R_9, R_{10}, R_{11} и R_{13} представляет собой водород; R_2 представляет собой водород или C_{1-4}алкил; R_5 представляет собой водород, и R_6 представляет собой водород, C_{1-4}алкил, C_{3-6}циклоакил или O-(C_{1-4}алкил); или R_5 и R_6 объединены с формированием оксо (=O) группы; R_{12} представляет собой -COR^a или C_{1-4}гидроксиалкил; и R^a представляет собой водород или C_{1-4}алкил.

[0596] Согласно другому аспекту данного варианта осуществления, соединение выбрано из группы, состоящей из:


,

,

,

,

,



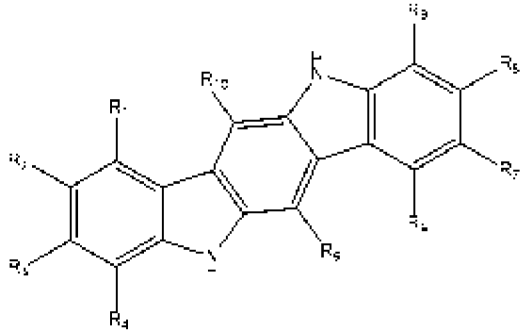
[0597] Дополнительный вариант осуществления согласно настоящему изобретению представляет собой способ модулирования концентрации меланина у субъекта. Способ включает в себя приведение субъекта в контакт с соединением, причем соединение характеризуется следующей формулой:



где: R_1, R_4, R_5, R_6, R_9 и R_{10} независимо выбраны из группы, состоящей из водорода, гидроксила, галогена, CN, R_{13}, OR_{13}, $OCOR_{13}$ и -CHO; R_2 и R_3 независимо выбраны из группы, состоящей из водорода, гидроксила, галогена, CN, R_{13}, OR_{13}, $OCOR_{13}$ и CHO, или R_2 и R_3 объединены с формированием 5- или 6-членного гетероциклила; R_7 и R_8 независимо выбраны из группы, состоящей из водорода, гидроксила, галогена, CN, R_{13}, OR_{13}, $OCOR_{13}$ и CHO, или R_7 и R_8 объединены с формированием 5- или 6-членного гетероциклила; R_{11} и R_{12} независимо представляют собой водород или R_{13}; и каждый R_{13} независимо

представляет собой C_{1-9}алкил, C_{2-9}алкенил или C_{2-9}алкинил; или его кристаллической формой, гидратом или косметически или фармацевтически приемлемой солью.

[0598] Согласно одному аспекту данного варианта осуществления, соединение характеризуется структурой в соответствии с формулой (II)



(II)

,

или его кристаллической формой, гидратом или косметически или фармацевтически приемлемой солью.

[0599] Согласно другому аспекту данного варианта осуществления, R_1, R_2, R_3, R_4, R_5, R_6, R_7, R_8, R_9 и R_{10} независимо выбраны из группы, состоящей из водорода и C_{1-4}алкила.

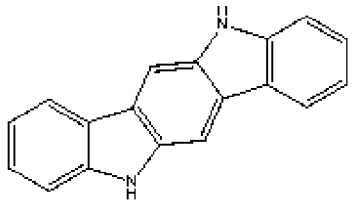
[0600] Предпочтительно, один или два из R_1, R_2, R_3, R_4, R_5, R_6, R_7, R_8, R_9 и R_{10} представляют собой C_{1-4}алкил, и оставшиеся группы представляют собой водород.

[0601] Согласно дополнительному аспекту данного варианта осуществления, один из R_5 и R_{10} представляет собой C_{1-4}алкил, и другой представляет собой водород.

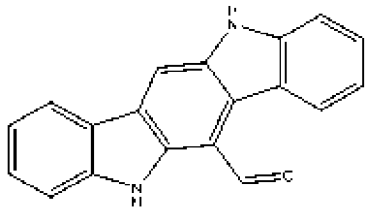
[0602] Согласно дополнительному аспекту данного варианта осуществления, один из R_1, R_2, R_3, R_4, R_6, R_7, R_8 и R_9 представляет собой C_{1-4}алкил, и оставшиеся группы представляют собой водород.

[0603] Согласно другому аспекту данного варианта осуществления, R_{11} и R_{12} каждые представляют собой водород; и один, два, три или четыре из R_1, R_2, R_3, R_4, R_5, R_6, R_7, R_8, R_9 и R_{10} представляют собой метил, и оставшиеся группы представляют собой водород.

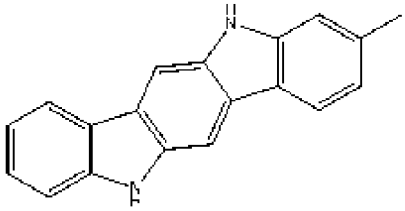
[0604] Согласно дополнительному аспекту данного варианта осуществления, соединение выбрано из группы, состоящей из:



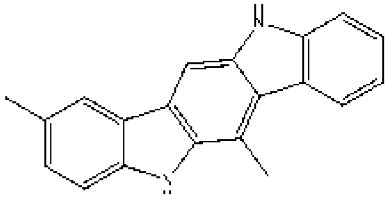
,



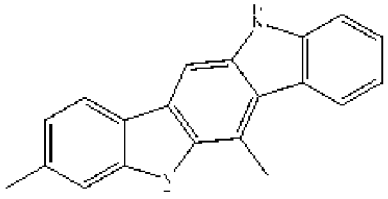
,



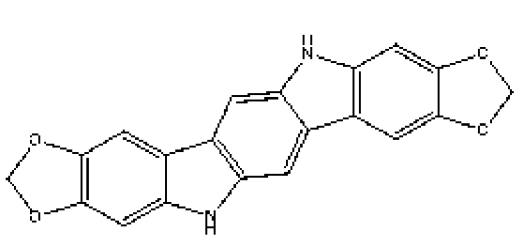
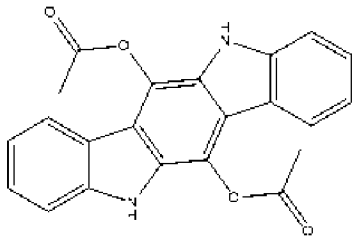
,



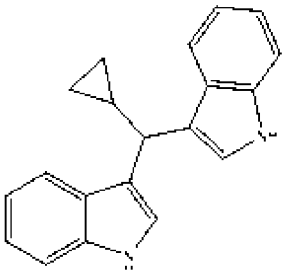
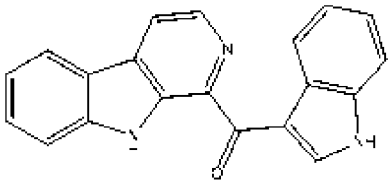
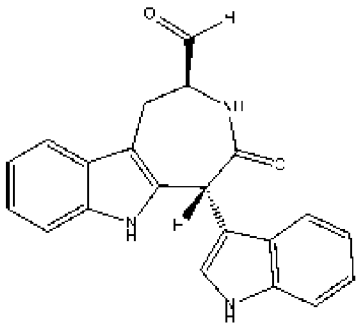
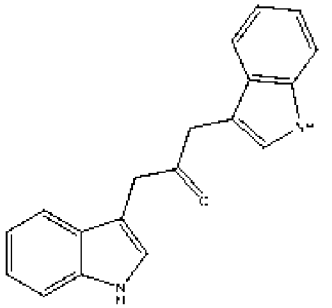
,



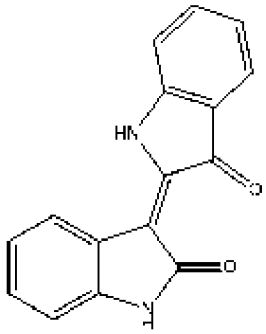
,


и

.

[0605] Другой вариант осуществления согласно настоящему изобретению представляет собой способ модулирования концентрации меланина у субъекта. Способ включает в себя приведение субъекта в контакт с соединением, причем соединение выбрано из группы, состоящей из:

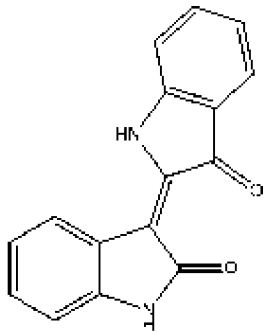

,

,

и

.

[0606] Один вариант осуществления согласно настоящему изобретению представляет собой соединение для осветления кожи. Соединение характеризуется структурой следующей формулы:



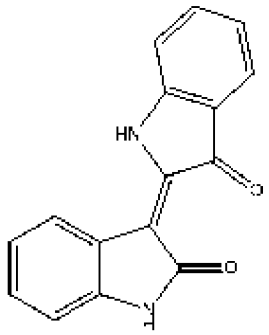
или его химическим аналогом, кристаллической формой, гидратом или фармацевтически или косметически приемлемой солью.

[0607] Другой вариант осуществления согласно настоящему изобретению представляет собой соединение для индукции апоптоза меланоцитов. Соединение характеризуется структурой следующей формулы:



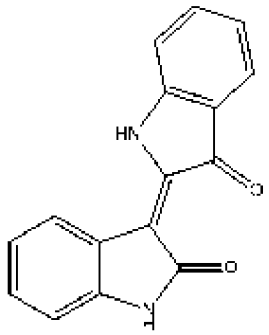
или его химическим аналогом, кристаллической формой, гидратом или фармацевтически или косметически приемлемой солью.

[0608] Дополнительный вариант осуществления согласно настоящему изобретению представляет собой соединение для модулирования активности рецептора ароматических углеводородов (AhR). Соединение характеризуется структурой следующей формулы:



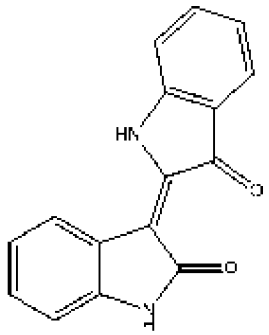
или его химическим аналогом, кристаллической формой, гидратом или фармацевтически или косметически приемлемой солью.

[0609] Дополнительный вариант осуществления согласно настоящему изобретению представляет собой соединение для модулирования меланогенеза. Соединение характеризуется структурой следующей формулы:



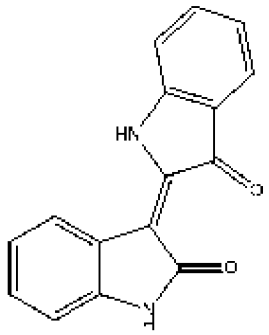
или его химическим аналогом, кристаллической формой, гидратом или фармацевтически или косметически приемлемой солью.

[0610] Другой вариант осуществления согласно настоящему изобретению представляет собой соединение для модулирования концентрации меланина. Соединение характеризуется структурой следующей формулы:



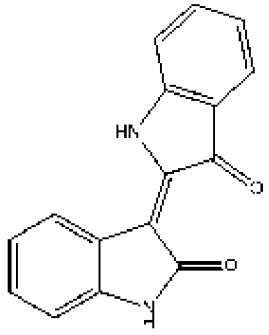
или его химическим аналогом, кристаллической формой, гидратом или фармацевтически или косметически приемлемой солью.

[0611] Дополнительный вариант осуществления согласно настоящему изобретению представляет собой композицию, содержащую соединение. Соединение характеризуется структурой следующей формулы:



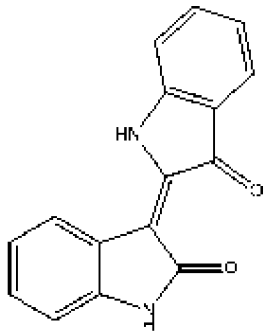
или его химическим аналогом, кристаллической формой, гидратом или фармацевтически или косметически приемлемой солью.

[0612] Дополнительный вариант осуществления согласно настоящему изобретению представляет собой способ осветления кожи у субъекта. Способ включает в себя приведение субъекта в контакт с соединением, причем соединение характеризуется структурой следующей формулы:



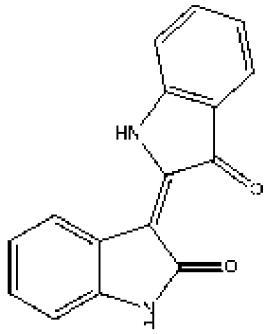
или его химическим аналогом, кристаллической формой, гидратом или фармацевтически или косметически приемлемой солью.

[0613] Другой вариант осуществления согласно настоящему изобретению представляет собой способ индукции апоптоза меланоцитов у субъекта. Способ включает в себя приведение субъекта в контакт с соединением, причем соединение характеризуется структурой следующей формулы:



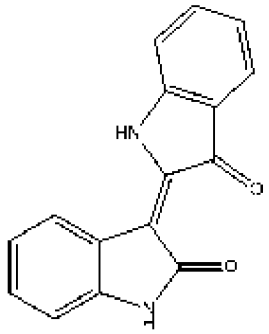
или его химическим аналогом, кристаллической формой, гидратом или фармацевтически или косметически приемлемой солью.

[0614] Дополнительный вариант осуществления согласно настоящему изобретению представляет собой способ модулирования активности рецептора ароматических углеводородов (AhR) у субъекта. Способ включает в себя приведение субъекта в контакт с соединением, причем соединение характеризуется структурой следующей формулы:



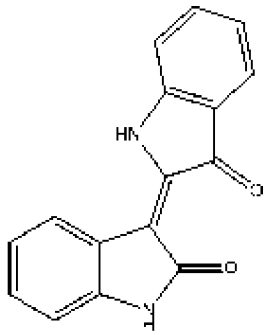
или его химическим аналогом, кристаллической формой, гидратом или фармацевтически или косметически приемлемой солью.

[0615] Дополнительный вариант осуществления согласно настоящему изобретению представляет собой способ модулирования меланогенеза у субъекта. Способ включает в себя приведение субъекта в контакт с соединением, причем соединение характеризуется структурой следующей формулы:



или его химическим аналогом, кристаллической формой, гидратом или фармацевтически или косметически приемлемой солью.

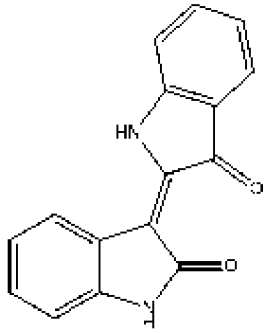
[0616] Другой вариант осуществления согласно настоящему изобретению представляет собой способ модулирования концентрации меланина у субъекта. Способ включает в себя приведение субъекта в контакт с соединением, причем соединение характеризуется структурой следующей формулы:



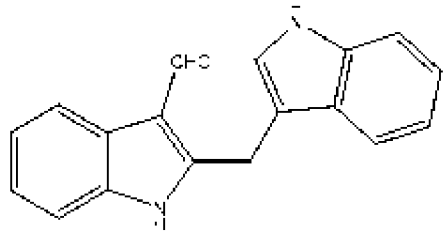
или его химическим аналогом, кристаллической формой, гидратом или фармацевтически или косметически приемлемой солью.

[0617] Дополнительный вариант осуществления согласно настоящему изобретению представляет собой композицию. Композиция содержит одно или несколько соединений, перечисленных в Таблице 5 или на Фиг. 130, или их химический аналог, кристаллическую форму, гидрат или фармацевтически или косметически приемлемую соль.

Согласно одному аспекту данного варианта осуществления, композиция содержит первое соединение, характеризующееся структурой следующей формулы:



или его химический аналог, кристаллическую форму, гидрат или фармацевтически или косметически приемлемую соль; и второе соединение, характеризующееся структурой следующей формулы:

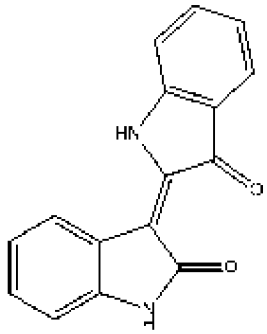


или его химический аналог, кристаллическую форму, гидрат или фармацевтически или косметически приемлемую соль.

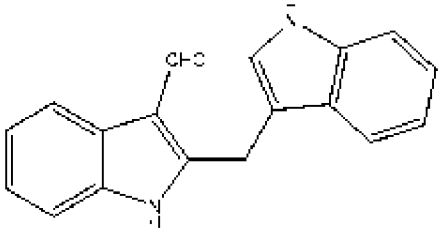
[0618] Дополнительный вариант осуществления согласно настоящему изобретению представляет собой способ осветления кожи у субъекта. Способ включает в себя приведение субъекта в контакт с одним или несколькими соединениями, перечисленными в Таблице 5 или на Фиг. 130, или их химическим аналогом, кристаллической формой, гидратом или фармацевтически или косметически приемлемой солью.

[0619] Согласно одному аспекту данного варианта осуществления, субъекта приводят в контакт с первым соединением, характеризующимся структурой следующей

формулы:



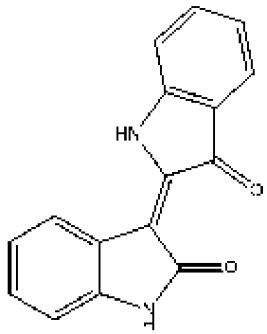
или его химическим аналогом, кристаллической формой, гидратом, или фармацевтически или косметически приемлемой солью; и вторым соединением, характеризующимся структурой следующей формулы:



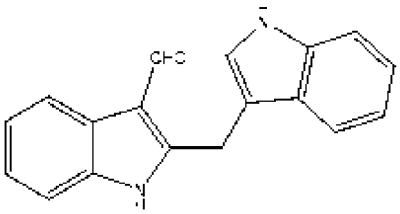
или его химическим аналогом, кристаллической формой, гидратом или фармацевтически или косметически приемлемой солью.

[0620] Другой вариант осуществления согласно настоящему изобретению представляет собой способ индукции апоптоза меланоцитов у субъекта. Способ включает в себя приведение субъекта в контакт с одним или несколькими соединениями, перечисленными в Таблице 5 или на Фиг. 130, или их химическим аналогом, кристаллической формой, гидратом или фармацевтически или косметически приемлемой солью.

[0621] Согласно одному аспекту данного варианта осуществления, субъекта приводят в контакт с первым соединением, характеризующимся структурой следующей формулы:



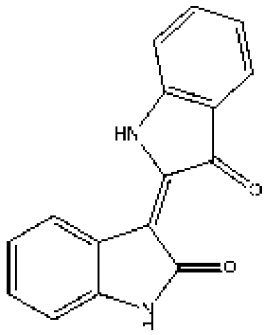
или его химическим аналогом, кристаллической формой, гидратом, или фармацевтически или косметически приемлемой солью; и вторым соединением, характеризующимся структурой следующей формулы:



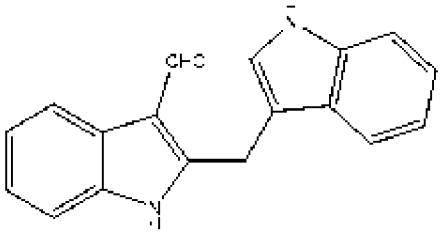
или его химическим аналогом, кристаллической формой, гидратом или фармацевтически или косметически приемлемой солью.

[0622] Дополнительный вариант осуществления согласно настоящему изобретению представляет собой способ модулирования активности рецептора ароматических углеводородов (AhR) у субъекта. Способ включает в себя приведение субъекта в контакт с одним или несколькими соединениями, перечисленными в Таблице 5 или на Фиг. 130, или их химическим аналогом, кристаллической формой, гидратом или фармацевтически или косметически приемлемой солью.

[0623] Согласно одному аспекту данного варианта осуществления, субъекта приводят в контакт с первым соединением, характеризующимся структурой следующей формулы:



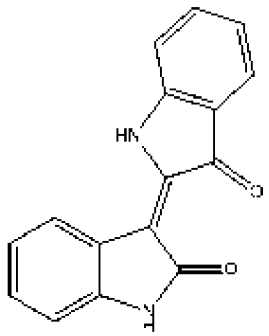
или его химическим аналогом, кристаллической формой, гидратом, или фармацевтически или косметически приемлемой солью; и вторым соединением, характеризующимся структурой следующей формулы:



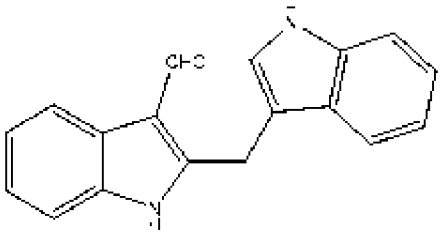
или его химическим аналогом, кристаллической формой, гидратом или фармацевтически или косметически приемлемой солью.

[0624] Дополнительный вариант осуществления согласно настоящему изобретению представляет собой способ модулирования меланогенеза у субъекта. Способ включает в себя приведение субъекта в контакт с одним или несколькими соединениями, перечисленными в Таблице 5 или на Фиг. 130, или их химическим аналогом, кристаллической формой, гидратом или фармацевтически или косметически приемлемой солью.

[0625] Согласно одному аспекту данного варианта осуществления, субъекта приводят в контакт с первым соединением, характеризующимся структурой следующей формулы:



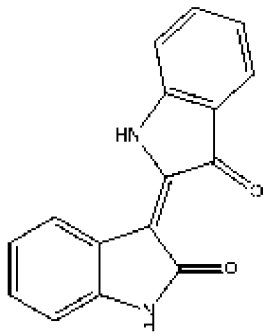
или его химическим аналогом, кристаллической формой, гидратом, или фармацевтически или косметически приемлемой солью; и вторым соединением, характеризующимся структурой следующей формулы:



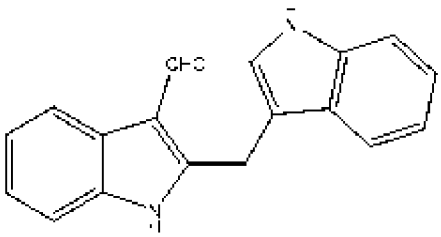
или его химическим аналогом, кристаллической формой, гидратом или фармацевтически или косметически приемлемой солью.

[0626] Другой вариант осуществления согласно настоящему изобретению представляет собой способ модулирования концентрации меланина у субъекта. Способ включает в себя приведение субъекта в контакт с одним или несколькими соединениями, перечисленными в Таблице 5 или на Фиг. 130, или их химическим аналогом, кристаллической формой, гидратом или фармацевтически или косметически приемлемой солью.

[0627] Согласно одному аспекту данного варианта осуществления, субъекта приводят в контакт с первым соединением, характеризующимся структурой следующей формулы:



или его химическим аналогом, кристаллической формой, гидратом, или фармацевтически или косметически приемлемой солью; и вторым соединением, характеризующимся структурой следующей формулы:



или его химическим аналогом, кристаллической формой, гидратом или фармацевтически или косметически приемлемой солью.

[0628] Дополнительный вариант осуществления согласно настоящему изобретению представляет собой композицию. Композиция содержит одно или несколько соединений, перечисленных в Таблице 5 или на Фиг. 130, или их химический аналог, кристаллическую форму, гидрат или фармацевтически или косметически приемлемую соль.

[0629] Дополнительный вариант осуществления согласно настоящему изобретению представляет собой композицию для осветления кожи. Композиция содержит одно или несколько соединений, перечисленных в Таблице 5 или на Фиг. 130, или их химический аналог, кристаллическую форму, гидрат или фармацевтически или косметически приемлемую соль.

[0630] Другой вариант осуществления согласно настоящему изобретению представляет собой композицию для индукции апоптоза меланоцитов. Композиция содержит одно или несколько соединений, перечисленных в Таблице 5 или на Фиг. 130, или их химический аналог, кристаллическую форму, гидрат или фармацевтически или косметически приемлемую соль.

[0631] Дополнительный вариант осуществления согласно настоящему изобретению представляет собой композицию для модулирования активности рецептора ароматических углеводородов (AhR). Композиция содержит одно или несколько соединений, перечисленных в Таблице 5 или на Фиг. 130, или их химический аналог, кристаллическую форму, гидрат или фармацевтически или косметически приемлемую соль.

[0632] Дополнительный вариант осуществления согласно настоящему изобретению представляет собой композицию для модулирования меланогенеза. Композиция содержит одно или несколько соединений, перечисленных в Таблице 5 или на Фиг. 130, или их химический аналог, кристаллическую форму, гидрат или фармацевтически или косметически приемлемую соль.

[0633] Другой вариант осуществления согласно настоящему изобретению представляет собой композицию для модулирования концентрации меланина. Композиция содержит одно или несколько соединений, перечисленных в Таблице 5 или на Фиг. 130, или их химический аналог, кристаллическую форму, гидрат или фармацевтически или косметически приемлемую соль.

[0634] Дополнительный вариант осуществления согласно настоящему изобретению представляет собой способ осветления кожи у субъекта. Способ включает в себя приведение субъекта в контакт с композицией, причем данная композиция содержит одно или несколько соединений, перечисленных в Таблице 5 или на Фиг. 130, или их химический

аналог, кристаллическую форму, гидрат или фармацевтически или косметически приемлемую соль.

[0635] Дополнительный вариант осуществления согласно настоящему изобретению представляет собой способ индукции апоптоза меланоцитов у субъекта. Способ включает в себя приведение субъекта в контакт с композицией, причем данная композиция содержит одно или несколько соединений, перечисленных в Таблице 5 или на Фиг. 130, или их химический аналог, кристаллическую форму, гидрат или фармацевтически или косметически приемлемую соль.

[0636] Другой вариант осуществления согласно настоящему изобретению представляет собой способ модулирования активности рецептора ароматических углеводородов (AhR) у субъекта. Способ включает в себя приведение субъекта в контакт с композицией, причем данная композиция содержит одно или несколько соединений, перечисленных в Таблице 5 или на Фиг. 130, или их химический аналог, кристаллическую форму, гидрат или фармацевтически или косметически приемлемую соль.

[0637] Дополнительный вариант осуществления согласно настоящему изобретению представляет собой способ модулирования меланогенеза у субъекта. Способ включает в себя приведение субъекта в контакт с композицией, причем данная композиция содержит одно или несколько соединений, перечисленных в Таблице 5 или на Фиг. 130, или их химический аналог, кристаллическую форму, гидрат или фармацевтически или косметически приемлемую соль.

[0638] Дополнительный вариант осуществления согласно настоящему изобретению представляет собой способ модулирования концентрации меланина у субъекта. Способ включает в себя приведение субъекта в контакт с композицией, причем данная композиция содержит одно или несколько соединений, перечисленных в Таблице 5 или на Фиг. 130, или их химический аналог, кристаллическую форму, гидрат или фармацевтически или косметически приемлемую соль.

[0639] Согласно предпочтительным вариантам осуществления, композиции согласно настоящему изобретению содержат соединения, перечисленные в Таблице 7.

[0640] Согласно другим предпочтительным вариантам осуществления, композиции согласно настоящему изобретению содержат соединения, перечисленные в Таблице 8.

[0641] Согласно дополнительным предпочтительным вариантам осуществления, композиции согласно настоящему изобретению содержат соединения, перечисленные в Таблице 9.

[0642] Согласно дополнительным предпочтительным вариантам осуществления, композиции согласно настоящему изобретению содержат соединения, перечисленные в Таблице 10.

[0643] Согласно другим предпочтительным вариантам осуществления, композиции согласно настоящему изобретению содержат соединения, перечисленные в Таблице 11.

[0644] Согласно дополнительным предпочтительным вариантам осуществления, способы согласно настоящему изобретению включают в себя приведение субъекта в

контакт с композицией, содержащей соединения, перечисленные в Таблице 7.

[0645] Согласно дополнительным предпочтительным вариантам осуществления, способы согласно настоящему изобретению включают в себя приведение субъекта в контакт с композицией, содержащей соединения, перечисленные в Таблице 8.

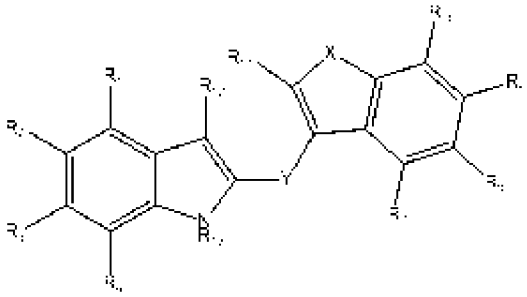
[0646] Согласно другим предпочтительным вариантам осуществления, способы согласно настоящему изобретению включают в себя приведение субъекта в контакт с композицией, содержащей соединения, перечисленные в Таблице 9.

[0647] Согласно дополнительным предпочтительным вариантам осуществления, способы согласно настоящему изобретению включают в себя приведение субъекта в контакт с композицией, содержащей соединения, перечисленные в Таблице 10.

[0648] Согласно дополнительным предпочтительным вариантам осуществления, способы согласно настоящему изобретению включают в себя приведение субъекта в контакт с композицией, содержащей соединения, перечисленные в Таблице 11.

[0649] Другой вариант осуществления согласно настоящему изобретению представляет собой композицию. Композиция содержит дрожжи *Malassezia* и косметически или фармацевтически приемлемую несущую среду, разбавитель или носитель.

[0650] Дополнительный вариант осуществления согласно настоящему изобретению представляет собой композицию. Композиция содержит соединение, характеризующееся структурой следующей формулы:



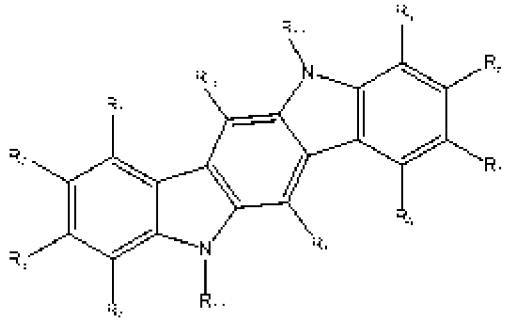
где:

X выбран из группы, состоящей из NR_{14} и O; Y представляет собой ковалентную связь, CR_5R_6, O или NR_{15}; R_1, R_2, R_3, R_4, R_7, R_8, R_9, R_{10} и R_{11} независимо выбраны из группы, состоящей из водорода, галогена, CN, гидроксила, R_{16} или OR_{16}; R_{13}, R_{14} и R_{15} независимо представляют собой водород или R_{16}; R_5 и R_6 независимо выбраны из группы, состоящей из водорода, гидроксила, OR_{16}, R_{16} и C_{3-6}циклоакила, или R_5 и R_6 объединены с формированием оксо (=O) группы или C_{3-6}циклоакила; R_{12} выбран из группы, состоящей из водорода, $-COR^a$ и R_{16}; каждый R_{16} независимо представляет собой формил, C_{1-9}алкил, C_{2-9}алкенил или C_{2-9}алкинил; и R^a выбран из группы, состоящей из водорода, гидроксила и OR_{16};

или его кристаллическую форму, гидрат или косметически или фармацевтически приемлемую соль,

и косметически или фармацевтически приемлемую несущую среду, разбавитель или носитель.

[0651] Дополнительный вариант осуществления согласно настоящему изобретению представляет собой композицию. Композиция содержит соединение, характеризующееся структурой следующей формулы:



где:

R_1, R_4, R_5, R_6, R_9 и R_{10} независимо выбраны из группы, состоящей из водорода, гидроксила, галогена, CN, R_{13}, OR_{13}, $OCOR_{13}$ и -CHO; R_2 и R_3 независимо выбраны из группы, состоящей из водорода, гидроксила, галогена, CN, R_{13}, OR_{13}, $OCOR_{13}$ и CHO, или R_2 и R_3 объединены с формированием 5- или 6-членного гетероциклила; R_7 и R_8 независимо выбраны из группы, состоящей из водорода, гидроксила, галогена, CN, R_{13}, OR_{13}, $OCOR_{13}$ и CHO, или R_7 и R_8 объединены с формированием 5- или 6-членного гетероциклила; R_{11} и R_{12} независимо представляют собой водород или R_{13}; и каждый R_{13} независимо представляет собой C_{1-9}алкил, C_{2-9}алкенил или C_{2-9}алкинил;

или его кристаллическую форму, гидрат или косметически или фармацевтически приемлемую соль,

и косметически или фармацевтически приемлемую несущую среду, разбавитель или носитель.

[0652] Другой вариант осуществления согласно настоящему изобретению представляет собой композицию. Композиция содержит соединение, перечисленное в Таблице 5 или на Фиг. 130, или его химический аналог, кристаллическую форму, гидрат или косметически или фармацевтически приемлемую соль,

и косметически или фармацевтически приемлемую несущую среду, разбавитель или носитель.

[0653] Согласно предпочтительным вариантам осуществления, любая из композиций согласно настоящему изобретению предупреждает УФ-индуцированную эритему у субъекта.

[0654] Согласно предпочтительным вариантам осуществления, любая из композиций согласно настоящему изобретению снижает содержание эпидермального меланина у субъекта.

[0655] Согласно предпочтительным вариантам осуществления, любая из композиций согласно настоящему изобретению вызывает фотозащитный или УФ-защитный эффект у субъекта.

[0656] Согласно предпочтительным вариантам осуществления, любая из композиций согласно настоящему изобретению фильтрует, поглощает или отражает УФ.

[0657] Согласно предпочтительным вариантам осуществления, любая из композиций согласно настоящему изобретению предупреждает гиперпигментацию и/или промотирует гипопигментацию.

[0658] Согласно предпочтительным вариантам осуществления, любая из композиций согласно настоящему изобретению представляет собой солнцезащитное средство, фотозащитное средство и/или УФ-защитное средство.

[0659] Дополнительный вариант осуществления согласно настоящему изобретению представляет собой способ лечения или предупреждения УФ-индуцированного повреждения кожи у субъекта. Способ включает в себя приведение субъекта в контакт с любой из композиций, раскрытых в настоящем документе.

[0660] Дополнительный вариант осуществления согласно настоящему изобретению представляет собой способ лечения или предупреждения УФ-индуцированной эритемы у субъекта. Способ включает в себя приведение субъекта в контакт с любой из композиций, раскрытых в настоящем документе.

[0661] Другой вариант осуществления согласно настоящему изобретению представляет собой способ лечения или предупреждения УФ-индуцированного старения кожи у субъекта. Способ включает в себя приведение субъекта в контакт с любой из композиций, раскрытых в настоящем документе.

[0662] Дополнительный вариант осуществления согласно настоящему изобретению представляет собой способ лечения или предупреждения солнечного ожога у субъекта. Способ включает в себя приведение субъекта в контакт с любой из композиций, раскрытых в настоящем документе.

[0663] Дополнительный вариант осуществления согласно настоящему изобретению представляет собой способ лечения или предупреждения УФ-индуцированной гиперпигментации у субъекта. Способ включает в себя приведение субъекта в контакт с любой из композиций, раскрытых в настоящем документе.

[0664] Другой вариант осуществления согласно настоящему изобретению представляет собой способ осветления кожи у субъекта. Способ включает в себя приведение субъекта в контакт с любой из композиций, раскрытых в настоящем документе.

[0665] Дополнительный вариант осуществления согласно настоящему изобретению представляет собой способ индукции апоптоза меланоцитов у субъекта. Способ включает в себя приведение субъекта в контакт с любой из композиций, раскрытых в настоящем документе.

[0666] Дополнительный вариант осуществления согласно настоящему изобретению представляет собой способ модулирования активности рецептора ароматических углеводородов (AhR) у субъекта. Способ включает в себя приведение субъекта в контакт с любой из композиций, раскрытых в настоящем документе.

[0667] Другой вариант осуществления согласно настоящему изобретению представляет собой способ модулирования меланогенеза у субъекта. Способ включает в себя приведение субъекта в контакт с любой из композиций, раскрытых в настоящем

документе.

[0668] Дополнительный вариант осуществления согласно настоящему изобретению представляет собой способ модулирования концентрации меланина у субъекта. Способ включает в себя приведение субъекта в контакт с любой из композиций, раскрытых в настоящем документе.

Определения

[0669] Используемый в настоящем документе термин «соединение» относится к двум или нескольким атомам, которые соединены одной или несколькими химическими связями. В настоящем изобретении, химические связи включают в себя без ограничения ковалентные связи, ионные связи, водородные связи и Ван-дер-Ваальсовы взаимодействия. Ковалентные связи согласно настоящему изобретению включают в себя одинарные, двойные и тройные связи. Соединения согласно настоящему изобретению включают в себя без ограничения органические молекулы.

[0670] Органические соединения/молекулы согласно настоящему изобретению включают в себя неразветвленные, разветвленные и циклические углеводороды с функциональными группами или без них. Подразумевается, что термин «C_{x-y}», применяемый в сочетании с химическим фрагментом, таким как алкил, алкенил, алкинил или алкокси, включает в себя группы, которые содержат от x до y атомов углерода в цепи. Например, термин «C_{x-y}алкил» обозначает замещенные или незамещенные насыщенные углеводородные группы, включая неразветвленные алкильные и разветвленные алкильные группы, которые содержат от x до y атомов углерода в цепи, включая галогеналкильные группы, такие как трифторметил и 2,2,2-трифторэтил и т. п. Термины «C_{x-y}алкенил» и «C_{x-y}алкинил» относятся к замещенным или незамещенным ненасыщенным алифатическим группам, аналогичным по длине и возможным заменам описанным выше алкилам, но содержащим по меньшей мере одну двойную или тройную связь, соответственно.

[0671] Используемый в настоящем документе термин «алифатическая группа» обозначает группу, состоящую из атомов углерода и водорода, которая не содержит ароматических колец. Соответственно, алифатические группы включают в себя алкильные, алкенильные, алкинильные и карбоциклильные группы.

[0672] Используемый в настоящем документе термин «алкил» означает ациклические неразветвленные и разветвленные углеводородные группы, например, «C_1-C_{20}алкил» относится к алкильным группам, содержащим 1-20 атомов углерода. Алкильная группа может быть неразветвленной или разветвленной. Примеры алкильных групп включают в себя без ограничения метил, этил, н-пропил, изопропил, бутил, изобутил, *втор*-бутил, *трет*-бутил, пентил, изопентил, *трет*-пентил, гексил, изогексил и т. п. Другие алкильные группы будут очевидны специалистам в данной области с учетом преимущества настоящего раскрытия. Алкильная группа может быть незамещенной или замещенной одним или несколькими заместителями, описанными в настоящем документе. Например, алкильная группа может быть замещена одним или несколькими (например, 1, 2, 3, 4, 5 или 6 независимо выбранными заместителями) из галогена, -CO_2R', -COOH, -CN, -OH, -OR', -

NH_2, -NHR', -N(R')$_2$, -SR' или -SO_2R', где в каждом случае R' независимо представляет собой C_1-C_3алкил. Согласно вариантам осуществления, алкил является незамещенным. Согласно вариантам осуществления, алкил является замещенным (например, 1, 2, 3, 4, 5 или 6 заместителями, описанными в настоящем документе). Например, термин «гидроксиалкил» относится к алкильной группе, описанной в настоящем документе, содержащей гидроксильный (-OH) заместитель, и включает в себя такие группы, как CH_2OH.

[0673] Используемый в настоящем документе термин «алкенил» означает любые неразветвленные и разветвленные углеводородные цепи, содержащие одну или несколько ненасыщенных двойных углерод-углеродных связей, которые могут располагаться в любом стабильном положении в цепи, например, «C_2-C_{20}алкенил» относится к алкенильной группе, содержащей 2-20 атомов углерода. Например, алкенильная группа включает в себя проп-2-енил, бут-2-енил, бут-3-енил, 2-метилпроп-2-енил, гекс-2-енил, гекс-5-енил, 2,3-диметилбут-2-енил и т. п. Согласно вариантам осуществления, алкенил содержит 1, 2 или 3 двойные углерод-углеродные связи. Согласно вариантам осуществления, алкенил содержит единственную двойную углерод-углеродную связь. Согласно вариантам осуществления, множественные двойные связи (например, 2 или 3) являются конъюгированными. Алкенильная группа может быть незамещенной или замещенной одним или несколькими заместителями, описанными в настоящем документе. Например, алкенильная группа может быть замещена одним или несколькими (например, 1, 2, 3, 4, 5 или 6 независимо выбранными заместителями) из галогена, -CO_2R', -CN, -OH, -OR', -NH_2, -NHR', -N(R')$_2$, -SR' или -SO_2R', где в каждом случае R' независимо представляет собой C_1-C_3алкил. Согласно вариантам осуществления, алкенил является незамещенным. Согласно вариантам осуществления, алкенил является замещенным (например, 1, 2, 3, 4, 5 или 6 заместителями, описанными в настоящем документе).

[0674] Используемый в настоящем документе термин «алкинил» означает любую углеводородную цепь неразветвленной и разветвленной конфигурации, содержащую одну или несколько ненасыщенных тройных углерод-углеродных связей, которые располагаются в любом стабильном положении в цепи, например, «C_2-C_{20}алкинил» относится к алкинильной группе, содержащей 2-20 атомов углерода. Примеры алкинильной группы включают в себя проп-2-инил, бут-2-инил, бут-3-инил, пент-2-инил, 3-метилпент-4-инил, гекс-2-инил, гекс-5-инил и т. п. Согласно вариантам осуществления, алкинил содержит одну тройную углерод-углеродную связь. Алкинильная группа может быть незамещенной или замещенной одним или несколькими заместителями, описанными в настоящем документе. Например, алкинильная группа может быть замещена одним или несколькими (например, 1, 2, 3, 4, 5 или 6 независимо выбранными заместителями) из галогена, -CO_2R', -CN, -OH, -OR', -NH_2, -NHR', -N(R')$_2$, -SR' или -SO_2R', где в каждом случае R' независимо представляет собой C_1-C_3алкил. Согласно вариантам осуществления, алкинил является незамещенным. Согласно вариантам осуществления, алкинил является замещенным (например, 1, 2, 3, 4, 5 или 6 заместителями, описанными в настоящем

документе).

[0675] Используемый в настоящем документе термин «циклоалкил» означает неароматическую насыщенную циклическую группу, например, «C_3-C_{10}циклоалкил». Согласно вариантам осуществления, циклоалкил является моноциклическим. Согласно вариантам осуществления, циклоалкил является полициклическим (например, бициклическим или трициклическим). В полициклических циклоалкильных группах, отдельные кольца могут быть конденсированными, соединенными мостиковой связью или спироциклическими. Примеры циклоалкильной группы включают в себя циклопропил, циклобутил, циклопентил, циклогексил, норборнанил, бицикло[3.2.1]октанил, октагидропенталенил и спиро[4.5]деканил, и т. п. Термин «циклоалкил» может использоваться взаимозаменяемо с термином «карбоцикл». Циклоалкильная группа может быть незамещенной или замещенной одним или несколькими заместителями, описанными в настоящем документе. Например, циклоалкильная группа может быть замещена одним или несколькими (например, 1, 2, 3, 4, 5 или 6 независимо выбранными заместителями) из галогена, $-CO_2R'$, -CN, -OH, -OR', $-NH_2$, -NHR', $-N(R')_2$, -SR' или $-SO_2R'$, где в каждом случае R' независимо представляет собой C_1-C_3алкил. Согласно вариантам осуществления, циклоаклил является незамещенным. Согласно вариантам осуществления, циклоаклил является замещенным (например, 1, 2, 3, 4, 5 или 6 заместителями, описанными в настоящем документе).

[0676] Используемый в настоящем документе термин «галоген» означает фтор, хлор, бром или йод.

[0677] В контексте настоящего документа «ароматическое соединение», «ароматическая группа» или соединение, содержащее «ароматическое кольцо», представляет собой арильное или гетероарильное соединение. Используемый в настоящем документе термин «арил» включает в себя замещенные и незамещенные однокольцевые ароматические группы, в которых каждый атом кольца представляет собой углерод. Предпочтительно, кольцо представляет собой 3-8-членное кольцо, более предпочтительно 6-членное кольцо. Термин «арил» также включает полициклические кольцевые системы, содержащие два или несколько **циклических колец**, в которых два или несколько атомов углерода являются общими для двух соединенных колец, причем по меньшей мере одно из колец является ароматическим, например, другие **циклические кольца** могут представлять собой циклоалкилы, циклоалкенилы, циклоалкинилы, арилы, гетероарилы и/или гетероциклилы. Арильные группы включают в себя бензол, нафталин, фенантрен, фенол, анилин и т п. Термин «гетероарил» включает в себя замещенные или незамещенные ароматические однокольцевые структуры, предпочтительно 3-8-членные кольца, более предпочтительно 5-7-членные кольца, еще более предпочтительно 5-6-членные кольца, причем кольцевые структуры содержат по меньшей мере один гетероатом, предпочтительно от одного до четырех гетероатомов, более предпочтительно один или два гетероатома. Термин «гетероарил» также включает полициклические кольцевые системы, содержащие два или несколько **циклических колец**, в которых два или несколько атомов

углерода являются общими для двух соединенных колец, причем по меньшей мере одно из колец является гетероароматическим, например, другие **циклические кольца** могут представлять собой циклоалкилы, циклоалкенилы, циклоалкинилы, арилы, гетероарилы и/или гетероциклилы. Гетероарильные группы включают в себя, например, пиррол, фуран, тиофен, индол, имидазол, оксазол, тиазол, пиразол, пиридин, пиразин, пиридазин и пиримидин и т. п. Предпочтительно, определенные соединения согласно настоящему изобретению содержат по меньшей мере одну, предпочтительно две индольные группы, а также по меньшей мере одну альдегидную группу.

[0678] Термин «замещенный» обозначает фрагменты, содержащие по меньшей мере один заместитель, который замещает атом водорода на одном или нескольких атомах углерода каркаса. Следует понимать, что «замещение» или «замещенный» включает в себя безоговорочное условие, что такая замена находится в соответствии с разрешенной валентностью замещенного атома и заместителя, и что замещение приводит к получению стабильного соединения, например, которое не претерпевает спонтанную трансформацию, например, посредством перегруппировки, циклизации, элиминации и т. п. Разрешенными заместителями для соответствующих органических соединений могут являться один или несколько одинаковых или разных заместителей.

[0679] Используемый в настоящем документе термин «гетероцикл» или «гетероциклическая группа» означает моноциклическую, бициклическую или трициклическую кольцевую систему, содержащую по меньшей мере один гетероатом. Гетероатомы включают в себя без ограничения кислород, азот и серу.

[0680] Моноциклическое гетероциклическое кольцо, например, состоит из 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 или 10-членного кольца, содержащего по меньшей мере один гетероатом. Типичные примеры моноциклических гетероциклических колец включают в себя без ограничения азетидинил, азепанил, азиридинил, диазепанил, 1,3-диоксанил, 1,3-диоксоланил, 1,3-дитиоланил, 1,3-дитианил, имидазолинил, имидазолидинил, изотиазолинил, изотиазолидинил, изоксазолинил, изоксазолидинил, морфолинил, оксадиазолинил, оксадиазолидинил, оксазолинил, оксазолидинил, пиперазинил, пиперидинил, пиранил, пиразолинил, пиразолидинил, пирролинил, пирролидинил, тетрагидрофуранил, тетрагидротиенил, тиадиазолинил, тиадиазолидинил, тиазолинил, тиазолидинил, тиоморфолинил, 1,1-диоксидотиоморфолинил (тиоморфолинсульфон), тиопиранил и тритианил.

[0681] В качестве неограничивающего примера, бициклическое гетероциклическое кольцо представляет собой моноциклическое гетероциклическое кольцо, конденсированное с дистальным арильным кольцом, или моноциклическое гетероциклическое кольцо, конденсированное с дистальным циклоалкильным кольцом, или моноциклическое гетероциклическое кольцо, конденсированное с дистальным циклоалкенильным кольцом, или моноциклическое гетероциклическое кольцо, конденсированное с дистальным моноциклическим гетероциклическим кольцом, или моноциклическое гетероциклическое кольцо, конденсированное с дистальным

моноциклическим гетероарильным кольцом. Типичные примеры бициклических гетероциклических колец включают в себя без ограничения 1,3-бензодиоксолил, 1,3-бензодитиолил, 2,3-дигидро-1,4-бензодиоксинил, 2,3-дигидро-1-бензофуранил, 2,3-дигидро-1-бензотиенил, 2,3-дигидро-1H-индолил и 1,2,3,4-тетрагидрохинолинил.

[0682] В качестве неограничивающего примера, трициклическое гетероциклическое кольцо представляет собой бициклическое гетероциклическое кольцо, конденсированное с фенильной группой, или бициклическое гетероциклическое кольцо, конденсированное с циклоалкильной группой, или бициклическое гетероциклическое кольцо, конденсированное с циклоалкенильной группой, или бициклическое гетероциклическое кольцо, конденсированное с другим моноциклическим гетероциклическим кольцом. Типичные примеры трициклических гетероциклических колец включают в себя без ограничения 2,3,4,4a,9,9a-гексагидро-1H-карбазолил, 5a,6,7,8,9,9a-гексагидродибензо[b, d]фуранил и 5a,6,7,8,9,9a-гексагидродибензо[b, d]тиенил.

[0683] Гетероциклы согласно настоящему изобретению могут быть замещены заместителями, в качестве неограничивающего примера независимо выбранными из алкенила, алкокси, алкоксиалкила, алкоксиалкинила, алкоксикарбонила, алкоксикарбонилалкила, алкокси-NH=C(алкил)-, алкила, алкилкарбонила, алкилкарбонилалкила, алкилкарбонилокси, алкилсульфонила, алкилтио, алкинила, арила, арилалкокси, арилалкила, арилкарбонила, арилокси, карбокси, карбоксиалкила, циано, цианоалкила, циклоалкила, карбонила, циклоалкилалкила, формила, галогена, галогеналкила, гидрокси, гидроксиалкила, гидроксициклоалкила, меркапто, нитро, оксо и фенила.

[0684] Используемый в настоящем документе термин «модулирование пигментации кожи» и его грамматические варианты, как правило, относится к эффектам осветления кожи, а также потемнения кожи, соединений и композиций согласно настоящему изобретению.

[0685] Используемый в настоящем документе термин «осветление кожи» и его грамматические варианты как правило, относится к любому объективному или субъективному уменьшению пигментации кожи. Способы осветления кожи применяют для уменьшения пигментации гиперпигментированных участков кожи, являющейся результатом возраста, воздействия солнечных лучей или гиперпигментационного нарушения. Нанесение соединений и композиций согласно настоящему изобретению, например, на кожу субъекта может уменьшать пигментацию, поэтому кожа выглядит более светлой или белой, чем до упомянутого нанесения. Пигментация кожи может быть оценена различными способами, включая без ограничения визуальную оценку с использованием, например, хроматической шкалы фон Лушана, теста фототипирования кожи по Фитцпатрику (Fitzpatrick *et al.*, 1988) и шкалы гиперпигментации Тейлора (Taylor *et al.*, 2005), а также методов спектрофотометрии в отраженном свете (Zonios *et al.*, 2001). Например, тест фототипирования кожи по Фитцпатрику различает шесть типов кожи (I-VI), и, согласно используемому в настоящем документе термину, VI тип кожи, который

становится V типом или меньшим, является «осветленным». Как дополнительно обсуждается ниже, осветление кожи может являться результатом целого ряда процессов, включая без ограничения модулирование активности меланоцитов, индукцию апоптоза меланоцитов или модулирование активности рецептора ароматических углеводородов (AhR), меланогенеза, биогенеза меланосом, переноса меланосом или концентрации меланина.

[0686] По аналогии, используемый в настоящем документе термин «потемнение кожи» и его грамматические варианты как правило, относится к любому объективному или субъективному усилению пигментации кожи. Способы потемнения кожи применяют для усиления пигментации гипопигментированных участков кожи, являющейся результатом гипопигментационного нарушения. Нанесение соединений и композиций согласно настоящему изобретению, например, на кожу субъекта может усиливать пигментацию, поэтому кожа выглядит более темной, чем до упомянутого нанесения.

[0687] Определенные соединения согласно настоящему изобретению продуцируются дрожжами *Malassezia*, выделяются из них, производятся ими, или являются выделяемыми из них. Дрожжи *Malassezia* представляют собой дрожжи рода *Malassezia* и включают в себя без ограничения *Malassezia globosa*, *Malassezia restricta*, *Malassezia furfur*, *Malassezia sympodialis*, *Malassezia slooffiae*, *Malassezia obtusa*, *Malassezia pachydermatis*, *Malassezia dermatis*, *Malassezia japonica*, *Malassezia nana*, *Malassezia yamatoensis*, *Malassezia equine*, *Malassezia caprae* и *Malassezia cuniculi* (Guého, *et al.*, 1996; Gaitanis, *et al.*, 2013). Дрожжи *Malassezia* являются частью нормальной кожной микрофлоры человека и обычно не вызывают патогенных эффектов. Тем не менее, дрожжи *Malassezia* могут являться причиной целого ряда заболеваний, включая без ограничения разноцветный лишай (как форму с гиперпигментацией, так и форму с гипопигментацией), себорейный дерматит, отрубевидное шелушение, атопический дерматит, индуцированный *Malassezia* фолликулит, псориаз и сливающийся папулезный папилломатоз (Gaitanis, *et al.*, 2013).

[0688] Используемый в настоящем документе термин «химический аналог» относится к соединению, которое структурно родственно родительскому соединению и содержит различные функциональные группы или заместители. Например, родительские соединения согласно настоящему изобретению включают в себя малассезин и индирубин, и химические аналоги малассезина и индирубина содержат определенные функциональные группы и заместители, которые отличны от малассезина и индирубина, соответственно. Химические аналоги согласно настоящему изобретению могут обладать существенными преимуществами перед данным родительским соединением, включая фармакокинетический профиль, подходящий для косметического или фармацевтического применения. Согласно некоторым вариантам осуществления, химический аналог получают из родительской молекулы посредством одной или нескольких химических реакций. Согласно другим вариантам осуществления, для получения химических аналогов согласно настоящему изобретению могут быть использованы альтернативные схемы синтеза, которые не ведут свое начало от родительского соединения.

[0689] Соединение согласно настоящему изобретению продуцируется дрожжами *Malassezia*, если в ходе своего жизненного цикла дрожжи *Malassezia* синтезируют, секретируют, накапливают или иным образом производят соединение в соответствующих условиях роста. Дрожжи *Malassezia* секретируют различные соединения в зависимости от того, что добавлено в их ростовую среду (Nazzaro-Porro, *et al.*, 1978). Настоящее изобретение включает в себя любое соединение, продуцируемое дрожжами *Malassezia* в любых условиях роста, но предпочтительные соединения включают в себя, например, малассезин, индирубин и их химические аналоги.

[0690] Соединение согласно настоящему изобретению получают их дрожжей *Malassezia*, если в любой момент времени в течение жизненного цикла дрожжей соединение находится на дрожжах или внутри них.

[0691] Малассезин является одним примером соединения согласно настоящему изобретению, продуцируемого дрожжами *Malassezia*. Малассезин, также известный как 2-(1*H*-индол-3-илметил)-1*H*-индол-3-карбальдегид, представляет собой метаболит триптофана, изначально выделенный из *Malassezia furfur*. Малассезин является известным агонистом рецептора ароматических углеводородов (AhR), связанного с ростом и дифференцировкой клеток и экспрессией генов (Wille et al., 2001). Малассезин также индуцирует апоптоз в первичных меланоцитах человека (Krämer, et al., 2005). Недавно, определенные химические аналоги малассезина были синтезированы Winston-McPherson и коллегами, которые исследовали аналоги на агонистическую активность в отношении AhR (Winston-McPherson, *et al.*, 2014).

[0692] Индирубин является другим примером соединения согласно настоящему изобретению, продуцируемого дрожжами *Malassezia*. Индирубин представляет собой метаболит, выделенный из *Malassezia furfur*. Индирубин является известным агонистом рецептора ароматических углеводородов (AhR), связанного с ростом и дифференцировкой клеток и экспрессией генов.

[0693] Используемый в настоящем документе термин «меланоцит» относится к дендритной клетке эпидермиса, которая в норме синтезирует тирозиназу и пигмент меланин в меланосомах. Меланоциты согласно настоящему изобретению демонстрируют повышенную регуляцию определенных генов, включая без ограничения один или несколько из следующих генов: тирозиназы (окулокутанный альбинизм IA), ассоциированного с микрофтальмией фактора транскрипции, альфа-2-макроглобулина, тирозиназа-зависимого белка 1, семейства 16 переносчиков растворенных веществ, белка GS3955, онкогена v-kit кошачьей саркомы Харди-Цукермана-4, глазного альбинизма 1, белка Rag D, гликогенина 2, сопряженного с G-протеином рецептора семейства C, окулокутанного альбинизма II, делетированного при раке пищевода 1, мелан-A, SRY-box 10, АТФазы класса V типа 10C, матриксной металлопротеиназы 1, латентного трансформирующего фактора роста бета b, АТФ-связывающей кассеты подсемейства C, гидроксипростагландин-дегидрогеназы 15, представителя 1 трансмембранного суперсемейства 7, глутаминилпептидциклотрансферазы и других генов, выявленных Lee и

коллегами (Lee, et al., 2013).

[0694] Меланоциты, подобно многим другим типам клеток, претерпевают запрограммированную гибель клеток или апоптоз. Пути апоптоза меланоцитов известны специалистам в данной области (Wang, *et al.*, 2014) и были в общем рассмотрены Elmore (Elmore, 2007). Соединение или композиция согласно настоящему изобретению «индуцирует» апоптоз меланоцитов, например, посредством активации определенных проапоптотических путей передачи сигналов или посредством подавления определенных антиапоптотических путей передачи сигналов в меланоците. Предполагается, что соединения и композиции согласно настоящему изобретению могут самостоятельно активировать/подавлять связанный с апоптозом путь передачи сигналов путем непосредственного взаимодействия с сигнальной молекулой пути передачи сигналов или путем опосредованного взаимодействия с молекулой через непосредственное взаимодействие с одной или несколькими промежуточными молекулами, которые обычно не принимают участия в функционировании пути передачи сигналов.

[0695] Активность меланоцитов можно модулировать целым рядом способов, предусмотренных настоящим изобретением, включая без ограничения индукцию апоптоза меланоцитов или изменение экспрессии генов меланоцитов, подвижности клеток, роста клеток, продукции меланина, биогенеза меланосом или переноса меланосом.

[0696] Используемые в настоящем документе термины «модулировать», «модулирование» и их грамматические варианты относятся к корректировке биологической активности или процесса до целевого уровня. Предполагается, что «модулирование» согласно настоящему изобретению включает в себя корректировки, которые повышают или снижают уровни биологической активности или процесса.

[0697] Используемые в настоящем документе термины «агонист», «агонистическое действие» и их грамматические варианты относятся к молекуле, которая запускает (например, инициирует или промотирует), частично или полностью усиливает, стимулирует или активирует один или несколько видов биологической активности. Агонисты согласно настоящему изобретению могут взаимодействовать с рецептором или активировать его, инициируя тем самым физиологический или фармакологический ответ, характерный для данного рецептора. Агонисты согласно настоящему изобретению включают в себя вещества природного происхождения, а также синтетические вещества.

[0698] Используемые в настоящем документе термины «антагонист», «антагонистическое действие» и их грамматические варианты относятся к молекуле, которая частично или полностью подавляет, ингибирует или дезактивирует один или несколько видов биологической активности. Антагонисты согласно настоящему изобретению могут конкурентно связываться рецептором по тому же участку, что и агонист, но не активируют внутриклеточный ответ, инициированный активной формой рецептора. Антагонисты согласно настоящему изобретению могут ингибировать внутриклеточные ответы на действие агониста или частичного агониста.

[0699] Рецептор ароматических углеводородов (AhR) согласно настоящему

изобретению представляет собой любой рецептор ароматических углеводородов, который существует в природе у субъекта, описанного в настоящем документе. Рецепторы ароматических углеводородов известны специалистам в данной области (Noakes, 2015). Агонисты рецепторов ароматических углеводородов включают в себя без ограничения родственные триптофану соединения, такие как кинуренин, кинуреновая кислота, циннабариновая кислота и 6-формилиндоло[3,2-b]карбазол (FICZ). Малассезин также известен в качестве агониста рецептора ароматических углеводородов (Wille, *et al.*, 2001).

[0700] В контексте настоящего документа соединения, композиции и способы согласно настоящему изобретению могут быть использованы для уменьшения гиперпигментации, вызванной гиперпигментационным нарушением, например, путем уменьшения уровня гиперпигментации в пораженных гиперпигментационным нарушением областях, замедления дальнейшей гиперпигментации или предупреждения возникновения дальнейшей гиперпигментации. Однако, поскольку каждый субъект может не отвечать на конкретный протокол, схему или способ введения дозы, для уменьшения гиперпигментации, вызванной гиперпигментационным нарушением, не требуется, чтобы желаемый физиологический ответ или результат был достигнут у каждого без исключения субъекта или в совокупности субъектов. Соответственно, у данного субъекта или совокупности субъектов ответ может не наблюдаться или не соответствовать вводимой дозе, но у других субъектов или совокупностей субъектов может наблюдаться ответ, а значит продемонстрировано улучшение их гиперпигментационного нарушения.

[0701] Используемый в настоящем документе термин «гиперпигментация» представляет собой объективное или субъективное ухудшение состояния кожи с избыточным ее потемнением. Ухудшение состояния кожи может быть объективным, например, связанным с возрастом, избыточным воздействием солнечных лучей или заболеванием или патологическим состоянием, приводящим к появлению темных участков кожи. Темные участки кожи могут иметь форму пятен, сыпи или относительно крупных участков темного цвета. Ухудшение состояния кожи также может быть субъективным, например, основанном на мнении индивида, что тон его/ее кожи является слишком темным. Индивид может иметь желание осветлить тон кожи в косметических целях.

[0702] Гиперпигментационные нарушения представляют собой нарушения, при которых гиперпигментация является первичным симптомом, а также нарушения, при которых гиперпигментация возникает в качестве вторичного симптома. Гиперпигментационные нарушения согласно настоящему изобретению включают в себя без ограничения врожденные гиперпигментационные нарушения и приобретенные гиперпигментационные нарушения. Врожденные гиперпигментационные нарушения согласно настоящему изобретению включают в себя без ограничения нарушения с эпидермальной гиперпигментацией (невоцитарный невус, невус Шпиц и пятнистый невус), дермальной гиперпигментацией (синий невус, невус Оты, дермальный меланоз, невус Ито и монгольские пятна), веснушки, ретикулярную акропигментацию, Spitzenpigment/акропигментацию и лентигиноз (генерализованный лентигиноз, синдром

LEOPARD, наследственный узорчатый лентигиноз, синдром Карни, синдром Пейтца-Егерса, синдром Ложье-Хунцикера-Баран и синдром Кронкхайта-Канада) (Yamaguchi, *et al.*, 2014). Приобретенные гиперпигментационные нарушения согласно настоящему изобретению включают в себя без ограничения старческие лентигинозы/лентиго, мелазму/хлоазму, меланоз Риля, лабиальные меланотические пятна, пенильный/вульвовагинальный меланоз, фолликулярный эритромеланоз лица и шеи (Китамуры), УФ-индуцированную пигментацию (загар и пигментация *Petaloides actinica*), поствоспалительную пигментацию (фрикционный меланоз и пепельный дерматоз), пигментацию, индуцированную химическими соединениями/лекарствами (полихлорбифенилом, мышьяком, 5-FU, блеомицином, циклофосфамидом, метотрексатом, хлорпромазином, фенитоином, тетрациклином и хлорохином), пигментарные разграничительные линии и отложения чужеродных материалов (таких как каротин, серебро, золото, ртуть, висмут и татуировки). Гиперпигментация, связанная с системными нарушениями, включает в себя нарушения метаболизма/функции ферментов (гемохроматоз, болезнь Вильсона, болезнь Гоше, болезнь Ниманна-Пика, амилоидоз, охроноз, акантокератодермию и позднюю порфирию кожи), эндокринные нарушения (болезнь Аддисона, синдром Кушинга и гипертиреоз), нарушения питания (пеллагру, дефицит витамина B12, дефицит фолиевой кислоты, болезнь бродяг и пигментарную почесуху), мастоцитоз, коллагенозы, печеночную недостаточность и почечную недостаточность. Гиперпигментация также может быть связана с инфекционными заболеваниями (корь, сифилис и вызванная *Malassezia* перхоть) и синдромами (болезнь Реклингхаузена, синдром Сотоса, синдром POEMS, синдром Негели, синдром Канту, синдром МакКьюна-Олбрайта, синдром Ватсона и синдром Блума) (Yamaguchi, *et al.*, 2014).

[0703] Меланин представляет собой продуцируемый в естественных условиях пигмент, который придает цвет коже и волосам. Схематическое изображение кожи представлено на Фиг. 1A. Меланин продуцируется меланоцитами в органеллах, известных как меланосомы. Соединение или композиция согласно настоящему изобретению модулирует продукцию меланина (также известную как меланогенез) у субъекта, например, путем модулирования биогенеза меланосом и прямого или опосредованного ингибирования синтеза меланина на уровне ферментов.

[0704] Биогенез меланосом происходит в четыре стадии: Стадия I характеризуется наличием премеланосомами, которые представляют собой по существу непигментированные вакуоли. На стадии II у премеланосом появляется исчерченность, на которой на стадии III откладывается меланин. Стадия IV приводит к зрелым меланосомам с высоким содержанием меланина. Соединения или композиции согласно настоящему изобретению модулируют биогенез меланосом путем ингибирования или ослабления биологических процессов, которые в норме частично или полностью стимулируют указанные стадии (Wasmeier, *et al.*, 2008).

[0705] В синтезе меланина участвуют, главным образом, три фермента: тирозиназа, тирозиназа-зависимый белок 1 и дофахромтаутомераза. Дополнительные факторы, которые

влияют на внутриклеточную миграцию указанных ферментов, включают в себя без ограничения BLOC-1, OA1 и SLC45A2. Соединения или композиции согласно настоящему изобретению могут модулировать продукцию меланина, например, путем ингибирования или ослабления активности любого из указанных ферментов или факторов (Yamaguchi, *et al.*, 2014).

[0706] После формирования меланосом и синтеза меланина, меланосомы должны переноситься из эпидермальных меланоцитов в кератиноциты кожи и волос. Меланосомы возникают вблизи ядра меланоцитов и переносятся к периферии меланоцитов вдоль микротрубочек и актиновых филаментов. Соединения или композиции согласно настоящему изобретению модулируют перенос меланосом, препятствуя любому из биологических процессов, которые приводят к переносу меланосом из перинуклеарной области к периферии меланоцита и в прилегающие кератиноциты. Схематическое изображение синтеза меланина, транспорта меланина и апоптоза меланоцитов представлено на Фиг. 1B.

[0707] Концентрация меланина может модулироваться, например, путем усиления или ослабления меланогенеза, или путем промотирования деградации меланина у субъекта или выведения меланина из организма субъекта.

[0708] Соединение согласно настоящему изобретению, выделенное из дрожжей *Malassezia*, в обязательном порядке присутствует до выделения в дрожжах *Malassezia* или продуцируется дрожжами *Malassezia*. Поэтому, выделенное из дрожжей *Malassezia* соединение выделяют из активных дрожжевых клеток. Стандартные методики экстрагирования соединений из клеточного материала известны специалистам в данной области.

[0709] Соединение, возможное к выделению из дрожжей *Malassezia*, не требует выделения из активных дрожжевых клеток. Вместо этого, для получения продуцируемых дрожжами соединений без использования активных дрожжевых клеток могут быть использованы реакции синтеза. Реакции органического синтеза хорошо известны специалистам в данной области и могут быть использованы с этой целью.

[0710] Используемый в настоящем документе термин «эпидермальный меланин» относится к меланину, который продуцируется в эпидермисе, транспортируется в него или иным образом обнаруживается в нем.

[0711] Используемый в настоящем документе термин «снижать» и его грамматические варианты означает осуществление снижения уровня данного биологического процесса или соединения. Например, соединения и композиции согласно настоящему изобретению снижают эпидермальный меланин у субъекта, что означает, что соединения и композиции согласно настоящему изобретению индуцируют снижение уровня эпидермального меланина у субъекта. Термин «снижать» и его грамматические варианты может означать, например, снижение уровня данного биологического процесса или соединения по меньшей мере на 5%, 10%, 25%, 50%, 75% или 100%.

[0712] Используемый в настоящем документе термин «приведение в контакт» и его

грамматические варианты относятся к приведению двух или более веществ в непосредственную близость, достаточную того, чтобы они могли взаимодействовать. Таким образом, исключительно в иллюстративных целях, соединение согласно настоящему изобретению может вступать в контакт с меланоцитом, например, путем взаимодействия с рецептором на поверхности меланоцита. По аналогии, композиция согласно настоящему изобретению может вступать в контакт с меланоцитом, например, при непосредственном нанесении на кожу субъекта.

[0713] Используемый в настоящем документе термин «субъект» обозначает клетку, ткань, организм млекопитающего или их совокупности. Субъекты согласно настоящему изобретению предпочтительно представляют собой человека, включая клетки, ткани человека и собственно человека, но в других случаях включают в себя приматов, сельскохозяйственных животных, домашних животных, лабораторных животных и т. п. Некоторые примеры сельскохозяйственных животных включают коров, свиней, лошадей, коз и т. п. Некоторые примеры домашних животных включают собак, кошек и т. п. Некоторые примеры лабораторных животных включают приматов, крыс, мышей, кроликов, морских свинок и т. п.

[0714] Используемый в настоящем документе термин «нуждающийся» в уменьшении гиперпигментации, вызванной гиперпигментационным нарушением, включает в себя субъектов с объективной или субъективной необходимость в снижении.

[0715] Используемые в настоящем документе термины «лечить», «осуществление лечения» или «лечение» и их грамматические варианты означает подвергнуть отдельного субъекта действию протокола, схемы, процесса лечения или лекарственного средства, при котором у данного субъекта, например, у пациента, желательно получить физиологический ответ или результат. В частности, способы и композиции согласно настоящему изобретению могут быть использованы для замедления развития симптомов заболевания или отсрочивания возникновения заболевания или состояния, или для прекращения прогрессирования заболевания. Однако, поскольку не каждый подвергнутый лечению субъект может отвечать на конкретный протокол, схему, процесс лечения или лекарственное средство, проведение лечения не требует того, чтобы целевой физиологический ответ или результат достигался у каждого без исключения субъекта или совокупности субъектов, например, совокупности пациентов. Соответственно, данный субъект или совокупность субъектов, например, совокупность пациентов, могут не отвечать или ненадлежащим образом отвечать на лечение.

[0716] Используемые в настоящем документе термины «предупреждать», «предотвращение», «предупреждение» и их грамматические варианты означают, что соединения согласно настоящему изобретению применимы при введении пациенту, у которого не было продиагностировано предположительное наличие нарушения или заболевания в момент введения, но у которого, как правило, предполагается появление нарушения или заболевания, или у которого повышен риск возникновения нарушения или заболевания. Соединения и композиции согласно настоящему изобретению, например,

замедляют развитие симптомов нарушения или заболевания, отсрочивают начало нарушения или заболевания, или вовсе предупреждают развитие нарушения или заболевания у индивидуума. Предупреждение также включает в себя введение соединений согласно настоящему изобретению тем индивидуумам, которые считаются предрасположенными к развитию нарушения или заболевания по причине возраста, анамнеза, генетических или хромосомных аномалий, и/или по причине присутствия одного или нескольких биологических маркеров нарушения или заболевания.

[0717] Используемый в настоящем документе термин «промотировать» и его грамматические варианты означает предоставлять возможность, усиливать, позволять, способствовать, поддерживать, содействовать, индуцировать или иным образом помогать в достижении успеха.

[0718] Используемый в настоящем документе термин «вызывать» и его грамматические варианты означает являться причиной случайного возникновения, появления или возникновения конкретного результата. В качестве неограничивающего примера, соединения и композиции согласно настоящему изобретению вызывают у субъекта фотозащитный или УФ-защитный эффект.

[0719] Используемый в настоящем документе термин «эритема» относится к покраснению кожи. Эритема может быть вызвана расширением и/или раздражением поверхностных капилляров. Термин «УФ-индуцированная эритема» относится к покраснению кожи, которое развивается в результате УФ-воздействия. Используемый в настоящем документе термин «солнечный ожог» и его грамматические варианты относится к УФ-индуцированной эритеме, вызванной воздействием солнечного света или источников искусственного УФ (например, соляриев).

[0720] Используемый в настоящем документе термин «гиперпигментация», как правило, относится к участку кожи, в котором пигментация выше, чем в прилегающей коже (например, пигментное пятно, возрастное пятно, родимое пятно, и т. п.). Гиперпигментация согласно настоящему изобретению включает в себя без ограничения местную гиперпигментацию за счет гиперактивности меланоцитов, другую локализованную гиперпигментацию за счет доброкачественной гиперактивности и пролиферации меланоцитов, вызванную заболеванием гиперпигментацию и случайную гиперпигментацию, такую как гиперпигментацию вследствие фотосенсибилизации, набора генов, попадания внутрь химического вещества или другого воздействия (например, УФ-воздействия), возраста и рубцевания после повреждения. Используемый в настоящем документе термин «УФ-индуцированная гиперпигментация» относится к любой гиперпигментации, вызванной воздействием естественного или искусственного УФ.

[0721] Используемый в настоящем документе термин «гипопигментация», как правило, относится к участку кожи, в котором пигментация ниже, чем в прилегающей коже. Гипопигментация согласно настоящему изобретению включает в себя без ограничения витилиго, депигментацию, белый атрофический питириаз, фокальную гипопигментацию, поствоспалительную гипопигментацию, пегую кожу, альбинизм, разноцветный лишай,

фоточувствительность, лейцизм, гипомеланоз, атопический дерматит, псориаз, и т. п.

[0722] Используемый в настоящем документе термин «УФ-индуцированное повреждение кожи» означает повреждение кожи в результате воздействия УФ, включая УФ-А, УФ-В и UVC. УФ-индуцированное повреждение кожи согласно настоящему изобретению включает в себя без ограничения морщины, гиперпигментацию, дисплазии, актинический кератоз и злокачественные опухоли кожи.

[0723] Используемый в настоящем документе термин «УФ-индуцированное старение кожи» означает старение кожи в результате воздействия УФ, включая УФ-А, УФ-В и UVC. УФ-индуцированное старение кожи согласно настоящему изобретению проявляет себя, например, в виде морщин, мелких и тонких морщин, возрастных пятен, родимых пятен, сухости, истончения или снижения эластичности кожи, неровного тона кожи и других изменений блеска, структуры, упругости, плотности, степени дряблости и яркости кожи, вызванных, полностью или частично, УФ-воздействием.

[0724] При использовании для описания эффектов соединений и композиций согласно настоящему изобретению, используемый в настоящем документе термин «фотозащитный» и его грамматические варианты означает, что описанные в настоящем документе соединения и композиции предупреждают и/или смягчают повреждение, вызванное светом, в частности солнечным светом. По аналогии, «фотозащитные средства» согласно настоящему изобретению представляют собой такие описанные в настоящем документе соединения и композиции, которые предупреждают и/или смягчают повреждение, вызванное светом, в частности солнечным светом.

[0725] При использовании для описания эффектов соединений и композиций согласно настоящему изобретению, используемый в настоящем документе термин «УФ-защитный» и его грамматические варианты означает, что описанные в настоящем документе соединения и композиции предупреждают и/или смягчают повреждение, вызванное ультрафиолетовым («УФ») светом. По аналогии, «УФ-защитные средства» согласно настоящему изобретению представляют собой такие описанные в настоящем документе соединения и композиции, которые предупреждают и/или смягчают повреждение, вызванное УФ. Ультрафиолетовый свет согласно настоящему изобретению включает в себя, например, УФ-А (320-240 нм), УФ-В (290-320 нм) и УФ-С (200-290 нм).

[0726] Используемый в настоящем документе термин «фильтр» и его грамматические варианты означают блокирование, отражение, поглощение или рассеяние УФ. «Солнцезащитные средства» согласно настоящему изобретению включают в себя все соединения и композиции согласно настоящему изобретению, которые блокируют, отражают, поглощают или рассеивают УФ.

[0727] Используемый в настоящем документе термин «поглощать» и его грамматические варианты означает поглощение энергии УФ или преобразование энергии УФ в тепловую энергию. В качестве неограничивающего примера, соединения и композиции согласно настоящему изобретению могут поглощать УФ и в результате излучать тепловую энергию в окружающее их пространство.

[0728] При использовании в контексте УФ, используемый в настоящем документе термин «отражать» и его грамматические варианты означает возврат или отражение УФ назад без его поглощения.

[0729] Используемый в настоящем документе термин «композиция» обозначает вещество, содержащее одно или несколько соединений согласно настоящему изобретению, а также любое вещество, которое является результатом прямого или опосредованного комбинирования одного или нескольких соединений согласно настоящему изобретению с другими ингредиентами. Композиции согласно настоящему изобретению могут быть использованы, например, в качестве реагентов для исследований *in vitro* или *in vivo*. Композиции согласно настоящему изобретению также можно наносить непосредственно на кожу субъекта-человека или отличного от человека субъекта для получения косметического или фармацевтического эффекта. Кроме того, композиции согласно настоящему изобретению содержат одно или несколько соединений, перечисленных в Таблице 5 или на Фиг. 130, или их химический аналог, кристаллическую форму, гидрат или фармацевтически или косметически приемлемую соль.

[0730] Композиция согласно настоящему изобретению может быть введена любым необходимым и эффективным способом для применений *in vitro* и *in vivo*: для перорального приема внутрь или для парентерального или другого введения любым подходящим способом, таким как внутрибрюшинный, подкожный, местный, внутрикожный, ингаляционный, внутрилегочный, ректальный, вагинальный, подъязычный, внутримышечный, внутривенный, внутриартериальный, интратекальный или внутрилимфатический. Кроме того, композиция согласно настоящему изобретению может быть введена вместе с другими композициями. При необходимости, композиции согласно настоящему изобретению могут быть заключены в капсулы или иным образом защищены от действия желудочного сока или других секретов.

[0731] Композиции согласно изобретению содержат один или несколько активных ингредиентов в смеси с одним или несколькими косметически или фармацевтически приемлемыми носителями и, необязательно, с одним или несколькими другими соединениями, ингредиентами и/или веществами. Вне зависимости от выбранного пути введения, соединения и композиции согласно настоящему изобретению приготавливают в виде косметически или фармацевтически приемлемых дозированных форм традиционными способами, известными специалистам в данной области.

[0732] Косметически или фармацевтически приемлемые несущие среды, разбавители и носители хорошо известны в данной области и включают в себя вещества, подходящие для контакта с тканями людей и отличных от людей субъектов без проявления чрезмерной токсичности, несовместимости, нестабильности, раздражения, аллергической реакции и т. п. Косметически или фармацевтически приемлемые несущие среды, разбавители и носители включают в себя любое нетоксичное вещество, традиционно используемое, например, для местного, перорального, брюшинного или подкожного введения косметических или фармацевтических средств, в котором соединения и

композиции согласно настоящему изобретению останутся стабильными и биодоступными при применении, приеме внутрь, инъекционном введении или ином введении субъекту-человеку или отличному от человека субъекту. Косметически или фармацевтически приемлемые носители, подходящие для местного применения, известны специалистам в данной области и включают в себя косметически или фармацевтически приемлемые жидкости, кремы, масла, лосьоны, мази, гели или твердые вещества, такие как традиционные косметические ночные кремы, кремы-основы, лосьоны для загара, солнцезащитные средства, лосьоны для рук, макияж и основы под макияж, маски и т. п. Носители, подходящие для выбранной дозированной формы и предполагаемого пути введения, хорошо известны в данной области, и приемлемые для выбранной дозированной формы и способа введения носители могут быть легко определены специалистом в данной области.

[0733] Композиции согласно настоящему изобретению могут содержать другие ингредиенты, традиционные в косметологии, включая отдушки, эстроген, витамины A, C и E, альфа-гидрокси- и альфа-кетокислоты, такие как пировиноградная, молочная или гликолевая кислоты, ланолин, вазелин, алоэ вера, метил- или пропилпарабен, пигменты и т. п. Неограничивающие косметически или фармацевтически приемлемые несущие среды, разбавители и носители согласно настоящему изобретению включают в себя сахара (например, лактозу, сахарозу, маннит и сорбит), крахмалы, препараты целлюлозы, фосфаты кальция (например, дикальций фосфат, трикальций фосфат и вторичный кислый фосфат кальция), цитрат натрия, воду, водные растворы (например, солевой раствор, инъекционный раствор хлорида натрия, инъекционный раствор Рингера, инъекционный раствор декстрозы, инъекционный раствор декстрозы и хлорида натрия, инъекционный раствор Рингера с добавлением лактата), спирты (например, этиловый спирт, пропиловый спирт и бензиловый спирт), полиолы (например, глицерин, пропиленгликоль и полиэтиленгликоль), органические сложные эфиры (например, этилолеат и триглицериды), биоразлагаемые полимеры (например, полилактид-полигликолид, сложные поли(ортоэфиры) и поли(ангидриды)), эластомерные матрицы, липосомы, микросферы, масла (например, кукурузное, зародышей пшеницы, оливковое, касторовое, кунжутное, хлопковое и арахисовое), масло какао, воски (например, воски для суппозиториев), парафины, силикон, тальк, салицилат, и т. п.

[0734] Композиции согласно изобретению могут необязательно содержать дополнительные ингредиенты и/или вещества, обычно используемые в косметических композициях. Такие ингредиенты и вещества хорошо известны в данной области и включают в себя, например, ((1) наполнители или сухие разбавители, такие как крахмалы, лактоза, сахароза, глюкоза, маннит и кремниевая кислота; (2) связующие вещества, такие как карбоксиметилцеллюлоза, альгинаты, желатин, поливинилпирролидон, гидроксипропилметилцеллюлоза, сахароза и аравийская камедь; (3) увлажнители, такие как глицерин; (4) разрыхлители, такие как агар-агар, карбонат кальция, картофельный или тапиоковый крахмал, альгиновая кислота, определенные силикаты, натрия

крахмалгликолят, перекрестно-сшитая карбоксиметилцеллюлоза натрия и карбонат натрия; (5) замедлители растворения, такие как парафин; (6) ускорители всасывания, такие как соединения четвертичного аммония; (7) смачивающие агенты, такие как цетиловый спирт и глицерина моностеарат; (8) абсорбенты, такие как каолин и бентонитовая глина; (9) лубриканты, такие как тальк, стеарат кальция, стеарат магния, твердые полиэтиленгликоли и лаурилсульфат натрия; (10) суспендирующие агенты, такие как этоксилированные изостеариловые спирты, полиоксиэтиленсорбит и сложные эфиры сорбитана, микрокристаллическая целлюлоза, метагидроксид алюминия, бентонит, агар-агар и трагакант; (11) буферные агенты; (12) наполнители, такие как лактоза, молочные сахара, полиэтиленгликоли, животные и растительные жиры, масла, воски, парафины, масло какао, крахмалы, трагакант, производные целлюлозы, полиэтиленгликоль, силиконы, бентониты, кремниевая кислота, тальк, салицилат, оксид цинка, гидроксид алюминия, силикаты кальция и полиамидный порошок; (13) инертные разбавители, такие как вода или другие растворители; (14) консерванты; (15) поверхностно-активные агенты; (16) диспергирующие агенты; (17) агенты, регулирующие высвобождение или замедляющие всасывание, такие как гидроксипропилметилцеллюлоза, другие полимерные матрицы, биоразлагаемые полимеры, липосомы, микросферы, моностеарат алюминия, желатин и воски; (18) замутнители; (19) адъюванты; (20) смачивающие агенты; (21) эмульгирующие и суспендирующие агенты; (22), солюбилизирующие агенты и эмульсификаторы, такие как этиловый спирт, изопропиловый спирт, этилкарбонат, этилацетат, бензиловый спирт, бензилбензоат, пропиленгликоль, 1,3-бутиленгликоль, масла (в частности, хлопковое, арахисовое, кукурузное, масло зародышей пшеницы, оливковое, касторовое и кунжутное масла), глицерин, тетрагидрофуриловый спирт, полиэтиленгликоли и сложные эфиры жирных кислот сорбитана; (23) пропелленты, такие как хлорфторуглеводороды и летучие незамещенные углеводороды, такие как бутан и пропан; (24) антиоксиданты; (25) агенты, наделяющие состав изотоничностью по отношению к крови предполагаемого реципиента, такие как сахара и хлорид натрия; (26) загустители; (27) материалы для покрытия, такие как лецитин; и (28) подсластители, ароматизаторы, красители, отдушки и консерванты. Каждый такой ингредиент или вещество должны быть «приемлемым» в точки зрения совместимости с другими ингредиентами состава и не являться опасными для субъекта. Ингредиенты и вещества, подходящие для выбранной дозированной формы и предполагаемого пути введения, хорошо известны в данной области, и приемлемые для выбранной дозированной формы и способа введения ингредиенты и вещества могут быть легко определены специалистом в данной области.

[0735] Композиции согласно настоящему изобретению, подходящие для перорального введения, могут находиться в форме капсул, саше, пилюль, таблеток, порошков, гранул, раствора или суспензии в водной или неводной жидкости, эмульсии типа «масло в воде» или «вода в масле», эликсира или сиропа, пастилки, болюса, электуария или пасты. Указанные составы могут быть приготовлены известными в данной области способами, например, посредством традиционных процессов дражирования, смешивания,

гранулирования или лиофилизации.

[0736] Твердые дозированные формы для перорального введения (капсулы, таблетки, пилюли, драже, порошки, гранулы и т. п.) могут быть приготовлены, например, путем смешивания активного(ых) ингредиента(ов) с одним или несколькими косметически или фармацевтически активными носителями и необязательно с одним или несколькими наполнителями, сухими разбавителями, связующими веществами, увлажнителями, разрыхлителями, агентами, замедлителями растворения, ускорителями всасывания, смачивающими агентами, абсорбентами, лубрикантами и/или красителями. Твердые композиции аналогичного типа можно применять в качестве наполнителей в мягких и твердых наполненных желатиновых капсулах с использованием подходящего наполнителя. Таблетки могут быть получены путем прессования или формования, необязательно с одним или несколькими вспомогательными ингредиентами. Прессованные таблетки могут быть приготовлены с использованием подходящего связующего вещества, лубриканта, инертного разбавителя, консерванта, разрыхлителя, поверхностно-активного или диспергирующего агента. Формованные таблетки могут быть получено путем формования на подходящей машине. Таблетки и другие твердые дозированные формы, такие как капсулы, пилюли и гранулы, могут быть необязательно снабжены насечкой или быть приготовлены с нанесением покрытий и оболочек, таких как кишечнорастворимые покрытия и другие покрытия, хорошо известные в области изготовления косметики. Они также могут быть приготовлены так, чтобы обеспечить замедленное или регулируемое высвобождение содержащегося в них активного ингредиента. Они могут быть простерилизованы, например, посредством фильтрования через удерживающий бактерии фильтр. Указанные композиции также могут необязательно содержать замутнители и могут представлять собой такую композицию, из которой активный ингредиент высвобождается исключительно или предпочтительно в определенной части желудочно-кишечного тракта, необязательно замедленным образом. Активный ингредиент также может находиться в микроинкапсулированной форме.

[0737] Жидкие дозированные формы для перорального введения включают в себя косметически или фармацевтически приемлемые эмульсии, микроэмульсии, растворы, суспензии, сиропы и эликсиры. Жидкие дозированные формы могут содержать подходящие инертные разбавители, обычно используемые в данной области. Помимо инертных разбавителей, пероральные композиции также могут содержать адъюванты, такие как смачивающие агенты, эмульгирующие и суспендирующие агенты, подсластители, ароматизаторы, красители, отдушки и консерванты. Суспензии могут содержать суспендирующие агенты.

[0738] Композиции согласно настоящему изобретению для ректального или вагинального введения могут быть представлены в виде суппозитория, который может быть приготовлен путем смешивания одного или нескольких активных ингредиентов с одним или несколькими подходящими не вызывающими раздражения носителями, которые являются твердыми при комнатной температуре, но жидкими при температуре тела, а

потому будут размягчаться в ректальной или вагинальной полости с высвобождением активного соединения. Композиции согласно настоящему изобретению, которые подходят для вагинального введения, также включают в себя лекарственные формы в виде пессариев, тампонов, кремов, гелей, паст, пен или спрея, содержащие такие косметически или фармацевтически приемлемые носители, которые являются подходящими и известными из уровня техники.

[0739] Дозированные формы для местного или трансдермального введения включают в себя порошки, спреи, мази, пасты, кремы, лосьоны, гели, растворы, пластыри, капли, эмульсии, суспензии, аэрозоли и летучие препараты. В состав могут быть добавлены любые традиционные несущие среды, вспомогательные вещества и необязательно дополнительные активные ингредиенты.

[0740] Предпочтительные вспомогательные вещества относятся к группе, включающей в себя консерванты, антиоксиданты, стабилизаторы, солюбилизаторы, витамины, красители, ароматизаторы, пленкообразователи, загустители и увлажнители.

[0741] Растворы и эмульсии могут содержать традиционные несущие среды, такие как растворители, солюбилизаторы и эмульгаторы, например, воду, этанол, изопропанол, этилкарбонат, этилацетат, бензиловый спирт, бензилбензоат, пропиленгликоль, 1,3-бутилгликоль, масла, в частности, хлопковое масло, арахисовое масло, кукурузное масло, оливковое масло, касторовое масло и кунжутное масло, сложные эфиры жирных кислот и глицерина, полиэтиленгликоли и сложные эфиры жирных кислот и сорбитана, или смеси указанных веществ.

[0742] Эмульсии могут существовать в различных формах. Так, они могут представлять собой, например, эмульсию или микроэмульсию типа «вода в масле» (В/М) или типа «масло в воде» (М/В), или множественную эмульсию, например, типа «вода в масле в воде» (В/М/В).

[0743] Композиции в соответствии с изобретением также могут находиться в форме не содержащих эмульгатора диспергированных препаратов. Они могут представлять собой, например, гидродисперсии или эмульсии Пикеринга.

[0744] Суспензии могут содержать традиционные несущие среды, такие как жидкие разбавители, например, воду, этанол или пропиленгликоль, суспензионные среды, например, этоксилированные изостеариловые спирты, полиоксиэтиленовые сложные эфиры сорбита и полиоксиэтиленовые сложные эфиры сорбитана, микрокристаллическую целлюлозу, метагидроксид алюминия, бентонит, агар-агар и трагакант, или смеси указанных веществ.

[0745] Пасты, мази, гели и кремы могут содержать традиционные несущие среды, например, животные и растительные жиры, воски, парафины, крахмал, трагакант, производные целлюлозы, полиэтиленгликоли, силиконы, бентониты, кремниевую кислоту, тальк и оксид цинка, или смеси указанных веществ.

[0746] Масла для лица и тела могут содержать традиционные несущие среды, такие как синтетические масла, такие как сложные эфиры жирных кислот, жирные спирты,

силиконовые масла, природные масла, такие как растительные масла и жирные растительные экстракты, парафиновые масла, ланолиновые масла, или смеси указанных веществ.

[0747] Спреи могут содержать традиционные пропелленты, например, хлорфторуглероды, пропан/бутан или диметиловый эфир.

[0748] Композиции согласно настоящему изобретению, подходящие для парентерального введения, содержат одно или несколько соединений в комбинации с одним или несколькими косметически или фармацевтически приемлемыми стерильными изотоническими водными или неводными растворами, дисперсиями, суспензиями или эмульсиями, или стерильными порошками, которые перед применением могут быть восстановлены до стерильных инъецируемых растворов или дисперсий, которые могут содержать подходящие антиоксиданты, буферы, растворенные вещества, которые наделяют состав изотоничностью по отношению к крови предполагаемого реципиента, или суспендирующие или загущающие агенты. Надлежащую текучесть может поддерживаться, например, путем использования веществ для покрытия, путем поддержания требуемого размера частиц в случае дисперсий и путем использования поверхностно-активных веществ. Такие композиции также могут содержать подходящие адъюванты, такие как смачивающие агенты, эмульгирующие агенты и диспергирующие агенты. Также может быть желательным включение изотонических агентов. Кроме того, пролонгированное всасывание инъецируемой косметической формы может обеспечиваться включением в состав агентов, которые замедляют всасывание.

[0749] В некоторых случаях, для пролонгирования эффекта желательно замедлить всасывание подкожной или внутримышечной инъекции. Это может быть осуществлено путем использования жидкой суспензии кристаллического или аморфного вещества, обладающего плохой растворимостью в воде.

[0750] Скорость всасывания активного агента/лекарства будет тогда зависеть от скорости его растворения, которая, в свою очередь, может зависеть от размера кристаллов и кристаллической формы. В качестве альтернативы, замедленное всасывание парентерально вводимой композиции может быть обеспечено посредством растворения или суспендирования активной композиции в масляной основе. Инъецируемые депо-формы могут быть получены путем формирования микроинкапсулированных матриц активного ингредиента в биоразлагаемых полимерах. В зависимости от соотношения между активным ингредиентом и полимером и природы конкретного используемого полимера, можно регулировать скорость высвобождения активного ингредиента. Инъецируемые депо-составы также приготавливают путем заключения лекарства внутрь липосом или микроэмульсий, которые совместимы с тканью организма. Инъецируемые вещества могут быть простерилизованы, например, путем фильтрования через удерживающий бактерии фильтр.

[0751] Композиции согласно настоящему изобретению могут быть представлены в однодозовых или многодозовых герметичных контейнерах, например, в ампулах и

флаконах, и могут храниться в лиофилизированном состоянии, требующем лишь добавления стерильного жидкого носителя, например, воды для инъекций, непосредственно перед применением. Инъецируемые растворы и суспензии для немедленного приема могут быть приготовлены из стерильных порошков, гранул и таблеток описанного выше типа.

[0752] Используемый в настоящем изобретении термин «кристаллическая форма» означает кристаллическую структуру соединения. Соединение может существовать в одной или нескольких кристаллических формах, которые могут характеризоваться разными структурными, физическими, фармакологическими или химическими характеристиками. Разные кристаллические формы могут быть получены с использованием вариаций в формировании центров кристаллизации, кинетике роста, укрупнении и разрушении. Формирование центров кристаллизации происходит при преодолении энергетического барьера фазового перехода, обеспечивая тем самым возможность формирования частиц из перенасыщенного раствора. Рост кристалла представляет собой увеличение частиц кристалла, вызванное отложением химического соединения на существующей поверхности кристалла. Относительная скорость формирования центров кристаллизации определяет распределение формирующихся кристаллов по размеру. Термодинамической движущей силой как для формирования центров кристаллизации, так и для роста, является перенасыщение, которое согласно определению является отклонением от термодинамического равновесия. Укрупнение представляет собой процесс формирования более крупных частиц посредством слипания двух или нескольких частиц (например, кристаллов) и формирования более крупной кристаллической структуры.

[0753] Используемый в настоящем документе термин «гидрат» обозначает твердую или полутвердую форму химического соединения, содержащую воду в составе молекулярного комплекса. Вода, как правило, содержится в стехиометрическом количестве по отношению к химическому соединению.

[0754] Используемый в настоящем документе термин «косметически или фармацевтически приемлемая соль» относится к производному описанных в настоящем документе соединений, где соединения модифицированы путем получения их кислых или основных солей. Примеры косметически или фармацевтически приемлемых солей включают в себя без ограничения соли неорганических или органических кислот и остатков оснований, таких как амины; соли щелочей или органические соли остатков кислот, таких как карбоновые кислоты; и т. п. Например, такие соли включают в себя соли аммония, L-аргинина, бетаина, бенетамина, бензатина, гидроксида кальция, холина, динола, диэтаноламина (2,2'-иминобис(этанола)), диэтиламина, 2-(диэтиламино)этанола, 2-аминоэтанола, этилендиамина, N-этилглюкамина, гидрабамина, 1H-имидазола, лизина, гидроксида магния, 4-(2-гидроксиэтил)морфолина, пиперазина, гидроксида калия, 1-(2-гидроксиэтил)пирролидина, гидроксида натрия, триэтаноламина (2,2',2"-нитрилотрис(этанола)), трометамина, гидроксида цинка, уксусной кислоты, 2,2-дихлоруксусной кислоты, адипиновой кислоты, альгиновой кислоты, аскорбиновой

кислоты, L-аспарагиновой кислоты, бензенсульфоновой кислоты, бензойной кислоты, 2,5-дигидроксибензойной кислоты, 4-ацетамидобензойной кислоты, (+)-камфорной кислоты, (+)-камфор-10-сульфоновой кислоты, угольной кислоты, коричной кислоты, лимонной кислоты, цикламовой кислоты, декановой кислоты, додецилсерной кислоты, этан-1,2-дисульфоновой кислоты, этансульфоновой кислоты, 2-гидроксиэтансульфоновой кислоты, этилендиамонотетрауксусной кислоты, муравьиной кислоты, фумаровой кислоты, галактаровой кислоты, гентизиновой кислоты, D-глюкогептоновой кислоты, D-глюконовой кислоты, D-глюкуроновой кислоты, глутаминовой кислоты, глутаниновая кислота, глутаровой кислоты, 2-оксоглутаровой кислоты, глицерофосфорной кислоты, глицина, гликолевой кислоты, гексановой кислоты, гиппуровой кислоты, бромистоводородной кислоты, соляной кислоты, изомасляной кислоты, DL-молочной кислоты, лактобионовой кислоты, лауриновой кислоты, лизина, малеиновой кислоты, (-)-L-яблочной кислоты, малоновой кислоты, DL-миндальной кислоты, метансульфоновой кислоты, галактаровой кислоты, нафталин-1,5-дисульфоновой кислоты, нафталин-2-сульфоновой кислоты, 1-гидрокси-2-нафтойной кислоты, никотиновой кислоты, азотной кислоты, октановой кислоты, олеиновой кислоты, оротовой кислоты, щавелевой кислоты, пальмитиновой кислоты, памовой кислоты (эмбоновой кислоты), фосфорной кислоты, пропионовой кислоты, (-)-L-пироглутаминовой кислоты, салициловой кислоты, 4-аминосалициловой кислоты, себациновой кислоты, стеариновой кислоты, янтарной кислоты, серной кислоты, дубильной кислоты, (+)-L-винной кислоты, тиоциановой кислоты, пара-толуолсульфоновой кислоты и ундециленовой кислоты. Дополнительные косметически или фармацевтически приемлемые соли могут быть сформированы с катионами металлов, таких как алюминий, кальций, литий, магний, калий, натрий, цинк, и т. п.

[0755] Косметически или фармацевтически приемлемые соли согласно настоящему изобретению могут быть синтезированы традиционными химическими способами из описанного в настоящем документе соединения, которое содержит фрагмент основания или кислоты. В общем, такие соли могут быть получены путем осуществления взаимодействия указанных соединений в форме свободной кислоты или основания с достаточным количеством соответствующего основания или кислоты в воде или органическом разбавителе, таком как простой эфир, этилацетат, этанол, изопропанол или ацетонитрил, или их смесь.

[0756] Предполагается, что соединения и композиции согласно настоящему изобретению могут быть включены в состав косметических или фармацевтических композиций для применений как *in vitro*, так и *in vivo*.

[0757] Предполагается, что соединения и композиции согласно настоящему изобретению, включая одно или несколько соединений, перечисленных в Таблице 5 или на Фиг. 130, или их химический аналог, кристаллическую форму, гидрат или фармацевтически или косметически приемлемую соль, могут вводиться субъекту совместно для целей модулирования пигментации кожи согласно настоящему изобретению.

[0758] Также предполагается, что композиции согласно настоящему изобретению

могут содержать одно или несколько соединений, перечисленных в Таблице 5 или на Фиг. 130, или их химический аналог, кристаллическую форму, гидрат или фармацевтически или косметически приемлемую соль. Например, композиция согласно настоящему изобретению содержать индирубин или его химические аналоги в комбинации с малассезином или его химическими аналогами.

[0759] В дополнение предполагается, что соединения согласно настоящему изобретению включают в себя соединения, продуцируемые *Malassezia*, или их химический аналог, кристаллическую форму, гидрат или фармацевтически или косметически приемлемую соль. Кроме того предполагается, что композиции и способы согласно настоящему изобретению могут включать в себя одно или несколько соединений, продуцируемых *Malassezia*, или их химический аналог, кристаллическую форму, гидрат или фармацевтически или косметически приемлемую соль. Например, соединения, продуцируемые *Malassezia* или полученные из них, включают в себя без ограничения соединения, представленные на Фиг. 130.

[0760] Кроме того предполагается, что способы согласно настоящему изобретению могут включать в себя совместное введение двух или нескольких соединений и/или композиций согласно настоящему изобретению для целей модулирования пигментации кожи согласно настоящему изобретению.

[0761] Совместно вводимые соединения и композиции согласно настоящему изобретению могут, например, приводиться в контакт с субъектом по существу в то же самое время или одно за другим.

[0762] Композиции согласно настоящему изобретению, содержащие одно или несколько соединений, полученных из *Malassezia*, или их химические аналоги, могут демонстрировать синергические эффекты применительно к различным критериям эффективности, включая без ограничения среднюю жизнеспособность тканей, концентрацию меланина, осветление кожи, потемнение кожи, индукцию апоптоза меланоцитов и модулирование активности рецептора ароматических углеводородов (AhR), меланогенеза или концентрации меланина, по сравнению с входящими в состав композиции отдельными соединениями.

[0763] Используемая в настоящем документе терминология используется лишь для описания конкретных вариантов осуществления и не рассматривается как ограничивающая. Если контекстом прямо не определено иное, то использованные в настоящем описании и в прилагаемой формуле изобретения формы единственного числа включают в себя ссылки на множественное число.

[0764] При представлении в настоящем документе числовых диапазонов, каждое число, находящееся внутри диапазона с той же степенью точности, предусмотрено в явном виде. Например, для диапазона 6-9 в дополнение к 6 и 9 предусмотрены числа 7 и 8, а для диапазона 6,0-7,0 в явном виде предусмотрены числа 6,0, 6,1, 6,2, 6,3, 6,4, 6,5, 6,6, 6,7, 6,8, 6,9 и 7,0.

[0765] Последующие примеры приведены для дополнительной иллюстрации

способов согласно настоящему изобретению. Указанные примеры являются лишь иллюстративными и никоим образом не предназначены для ограничения объема настоящего изобретения.

ПРИМЕРЫ

Пример 1

Материалы и методы

Выделение соединений, продуцируемых *Malassezia*

[0766] Малассезин выделяют с использованием, например, методик, описанных в документе Wille *et al.*, 2001. Протокол кратко отражен ниже.

Среда

[0767] Среду, состоящую из Твин 80 (30 мл), циклогексимида (0,5 г), хлорамфеникола (0,05 г), агара (20 г) и объема воды, достаточного для получения 1000 мл смеси, стерилизуют и смешивают с 0,3% стерильным фильтрованным L-триптофаном в концентрации 0,3 г% при 50°C. Порции объемом 10 мл вливают в 10 см чашки Петри и корректируют до pH 5,5 с использованием 0,1 M HCl.

Культивирование *Malassezia furfur* и выделение соединений, продуцируемых *M. furfur*

[0768] *Malassezia furfur* наносят тампоном на описанную выше среду и инкубируют в течение 14 суток при 30°C. Содержание чашки Петри пюрируют и экстрагируют этилацетатом в течение 12 часов. Экстракт фильтруют через стекловату, упаривают досуха и растворяют в метаноле. Затем, экстракт фракционируют методом хроматографии на Sephadex LH-20 с метанолом в качестве элюента. Дальнейшее разделение проводят методом препаративной тонкослойной хроматографии с толуолом:этилформиатом:муравьиной кислотой (10:5:3). Основные зоны распределяют между водой и этилацетатом. Фракции анализируют на предмет представляющей интерес активности. Соединения из представляющих интерес фракций выделяют методом ВЭЖХ.

Синтез малассезина и химических аналогов малассезина

[0769] Малассезин синтезируют в соответствии с методикой, представленной в документе Wille *et al.*, 2001. Химические аналоги малассезина синтезируют в соответствии с новыми методиками синтеза, а также в соответствии с методиками, описанными в документе Winston-McPherson, *et al.*, 2014.

Протоколы скрининга

[0770] Эффективные осветляющие кожу соединения оценивают с использованием как протоколов скрининга, известных специалистам в данной области, так и новых способов скрининга. Например, малассезин и его химические аналоги оценивают с использованием описанного выше биологического метода анализа тирозиназы. Используются другие протоколы скрининга, включая как модели на клетках *in vitro*, так и тканевые модели *in vivo*, включая анализ связывания с рецептором ароматических углеводородов (AhR).

Биологический метод анализа тирозиназы

[0771] Биологические методы анализа тирозиназы проводят, как описано в документе Wille *et al.*, 2001. Вкратце, L-DOPA смешивают с ферментом тирозиназой. Спустя 1 минуту фиксируют поглощение, что указывает на образование допахинона. Используя, например, описанные выше фракции, указанные фракции растворяют в DMSO и добавляют непосредственно в реакционную смесь с тирозиназой, используя чистый DMSO в качестве контроля. Ингибирующую активность в отношении тирозиназы измеряют как снижение роста поглощения экстинкции по сравнению с контролем.

Анализ связывания с рецептором ароматических углеводородов

[0772] Анализ связывания с AhR проводили в соответствии с методикой, описанной, например, в документе Song, *et al.*, 2002. Вкратце, AhR человека и мыши экспрессируют *in vitro*, используя, например, реакцию TnT Quick-coupled Reticulocyte Lysate Systems (Promega, Madison, WI). В исследованиях связывания лиганда рецептором используется скоростное осаждение на градиенте сахарозы, описано в документе Karchner, *et al.*, 1999.

Анализ EROD

[0773] Соединения, композиции и составы согласно настоящему изобретению также оценивают с использованием метода анализа с этоксирезоруфин-*O*-деэтилазой (EROD), известного специалистам в данной области (Donato, *et al.*, 1993; Whyte, *et al.*, 2000; Wille *et al.*, 2001).

Анализ апоптоза меланоцитов

[0774] Потенциально пригодные соединения оценивают на индукцию апоптоза в меланоцитах. Меланоциты эпидермиса человека культивируют в среде 254, дополненной добавкой для роста меланоцитов человека (HMGS) (Thermo-Fisher Scientific, Waltham, MA), или в базовой среде для дермальных клеток (ATCC, Manassas, VA). Дополнительные компоненты среды для выращивания меланоцитов человека могут включать в себя без ограничения инсулин (5 мкг/мл), аскорбиновую кислоту (50 мкг/мл), L-глутамин (6 мМ), эпинефрин (1,0 мкМ) и хлорид кальция (0,2 мМ). Культуры человеческих меланоцитов поддерживают при 37°C в 5% CO_2.

[0775] Потенциально пригодные соединения разбавляют DMSO и смешивают непосредственно с культурами меланоцитов. Эквивалентные объемы чистого DMSO используют в качестве контролей. Методы анализа цитотоксичности, известные специалистам в данной области, проводят в соответствии с инструкциями производителя. Методы анализа цитотоксичности, которые применяются в настоящем изобретении, включают в себя без ограничения метод анализа цитотоксичности с красителем CellTox™ Green, флуоресцентный метод анализа каспаз с красителем Apo-ONE, метод анализа ApoTox-Glo™ и метод анализа Caspase-Glo® (Promega, Madison, WI). Детекцию флуоресценции проводят с использованием стандартного FACS-метода анализа или микроскопического метода анализа, известных специалистам в данной области, включая методы, анализа описанные в документе Krämer, *et al.*, 2005.

[0776] Для оценки апоптоза используют дополнительные средства, включая методы анализа аннексина V с использованием FACS и Вестерн-блоттинг для анализа экспрессии

каспазы-9. Вестерн-блоттинг проводят в соответствии со способами, известными специалистам в данной области.

Методы анализа в мышиной модели ксенотрансплантата

[0777] Мышиные модели ксенотрансплантата кожи человека разрабатывают с использованием методик, известных из уровня техники (Black, *et al.*, 1985; Manning *et al.*, 1973; Reed, *et al.*, 1973; Plenat, *et al.*, 1992; Scott *et al.*, 1998; Otulakowski, *et al.*, 1994). После разработки, мышиные модели ксенотрансплантата подвергают воздействию соединений согласно настоящему изобретению, и наблюдают изменения пигментации по сравнению с контролями. Изменения пигментации кожи оценивают с использованием различных шкал пигментации, известных специалистам в данной области, включая без ограничения тест фототипирования кожи по Фитцпатрику и шкалу гиперпигментации Тейлора (Taylor, *et al.*, 2005).

Методы анализа на человеке

[0778] Соединения, композиции и составы согласно настоящему изобретению применяют в отношении людей, например, наносят на кожу человека и сравнивают с контрольными веществами. Изменения пигментации кожи оценивают с использованием различных шкал пигментации, известных специалистам в данной области, включая без ограничения тест фототипирования кожи по Фитцпатрику и шкалу гиперпигментации Тейлора.

Пример 2

Биохимическая мишень малассезина и его аналогов

[0779] Как ожидается, соединения и композиции согласно настоящему изобретению будут демонстрировать, например, ингибирование тирозиназы и агонистическую активность в отношении AhR, сравнимую с малассезином. Ожидается, что соединения и композиции согласно настоящему изобретению демонстрируют, например, более эффективное ингибирование тирозиназы и более сильный агонизм в отношении AhR по сравнению с малассезином. По аналогии, ожидается, что определенные соединения и композиции согласно настоящему изобретению являются менее эффективными ингибиторами тирозиназы и агонистами AhR по сравнению с малассезином. Такие соединения, композиции и составы могут характеризоваться более выигрышными профилями токсичности по сравнению с более эффективными соединениями.

Пример 3

Эффективность *in vitro*

[0780] Ожидается, что соединения и композиции согласно настоящему изобретению будут индуцировать апоптоз меланоцитов и модулировать активность меланоцитов, продукцию меланина, биогенез меланосом и/или перенос меланосом по меньшей мере так же эффективно, как и малассезин. Также предполагается, что определенные соединения и композиции согласно настоящему изобретению будут влиять на указанные биологические процессы с меньшей эффективностью, чем малассезин. Такие соединения и композиции могут характеризоваться более выигрышными профилями токсичности по сравнению с

более эффективными веществами.

Пример 4

Эффективность *in vivo*

[0781] Ожидается, что соединения и композиции согласно настоящему изобретению будут по меньшей мере так же эффективны, как и малассезин, осветлять кожу и уменьшать гиперпигментацию, вызванную гиперпигментационными нарушениями. Также ожидается, что соединения и композиции согласно настоящему изобретению будут демонстрировать выигрышные фармакокинетические профили, например, применительно к времени полувыведения и всасывания. Определенные соединения будут демонстрировать большее время полувыведения, тогда как другие будут демонстрировать меньшее время полувыведения. По аналогии, определенные соединения будут демонстрировать разные профили всасывания, причем для некоторых соединений для полного всасывания потребуется большее время, а для других для полного всасывания потребуется меньшее время.

Пример 5

Синтез малассезина и производных малассезина

[0782] Малассезин («CV-8684») и его циклизованное производное индоло[3,2-b]карбазол («CV-8685») синтезировали в соответствии со схемой, представленной Фиг. 2A.

Синтез *трет*-бутил-(2-йодфенил)карбамата, соединения 1

[0783] К раствору 2-йоданилина (25,0 г, 0,114 моль) в тетрагидрофуране (250 мл) при 0°C медленно добавляли LiHMDS (251,0 мл, 1 M в THF, 0,251 моль), поддерживая внутреннюю температуру ниже 5°C в течение 40 мин. После 30 мин перемешивания при 0°C, медленно добавляли раствор BOC-ангидрида (27,0 г, 0,125 моль) в THF (50 мл), поддерживая внутреннюю температуру ниже 5°C в течение 40 мин. Реакционную смесь нагревали до температуры окружающей среды и перемешивали в течение 1 ч. Для гашения реакционной смеси добавляли насыщенный NH_4Cl (250 мл). Органический слой разделяли и промывали водой (150 мл). Объединенный водный слой экстрагировали этилацетатом (2×150 мл), и разделяли слои. Этилацетатный слой объединяли с начальным органическим слоем и концентрировали в условиях вакуума с получением коричневого масла. Неочищенное соединение очищали методом колоночной хроматографии (0-5% этилацетат в гексанах). Соединение 1 получали в виде светло-желтой жидкости (29,0 г, 80%).

Синтез соединения 2

[0784] К дегазированному раствору соединения 1 (16,0 г, 0,05 моль) и пропаргилметилового эфира (4,25 г, 0. 06 моль) в триэтиламине (200 мл) при температуре окружающей среды добавляли йодид меди (0,95 г, 10% моль) и $PdCl_2(PPh_3)_4$ (1,75 г, 5% моль). После перемешивания при температуре окружающей среды в течение 2 ч, реакция была завершена (отслеживали методом TLC с использованием 10% этилацетата в гексанах). Реакционную смесь разбавляли этилацетатом (300 мл), реакционную смесь промывали водой, насыщенным NaCl и сушили над Na_2SO_4. Растворитель фильтровали и концентрировали в условиях вакуума с получением коричневого масла. Неочищенное

соединение очищали методом колоночной хроматографии (10% этилацетат в гексане). Соединение 2 получали в виде светло-желтой жидкости (13,0 г, 99%).

Синтез соединения 3

[0785] В высушенную в печи колбу добавляли $PtCl_2$ (0,26 г, 0,001 моль), Na_2CO_3 (1,6 г, 0,015 моль), индол (2,32 г, 0,02 моль) и соединение 2 (2,6 г, 0,01 моль) в диоксане (120 мл). Колбу дегазировали азотом, герметизировали и нагревали до 100°C в течение ночи. После завершения реакции (отслеживали методом TLC с использованием 10% этилацетата в гексанах), растворитель выпаривали в условиях пониженного давления. Реакционную смесь разбавляли этилацетатом (200 мл), реакционную смесь промывали водой, насыщенным NaCl и сушили над Na_2SO_4. Растворитель фильтровали и концентрировали в условиях вакуума с получением коричневого масла.

[0786] Эту реакцию повторяли с использованием другой партии соединения 2 (2,6 г, 0,01 моль). Обе партии неочищенных соединений объединяли и очищали методом колоночной хроматографии (10% этилацетат в гексане). Соединение 3 получали в виде светло-коричневого твердого вещества (3,8 г, 55%).

Синтез соединения 4

[0787] К раствору соединения 3 (3,8 г, 0,0109 моль) в смеси метанола (150 мл) и воды (50 мл) при температуре окружающей среды добавляли карбонат калия (4,6 г, 0,0329 моль). Полученную суспензию нагревали до температуры возгонки в течение ночи. После завершения реакции (отслеживали методом TLC с использованием 20% этилацетата в гексанах), реакционную смесь охлаждали до температуры окружающей среды, и концентрировали раствор в условиях вакуума. Остаток переносили в этилацетат (200 мл) и промывали водой и солевым раствором, затем сушили (сульфат натрия), фильтровали, концентрировали растворитель в условиях вакуума с получением в виде коричневого твердого вещества. Неочищенное соединение очищали методом колоночной хроматографии (20% этилацетат в гексане). Соединение 4 получали в виде оранжевого твердого вещества (2,2 г, 81%).

Синтез малассезина (CV-8684)

[0788] В высушенную двугорлую круглодонную колбу емкостью 100 мл в атмосфере аргона при 0°C добавляли диметилформамид (20 мл). Медленно добавляли $POCl_3$ (0,75 г, 0,0048 моль), поддерживая внутреннюю температуру ниже 5°C в течение 10 мин. После 30 мин перемешивания при 0°C, медленно добавляли раствор соединения 4 (1,0 г, 0,004 моль) в диметилформамиде (5 мл), поддерживая внутреннюю температуру ниже 5°C в течение 10 мин. Полученную смесь перемешивали при температуре окружающей среды в течение ночи. После завершения реакции (отслеживали методом TLC с использованием 20% этилацетата в гексанах), реакционную смесь вливали в насыщенный водный раствор бикарбоната натрия (150 мл) и перемешивали в течение 1 ч. Полученную смесь экстрагировали этилацетатом (2×100 мл). Органические слои объединяли и промывали водой, насыщенным NaCl, и сушили над Na_2SO_4. Растворитель фильтровали и концентрировали в условиях вакуума с получением коричневого твердого вещества.

Неочищенное соединение очищали методом колоночной хроматографии (0-20% этилацетат в гексанах). Соединение малассезин (CV-8684) получали в виде светло-розового твердого вещества (0,82 г, 74%).

[0789] Чистота согласно HPLC: 97,8% (процентная площадь). Спектры ^{1}H-ЯМР, ^{13}C-ЯМР соответствовали структуре. ESI-MS: рассчит. для $C_{18}H_{15}N_2O$ $(M+H)^+$: 275, обнаружено: 275,2

[0790] Синтез индоло[3,2-b]карбазола (CV-8685)

[0791] К раствору малассезина (0,75 г) в тетрагидрофуране (120 мл) при температуре окружающей среды добавляли концентрированную HCl (0,25 мл). Полученную смесь нагревали до температуры возгонки в течение ночи. После завершения реакции (отслеживали методом TLC с использованием 40% этилацетата в гексанах). Реакционную смесь охлаждали до температуры окружающей среды и перемешивали в течение 1 ч. Твердое вещество фильтровали, промывали тетрагидрофураном (20 мл) и сушили с получением индоло[3,2-b]карбазола (CV-8685) в виде светло-желтого твердого вещества (0,55 г, 78%).

[0792] Чистота согласно HPLC: 96,22% (процентная площадь). Спектры ^{1}H-ЯМР, ^{13}C-ЯМР соответствовали структуре. ESI-MS: рассчит. для $C_{18}H_{13}N_2$ $(M+H)^+$: 257, обнаружено: 257,5.

[0793] Соединение I («CV-8686») и соединение IV («CV-8687») синтезировали в соответствии со схемой, представленной Фиг. 2B.

Синтез соединения 5

[0794] В высушенную в печи колбу добавляли $PtCl_2$ (1,0 г, 0,0038 моль), Na_2CO_3 (6,1 г, 0,057 моль), 6-метилйодид (10,0 г, 0,076 моль) и соединение 2 (10,0 г, 0,038 моль) в диоксане (250 мл). Колбу дегазировали азотом, герметизировали и нагревали до 100°C в течение ночи. После завершения реакции (отслеживали методом TLC с использованием 10% этилацетата в гексанах), растворитель упаривали в условиях пониженного давления. Реакционную смесь разбавляли этилацетатом (400 мл), реакционную смесь промывали водой, насыщенным NaCl и сушили над Na_2SO_4. Растворитель фильтровали и концентрировали в условиях вакуума с получением коричневого масла. Неочищенное соединение очищали методом колоночной хроматографии (10% этилацетат в гексане). Соединение 5 получали в виде светло-коричневого твердого вещества (6,5 г, 47%).

Синтез соединения 6

[0795] К раствору соединения 5 (6,5 г, 0,018 моль) в смеси метанола (150 мл) и воды (50 мл) при температуре окружающей среды добавляли карбонат калия (7,4 г, 0,054 моль). Полученную суспензию нагревали до температуры возгонки в течение ночи. После завершения реакции (отслеживали методом TLC с использованием 20% этилацетата в гексанах). Реакционную смесь охлаждали до температуры окружающей среды, и концентрировали раствор в условиях вакуума. Остаток переносили в этилацетат (200 мл) и промывали водой и солевым раствором, а затем сушили (сульфат натрия), фильтровали, концентрировали растворитель в условиях вакуума с получением коричневого твердого

вещества. Неочищенное соединение очищали методом колоночной хроматографии (20% этилацетат в гексане). Соединение 6 получали в виде оранжевого твердого вещества (3,3 г, 72%).

Синтез соединения I (CV-8686)

[0796] В высушенную двугорлую круглодонную колбу емкостью 100 мл в атмосфере аргона при 0°C добавляли диметилформамид (20 мл). Медленно добавляли $POCl_3$ (0,6 г, 0,0038 моль), поддерживая внутреннюю температуру ниже 5°C в течение 10 мин. После 30 мин перемешивания при 0°C, медленно добавляли раствор соединения 6 (1,0 г, 0,0038 моль) в диметилформамиде (5 мл), поддерживая внутреннюю температуру ниже 5°C в течение 10 мин. Полученную смесь перемешивали при температуре окружающей среды в течение ночи. После завершения реакции (отслеживали методом TLC с использованием 20% этилацетата в гексанах), реакционную смесь вливали в насыщенный водный раствор бикарбоната натрия (150 мл) и перемешивали в течение 1 ч. Полученную смесь экстрагировали этилацетатом (2×100 мл). Органические слои объединяли и промывали водой, насыщенным NaCl, и сушили над Na_2SO_4. Растворитель фильтровали и концентрировали в условиях вакуума с получением коричневого твердого вещества. Неочищенное соединение очищали методом колоночной хроматографии (0-20% этилацетат в гексанах). Соединение I (CV-8686) получали в виде светло-розового твердого вещества (0,84 г, 75%).

[0797] Чистота согласно HPLC: 97,01% (процентная площадь). Спектры ^{1}H-ЯМР, ^{13}C-ЯМР соответствовали структуре. ESI-MS: рассчит. для $C_{19}H_{17}N_2O$ $(M+H)^+$: 289, обнаружено: 289,1

Синтез соединения IV (CV-8687)

[0798] К раствору соединения I (1,0 г) в тетрагидрофуране (125 мл) при температуре окружающей среды добавляли концентрированную HCl (0,3 мл). Полученную смесь нагревали до температуры возгонки в течение ночи. После завершения реакции (отслеживали методом TLC с использованием 40% этилацетата в гексанах), реакционную смесь охлаждали до температуры окружающей среды и перемешивали в течение 1 ч. Твердое вещество фильтровали, промывали тетрагидрофураном (20 мл) и сушили с получением соединения IV (CV-8687) в виде светло-желтого твердого вещества (0,84 г, 89%).

[0799] Чистота согласно HPLC: 98,4% (процентная площадь). Спектры ^{1}H-ЯМР, ^{13}C-ЯМР соответствовали структуре. ESI-MS: рассчит. для $C_{19}H_{15}N_2$ $(M+H)^+$: 271, обнаружено: 271,3.

[0800] Соединение II («CV-8688») синтезировала в соответствии со схемой, представленной Фиг. 2C.

Синтез соединения 7

[0801] К дегазированному раствору соединения 1 (9,0 г, 0,03 моль) и 3-метокси-1-бутина (2,8 г, 0. 035 моль) в триэтиламине (150 мл) при температуре окружающей среды добавляли йодид меди (0,53 г, 10% моль) и $PdCl_2(PPh_3)_4$ (1,0 г, 5% моль). После

перемешивания при температуре окружающей среды в течение 2 ч, реакция была завершена (отслеживали методом TLC с использованием 10% этилацетата в гексанах). Реакционную смесь разбавляли этилацетатом (300 мл), реакционную смесь промывали водой, насыщенным NaCl и сушили над Na_2SO_4. Растворитель фильтровали и концентрировали в условиях вакуума с получением коричневого масла. Неочищенное соединение очищали методом колоночной хроматографии (10% этилацетат в гексане). Соединение 7 получали в виде светло-желтой жидкости (7,0 г, 90%).

Синтез соединения 8

[0802] В высушенную в печи колбу добавляли $PtCl_2$ (0,68 г, 0,0025 моль), Na_2CO_3 (4,0 г, 0,038 моль), индол (6,0 г, 0,05 моль) и соединение 7 (10,0 г, 0,025 моль) в диоксане (250 мл). Колбу дегазировали азотом, герметизировали и нагревали до 100°C в течение ночи. После завершения реакции (отслеживали методом TLC с использованием 10% этилацетата в гексанах), растворитель упаривали в условиях пониженного давления. Реакционную смесь разбавляли этилацетатом (400 мл), реакционную смесь промывали водой, насыщенным NaCl и сушили над Na_2SO_4. Растворитель фильтровали и концентрировали в условиях вакуума с получением коричневого масла. Неочищенное соединение очищали методом колоночной хроматографии (10% этилацетат в гексане). Соединение 8 получали в виде светло-коричневого твердого вещества (3,5 г, 77%).

Синтез соединения 9

[0803] К раствору соединения 8 (3,3 г, 0,0091 моль) в смеси метанола (75 мл) и воды (25 мл) при температуре окружающей среды добавляли карбонат калия (3,8 г, 0,027 моль). Полученную суспензию нагревали до температуры возгонки в течение ночи. После завершения реакции (отслеживали методом TLC с использованием 20% этилацетата в гексанах), реакционную смесь охлаждали до температуры окружающей среды, и концентрировали раствор в условиях вакуума. Остаток переносили в этилацетат (200 мл) и промывали водой и солевым раствором, а затем сушили (сульфат натрия), фильтровали, и концентрировали растворитель в условиях вакуума с получением коричневого твердого вещества. Неочищенное соединение очищали методом колоночной хроматографии (20% этилацетат в гексане). Соединение 9 получали в виде оранжевого твердого вещества (2,1 г, 88%).

Синтез соединения II (CV-8688)

[0804] В высушенную двугорлую круглодонную колбу емкостью 100 мл в атмосфере аргона при 0°C добавляли диметилформамид (20 мл). Медленно добавляли $POCl_3$ (0,76 г, 0,005 моль), поддерживая внутреннюю температуру ниже 5°C в течение 10 мин. После 30 мин перемешивания при 0°C, медленно добавляли раствор соединения 9 (1,3 г, 0,005 моль) в диметилформамиде (5 мл), поддерживая внутреннюю температуру ниже 5°C в течение 10 мин. Полученную смесь перемешивали при температуре окружающей среды в течение ночи. После завершения реакции (отслеживали методом TLC с использованием 20% этилацетата в гексанах), реакционную смесь вливали в насыщенный водный раствор бикарбоната натрия (150 мл) и перемешивали в течение 1 ч. Полученную смесь

экстрагировали этилацетатом (2×100 мл). Органические слои объединяли и промывали водой, насыщенным NaCl, и сушили над Na_2SO_4. Растворитель фильтровали и концентрировали в условиях вакуума с получением коричневого твердого вещества. Неочищенное соединение кристаллизовали введением в хлороформ (25 мл). Соединение II (CV-8688) получали в виде светло-розового твердого вещества (0,81 г, 53%).

[0805] Чистота согласно HPLC: 98,94% (процентная площадь). Спектры ^{1}H-ЯМР, ^{13}C-ЯМР соответствовали структуре. ESI-MS: рассчит. для $C_{19}H_{17}N_2O$ $(M+H)^+$: 289, обнаружено: 289,0.

Пример 6

Морфология клеток

[0806] Типичная морфология клеток после разных видов обработки представлена на Фиг. 5A-5K, 6A-6K, 7A-7K, 8A-8K, 9A-9K, 10A-10K, 11A-11K и 12A-12K. На морфологию обеих линий клеток существенно влияла обработка 100 мкМ соединения CV-8684 и CV-8688, а также обработка стауроспорином в течение 6 часов. Оказалось, что на WM115 оказывает влияние только 100 мкМ соединения CV-8685.

Пример 7

Апоптоз-индуцирующая активность малассезина и производных малассезина - предварительный анализ с аннексином V

Вещества и реагенты

[0807] Набор для анализа с аннексином V-FITC приобретали у Beyotime Biotechnology, среду RPMI 1640 и модифицированную по способу Дульбекко среду Игла («DMEM») приобретали у Gibco, фетальную бычью сыворотку («FBS») приобретали у Invitrogen, стабилизированный антибиотический/антимикотический раствор (100×) приобретали у Sigma, и 0,25% трипсин-EDTA (1×) и феноловый красный приобретали у Invitrogen.

Культура клеток

[0808] Клетки MeWo (ATCC® HTB-65™) и WM115 (ATCC® CRL-1675) приобретали у ATCC (Manassas, VA) и поддерживали в следующих условиях: для MeWo: DMEM с добавлением 10% FBS; для WM115: RPMI 1640 с добавлением 10% FBS (10% FBS, 1% стабилизированный антибиотический/антимикотический раствор).

Реферат исследования

[0809] На промежуточных стадиях апоптоза фосфатидилсерин («PS») перемещается из внутреннего во внешний слой клеточной мембраны, подвергая PS воздействию внеклеточной среды, в которой он может быть зарегистрирован. Высоко флуоресцентные конъюгаты с аннексином V обеспечивают быстрые и надежные способы обнаружения для исследований экстернализации PS.

[0810] В процессе первой серии исследований клетки MeWo и WM115 обрабатывали тестируемыми соединениями в 10 дозах, начиная со 100 мкМ с 3-кратным разбавлением. Стауроспорин использовали в качестве положительного контроля. После обработки в течение 6 часов оценивали апоптоз клеток, используя анализ с аннексином V.

Оцениваемыми тестируемыми соединениями являлись CV-8684, CV-8685, CV-8686, CV-8687 и CV-8688.

Аналитические процедуры

[0811] Для посева клетки собирали, и определяли число клеток с использованием клеточного цитометра Countess®. Затем, клетки разбавляли культуральной средой до требуемой плотности. В требуемое число лунок в 384-луночном планшете (Corning 3712 - планшет с прозрачным дном) добавляли 40 мкл клеточной суспензии на лунку. Конечная плотность клеток составляла 6000 клеток на лунку. После посева, планшеты инкубировали при 37°C и 5% CO_2 в течение ночи.

[0812] Для приготовления планшета-источника соединения каждое тестируемое соединение растворяли в DMSO до получения 10 мМ маточного раствора. С использованием устройства для обращения с жидкостями EV0200™ (TECAN) проводили 3-кратное последовательное разбавление с получением десяти концентраций тестируемого соединения. В качестве контроля (отрицательного) с несущей средой использовали 0,1% DMSO. Затем планшет-источник соединения центрифугировали при комнатной температуре при 1000 об/мин в течение 1 минуты и перемешивали встряхиванием с использованием планшетного шейкера в течение 2 минут.

[0813] Для обработки соединением, 40 нл соединения переносили из планшета-источника соединения в 384-луночный культуральный планшет с использованием устройства для обращения с жидкостями Echo550 (LabCyte Inc.). После инкубации в течение 6 часов планшеты забирали из инкубатора для проведения исследования.

[0814] Для предварительного анализа с аннексином V, планшеты удаляли из инкубатора и оставляли уравновешиваться при комнатной температуре в течение 15 мин. Затем, удаляли культуральную среду. В каждую лунку добавляли 20 мкл предварительно смешанного рабочего раствора аннексина V-FITC и красителя Hoechst33342. Затем, клетки инкубировали при комнатной температуре в течение 20 минут. Планшеты герметизировали и центрифугировали в течение 1 мин при 1000 об/мин для удаления пузырей. После этого, с использованием планшетного ридера Acumen eX3 проводили сбор данных с планшетов. Относительную активность рассчитывали в соответствие со следующей формулой: Активность (%) = 100% × ($Число_{аннексин\ V}$/$Число_{всего\ клеток}$), и рассчитывали EC_{50} с использованием программного обеспечения GraphPad Prism (версия 5.01).

Результаты

[0815] В рассмотренном выше предварительном скрининге, соединение CV-8688 значительно усиливало окрашивание клеток MeWo аннексином V со значением EC_{50}, равным 908,57 нМ. Стауроспорин, положительный контроль, значительно усиливал окрашивание аннексином V в обеих линиях клеток (Фиг. 3A-3M).

Пример 8

Апоптоз-индуцирующая активность малассезина и производных малассезина - дополнительная оценка с использованием анализа с аннексином V

Реферат исследования

[0816] Для дополнительного изучения влияния тестируемых соединений на апоптоз, для клеток MeWo и WM115 проводили множественный сбор данных, охватывающий разные стадии апоптоза. Оба типа клеток обрабатывали тестируемыми соединениями в 3 дозах (100 мкМ, 10 мкМ и 1 мкМ). Стауроспорин использовали в качестве положительного контроля. После требуемого периода обработки (6, 24, 48 или 72 часа), оценивали апоптоз путем измерения выраженной в процентах доли клеток, демонстрирующих связывание с аннексином V после воздействия тестируемых соединений. Оцениваемыми тестируемыми соединениями являлись CV-8684, CV-8685 и CV-8688.

Аналитические процедуры

[0817] Посев клеток проводили, как описано выше, со следующими исключениями: конечная плотность клеток составляла 4000 клеток на лунку для исследования после обработки в течение 6 часов и 24 часов, тогда как для исследования после обработки в течение 48 часов и 72 часов использовали 2000 клеток на лунку. Для каждого момента времени, приготавливали 384-луночные планшеты с прозрачным дном (Corning 3712) и белые планшеты с непрозрачным дном (Corning 3570). Планшеты инкубировали, как описано выше.

[0818] Для приготовления планшета-источника соединения каждое тестируемое соединение растворяли в DMSO до получения 10 мМ маточного раствора. Две дополнительные концентрации получали путем 10-кратного разбавления до концентраций 1 мМ и 0,1 мМ. Стауроспорин использовали в качестве положительного контроля, и в качестве контроля (отрицательного) с несущей средой использовали 0,1% DMSO. Затем планшет-источник соединения центрифугировали при комнатной температуре при 1000 об/мин в течение 1 минуты и перемешивали встряхиванием с использованием планшетного шейкера в течение 2 минут.

[0819] С использованием устройства для обращения с жидкостями Echo550 (LabCyte Inc.) 400 нл тестируемого соединения переносили из планшета-источника соединения в 384-луночные культуральные планшеты. После инкубации в течение 6, 24, 48 и 72 часов планшеты удаляли из инкубатора для проведения исследования.

[0820] Для анализа с аннексином V, планшеты удаляли из инкубатора и оставляли уравновешиваться при комнатной температуре в течение 15 мин. Культуральную среду удаляли, и клетки дважды промывали PBS. В каждую лунку добавляли 20 мкл предварительно смешанного рабочего раствора аннексина V-FITC. Клетки инкубировали при комнатной температуре в течение 20 минут. Для подсчета числа FITC-положительных клеток, проводили сбор данных с планшетов с использованием Acumen eX3. Относительную активность рассчитывали в соответствие со следующей формулой: Относительная активность (%) = 100% × ($Число_{образце}$/$Число_{несущая\ среда}$).

Результаты

[0821] Соединение CV-8684 индуцировало апоптоз в наибольшей протестированной концентрации после воздействия в течение 6 часов на клетках MeWo и WM115. Соединение CV-8685 продемонстрировало эффект индукции после обработки в течение 24 часов на

клетках WM115, тогда как после обработки в течение 48 часов апоптоз индуцировался в обоих типах клеток. В завершение, соединение CV-8688 продемонстрировало эффект индукции после обработки в течение 6 часов дозозависимым образом в обоих типах клеток (Фиг. 4A-4L).

Пример 9

Жизнеспособность клеток после воздействия малассезином или производными малассезина - анализ с CellTiter-Glo®

Аналитические процедуры

[0822] Материалы для анализа с CellTiter-Glo® 2.0 приобретали у Promega. Посев клеток, приготовление планшета-источника соединения и обработку клеток тестируемыми соединениями проводили, как описано в Примере 8.

[0823] Для анализа с CellTiter-Glo®, планшеты удаляли из инкубатора и уравновешивали при комнатной температуре в течение 15 мин. Реагенты CellTiter-Glo® размораживали и уравновешивали до комнатной температуры до проведения эксперимента. Затем, в каждую лунку для исследования добавляли 40 мкл реагента CellTiter-Glo® (в соотношении 1:1 с культуральной средой). Затем, планшеты инкубировали при комнатной температуре в течение 30 мин, и проводили сбор данных с использованием планшетного ридера EnSpire (PerkinElmer). Остаточную активность рассчитывали в соответствии со следующей формулой: Остаточная активность (%) = 100% × ($Lum_{образец}$ - $Lum_{фон}$)/($Lum_{несущая\ среда}$ - $Lum_{фон}$).

Результаты

[0824] Соединение CV-8684 демонстрировало дозозависимое ингибирование жизнеспособности клеток в обеих исследуемых линиях клеток, хотя ингибирующий эффект сильнее проявлялось в клетках MeWo. Соединение CV-8685 демонстрировало ингибирующий эффект на жизнеспособность клеток WM115 дозозависимым образом только после обработки в течение 24 часов. Соединение CV-8688 дозозависимым образом ингибировало жизнеспособность обоих типов клеток. Стауроспорин, положительный контроль, демонстрировал 100% ингибирование жизнеспособности клеток в обеих линиях клеток после обработки в течение 24 часов (Фиг. 13A-13K).

Пример 10

Цитотоксичность малассезина и производных малассезина - анализ высвобождения лактатдегидрогеназы

Реферат исследования

[0825] LDH-анализ количественно оценивает высвобождаемую в среду из разрушенных клеток лактатдегидрогеназу («LDH») в качестве биомаркера цитотоксичности и цитолиза.

Аналитические процедуры

[0826] Материалы для анализа целостности гомогенных мембран CytoTox-ONE™ приобретали у Promega. Посев клеток, приготовление планшета-источника соединения и обработку клеток тестируемыми соединениями проводили, как описано в Примере 8.

[0827] Для анализа высвобождения LDH, планшеты удаляли из инкубатора и уравновешивали при комнатной температуре в течение 15 мин. Затем, планшеты центрифугировали при 1000 об/мин в течение 1 мин. В новый черный 384-луночный непрозрачный планшет переносили 20 мкл культуральной среды. Затем, в каждую лунку добавляли 20 мкл CytoTOX-ONE™, и инкубировали при комнатной температуре в течение 10 мин. После этого, в каждую лунку добавляли 10 мкл стоп-реагента, и перемешивали планшеты при 500 об/мин в течение 1 мин. Сбор данных с планшетов производили на EnSpire с использованием длины волны возбуждения при 560 нм и длины волны испускания при 590 нм. Относительную активность рассчитывали в соответствии со следующей формулой: Относительная активность (%) = 100% $\times(Lum_{образец} - Lum_{фон})/(Lum_{несущая\ среда} - Lum_{фон})$.

Результаты

[0828] Соединение CV-8684 не индуцировало значимого увеличения высвобождения в любой линии клеток после инкубирования в течение 72 часов. Соединение CV-8685 обнаружило дозозависимый эффект индукции высвобождения LDH у клеток WM115, но не у клеток MeWo, после обработки в течение 72 часов. Соединение CV-8688 индуцировало высвобождение LDH в наибольшей протестированной концентрации (Фиг. 14A-14L).

Пример 11

Способность малассезина и производных малассезина активировать рецептор ароматических углеводородов

Аналитические методики

[0829] Клетки HepG2-AhR-Luc приобретали у Pharmaron, аналитическую систему One-Glo Luciferase приобретали у Promega, DMEM приобретали у Hyclone, и пенициллин/стрептомицин приобретали у Solabio.

[0830] Культуральную среду для стабильно трансфицированных клеток HepG2 приготавливали путем добавления DMEM с высоким содержанием глюкозы и L-глутамина, а также 10% FBS.

[0831] Клетки HepG2-AhR-Luc культивировали в колбах T-75 при 37°C, 5% CO_2 и относительной влажности 95%. Клетки оставляли достигать степени срастания 80-90%, после чего отделяли и разъединяли.

[0832] Культивированные клетки промывали 5 мл PBS. PBS удаляли аспирацией, в колбу добавляли 1,5 мл трипсина, и инкубировали клетки при 37°C приблизительно в течение 5 мин или до тех пор, пока клетки не отделяются, оставаясь на плаву. Трипсин инактивировали путем добавления избытка содержащей сыворотку среды.

[0833] Суспензию клеток переносили в коническую пробирку и центрифугировали при 120g в течение 10 мин для осаждения клеток. Клетки ресуспендировали в посевной среде с нужной плотностью. В 384-луночный культуральный планшет переносили 40 мкл клеток (5×10^3 клеток на лунку). Планшеты помещали в инкубатор при 37°C на 24 часа.

[0834] После этого, приготавливали маточные растворы тестируемых соединений и

положительный контроль с омепразолом. 40 нл растворов соединений переносили с использованием Echo550 в аналитический планшет. Затем, планшет возвращали в инкубатор для обработки соединением.

[0835] Позднее, после обработки в течение 24 часов, планшет удаляли из инкубатора и оставляли охлаждаться при температуре окружающей среды. В каждую лунку добавляли 30 мкл реагента One-Glo, равных по объему культуральной среде. Клетки оставляли для лизиса по меньшей мере на 3 мин, а затем проводили измерение на люминометре.

[0836] Дозовый ответ отображали в виде графиков с использованием нелинейного регрессионного анализа в программном обеспечении XLfit, и также рассчитывали значения EC_{50}.

Результаты

[0837] Результаты анализа на HepG2-AhR-Luc представлены на Фиг. 15A-15F.

Пример 12

Анализ с MelanoDerm™

Реферат исследования

[0838] Целью данного исследования являлась оценка на модели кожи MelanoDerm™ возможного раздражения кожи, индуцируемого тестируемым образцом, после повторных воздействий с целью выбора дозы для последующего исследования. Токсичность определяют путем измерения относительного преобразования MTT (3-[4,5-диметилтиазол-2-ил]-2,5-дифенилтетразолия бромида) в обработанных исследуемым образцом тканях по сравнению с тканями, обработанными отрицательным контролем/растворителем.

[0839] В данном исследовании используют модель кожи MelanoDerm™ производства MatTek Corporation (Ashland, MA). Ткань MelanoDerm™ состоит из нормальных полученных от человека эпидермальных кератиноцитов (NHEK) и меланоцитов (NHM), которые культивировали до формирования многослойной, высокодифференцированной модели эпидермиса человека. NHM в сокультурах претерпевают спонтанный меланогенез, приводящий к формированию тканей с различающимися уровнями пигментации. Сокультуры выращивают во вставках для клеточных культур на границе раздела воздух-жидкость, что позволяет производить местное нанесение модуляторов кожи. Модель MelanoDerm™ обладает морфологическими и ультраструктурными характеристиками, подобными встречающимся *in vivo*. NHM, локализованные в базальном слое клеток тканей MelanoDerm™, являются дендритными и спонтанно продуцируют гранулы меланина, которые поступательно заселяют слои ткани. Таким образом, тест-систему можно использовать для проведения скрининга вещества, которые могут ингибировать или стимулировать продукцию меланина по сравнению с отрицательным контролем.

[0840] Дизайн эксперимента при проведении данного исследования состоит из определения pH тестируемого образца в чистом виде при наличии возможности (и/или дозируемого раствора в соответствующих случаях) и определяющего анализа для определения относительной жизнеспособности тканей после повторных воздействий.

Модель кожи MelanoDerm™ подвергают воздействию тестируемых образцов всего в течение 7 суток. Тестируемый образец местно наносят на модель кожи MelanoDerm™ каждые 48 часов (в пределах временного интервала 48±2 часа от предыдущей обработки). Токсичность тестируемого образца определяют по NAD(P)H-зависимому микросомальному ферментативному восстановлению MTT (и, в меньшей степени, по восстановлению MTT сукцинатдегидрогеназой) в контрольных и обработанных тестируемым образцом тканях (Berridge et al., 1996). Данные представляют в виде относительной выживаемости (преобразование MTT по сравнению с отрицательным контролем).

Материалы

[0841] Поддерживающая среда MelanoDerm™ (EPI-100-LLMM) и модель кожи MelanoDerm™ (MEL-300-A) поставлялась MatTek Corporation. 1% койевая кислота (приготовленная в стерильной деионизированной воде) и MTT (3-[4,5-диметилтиазол-2-ил]-2,5-дифенилтетразолия бромид) поставлялись Sigma. Модифицированная по способу Дульбекко среда Игла (DMEM), содержащая 2 мМ L-глутамина (среда для добавления MTT), поставлялась Quality Biological. Изопропанол поставлялся Aldrich. Стерильный фосфатно-солевой буфер Дульбекко без Ca^{++} и Mg^{++} (CMF-DPBS) поставлялся Invitrogen или представлял собой эквивалент. Стерильная деионизированная вода поставлялась Quality Biological или представляла собой эквивалент. DMSO поставлялся CiVenti Chem.

Аналитические методики

[0842] Тестируемые образцы, как правило, тестируют в чистом виде или в соответствии с указаниями спонсора (см. Приложение к протоколу 1). По десять микролитров (10 мкл) или 25 мкл каждого тестируемого образца наносят непосредственно на ткань так, чтобы покрыть верхнюю поверхность. В зависимости от природы тестируемого образца (жидкости, гели, кремы, пены и т. д.) может понадобиться использование дозирующего устройства, сита или другого вспомогательного устройства для обеспечения равномерного распределения тестируемого образца по поверхности ткани.

[0843] В сутки дозированного введения, каждый тестируемый образец разбавляют по меньшей мере в 200 раз с использованием соответствующего объема EPI-100-LLMM (или альтернативного растворителя, определенного в процессе тестирования на растворимость). Для каждого дозированного введения приготавливают свежее разбавление EPI-100-LLMM. Конечное разбавление, необходимое для приготовления дозируемого раствора, определяют исходя из упомянутой выше оценки растворимости и заносят в рабочий журнал исследования.

[0844] DMSO, разбавленный EPI-100-LLMM до 0,5% (об./об.), используют в качестве контрольной несущей среды и дозированно наносят на ткани (в дозах 10 мкл и 25 мкл) в соответствии с той же процедурой, что и описанная для тестируемых образцов и аналитических контролей.

[0845] В процессе исследования в течение 7 суток, тестируемые образцы местно наносят на ткань MelanoDerm™ каждые 48 часов (в пределах временного интервала 48±2

часа от предыдущей обработки). На каждую ткань наносят 10 и 25 микролитров каждого тестируемого образца, соответственно. На каждую ткань наносят 25 микролитров положительного и отрицательного контроля, соответственно.

[0846] При наличии возможности определяют значение pH жидкого тестируемого образца в чистом виде (и/или дозируемого раствора в соответствующих случаях). Значение pH определяют с использованием pH-индикаторной бумаги для определения pH (например, с диапазоном pH 0-14 для оценки и/или диапазоном pH 5-10 для определения более точной величины). Типичные значения инкремента pH для pH-индикаторной бумаги с более узким диапазоном определения pH составляют приблизительно от 0,3 до 0,5 единиц pH. Максимальный инкремент для pH-индикаторной бумаги для определения pH составляет 1,0 единицу pH.

[0847] Определяющий анализ включает в себя отрицательный контроль и положительный контроль. Ткани MelanoDerm™, принятые за отрицательный контроль анализа, обрабатывают 25 мкл стерильной деионизированной воды. Для нанесения на ткани, принятые за положительный контроль анализа, используют 25 микролитров 1% койевой кислоты (приготовленной в стерильной деионизированной воде и профильтрованной в момент приготовления). До применения 1% койевую кислоту хранят в пробирке, закрытой алюминиевой фольгой, не более 2 часов от времени приготовления. Значения длительности воздействия положительным и отрицательным контролями идентичны таковым, применяемым для тестируемых образцов.

[0848] Необходимо оценить способность каждого тестируемого образца самостоятельно восстанавливать MTT. В среде для добавления MTT приготавливают 1,0 мг/мл раствор MTT, как описано ниже. Приблизительно 25 мкл исследуемого соединения добавляют к 1 мл раствора MTT, и инкубируют смесь в темноте при 37°C±1°C в течение 1-3 часов. Одновременно тестируют отрицательный контроль, 25 мкл стерильной деионизированной воды. Если цвет раствора MTT становится синим/пурпурным, то имеются основания предполагать, что тестируемый образец восстанавливает MTT. Нерастворимые в воде тестируемые вещества могут демонстрировать самостоятельное восстановление (потемнение) только на поверхности раздела между тестируемым образцом и средой.

[0849] Определение самостоятельного восстановления MTT тестируемым (-ыми) образцом (-ами) может быть проведено предварительно в независимом исследовании. В таких случаях, результаты теста на самостоятельное восстановление MTT могут быть использованы для данного конкретного исследования, а начальное исследование приведено в качестве ссылки.

[0850] Воздействие на ткань: Спустя по меньшей мере 16 часов после инициации культур, две ткани MelanoDerm™ (считающиеся необработанными на сутки 0) фотографируют с помощью цифровой камеры с целью помочь в визуальной оценке степени пигментации тканей в начальный момент времени анализа. Точные процедуры, используемые для получения изображений тканей, указывают в рабочем журнале и отчете

к исследованию. Ткани MelanoDerm™ промывают CMF-DPBS, промакивают насухо стерильной впитывающей бумагой и очищают от избытка жидкости. Ткани MelanoDerm™ переносят в соответствующие содержащие MTT лунки после промывки, и подвергают обработке согласно MTT анализу, как описано в разделе «MTT анализ».

[0851] Спустя по меньшей мере 16 часов после инициации культур, ткани переносят в новый 6-луночный планшет, содержащий 0,9 мл свежего предварительно нагретого EPI-100-LLMM. Исследование проводят в течение 7 суток. На первые сутки и каждые 48 часов (в пределах временного интервала 48±2 часа от предыдущей обработки) две ткани местно обрабатывают 10 и 25 микролитрами каждого тестируемого образца, соответственно. Среду обновляют ежесуточно (в пределах временного интервала 24±2 часа от предыдущей обработки); ткани переносят в новый 6-луночный планшет, содержащий 0,9 мл свежего предварительно нагретого EPI-100-LLMM.

[0852] На первые сутки и каждые 48 часов (в пределах временного интервала 48±2 часа от предыдущей обработки) две ткани местно обрабатывают 25 микролитрами положительного и отрицательного контроля, соответственно. Среду обновляют ежесуточно (в пределах временного интервала 24±2 часа от предыдущей обработки); ткани переносят в новый 6-луночный планшет, содержащий 0,9 мл свежего предварительно нагретого EPI-100-LLMM. Ткани инкубируют при 37±1°C в увлажненной атмосфере 5±1% CO_2 в воздухе (стандартные условия культивирования) в течение соответствующего времени воздействия.

[0853] В сутки дозированного введения, для удаления любых остаточных количеств тестируемого образца ткань MelanoDerm™ сначала осторожно трижды промывают ~500 мкл CMF-DPBS. Затем, ткани переносят в новый 6-луночный планшет, содержащий 0,9 мл свежего предварительно нагретого EPI-100-LLMM, и обрабатывают соответствующим тестируемым образцом, отрицательным или положительным контролем. Ткани инкубируют при 37±1°C в увлажненной атмосфере 5±1% CO_2 в воздухе (стандартные условия культивирования) в течение соответствующего времени воздействия. Точную процедуру промывки указывают в рабочем журнале.

[0854] По завершению исследования в течение 7 суток, ткани MelanoDerm™, обработанные отрицательным или положительным контролем и каждым тестируемым образцом, фотографируют с помощью цифровой камеры с целью помочь в визуальной оценке степени пигментации тканей в конце анализа (сутки 7). Точные процедуры, используемые для получения изображений тканей, указывают в рабочем журнале и отчете к исследованию. Затем, по восстановлению MTT определяют жизнеспособность тканей, как указано ниже.

[0855] MTT анализ: Не более чем за два часа до момента использования, 10× маточный раствор MTT, приготовленный в PBS (профильтрованный в момент приготовления партии) размораживают и разбавляют теплой средой для добавления MTT с получением 1,0 мг/мл раствора. В каждую помеченную лунку предварительно размеченного 24-луночного планшета добавляют 300 мкл раствора MTT.

[0856] По завершению воздействия, каждую ткань MelanoDerm™, предназначенную

для MTT анализа, промывают CMF-DPBS, промакивают насухо стерильной впитывающей бумагой и очищают от избытка жидкости. После промывки, ткани MelanoDerm™ переносят в соответствующие содержащие MTT лунки. 24-луночные планшеты инкубируют в стандартных условиях в течение 3±0,1 часа.

[0857] Спустя 3±0,1 часа, ткани MelanoDerm™ промакивают насухо стерильной впитывающей бумагой, очищают от избытка жидкости и переносят в предварительно размеченный 24-луночный планшет, содержащий 2,0 мл изопропанола в каждой помеченной лунке. Планшеты покрывают парафильмом и хранят в морозильной камере (2-8°C) до момента сбора образцов для последнего времени воздействия. В случае необходимости, планшеты могут храниться в течение ночи (или до 24 часов после сбора образцов для последнего времени воздействия) в морозильной камере до экстрагирования MTT. Затем, планшеты перемешивают встряхиванием по меньшей мере в течение 2 часов при комнатной температуре. По завершению периода экстрагирования, жидкость во вставках для клеточных культур декантируют в лунку, из которой была взята вставка для клеточных культур. Раствор экстракта смешивают, и переносят 200 мкл в соответствующие лунку 96-луночного планшета. В лунки, помеченные как холостой контроль, добавляют 200 мкл изопропанола. Оптическую плотность при 550 нм (OD_{550}) в каждой лунке измеряют на планшетном ридере Molecular Devices Vmax (с включенной функцией AUTOMIX).

[0858] В тех случаях, когда показано, что тестируемый образец восстанавливает MTT, проблемой являются только те тестируемые образцы, которые остаются связанными с тканью после промывки, что приводит к ложному сигналу о восстановлении MTT. Для того, чтобы продемонстрировать, что остаточные количества тестируемого образца самостоятельно не восстанавливают MTT, в процессе определяющего анализа проводят функциональный контроль с целью показать, что тестируемый образец не связывается с тканью и не приводит к ложному сигналу о восстановлении MTT.

[0859] Для того, чтобы определить, восстанавливают ли MTT остаточные количества тестируемого образца, используют инактивированную заморозкой контрольную ткань. Инактивированную заморозкой ткань приготавливают в IIVS путем помещения необработанных тканей MelanoDerm™/EpiDerm™ (Melanoderm™ без меланоцитов) в морозильную камеру при -20°C по меньшей мере на ночь, размораживания до комнатной температуры с последующим повторным замораживанием. После инактивации, ткань может неограниченное время храниться в морозильной камере. Инактивированные заморозкой ткани могут быть получены в готовом виде от MatTek Corporation и храниться в морозильной камере при -20°C до момента использования. Для исследования восстановления остаточного количества тестируемого образца, инактивированные ткани обычным образом обрабатывают тестируемым образцом. Все аналитические процедуры проводят тем же образом, что и для жизнеспособной ткани. По причине того, что в результате присутствия в инактивированной ткани остаточного количества NADH и ассоциированных ферментов ожидается незначительное восстановление MTT, параллельно тестируют по меньшей мере один инактивированный контроль, обработанный стерильной

деионизированной водой (отрицательный инактивированный контроль).

[0860] Если в инактивированном контроле, обработанном тестируемым образцом, наблюдается незначительное восстановление МТТ, или оно отсутствует, то наблюдаемое восстановление МТТ в жизнеспособной ткани, обработанной тестируемым образцом, может быть приписано жизнеспособным клеткам. Если в инактивированном контроле, обработанном тестируемым образцом, наблюдается значительное восстановление МТТ (по сравнению с обработанной жизнеспособной тканью), то следует предпринять дополнительные шаги с целью учета химического восстановления, или тестируемый образец не может считаться пригодным для тестирования в данной системе. Значения OD_{550} для инактивированных контрольных образцов анализируют, как описано ниже.

[0861] Исходные данные оптической плотности собирают, сохраняют в виде файла печати и импортируют в электронную таблицу Excel. Рассчитывают среднее значение OD_{550} для холостых лунок. Скорректированное среднее значение OD_{550} для отрицательных контролей определяют путем вычитания среднего значения OD_{550} для холостых лунок из средних значений OD_{550} для отрицательных контролей. Скорректированные значения OD_{550} для воздействия отдельными тестируемыми образцами и воздействия положительным контролем определяют путем вычитания среднего значения OD_{550} для холостых лунок из каждого из значений. Все расчеты проводят с использованием электронной таблицы Excel. Хотя обсуждаемые алгоритмы используют для расчета конечного показателя при анализе на групповом уровне обработки, те же расчеты могут применяться в отношении отдельных повторов.

Скорректированное значение OD_{550} для обработки тестируемым образцом=Значение OD_{550} для обработки тестируемым образцом -Среднее значение OD_{550} для холостого контроля

[0862] В случае использования инактивированного контроля (КС), для корректировки количества МТТ, самостоятельно восстановленного остаточными количествами тестируемого образца, проводят следующие дополнительные расчеты. Для определения действительных значений OD_{550} для инактивированных контролей, обработанных тестируемыми образцами, исходное значение OD_{550} для инактивированного контроля, обработанного отрицательным контролем, вычитают из исходных значений OD_{550} для каждого из инактивированных контролей, обработанных тестируемыми образцами.

Действительное значение OD_{550} для каждого КС, обработанного тестируемым образцом=Исходное значение OD_{550} для каждого КС, обработанного тестируемым образцом - Исходное значение OD_{550} для КС, обработанного отрицательным контролем

[0863] Действительные значения OD_{550} представляют собой количество МТТ, восстановленного путем самостоятельного восстановления остаточными количествами тестируемого образца при конкретных значениях времени воздействия. В общем, если действительное значение OD_{550} превышает 0,150, то для получения конечного скорректированного значения OD_{550} действительное значение восстановления МТТ

вычитают из скорректированных значений OD_{550} жизнеспособных обработанных тканей. Эти конечные скорректированные значения OD_{550} затем используют для определения выраженной в процентах жизнеспособности контрольных образцов.

Конечное скорректированное значение OD_{550}=скорректированное значение OD_{550} для обработанных тканей (жизнеспособных) - Действительное значение OD_{550} для обработанных тканей (KC)

[0864] В завершение, могут быть проведены следующие расчеты, выраженные в процентах к контролю:

Жизнеспособность (%) = [(Конечное скорректированное значение OD_{550} для тестируемого образца или положительного контроля)/(скорректированное среднее значение OD_{550} для отрицательного контроля)] × 100

Результаты

[0865] Результаты анализа с MelanoDerm™ представлены на Фиг. 16A-16K. В тканях, обработанных малассезином, соединением I и соединением II, продемонстрировано уменьшение пигментации на сутки 7 эксперимента. На Фиг. 17A-17K представлены 15-кратно увеличенные изображения образцов MelanoDerm™, подвергнутых указанной обработке.

Пример 13

Анализ с данио

Аналитические процедуры

[0866] Соединения: Соединения предоставляются спонсором исследования в виде эталонного маточного раствора (MS) в максимально возможной растворимой концентрации в воде/PBS или DMSO.

[0867] Стандартные методики сбора эмбрионов: Данио Phylonix AB получают путем естественного скрещивания или с использованием системы для массового получения эмбрионов (MEPS, Aquatic Habitats). На одну самку данио получают приблизительно 50 данио. Данио содержат при 28°C в воде для рыб. У данио проводится очистка (уборка мертвых данио) и сортировка по стадии развития. Поскольку данио получают питание из присоединенного желточного мешка, в течение 6 суток после оплодотворения (dpf) питание не требуется.

[0868] Растворимость соединений: Эталонный маточный раствор (MS) (используемый в наивысшей концентрации) разбавляют чистым DMSO до растворов с меньшей концентрацией (SS), т.е., 10, 50, 100, 200, 300 мМ, и т. д. Вода для рыб [200 мг растворимой морской соли (Aquarium Systems) на литр деионизированной воды; значение pH 6,6-7,0, поддерживаемое 2,5 мг/л нейтрального регулятора (Seachem Laboratories Inc.); проводимость 850-950 μS] производства Phylonix вносят в сосуд для тестирования в количестве 4 мл на сосуд.

[0869] Для получения раствора тестируемого соединения (TS), 4 мкл каждого SS добавляют непосредственно в воду для рыб. Пример: путем добавления 4 мкл 10 мМ SS в воду для рыб получат 10 мкМ TS; конечная концентрация DMSO составит 0,1%. В качестве

альтернативы, для получения такие же конечных концентраций TS и DMSO, 10 мкл ДР могут быть добавлены к 10 мл воды для рыб на емкость. Для вариантов анализа, при которых содержание DMSO может составлять до 1%, для получения 100 мкМ TS можно использовать 40 мкл SS. Если используется 10 мл воды для рыб, то для получения такие же конечных концентраций ИР и DMSO объем SS должен быть пропорционально увеличен. Раствор инкубируют при 28°C в течение отрезка времени, указанного для каждого варианта анализа, и ежесуточно визуально исследоваться на предмет наличия осадка.

[0870] Максимально переносимая концентрация (MTC): MTC (LC_{10}) используют в качестве стандартного критерия летальности соединения, определяемого с использованием 10 концентраций соединения. После определения максимально возможной растворимой концентрации соединения спонсором исследования выбирают 10 концентраций.

[0871] Тридцать содержащих хорион данио Phylonix AB дикого типа (~2 dpf) распределяют по лункам 6-луночных микропланшетов, содержащих 4 мл на лунку воды для рыб и DMSO в концентрации в диапазоне 0,1-1% в зависимости от растворимости соединения.

[0872] Вначале тестируют 10 концентраций (т.е. 0,01, 0,05, 0,1, 0,5, 1, 5, 10, 50, 100 и 500 мкМ, или вплоть до концентрации, разрешенной исходя из растворимости соединения). При необходимости, тестируют дополнительные концентрации, более высокие (до 2000 мкМ) или более низкие (до 0,001 мкМ).

[0873] Данио инкубируют с каждой концентрацией тестируемого соединения в темноте при 28°C в течение 3 суток. Необработанные и обработанные 0,1-1% DMSO данио используют в качестве аналитического контроля и контроля с несущей средой. Для расчета выраженной в процентах летальности, после обработки ежесуточно подсчитывают число мертвых данио, которые удаляют. На 5 dpf мертвых животных подсчитывают для расчета выраженной в процентах летальности (которая равна общему числу мертвых данио/30). Необходимо отметить, что в случае разложения мертвых данио, число мертвых данио вычисляют путем подсчета числа живых данио.

[0874] Для оценки MTC, кривые летальности получают путем построения графика зависимости выраженной в процентах летальности от концентрации с использованием программного обеспечения EXCEL. Для получения для МПК среднего значения и SD, эксперименты проводят в трех повторах.

[0875] Визуальная оценка эффекта соединения на пигментацию кожи данио: Пигментные клетки кожи данио, включая ксантофоры, иридофоры и меланофоры (меланоциты), происходят из клеток нервного гребня. У данио, дифференцированные предшественницы пигментных клеток кожи экспрессируют пигмент на ~24 hpf. Настоящее исследование сфокусировано на меланоцитах, которые экспрессируют меланин, черный пигмент на поверхности кожи. Меланоциты изначально появляются в виде небольших участков черного цвета на тыльной области головы. В процессе развития данио, число участков возрастает, и они сливаются с образованием полос, которые распространяются к области хвоста. В отличие от этого, мутантные данио-альбиносы демонстрируют

рассеянную пигментацию кожи. Соединения применяют на 2 dpf для оценки того, могут ли соединения блокировать непрерывный процесс пигментации эмбриона, который завершается на 5 dpf. Для каждого соединения тестируют три концентрации: MTC, 50% MTC и 25% MTC.

[0876] Тридцать самостоятельно вылупившихся данио Phylonix AB дикого типа (~2 dpf) обрабатывают каждой концентрацией соединения в течение 3 суток. Необработанные и обработанные 0,1% DMSO данио используют в качестве контролей. Положительный контроль: фенилтиомочевина (PTU, 0,03%).

[0877] Данио ежесуточно визуально исследуют с помощью препаровального светового микроскопа; обработанные соединениями и PTU данио сравнивают с контрольными данио, необработанными и обработанными несущей средой. Число данио со сниженной пигментацией ежесуточно подсчитывают и представляют в виде выраженной в процентах доли от числа исследуемых животных; предоставляют характерные изображения. Для определения концентрации соединения и времени обработки, оптимальных для снижения пигментации, путем построения графика зависимости выраженной в процентах доли данио со сниженной пигментаций кожи от времени (dpf) получают кинетическую кривую. Для определения значимости эффекта соединения, используют точный критерий Фишера ($P < 0,05$).

[0878] Дополнительная визуальная оценка эффекта соединения на пигментацию кожи данио проводят после обработки: 0,1, 1 и 3 мкМ. Тридцать самостоятельно вылупившихся данио Phylonix AB дикого типа (~2 dpf) обрабатывают каждой концентрацией соединения в течение 3 суток. Необработанные и обработанные 0,1% DMSO данио используют в качестве контролей. Положительный контроль: фенилтиомочевина (PTU, 0,003%). Данио ежесуточно визуально исследуют с помощью препаровального светового микроскопа; обработанные соединениями и PTU данио сравнивают с контрольными данио, необработанными и обработанными несущей средой.

[0879] На 5 dpf, число данио со сниженной пигментаций подсчитывают и представляют в виде выраженной в процентах доли от числа исследуемых животных; предоставляют характерные изображения. Для определения концентрации соединения и времени обработки, оптимальных для снижения пигментации, путем построения графика зависимости выраженной в процентах доли данио со сниженной пигментаций кожи от времени (dpf) получают кинетическую кривую. Для определения значимости эффекта соединения, используют точный критерий Фишера ($P < 0,05$).

[0880] Количественный эффект соединения на пигментацию кожи данио: На основании результатов визуальной оценки, для количественной оценки эффекта соединения на пигментацию кожи данио используют оптимальные условия (концентрация, время обработки соединением).

[0881] Двадцать данио Phylonix AB дикого типа на оптимальной стадии, определенной по результатам визуальной оценки, обрабатывают оптимальной концентрацией соединения. Необработанные и обработанные 0,1% DMSO данио

используют в качестве контролей. Положительный контроль: фенилтиомочевина (PTU, 0,03%).

[0882] Вид сверху целой рыбки данио получали с использованием камеры SPOT с 2× увеличением. Дорсальный участок головы и туловища определяли как исследуемую область (ROI) путем функции выбора Adobe Photoshop. С использованием функции выделения Photoshop выделяют темную пигментацию кожи на ROI. С использованием функции гистограммы Photoshop определяют суммарный сигнал пигмента (PS) в пикселях.

[0883] Если соединение влияет на рост данио, то длина тела (L) и ширина туловища (W) будут меньше, что повлияет на площадь ROI и конечное значение PS. Поэтому, значение конечного сигнала (FS) нормируют с использованием формулы FS=PS/L×W.

[0884] Ожидается, что для необработанных и обработанных несущей средой данио будут получены аналогичные значения FS, что продемонстрирует, что несущая среда не обладает эффектом. Ожидается, что для обработанных PTU данио будут получены низкие значения FS, что валидизирует анализ. Обработанных соединениями данио сравнивают с контрольными данио, обработанными несущей средой.

[0885] Для определения того, является ли эффект соединения значимым ($P < 0,05$), среднее значение FS для обработанных соединениями данио сравнивают со средним значением FS для обработанных несущей средой данио с использованием t-критерия Стьюдента.

[0886] Дополнительную количественную оценку эффекта соединения на пигментацию кожи данио проводят после обработки соединением в концентрациях 0,5 и 1,5 мкМ.

[0887] Двадцать данио Phylonix AB дикого типа обрабатывают соединением в концентрациях 0,5 и 1,5 мкМ. Необработанных и обработанных 0,1% DMSO данио используют в качестве контролей. Положительный контроль: фенилтиомочевина (PTU, 0,003%).

[0888] Вид сверху целой рыбки данио получали с использованием камеры SPOT с 2× увеличением. Дорсальный участок головы и туловища определяли как исследуемую область (ROI) путем функции выбора Adobe Photoshop. С использованием функции выделения Photoshop выделяют темную пигментацию кожи на ROI. С использованием функции гистограммы Photoshop определяют суммарный сигнал пигмента (PS) в пикселях.

[0889] Если соединение влияет на рост данио, то длина тела (L) и ширина туловища (W) будут меньше, что повлияет на площадь ROI и конечное значение PS. Поэтому, значение конечного сигнала (FS) нормируют с использованием формулы FS=PS/L×W.

[0890] Ожидается, что для необработанных и обработанных несущей средой данио будут получены аналогичные значения FS, что продемонстрирует, что несущая среда не обладает эффектом. Ожидается, что для обработанных PTU данио будут получены низкие значения FS, что валидизирует анализ. Обработанных соединениями данио сравнивают с контрольными данио, обработанными несущей средой.

[0891] Для определения того, является ли эффект соединения значимым ($P < 0,05$),

среднее значение FS для обработанных соединениями данио сравнивают со средним значением FS для обработанных несущей средой данио с использованием t-критерия Стьюдента.

Результаты

[0892] Результаты визуальной оценки данио, обработанных соединением II, представлены на Фиг. 18A-18F и Фиг. 19A-19F. Таблица, обобщающая результаты части исследования с визуальной оценкой, представлена на Фиг. 20.

[0893] Количественная оценка исследуемых областей и результаты для данио, обработанных соединением II, представлены на Фиг. 21A-21E и Фиг. 22A-22B.

Пример 14

Стабильность малассезина и производных малассезина в DMSO и средах для культивирования клеток

[0894] Тестируемые соединения приготавливали в виде 100 мкМ растворов в DMSO и культуральной среде. Растворы инкубировали при комнатной температуре в течение 2 часов и анализировали методом LC-MS. Площадь пика использовали для оценки количества соединения, оставшегося в растворителе.

Результаты

[0895] Результаты LC-MS анализа представлены на Фиг. 23A-23J. Результаты демонстрируют, что соединения стабильны в культуральной среде после инкубации в течение 2 часов.

Пример 15

Синтез малассезина и производных малассезина

[0896] Малассезин (CV-8684), его циклизованное производное индоло[3,2-b]карбазол (CV-8685), соединение I (CV-8686), соединение IV (CV-8687), соединение II (CV-8688) и предшественник малассезина синтезировали в соответствии с методиками, описанными в заявке на патент США № 15/455,932, опубликованной в виде публикации патента США № 2017/0260133 A1, которые обе включены во всей их полноте в настоящий документ посредством ссылки.

Синтез соединения C (CV-8802)

Синтез соединения 10

[0897] Как представлено на Фиг. 24A, к раствору 2-йод-4-метиланилина (10 г, 0,0429 моль) в тетрагидрофуране (200 мл) при 0°C медленно добавляли NaHMDS (94,42 мл, 1 M в THF, 0,0944 моль), поддерживая внутреннюю температуру ниже 5°C в течение 30 мин. После 30 мин перемешивания при 0°C, медленно добавляли раствор BOC-ангидрида (10,29 г, 0,0472 моль) в THF (50 мл), поддерживая внутреннюю температуру ниже 5°C в течение 30 мин. Реакционную смесь нагревали до комнатной температуры и перемешивали в течение 1 ч. Для гашения реакционной смеси добавляли насыщенный NH_4Cl (200 мл). Органический слой разделяли и промывали водой (200 мл). Объединенный водный слой экстрагировали этилацетатом (2×150 мл), и разделяли слои. Этилацетатный слой объединяли с органическим слоем и концентрировали в условиях вакуума с получением

коричневого масла. Неочищенное соединение очищали методом колоночной хроматографии (0-5% этилацетат в гексанах). Соединение 10 получали в виде светло-желтой жидкости (13,1 г, 91%).

Синтез соединения 11

[0898] Бут-3-ин-2-ол (25 мл, 0,319 моль), растворенный в DMF (100 мл), при 0°C добавляли к NaH (19,2 г, 0,478 моль) в DMF (100 мл). К реакционной смеси в течение 30 мин добавляли DMS (45,2 мл, 0,478 моль), и перемешивали при 0°C в течение 30 мин. Реакционную смесь нагревали до комнатной температуры и перемешивали в течение 1 ч, затем охлаждали до 10°C, добавляли уксусную кислоту (19,2 мл, 0,319 моль) в течение 10 мин, и перемешивали в течение 1 ч. Реакционную смесь разбавляли водой (600 мл) и экстрагировали диэтиловым эфиром (400 мл). Органические слои разделяли, сушили над безводным сульфатом натрия, фильтровали и концентрировали. Целевое соединение отгоняли при 64-68°C с получением 7 г чистого соединения 11 (выход 23%).

Синтез соединения 12

[0899] К дегазированному раствору соединения 10 (6,0 г, 0,018 моль) и соединения 11 (1,81 г, 0. 0216 моль) в триэтиламине (100 мл) при комнатной температуре добавляли йодид меди (0,34 г, 0,0018 моль) и $PdCl_2(PPh_3)_4$ (0,6323 г, 0,0009 моль), и перемешивали в течение 6 ч. Реакция была завершена (отслеживали методом TLC с использованием 10% этилацетата в гексанах). Реакционную смесь разбавляли этилацетатом (200 мл), реакционную смесь промывали водой, насыщенным NaCl (100 мл) и сушили над Na_2SO_4. Растворитель фильтровали и концентрировали в условиях вакуума с получением коричневого масла. Неочищенное соединение очищали методом колоночной хроматографии (10% этилацетат в гексане). Соединение 12 получали в виде светло-желтой жидкости (4,8 г, 96%).

Синтез соединения 13

[0900] В круглодонную колбу загружали $PtCl_2$ (0,44 г, 0,00166 моль), Na_2CO_3 (2,64 г, 0,0249 моль), индол (3,89 г, 0,0332 моль) и соединение 12 (4,8 г, 0,0166 моль) в диоксане (200 мл). Колбу дегазировали азотом, герметизировали и нагревали до 100°C в течение ночи. Растворитель упаривали в условиях пониженного давления. Реакционную смесь разбавляли этилацетатом (300 мл), реакционную смесь промывали водой (200 мл), насыщенным NaCl (200 мл) и сушили над Na_2SO_4. Растворитель фильтровали и концентрировали в условиях вакуума с получением коричневого масла. Неочищенное соединение очищали методом колоночной хроматографии (10% этилацетат в гексане). Соединение 13 получали в виде светло-коричневого твердого вещества (2,04 г, 34%).

Синтез соединения 14

[0901] К раствору соединения 13 (2,0 г, 0,0055 моль) в смеси метанола (30 мл) и воды (10 мл) при температуре окружающей среды добавляли карбонат калия (2,3 г, 0,0166 моль). Полученную суспензию нагревали до температуры возгонки в течение ночи. Реакционную смесь охлаждали до температуры окружающей среды, и концентрировали раствор в условиях вакуума. Остаток переносили в этилацетат (100 мл) и промывали водой (100 мл)

и солевым раствором (100 мл), а затем сушили (над сульфатом натрия), фильтровали, и концентрировали растворитель в условиях вакуума с получением коричневого твердого вещества. Неочищенное соединение очищали методом колоночной хроматографии (20% этилацетат в гексане). Соединение 14 получали в виде не совсем белого твердого вещества (0,8 г, 54%).

Синтез соединения C

[0902] В высушенную двугорлую круглодонную колбу емкостью 100 мл в атмосфере аргона при 0°C добавляли диметилформамид (5 мл). Медленно добавляли $POCl_3$ (246 мг, 1,6058 ммоль), поддерживая внутреннюю температуру ниже 5°C в течение 10 мин. После 30 мин перемешивания при 0°C, медленно добавляли раствор соединения 14 (400 мг, 1,459 ммоль) в диметилформамиде (2 мл), поддерживая внутреннюю температуру ниже 5°C в течение 10 мин. Полученную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение ночи. После завершения реакции (отслеживали методом TLC с использованием 20% этилацетата в гексанах), реакционную смесь вливали в насыщенный водный раствор бикарбоната натрия (100 мл) и перемешивали в течение 1 ч. Полученную смесь экстрагировали этилацетатом (2×100 мл). Органические слои объединяли и промывали водой (100 мл), насыщенным NaCl (100 мл) и сушили над Na_2SO_4. Растворитель фильтровали и концентрировали в условиях вакуума с получением коричневого твердого вещества. Неочищенное соединение очищали методом колоночной хроматографии (0-20% этилацетат в гексанах).

[0903] В некоторых экспериментах, результатом данной методики являлась композиция, содержащая одно или несколько соединений из числа соединения C, соединения C1 и соединения C2 («неизвестная композиция»).

Синтез соединения K (CV-8803)

[0904] Как представлено на Фиг. 24B, раствор малассезина (40 мг, 0,146 ммоль) в MeOH (5 мл) охлаждали до 0°C. К этому раствору при 0°C добавляли $NaBH_4$ (27,6 мг, 0,729 ммоль), и энергично перемешивали. Спустя 3 ч, реакционную смесь нагревали до комнатной температуры и удаляли метанол на роторном испарителе. Реакционную смесь разбавляли DCM (20 мл) и промывали 20% уксусной кислотой в воде (20 мл) и солевым раствором (20 мл). Органические слои разделяли и сушили над безводным сульфатом натрия. Твердые вещества отфильтровывали, и концентрировали фильтрат с получением 34 мг соединения K.

Синтез соединения A (CV-8804)

[0905] Как представлено на Фиг. 24C, раствор соединения II (120 мг, 0,417 ммоль) в MeOH (5 мл) охлаждали до 0°C. К этому раствору при 0°C добавляли $NaBH_4$ (78,75 мг, 2,083 ммоль), и энергично перемешивали. Спустя 3 ч, реакционную смесь нагревали до комнатной температуры, и удаляли метанол на роторном испарителе. Реакционную смесь разбавляли DCM (20 мл) и промывали 20% уксусной кислотой в воде (20 мл) и солевым раствором (20 мл). Органические слои разделяли и сушили над безводным сульфатом натрия. Твердые вещества отфильтровывали, и концентрировали фильтрат с получением

101 мг соединения A.

Синтез соединения E (AB12508)

[0906] Как представлено на Фиг. 24D, к индолу 1 (10 г, 85,4 ммоль) в MeOH (350 мл) добавляли циклопропилальдегид 2 (2,5 г, 35,6 ммоль), а затем 1н водный раствор HCl (178 мл), и нагревали до 70°C в течение 1 ч. Растворитель удаляли, экстрагировали DCM (2×), сушили над Na_2SO_4 и концентрировали. Путем разделения вещества методом FCC получали 2,47 г светло-оранжевого твердого вещества в виде смеси изомеров 1,0:0,73 (2:3':3:3').

[0907] Полученную смесь (1,44 г, 5,0 ммоль) в DMF (10 мл) при 0°C добавляли к $POCl_3$ (947 мг, 6,0 ммоль) в DMF (15 мл). Реакционную смесь нагревали до комнатной температуры и перемешивали в течение ночи. Затем, смесь гасили добавлением $NaHCO_3$ (нас.), экстрагировали EtOAc (2×), сушили над Na_2SO_4 и очищали методом FCC, а затем препаративной HPLC. После лиофилизации получали светло-зеленое твердое вещество (286 мг).

[0908] $[M+H]^+$=315; $[M-H]^-$=313. ^{1}H-ЯМР ($CDCl_3$): 10,34 (с, 1H), 8,37 (ушир. с, 1H), 8,33 (д, J=7,5 Гц, 1H), 8,23 (ушир. с, 1H), 7,47 (м, 1H), 7,40 (д, J=8,4 Гц, 1H), 7,24-7,29 (м, 2H), 7,16-7,23 (м, 3H), 6,97 (т, J=7,5 Гц, 1H), 4,45 (д, J=8,7 Гц, 1H), 1,48-1,59 (м, 1H), 0,84-0,93 (м, 1H), 0,62-0,71 (м, 1H), 0,47-0,60 (м, 2H).

Синтез соединения A5 (CV-8819)

Синтез соединения 3

[0909] Как представлено на Фиг. 24E, раствор 1-(фенилсульфонил)индола (1,1 г, 0,00389 моль) в THF (20 мл) охлаждали до -78°C. К раствору добавляли *t*-BuLi (2,52 мл, 0,00428 моль), и перемешивали в течение 30 мин. Реакционную смесь медленно нагревали до 0°C. После достижения 0°C, реакционную смесь обратно охлаждали до -78°C. К этой смеси в течение 30 мин добавляли раствор N-BOC-3-формилиндола (0,953 г, 0,00389 моль) в THF (5 мл). Реакционную смесь нагревали до 0°C и гасили добавлением воды (5 мл) при 0°C. Реакционную смесь промывали водой (100 мл) и солевым раствором (100 мл), и экстрагировали этилацетатом (250 мл). Органические слои разделяли, сушили над безводным сульфатом натрия, фильтровали и концентрировали. Неочищенную реакционную смесь очищали методом колоночной хроматографии (0-15% этилацетат в гексанах). Целевые фракции объединяли и концентрировали с получением 1,7 г чистого соединения 3 в виде не совсем белого твердого вещества (выход 87%).

Синтез соединения 4

[0910] К раствору соединения 3 (500 мг, 0,996 ммоль) в DMSO (5 мл) при комнатной температуре добавляли IBX (334,6 мг, 1,195 ммоль), и перемешивали в течение 18 ч. Реакционную смесь разбавляли этилацетатом (25 мл) и промывали водой (2×25 мл) и солевым раствором (25 мл). Органические слои разделяли, сушили над безводным сульфатом натрия, фильтровали и концентрировали (получали 444 мг, выход 89%). Неочищенную реакционную смесь была достаточно чистой, и ее переносили на следующую стадию без очистки.

Синтез соединения 5

[0911] Раствор соединения 4 (110 мг, 0,22 ммоль), TBAF (1 М в THF) (220 мкл, 0,22 ммоль) и THF (3 мл) нагревали с обратным холодильником в течение 1 ч и охлаждали до комнатной температуры. Летучие вещества удаляли на роторном испарителе, разбавляли этилацетатом (25 мл) и промывали водой (25 мл) и солевым раствором (25 мл). Органические слои разделяли, сушили над безводным сульфатом натрия, фильтровали и концентрировали. Неочищенную реакционную смесь очищали методом колоночной хроматографии (0-10% этилацетат в гексанах). Целевые фракции объединяли и концентрировали с получением 60 мг чистого соединения 5 в виде не совсем белого твердого вещества (выход 75%).

Синтез соединения 6

[0912] Раствор соединения 5 (500 мг, 1,388 ммоль), CMMC (472,2 мг, 2,79 ммоль) в дихлорэтане (10 мл) нагревали до 50°C в течение 30 мин. Реакционную смесь охлаждали до комнатной температуры и вливали в ледяную воду (50 мл), промывали 0,5 М NaOH (15 мл) и солевым раствором (25 мл), и экстрагировали дихлорметаном (25 мл). Органические слои разделяли, сушили над безводным сульфатом натрия, фильтровали и концентрировали. Неочищенную реакционную смесь очищали методом колоночной хроматографии (0-20% этилацетат в гексанах). Целевые фракции объединяли и концентрировали с получением 198 мг чистого соединения 6 в виде не совсем белого твердого вещества (выход 36,5%).

Синтез соединения A5

[0913] Соединение 6 (198 мг, 0,5103 ммоль) растворяли в метаноле (5 мл). К этому раствору добавляли K_3PO_4 (216,37 мг, 1,021 ммоль), и нагревали с обратным холодильником в течение 30 мин. Реакционную смесь охлаждали до комнатной температуры, и удаляли летучие вещества на роторном испарителе. Остаток растворяли в этилацетате (25 мл) и промывали водой (2×25 мл). Органические слои разделяли, сушили над безводным сульфатом натрия, фильтровали и концентрировали. Полученные твердые вещества энергично перемешивали в диэтиловом эфире (10 мл) в течение 1 ч и отфильтровывали с получением соединения A5 (97 мг, выход 66%).

Синтез соединения H (AB12509)

[0914] Как представлено на Фиг. 24F, при -78°C *н*-бутиллитий (2,5 М в гексане, 5,5 мл, 13,7 ммоль) по каплям добавляли к раствору 1-фенилсульфонилиндола 2 (3,05 г, 11,9 ммоль) в безводном THF (75 мл). После перемешивания раствора в течение 1 ч при комнатной температуре, раствор снова охлаждали до -78°C, и медленно добавляли 3-формилиндол 1 (3,35 г, 13,7 ммоль) в безводном THF (45 мл). Реакционную смесь нагревали до комнатной температуры в течение ночи. Затем, добавляли MeI (15 экв., 11,1 мл), и нагревали реакционную смесь до 50°C в течение 9 ч. Гасил добавлением H_2O, экстрагировали EtOAc, сушили над Na_2SO_4 и концентрировали. Методом FCC (SiO_2, 5% EtOAc в гексанах) получали 4,02 г соединения 3 в виде белого рыхлого твердого вещества.

[0915] К раствору бис-индола 3 (2 г, 3,9 ммоль) в THF (20 мл) добавляли TBAF (1 М в THF, 5,9 мл, 1,5 экв.) и нагревали до 70°C в течение 14 ч. Гасили добавлением

насыщенного NH_4Cl, экстрагировали EtOAc (2×), промывали H_2O и солевым раствором. В этот момент, добавляли 22 мл DMF, и удаляли большую часть EtOAc в условиях пониженного давления. Неочищенную смесь использовали на следующей стадии.

[0916] Полученное неочищенное вещество при комнатной температуре в течение 1,5 ч медленно добавляли к раствору $POCl_3$ (3,6 мл, 10 экв.) в DMF (20 мл). После завершения добавления, реакционную смесь перемешивали дополнительно в течение 30 мин, а затем гасили добавлением насыщенного $NaHCO_3$ при 0°C, экстрагировали EtOAc (3×), промывали солевым раствором и концентрировали. Методом FCC (SiO_2, 15% EtOAc в гексане) получали 881 мг бис-индола 5 в виде ярко-желтого твердого вещества.

[0917] К раствору бис-индола 5 (350 мг) в MeOH:H_2O (9:1, 17,4 мл) добавляли K_2CO_3 (456 мг, 3,5 экв.), и нагревали до 75°C в течение 1 ч. Растворитель удаляли, вещество разбавляли водой, экстрагировали DCM (2×) и концентрировали. Неочищенную смесь очищали методом препаративной HPLC (10-100% H_2O/CH_3CN, 20 мл/мин, 30 мин) и лиофилизировали с получением 134 мг AB12509 в виде белого твердого вещества.

Синтез соединения B (CV-8877)

Синтез соединения 7

[0918] Как представлено на Фиг. 24G, раствор соединения II (1 г, 0,0034 моль) в THF (10 мл) охлаждали до 0°C. К этому раствору добавляли BOC-ангидрид (1,51 г, 0,0069 моль) и DMAP (848 мг, 0,0069 моль), и перемешивали при 0°C. Реакционную смесь нагревали до комнатной температуры и перемешивали в течение 15 ч. Летучие вещества удаляли на роторном испарителе. Остаток разбавляли этилацетатом (100 мл) и промывали 1н HCl (50 мл), насыщенным водным бикарбонатом натрия (50 мл) и солевым раствором (50 мл). Органические слои разделяли, сушили над безводным сульфатом натрия, фильтровали и концентрировали. Неочищенную реакционную смесь очищали методом колоночной хроматографии (0-10% этилацетат в гексанах). Целевые фракции объединяли и концентрировали с получением 1,4 г чистого соединения 7 в виде не совсем белого твердого вещества (выход 83%).

Синтез соединения 8

[0919] Раствор соединения 7 (250 мг, 0,512 ммоль) в *t*-BuOH (10 мл) охлаждали до 0°C. К этому раствору добавляли 2-метил-2-бутен (10 мл), а затем добавляли $NaClO_2$ (1,5 г), NaH_2PO_4 (1,5 г) и воду (10 мл). Реакционную смесь медленно нагревали до комнатной температуры и энергично перемешивали при комнатной температуре в течение 15 ч. Реакционную смесь разбавляли CH_2Cl_2 (25 мл) и промывали водой (50 мл) и солевым раствором (25 мл). Органические слои разделяли, сушили над безводным сульфатом натрия, фильтровали и концентрировали с получением 235 мг соединения 8 (выход 91%). Неочищенная реакционная смесь была достаточно чистой, и ее переносили на следующую стадию без очистки.

Синтез соединения 9

[0920] К раствору соединения 8 (100 мг, 0,198 ммоль) в ацетоне (10 мл) при 0°C добавляли K_2CO_3 (83 мг, 0,595 ммоль) и метилйодид (30,97 мг, 0,218 ммоль). Реакционную

смесь нагревали до комнатной температуры и перемешивали в течение 5 ч. Реакционную смесь разбавляли этилацетатом (25 мл) и промывали водой (25 мл) и солевым раствором (25 мл). Органические слои разделяли, сушили над безводным сульфатом натрия, фильтровали и концентрировали с получением 91 мг соединения 9 (выход 89%). Неочищенная реакционная смесь была достаточно чистой, и ее переносили на следующую стадию без очистки.

Синтез соединения B

[0921] Соединение 9 (70 мг, 0,135 ммоль) растворяли в метаноле (5 мл). К этому раствору добавляли K_3PO_4 (57,3 мг, 0,27 ммоль), и нагревали с обратным холодильником в течение 30 мин. Реакционную смесь охлаждали до комнатной температуры, и удаляли летучие вещества на роторном испарителе. Остаток растворяли в этилацетате (25 мл) и промывали водой (2×25 мл). Органические слои разделяли, сушили над безводным сульфатом натрия, фильтровали и концентрировали. Полученные твердые вещества энергично перемешивали в диэтиловом эфире (10 мл) в течение 1 ч и отфильтровывали с получением соединения B (25 мг, выход 58%).

Синтез соединения B10

[0922] Как представлено на Фиг. 24H, соединение 8 (21 мг, 0,041 ммоль) растворяли в метаноле (3 мл). К этому раствору добавляли K_3PO_4 (17,6 мг, 0,083 ммоль), и нагревали с обратным холодильником в течение 30 мин. Реакционную смесь охлаждали до комнатной температуры, и удаляли летучие вещества на роторном испарителе. Остаток растворяли в этилацетате (25 мл) и промывали водой (2×25 мл). Органические слои разделяли, сушили над безводным сульфатом натрия, фильтровали и концентрировали. Полученный остаток очищали методом колоночной хроматографии (70-100% этилацетат в гексанах) и получали 7 мг соединения B10 (выход 55%).

Синтез соединения AB11644

[0923] Как представлено на Фиг. 24I, к раствору индола 1 (1,0 г, 8,54 ммоль) в CH_3CN (11,5 мл) и альдегида 2 (294 мг, 4,16 ммоль) добавляли I_2 (210 мг, 0,85 ммоль), и перемешивали реакционную смесь в течение 17 ч при к.т. Реакционную смесь гасили добавлением Na_2SO_3, экстрагировали EtOAc (2×), сушили над Na_2SO_4, очищали методом FCC (SiO_2, 10% EtOAc в гексанах), а затем препаративной HPLC, и лиофилизировали с получением 106 мг симметричного бис-индола 3 в виде белого твердого вещества.

[0924] $[M-H]^-$=385. ^{1}H-ЯМР ($CDCl_3$): 7,90 (ушир. с, 2H), 7,49 (д, J=7,6 Гц, 2H), 7,33 (д, J=7,6 Гц, 2H), 7,15 (т, J=7,0 Гц, 2H), 7,09 (д, J=2,3 Гц, 2H), 7,00 (т, J=7,0 Гц, 2H), 3,98 (д, J=8,0 Гц, 1H), 1,52-2,00 (м, 1H), 0,60-0,66 (м, 2H), 0,36-0,41 (м, 2H).

Синтез O52 (AB12976)

[0925] Как представлено на Фиг. 24J, к раствору соединения 1 (3,8 г) в DCM (38 мл) при 0°C добавляли TEA, DMAP, а затем Boc_2O. Смесь нагревали до к.т. (18-23°C) и перемешивали в течение 4 ч. Смесь концентрировали и очищали методом хроматографии на силикагеле (PE:EA=30:1~20:1~10:1~5:1) с получением соединения 2 (6 г, 96%) в виде желтого масла.

[0926] К раствору соединения 2 (6,6 г, 25,7 ммоль, 1,0 экв.) в ацетоне/H_2O (264 мл/64 мл) добавляли NMO (4,5 г, 38,6 ммоль, 1,5 экв.), OsO_4 (0,197 г, 2,57 ммоль, 0,03 экв.). Смесь перемешивали в течение ночи при к.т. (18-23°C). Смесь гасили добавлением $Na_2S_2O_3$ (200 мл) и перемешивали в течение 10 мин при к.т. Смесь экстрагировали EA (300 мл*3). Органические фазы объединяли, сушили над Na_2SO_4 и концентрировали с получением неочищенного соединения 3 (9 г) в виде коричневого масла, которое использовали на следующей стадии без дополнительной очистки.

[0927] К раствору соединения 3 (9,3 г, 31,9 ммоль, 1,0 экв.) в MeCN (80 мл) добавляли TEA (9,68 г, 95,9 ммоль, 3,0 экв.), а затем n-$C_4F_9SO_2F$ (14,45 г, 47,9 ммоль, 1,5 экв.) при 0°C. Смесь нагревали до к.т. (20-25°C) и перемешивали в течение 2 ч при к.т. К смеси добавляли воду (80 мл) и экстрагировали EA (150 мл*3). Органические фазы объединяли и сушили над Na_2SO_4. Органическую фазу концентрировали, и очищали остаток методом хроматографии на силикагеле (PE:EA=10:1~5:1~3:1) с получением соединения 4 (5 г, 57%) в виде желтого масла.

[0928] К раствору соединения 5 (1,84 г, 15,7 ммоль, 1,0 экв.) в DCM (18 мл) при 0°C по каплям добавляли MeMgBr (3 M) (10,47 мл, 31,4 ммоль, 2,0 экв.), и перемешивали раствор в течение 30 мин. Затем, раствор охлаждали до -20°C, и добавляли соединение 4 (3 г, 10,99 ммоль, 0,7 экв.) в DCM (18 мл). Смесь перемешивали в течение 3 ч при -20°C, а затем нагревали до к.т. и перемешивали в течение 1 ч. Реакционную смесь гасили добавлением NH_4Cl (водн.) (50 мл) и экстрагировали DCM (50 мл*2). Органические фазы объединяли и сушили над Na_2SO_4. Органическую фазу концентрировали, и очищали остаток методом хроматографии на силикагеле (PE:EA=10:1-5:1-3:1) с получением соединения 6 (3,2 г, 74%) в виде слегка желтого масла.

[0929] К раствору соединения 6 (3,2 г, 8,21 ммоль, 1,0 экв.) в DCM (300 мл) добавляли реагент Десс-Мартина (9,05 г, 21,33 ммоль, 2,6 экв.). Смесь нагревали до 45°C и перемешивали в течение ночи. Реакционную смесь гасили добавлением насыщенного $NaHCO_3$ (60 мл) и $Na_2S_2O_3$ (60 мл). Органическую фазу и водный слой разделяли, и экстрагировали водный слой Et_2O (100 мл*2). Органические фазы объединяли и сушили над Na_2SO_4. Органическую фазу концентрировали, и очищали остаток методом хроматографии на силикагеле (PE:EA=10:1-5:1-3:1) с получением соединения 7 (2,3 г, 71%) в виде оранжево-желтого твердого вещества.

[0930] К раствору соединения 7 (830 мг, 2,14 ммоль, 1,0 экв.) в DCM (16 мл) при 0°C добавляли TFA (4,876 г, 42,8 ммоль, 20 экв.). Смесь нагревали до к.т. и перемешивали в течение 1,5 ч при к.т. Растворитель удаляли в условиях вакуума, и растворяли остаток в DCM (15 мл). К раствору добавляли водный раствор бикарбоната натрия до завершения образования пузырьков. Раствор экстрагировали DCM (30 мл*3). Органические фазы объединяли и сушили над Na_2SO_4. Органическую фазу концентрировали, и очищали остаток методом хроматографии на силикагеле (PE:EA=20:1-10:1-5:1-3:1-2:1) с получением соединения AB12976 (140 мг, 22%) в виде коричневого твердого вещества.

[0931] TLC: PE:EA, Rf(7)=0,4, Rf(AB12976)=0,1; ^{1}H-ЯМР (400 МГц, $CDCl_3$) δ 8,08 (с,

2H), 7,47 (д, J=7,8 Гц, 2H), 7,31 (д, J=8,1 Гц, 2H), 7,20 (т, J=7,5 Гц, 2H), 7,11 (дд, J=7,8, 7,1 Гц, 2H), 6,97 (д, J=1,8 Гц, 2H), 3,90 (с, 4H). ^{13}C-ЯМР (101 МГц, $CDCl_3$) δ 207,34, 136,12, 127,30, 123,33, 122,17, 119,67, 118,69,, 111,25, 108,57, 38,58.

Синтез *Malassezia* индола A (AB17011)

[0932] Как представлено на Фиг. 24K, к раствору соединения 1 (20 г, 0,106 моль, 1,0 экв.) в DCM (20 мл) последовательно добавляли Boc_2O (24,4 г, 0,112 моль, 1,056 экв.), DMAP (646 мг, 5,29 ммоль, 0,05 экв.) и TEA (534 мг, 5,29 ммоль, 0,05 экв.). Смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 16 ч. Анализ реакционной смеси методом TLC обнаруживал полное преобразование до целевого продукта. Затем, смесь концентрировали в условиях пониженного давления, и очищали остаток методом хроматографии на силикагеле с получением соединения 2 (24 г, 78%).

[0933] К раствору соединения 2 (5 г, 17,30 ммоль, 1,0 экв.) и DBU (13,17 г, 86,51 ммоль, 5,0 экв.) в MeCN (50 мл) при 0°C добавляли P-ABSA (8,3 г, 34,60 ммоль, 2,0 экв.). Смесь оставляли нагреваться до комнатной температуры и перемешивали при комнатной температуре в течение 100 мин. Анализ реакционной смеси методом TLC обнаруживал полное преобразование до целевого продукта. Затем, смесь концентрировали в условиях пониженного давления, и очищали остаток методом хроматографии на силикагеле с получением соединения 3 (3,5 г, 63%).

[0934] К раствору соединения 3 (100 мг, 0,316 ммоль, 1,0 экв.) в MeOH (6 мл) добавляли раствор LiOH (7 мг, 0,316 ммоль, 1,0 экв.) в H_2O (0,32 мл). Смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 1 ч. Анализ реакционной смеси методом TLC обнаруживал полное преобразование до целевого продукта. Затем, смесь концентрировали в условиях пониженного давления с получением неочищенного соединения 4, которое непосредственно использовали на следующей стадии.

[0935] К раствору полученного на предыдущей стадии неочищенного соединения 4 в DMSO (2 мл) в атмосфере азота добавляли HATU (156 мг, 0,410 ммоль, 1,3 экв.). Затем, добавляли соединение 4a (81 мг, 0,316 ммоль, 1,0 экв.) и DIEA (123 мг, 0,950 ммоль, 3,0 экв.). Смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 15 ч. Анализ реакционной смеси методом TLC обнаруживал полное преобразование до целевого продукта. Затем, смесь разбавляли водой и экстрагировали этилацетатом. Органический слой сушили над безводным Na_2SO_4 и концентрировали в условиях пониженного давления. Остаток очищали методом хроматографии на силикагеле с получением соединения AB10758 (58 мг, 49%).

[0936] К перемешанному раствору соединения AB10758 (161,3 мг, 0,432 ммоль, 1,0 экв.) в MeOH (5 мл) добавляли раствор $LiOH{\cdot}H_2O$ (90,6 мг, 2,16 ммоль, 5,0 экв.) в H_2O (1 мл). Смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 3 ч. Анализ реакционной смеси методом TLC обнаруживал полное преобразование до целевого продукта. Затем, смесь концентрировали в условиях пониженного давления, и лиофилизировали остаток с получением соединения AB17011 (соль Li, 108 мг, колич.) в виде светло-желтого твердого вещества.

Синтез питириацитрина (AB17014)

[0937] Как представлено на Фиг. 24L, к раствору соединения 1 (5 г, 42,74 ммоль, 1,0 экв.) в безводном Et_2O (20 мл) при 0°C в атмосфере азота медленно добавляли $COCl_2$ (6,5 г, 0,201 моль, 2,2 экв.). После перемешивания в течение 1 ч при 0°C, смесь оставляли нагреваться до комнатной температуры и перемешивали при комнатной температуре в течение 0,5 ч. Анализ реакционной смеси методом TLC обнаруживал полное преобразование до целевого продукта. Затем, смесь концентрировали в условиях пониженного давления с получением неочищенного соединения 2 (9 г, 100%).

[0938] К раствору неочищенного соединения 2 (8 г, 38,28 ммоль, 1,0 экв.) в безводном EA (30 мл) при 0°C в атмосфере азота добавляли раствор Bu_3SnH (11,1 г, 38,28 ммоль, 1,0 экв.) в безводном EA (30 мл). После перемешивания в течение 0,5 ч при 0°C, смесь оставляли нагреваться до комнатной температуры и перемешивали при комнатной температуре в течение 1 ч. Анализ реакционной смеси методом TLC обнаруживал полное преобразование до целевого продукта. Затем, смесь разбавляли PE (80 мл) и фильтровали. Осадок на фильтре промывали PE с получением соединения 3 (3 г, 45%).

[0939] К раствору соединения 3a (1,53 г, 7,51 ммоль, 1,3 экв.) и TsOH (1,29 г, 7,51 ммоль, 1,3 экв.) в MeOH (10 мл) добавляли соединение 3 (1 г, 5,78 ммоль, 1,0 экв.). Смесь перемешивали при 50°C в течение 2 ч. Анализ реакционной смеси методом LCMS обнаруживал полное преобразование до целевого продукта. Затем, смесь концентрировали в условиях пониженного давления. Остаток очищали методом хроматографии на силикагеле и препаративной TLC (PE:ацетон=4:1) с получением соединения AB17014 (261 мг, 9%) в виде желтого твердого вещества.

[0940] ^{1}H-ЯМР (400 МГц, DMSO) δ 12,05 (д, J=52,6 Гц, 1H), 9,24 (с, 1H), 8,55 (д, J=4,7 Гц, 2H), 8,39 (д, J=4,7 Гц, 1H), 8,29 (д, J=8,0 Гц, 1H), 7,82 (д, J=8,1 Гц, 1H), 7,61-7,50 (м, 2H), 7,28 (дд, J=9,3, 5,1 Гц, 4H).

Синтез соединения AB17151

[0941] Как представлено на Фиг. 24M, к смеси соединения 1 (40,0 г, 341 ммоль, 1,0 экв.) в MeOH (1400 мл) добавляли соединение 2 (9,95 г, 142 ммоль, 0,417 экв.), а затем 1н водный раствор HCl (712 мл), и нагревали смесь до 70°C в течение 1 ч. Затем, MeOH удаляли в условиях вакуума, и растворяли остаток в DCM. Смесь промывали водой, и экстрагировали водный слой DCM. Объединенную органическую фазу сушили над Na_2SO_4 и концентрировали. Остаток очищали методом колоночной хроматографии на силикагеле (PE/EA, 20:1-5:1) с получением соединения 3 (7 г, 72%) в виде светло-оранжевого твердого вещества.

[0942] К смеси соединения 3 (7,0 г, 24,5 ммоль, 1,0 экв.) в DMF (48,6 мл) при 0°C добавляли раствор $POCl_3$ (3,78 г, 24,5 ммоль, 1,0 экв.) в DMF (59,8 мл). Реакционную смесь нагревали до к.т. (13-18°C) и перемешивали в течение ночи. Затем, смесь гасили добавлением $NaHCO_3$ (нас.), экстрагировали EtOAc (2×110 мл), сушили над Na_2SO_4 и концентрировали в условиях пониженного давления. Остаток очищали методом колоночной хроматографии на силикагеле (PE/EA, 7:1), а затем препаративной HPLC с получением соединения AB12508 (4,4 г, 57%) в виде светло-зеленого твердого вещества.

[0943] Смесь соединения AB12508 (4,5 г, 14,33 ммоль, 1,0 экв.), Boc_2O (14,06 г, 64,5 ммоль, 4,5 экв.), DMAP (388,5 мг, 1,433 ммоль, 0,1 экв.) и TEA (7,24 г, 71,65 ммоль, 5,0 экв.) в DCM (100 мл) нагревали до 50°C в течение 3 ч. Затем, смесь охлаждали до к.т. (13-18°C) и концентрировали. Остаток очищали методом колоночной хроматографии на силикагеле (PE/EA, 100:1~30:1) с получением соединения 4 (5,4 г, 73%).

[0944] К смеси соединения 4 (5,4 г, 10,5 ммоль, 1,0 экв.) в THF (50 мл) при к.т. (13-18°C) добавляли H_2O (20 мл), NaH_2PO_4 (4,586 г, 29,4 ммоль, 2,8 экв.) и $NaClO_2$ (2,85 г, 31,5 ммоль, 3,0 экв.). Смесь перемешивали при к.т. в течение 3 ч. Реакцию отслеживали методом TLC. Затем, смесь экстрагировали EA (3×50 мл), сушили над Na_2SO_4 и концентрировали. Остаток очищали методом колоночной хроматографии на силикагеле (PE/EA, 50:1-10:1) с получением соединения 5 (2,5 г, 45%).

[0945] К смеси соединения 5 (2,5 г, 4,717 ммоль, 1,0 экв.) и K_2CO_3 (0,976 г, 7,075 ммоль, 1,5 экв.) в DMF (20 мл) при к.т. (13-18°C) добавляли CH_3I (1,0 г, 7,075 ммоль, 1,5 экв.). Смесь перемешивали при 60°C в течение 1 ч. Реакцию отслеживали методом TLC. Затем, смесь разбавляли водой (20 мл). Смесь экстрагировали EA (3×50 мл), сушили над Na_2SO_4 и концентрировали. Остаток очищали методом колоночной хроматографии на силикагеле (PE/EA, 100:1-10:1) с получением соединения 6 (1,8 г, 70%).

[0946] Смесь соединения 6 (1,8 г, 3,3 ммоль, 1,0 экв.) в 3,0 M HCl/MeOH (20 мл) перемешивали при 60°C в течение 2 ч. Реакцию отслеживали методом TLC. Затем, MeOH удаляли в условиях вакуума, и растворяли остаток DCM. Смесь промывали водой, и экстрагировали водный слой DCM. Объединенную органическую фазу сушили над Na_2SO_4 и концентрировали. Остаток очищали методом колоночной хроматографии на силикагеле (PE/EA, 20:1-5:1) с получением соединения AB17151 (810 мг, с примесями), которое растирали с PE/EA (5 мл) с получением соединения AB17151 (680 мг, 60%) в виде не совсем белого твердого вещества.

[0947] ^{1}H-ЯМР (400 МГц, DMSO) δ 11,56 (с, 1H), 10,98 (с, 1H), 7,92 (дд, J=6,2, 3,1 Гц, 1H), 7,47 (д, J=1,6 Гц, 1H), 7,30 (ддд, J=8,0, 4,7, 3,1 Гц, 2H), 7,19 (д, J=7,7 Гц, 1H), 7,11-7,05 (м, 2H), 7,00-6,95 (м, 1H), 6,80 (ддд, J=8,0, 7,0, 1,0 Гц, 1H), 4,74 (д, J=9,9 Гц, 1H), 3,84 (с, 3H), 1,71-1,62 (м, 1H), 0,73 (т, J=6,9 Гц, 1H), 0,44 (т, J=9,3 Гц, 1H), 0,38-0,26 (м, 2H).

Синтез соединения VI (AB17225)

[0948] Как представлено на Фиг. 24N, к перемешанному раствору соединения 1 (600 мг, 2,308 ммоль, 1,0 экв.) в MeOH (10 мл) в атмосфере азота последовательно добавляли $MeSO_3H$ (27 мг, 0,281 ммоль, 0,12 экв.) и триэтилортоацетат (935 мг, 5,772 ммоль, 2,5 экв.). Смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 16 ч. Анализ реакционной смеси методом LCMS обнаруживал полное преобразование до целевого продукта. Затем, смесь фильтровали, и дважды промывали осадок на фильтре MeOH с получением соединения AB17225 (500 мг, 76%) в виде белого твердого вещества.

[0949] ^{1}H-ЯМР (400 МГц, DMSO) δ 11,03 (с, 1H), 10,81 (с, 1H), 8,20 (д, J=7,8 Гц, 1H), 8,02 (д, J=7,8 Гц, 1H), 7,88 (с, 1H), 7,44 (д, J=7,5 Гц, 1H), 7,34 (т, J=7,6 Гц, 1H), 7,25 (с, 1H), 7,11 (т, J=7,5 Гц, 1H), 6,92 (д, J=8,1 Гц, 1H), 3,35 (д, J=2,3 Гц, 3H), 3,00 (с, 3H).

Malassezia молочная кислота (AB17227)

[0950] Как представлено на Фиг. 24O, к смеси соединения 1 (15,0 г, 57,5 ммоль, 1,0 экв.) в диоксане (200 мл) добавляли индол (13,5 г, 115,0 моль, 2,0 экв.), трис(пентафторфенил)фосфин (6,1 г, 11,4 ммоль, 0,2 экв.), Na_2CO_3 (9,1 г, 86,2 ммоль, 1,5 экв.) и $PtCl_2$ (1,5 г, 5,7 ммоль, 0,1 экв.). Колбу дегазировали азотом, герметизировали и нагревали до 100°C в течение ночи. Реакцию отслеживали методом TLC. Растворитель упаривали в условиях пониженного давления. Остаток разбавляли этилацетатом (200 мл) и промывали водой и насыщенным NaCl. Раствор концентрировали в условиях вакуума. Неочищенное соединение очищали методом колоночной хроматографии (PE:EA, 200:1~100:1) с получением соединения 2 (8,3 г, 46,7%) в виде коричневого твердого вещества.

[0951] К раствору соединения 2 (7,4 г, 21,4 ммоль, 1,0 экв.) в MeOH (350 мл) и воде (125 мл) при к.т. добавляли K_2CO_3 (11,8 г, 85,6 ммоль, 4,0 экв.). Смесь перемешивали при 90°C в течение ночи. Реакцию отслеживали методом TLC. Реакционную смесь охлаждали до температуры окружающей среды, и концентрировали раствор в условиях вакуума. Затем, остаток растворяли в этилацетате (500 мл) и промывали водой и солевым раствором. Раствор концентрировали в условиях вакуума. Неочищенное соединение очищали методом колоночной хроматографии (P:E, 50:1~20:1 ~ PE:EA:DCM, 10:1:1) с получением соединения 3 (4,1 г, 77,9%) в виде желтого твердого вещества.

[0952] К раствору соединения 3 (2,8 г, 11,4 ммоль, 1,0 экв.) и $Yb(CF_3SO_2)_3$ (2,1 г, 3,4 ммоль, 0,3 экв.) в DCE (40 мл) в атмосфере N_2 добавляли соединение 4 (1,4 г, 13,7 ммоль, 1,2 экв.). Смесь перемешивали при 80°C в течение 2 ч. Реакцию отслеживали методом TLC. Реакционную смесь гасили добавлением нас. Na_2CO_3 (40 мл), и подкисляли раствор добавлением 2 M HCl. Раствор экстрагировали DCM (3×40 мл), и объединенные органические слои промывали солевым раствором (40 мл), сушили (Na_2SO_4) и концентрировали с получением неочищенного соединения 5 (2,45 г, 90,7%) в виде розового твердого вещества.

[0953] К раствору соединения 5 (690 мг, 1,95 ммоль, 1,0 экв.) в MeOH (40 мл) и воде (10 мл) добавляли NaOH (0,15 г, 3,9 ммоль, 2,0 экв.). Смесь перемешивали при к.т. в течение 2,5 ч. Реакцию отслеживали методом TLC. Реакционную смесь сушили (Na_2SO_4) и концентрировали. Остаток подкисляли добавлением 2 M HCl. Раствор экстрагировали DCM (3×150 мл), объединенные органические слои промывали солевым раствором (150 мл), сушили (Na_2SO_4) и концентрировали. Остаток очищали методом препаративной HPLC с получением соединения AB17227 (330 мг, 51%) в виде пурпурного твердого вещества.

[0954] TLC: DCM:MeOH=10:1, Rf(5)=0,9, Rf(AB17227)=0,2

[0955] ^{1}H-ЯМР (400 МГц, DMSO) δ 10,84(с, 1H), 10,57 (с, 1H), 7,49-7,43(дд, J1=8,0 Гц, J2=7,2 Гц, 2H), 7,32-7,30(д, J=8,0 Гц, 1H), 7,20-7,18(д, J=7,6 Гц, 1H), 7,10-7,09 (м, 1H), 7,05-7,01(м, 1H), 6,95-6,87(м, 3H), 4,19-4,10(м, 3H), 3,17-3,12(м, 1H), 2,98-2,94(м, 1H).

Синтез соединения AB12507

[0956] Как представлено на Фиг. 24P, раствор соединения 1 (25 г, 357 ммоль, 1,0 экв.)

в THF (250 мл) при 0°C в атмосфере азота добавляли к NaH (17 г, 428,4 ммоль, 1,2 экв.) в DMF (200 мл). Спустя 30 мин, при 0°C к смеси добавляли диметилсульфат (81 г, 642 ммоль, 1,8 экв.). После добавления, реакционную смесь перемешивали в течение 30 мин при температуре окружающей среды, а затем медленно добавляли уксусную кислоту. Продукт отгоняли непосредственно из реакционной смеси. Получали соединение 2 (25 г, 83%).

[0957] Раствор соединения 3 (20 г, 86 ммоль, 1,0 экв.) в THF (200 мл) при 0°C добавляли к 2 M NaHMDS (94,6 мл, 189,2 ммоль, 2,2 экв.). Смесь перемешивали при 0°C в течение 30 мин. Смесь при 0°C добавляли к Boc_2O (21 г, 94,6 ммоль, 1,1 экв.) в THF (200 мл) в течение 40 мин. Смесь перемешивали при к.т. в течение 1 ч. Затем, к смеси добавляли насыщенный NH_4Cl, экстрагировали EA (3×200 мл), и промывали реакционную смесь водой. Органический слой промывали солевым раствором. Остаток сушили над Na_2SO_4 и концентрировали в условиях пониженного давления. Остаток очищали методом колоночной хроматографии на силикагеле (PE/EA, 60:1-50:1) с получением соединения 4 (18 г, 83%).

[0958] К дегазированному раствору соединения 4 (1,0 г, 3 ммоль, 1,0 экв.) в TEA (10 мл) добавляли CuI (57 мг, 0,3 ммоль, 0,1 экв.) и $PdCl_2(PPh_3)_4$ (105 г, 0,15 ммоль, 0,05 экв.). Смесь перемешивали при к.т. в течение 2 ч. в атмосфере азота. Реакцию отслеживали методом TLC. Реакционную смесь разбавляли EA (3×10 мл), реакционную смесь промывали водой, насыщенным NaCl и сушили над Na_2SO_4. Растворитель фильтровали и концентрировали в условиях вакуума с получением коричневого масла. Неочищенное соединение очищали методом колоночной хроматографии (PE/EA, 60:1-50:1) с получением соединения 5 (900 мг, 100%).

[0959] Раствор соединения 5 (5 г, 17 ммоль, 1,0 экв.), $PtCl_2$ (900 мг, 1,7 ммоль, 0,1 экв.), Na_2CO_3 (2,7 г, 25,5 ммоль, 1,5 экв.) и индола (4,0 г, 34 ммоль, 2,0 экв.) в диоксане (50 мл) нагревали с обратным холодильником при 100°C в течение 12 ч в атмосфере азота. Реакцию отслеживали методом TLC. Растворитель упаривали в условиях пониженного давления. Реакционную смесь разбавляли EA (3×50 мл), реакционную смесь промывали водой, насыщенным NaCl и сушили над Na_2SO_4. Растворитель фильтровали и концентрировали в условиях вакуума. Неочищенное соединение очищали методом колоночной хроматографии (PE/EA, 50:1-40:1) с получением соединения 6 (3 г, 80%).

[0960] Раствор соединения 6 (3 г, 8 ммоль, 1,0 экв.) в метаноле (75 мл) и воде (25 мл) при к.т. добавляли к K_2CO_3 (3,8 г, 0,027 моль). Полученную суспензию нагревали до температуры возгонки в течение ночи. Реакцию отслеживали методом TLC. Реакционную смесь охлаждали до к.т., и концентрировали раствор в условиях вакуума. Остаток переносили в этилацетат (200 мл) и промывали водой и солевым раствором, а затем сушили (сульфат натрия), фильтровали, концентрировали растворитель в условиях вакуума. Неочищенное соединение очищали методом колоночной хроматографии (PE/EA, 50:1-20:1) с получением соединения 7 (1,5 г, 75%).

[0961] Раствор $POCl_3$ (73 мг, 0,48 ммоль, 1,2 экв.) в DMF (1 мл) перемешивали при 0°C в течение 30 мин. Смесь добавляли к соединению 7 (100 мг, 0,4 ммоль, 1,0 экв.) в DMF

(1 мл). Смесь перемешивали при к.т. в течение 12 ч. Реакцию отслеживали методом TLC. Реакционную смесь вливали в насыщенный водный раствор бикарбоната натрия (2 мл) и перемешивали в течение 1 ч. Полученную смесь экстрагировали EA (2×2 мл). Органические слои объединяли, промывали водой и насыщенным NaCl, и сушили над Na_2SO_4. Растворитель фильтровали и концентрировали в условиях вакуума. Остаток очищали методом препаративной TLC с получением AB12507 (60 мг, 50%).

Синтез соединения V (AB17219)

[0962] Как представлено на Фиг. 24Q, к раствору соединения 1 (20 г, 91,32 ммоль, 1,0 экв.) в THF (200 мл) при 0°C в атмосфере азота медленно добавляли NaHMDS (2 M в THF, 94,6 мл, 0,201 моль, 2,2 экв.). После перемешивания в течение 0,5 ч при 0°C, при 0°C медленно добавляли раствор $(Boc)_2O$ (21 г, 0,100 моль, 1,1 экв.) в THF (40 мл). Смесь оставляли нагреваться до комнатной температуры и перемешивали при комнатной температуре в течение 1 ч. Анализ реакционной смеси методом TLC обнаруживал полное преобразование до целевого продукта. Затем, смесь гасили добавлением насыщенного NH_4Cl (200 мл) и экстрагировали этилацетатом. Органический слой сушили над безводным Na_2SO_4 и концентрировали в условиях пониженного давления. Остаток очищали методом хроматографии на силикагеле (PE:EA=100%-30:1) с получением соединения 2 (18 г, 62%) в виде желтого масла.

[0963] К раствору соединения 2 (1 г, 3,13 ммоль, 1,0 экв.) и соединения 2a (0,24 г, 3,43 ммоль, 1,1 экв.) в TEA (10 мл) при комнатной температуре в атмосфере азота последовательно добавляли CuI (60 мг, 0,316 ммоль, 0,1 экв.) и $Pd(PPh_3)_2Cl_2$ (44 мг, 0,0627 ммоль, 0,02 экв.). Смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 2 ч. Анализ реакционной смеси методом TLC обнаруживал полное преобразование до целевого продукта. Затем, смесь разбавляли водой и экстрагировали этилацетатом. Органический слой сушили над безводным Na_2SO_4 и концентрировали в условиях пониженного давления. Остаток очищали методом хроматографии на силикагеле (PE:EA=100%-50:1) с получением соединения 3 (720 мг, 93%) в виде желтого масла.

[0964] К раствору соединения 3 (1 г, 3,83 ммоль, 1,0 экв.) в диоксане (25 мл) в атмосфере азота добавляли 10% $PtCl_2$ (0,1 г, 0,376 ммоль, 0,1 экв.), 5-метилиндол (1 г, 7,63 ммоль, 2,0 экв.), трис(пентафторфенил)фосфин (407 мг, 0,765 ммоль, 0,2 экв.) и Na_2CO_3 (0,61 г, 5,75 ммоль, 1,5 экв.). Смесь перемешивали при 100°C в течение 16 ч. Анализ реакционной смеси методом TLC обнаруживал полное преобразование до целевого продукта. Затем, смесь разбавляли водой и экстрагировали этилацетатом. Органический слой сушили над безводным Na_2SO_4 и концентрировали в условиях пониженного давления. Остаток очищали методом хроматографии на силикагеле (PE:EA=100%-6:1) с получением соединения 4 (500 мг, 93%) в виде желтого масла.

[0965] К раствору соединения 4 (785 мг, 2,18 ммоль, 1,0 экв.) в $MeOH/H_2O$ (20 мл/10 мл) добавляли K_2CO_3 (1,2 г, 8,70 ммоль, 4,0 экв.). Смесь перемешивали при 90°C в течение 16 ч. Анализ реакционной смеси методом TLC обнаруживал полное преобразование до целевого продукта. Затем, смесь разбавляли водой и экстрагировали этилацетатом.

Органический слой сушили над безводным Na_2SO_4 и концентрировали в условиях пониженного давления. Остаток очищали методом хроматографии на силикагеле (PE:EA=100%-6:1) с получением соединения 5 (360 мг, 93%).

[0966] К перемешанному раствору соединения 5 (0,85 г, 3,27 ммоль, 1,0 экв.) в MeOH (10 мл) в атмосфере азота последовательно добавляли $MeSO_3H$ (38 мг, 0,39 ммоль, 0,12 экв.) и триэтилортоацетат (1,32 г, 8,18 ммоль, 2,5 экв.). Смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 4 ч. Анализ реакционной смеси методом TLC обнаруживал полное преобразование до целевого продукта. Затем, смесь фильтровали, и промывали осадок на фильтре MeOH с получением соединения AB17219 (700 мг, 75%) в виде светло-желтого твердого вещества.

[0967] ^{1}H-ЯМР (400 МГц, DMSO) δ 11,01 (с, 1H), 10,76 (с, 1H), 8,21 (д, J=7,8 Гц, 1H), 7,92 (д, J=19,3 Гц, 2H), 7,44 (д, J=8,0 Гц, 1H), 7,35 (д, J=8,0 Гц, 2H), 7,18 (д, J=8,2 Гц, 1H), 7,12 (с, 1H), 3,00 (с, 3H), 2,47 (с, 3H).

Синтез соединения VIII (AB17220)

[0968] Как представлено на Фиг. 24R, к раствору CrO_3 (39 г, 0,39 моль, 20,0 экв.) в H_2O (58 мл) при -5°C медленно добавляли раствор соединения 1 (5,0 г, 19,53 ммоль, 1,0 экв.) в AcOH (58 мл). Смесь перемешивали при 0-5°C в течение 2 ч. Анализ реакционной смеси методом TLC обнаруживал полное преобразование до целевого продукта. Смесь фильтровали, и промывали осадок на фильтре EtOH и H_2O. Затем, смесь фильтровали с получением содержащего примеси соединения 2 (1,652 г, 29%).

[0969] К раствору содержащего примеси соединения 2 (1,9 г, 6,64 ммоль, 1,0 экв.) в Ac_2O (160 мл) добавляли Zn пыль (4,34 г, 66,77 ммоль, 10,0 экв.) и AcONa (1,35 г, 9,96 ммоль, 1,5 экв.). Смесь перемешивали при 160°C в течение 0,5 ч. Смесь фильтровали и последовательно промывали кипящим Ac_2O и ацетоном. Затем, смесь фильтровали с получением соединения AB17220 (417 мг, 16%).

[0970] ^{1}H-ЯМР (400 МГц, DMSO) δ 11,35 (с, 2H), 8,00 (д, J=7,9 Гц, 2H), 7,47 (дд, J=20,4, 7,7 Гц, 4H), 7,17 (с, 2H), 2,64 (с, 6H).

Синтез соединения VII (AB17221)

[0971] Как представлено на Фиг. 24S, смесь соединения 1 (348 мг, 2,1 ммоль, 2,1 экв.), соединения 2 (246 мг, 1 ммоль, 1 экв.), Aliquat (20 мг, 0,05 экв.), водн. карбоната калия (773 мг, 5,6 мг, 2 M), $Pd(PPh_3)_4$ (23 мг, 0,02 ммоль, 0,02 экв.) и диоксана (7 мл) трижды дегазировали. Реакционную смесь нагревали до температуры возгонки в течение ночи. После охлаждения, реакционную смесь гасили добавлением 1н водн. HCl (15 мл). Полученные выпавшие в осадок вещества центрифугировали и промывали $MeOH/H_2O$ (1:1, 10 мл × 2). Полученный продукт сушили в условиях вакуума.

[0972] Затем, смесь соединения 3 (30 мг, 0,073 ммоль) и триэтилфосфита (122 мг, 0,73 ммоль, 10 экв.) трижды дегазировали и нагревали до 152°C в течение 48 часов. После охлаждения, реакционную смесь добавляли в раствор 0,5 мл EtOH и 0,2 мл H_2O. Полученные выпавшие в осадок вещества центрифугировали и промывали $EtOH/H_2O$ (1:1, 0,3 мл × 2). Полученный продукт сушили в условиях вакуума и очищали методом

препаративно HPLC с получением соединения AB17221 (9,4 мг).

Пример 16

Апоптоз-индуцирующая активность малассезина и производных малассезина

Реагенты

[0973] Набор для анализа мертвых клеток/апоптоза с Alexa Fluor 488/аннексином V, фетальную бычью сыворотку (FBS) и 0,25% трипсин-EDTA (1×), феноловый красный приобретали у Invitrogen. Набор для анализа Caspase-Glo 3/7 приобретали у Promega. Среду RPMI 1640 и модифицированную по способу Дульбекко среду Игла приобретали у Gibco. Антибиотический/противогрибковый раствор (100×) приобретали у Sigma.

[0974] Линии клеток MeWo (ATCC® HTB-65™), WM115 (ATCC® CRL-1675) и B16F1 (ATCC® CRL-6323) приобретали у ATCC и поддерживали в следующих культуральных средах: культуральная среда для MeWo и B16F1: DMEM с добавлением 10% FBS; культуральная среда для WM115: RPMI 1640 с добавлением 10% FBS.

Экспериментальные методы

[0975] Клетки собирали, и определяли число клеток с использованием счетчика клеток Countess. Клетки разбавляли культуральной средой до требуемой плотности. Конечная плотность клеток составляла 4000 клеток на лунку для обработки в течение 6 ч и 24 ч, и 2000 клеток на лунку для обработки в течение 48 ч и 72 ч. Для анализа с аннексином V использовали 384-луночные планшеты с прозрачным дном (Corning 3712), тогда как для анализа Caspase-Glo использовали белые 384-луночные планшеты с непрозрачным дном (Corning 3570). Все планшеты накрывали крышкой и помещали на ночь в условия 37°C и 5% CO_2 для прикрепления клеток.

[0976] Тестируемые соединения растворяли в DMSO до 30 мМ маточного раствора. Для получения концентраций 3 мМ и 0,3 мМ проводили 10-кратные разбавления. В качестве положительного контроля использовали 0,9 мМ стауроспорин, и в качестве отрицательного контроля (NC) использовали DMSO. М использованием устройства для обращения с жидкостями Echo550 из планшета-источника соединения в 384-луночные культуральные клеточные планшеты переносили 132,5 нл соединений. После указанного времени инкубирования, планшеты удаляли из инкубатора для проведения измерений.

[0977] Для анализа с аннексином V, планшеты удаляли из инкубатора, и удаляли культуральную среду. Клетки дважды промывали 40 мкл PBS, и в каждую лунку добавляли 15 мкл рабочего раствора из предварительно смешанных аннексина V-FITC и красителя Hoechst 33342. Планшеты инкубировали при комнатной температуре в течение 20 мин, герметизировали и центрифугировали в течение 1 мин при 1000 об/мин для удаления пузырей. Сбор данных с планшетов производили с использованием ImageXpress Nano.

[0978] Для анализа с Caspase-Glo, планшеты удаляли из инкубатора и уравновешивали при комнатной температуре в течение 15 мин. Реагенты Caspase-Glo 3/7 также размораживали и уравновешивали до комнатной температуры до проведения эксперимента. Реагент Caspase-Glo добавляли в требуемые лунки в соотношении 1:1 с культуральной средой. Планшеты инкубировали при комнатной температуре в течение 15

мин и проводили сбор данных с использованием планшетного ридера EnSpire™. Кратность индукции рассчитывали в соответствии со следующей формулой: Кратность индукции=$Lum_{образец}/Lum_{N}C$.

Результаты анализа с аннексином V

[0979] Таблицы данных с выраженным в процентах количеством аннексин V-положительных клеток после обработки в течение 6, 24, 48 и 72 часов, представлены на Фиг. 25A-25D. Данные из отдельной серии экспериментов представлены на Фиг. 90A-108F.

[0980] Данные с окрашиванием аннексином V показали, что 100 мкМ малассезин индуцирует гибель клеток во всех трех линиях клеток. Малассезин был более эффективным индуктором апоптоза в клетках WM115 и B16F1 по сравнению с клетками MeWo, хотя ответ у клеток WM115 развивался медленнее, чем у клеток MeWo и клеток B16F1.

Результаты анализа каспазы-3/7

[0981] Таблицы данных, содержащие кратность индукции каспазы-3/7 после обработки в течение 6, 24, 48 и 72 часов, представлены на Фиг. 26A-26D. Данные из отдельной серии экспериментов представлены на Фиг. 109A-127C.

[0982] Малассезин активировал каспазу-3/7 в клетках WM115 и MeWo в концентрации 100 мкМ. Малассезин инициировали передачу сигналов через каспазу-3/7 с большей скоростью в клетках WM115, чем в клетках MeWo, что соответствует данным по окрашиванию аннексином V.

Пример 17

Жизнеспособность клеток после воздействия малассезином или производными малассезина

Реагенты

[0983] Набор для анализа CellTiter-Glo® 2.0 приобретали у Promega.

Экспериментальные данные

[0984] Для анализа CellTiter-Glo, тестируемые соединения приготавливали в виде 10 мМ раствора в DMSO. Соединения последовательно разбавляли с получением 12 концентраций. В каждую лунку 384-луночного планшета (Corning 3570) вносили 40 мкл клеток из суспензии с плотностью 100000 клеток на мл. Планшеты инкубировали в течение ночи при 37°C, 5% CO_2 и влажности 95%. Тестируемые соединения добавляли, используя DMSO в качестве контроля с несущей средой. Планшеты инкубировали при 37°C, 5% CO_2 и влажности 95% в течение 6, 24 или 48 часов, и добавляли в лунки 40 мкл реагента CellTiter-Glo для оценки жизнеспособности клеток.

Результаты

[0985] Выраженные в процентах значения жизнеспособности клеток для клеток MeWo и WM115 после воздействия соединением AB12508 (соединение E), неизвестной композицией, CV-8803 (соединение K), CV-8804 (соединение A), CV-8684 (малассезин), CV-8685 (индоло[3,2-b]карбазол), CV-8686 (соединение I), CV-8688 (соединение II) и стауроспорином, представлены на Фиг. 27A-27B, Фиг. 28A-28B, Фиг. 29A-29B, Фиг. 30A-30B, Фиг. 31A-31B, Фиг. 32A-32B, Фиг. 33A-33B, Фиг. 34A-34B и Фиг. 35A-35B,

соответственно. Все данные, полученные для образцов, подвергнутых воздействию тестируемых соединений, были нормированы к соответствующему контролю с несущей средой с тем же временем инкубации.

Пример 18

Способность малассезина и производных малассезина активировать рецептор ароматических углеводородов

Аналитические процедуры

[0986] Клетки HepG2-AhR-Luc приобретали у Pharmaron, аналитическую систему One-Glo Luciferase приобретали у Promega, DMEM приобретали у Hyclone, и пенициллин/стрептомицин приобретали у Solabio.

[0987] Культуральную среду для стабильно трансфицированных клеток HepG2 приготавливали путем добавления DMEM с высоким содержанием глюкозы и L-глутамина, а также 10% FBS.

[0988] Клетки HepG2-AhR-Luc культивировали в колбах T-75 при 37°C, 5% CO_2 и относительной влажности 95%. Клетки оставляли достигать степени срастания 80-90%, после чего отделяли и разъединяли.

[0989] Культивированные клетки промывали 5 мл PBS. PBS удаляли аспирацией, в колбу добавляли 1,5 мл трипсина, и инкубировали клетки при 37°C приблизительно в течение 5 мин или до тех пор, пока клетки не отделяются, оставаясь на плаву. Трипсин инактивировали путем добавления избытка содержащей сыворотку среды.

[0990] Суспензию клеток переносили в коническую пробирку и центрифугировали при 120g в течение 10 мин для осаждения клеток. Клетки ресуспендировали в посевной среде с нужной плотностью. В 384-луночный культуральный планшет переносили 40 мкл клеток (5×10^3 клеток на лунку). Планшеты помещали в инкубатор при 37°C на 24 часа.

[0991] После этого, приготавливали маточные растворы тестируемых соединений и положительный контроль с омепразолом. Растворы соединений переносили с использованием Echo550 в аналитический планшет. Затем, планшет возвращали в инкубатор для обработки соединением.

[0992] Позднее, после обработки в течение 24 часов, планшет удаляли из инкубатора и оставляли охлаждаться при температуре окружающей среды. В каждую лунку добавляли 30 мкл реагента One-Glo, равных по объему культуральной среде. Клетки оставляли для лизиса по меньшей мере на 3 мин, а затем проводили измерение на люминометре.

[0993] Дозовый ответ отображали в виде графиков с использованием нелинейного регрессионного анализа в программном обеспечении XLfit, и также рассчитывали значения EC_{50}.

Результаты

[0994] Активность в отношении AhR согласно полученным результатам анализа на клетках HepG2-AhR-Luc после воздействия различными концентрациями омепразола, CV-8684 (малассезин), CV-8685 (индоло[3,2-b]карбазол), CV-8686 (соединение I), неизвестной композиции, CV-8803 (соединение K), CV-8804 (соединение A), AB12508 (соединение E) и

CV-8688 (соединение II) представлены на Фиг. 36A-36B, 37A-37B, 38A-38B, 39A-39B, 40A-40B, 41A-41B, 42A-42B, 43A-43B и 44A-44B, соответственно.

[0995] Активность в отношении AhR согласно полученным результатам анализа на клетках HepG2-AhR-Luc после воздействия различными концентрациями омепразола, неизвестной композиции, 2,3,7,8-тетрахлордибензодиоксина (TCDD), CV-8819 (соединение A5), CV-8684 (малассезин), AB12508 (соединение E), CV-8686 (соединение I), AB12509 (соединение H), CV-8688 (соединение II), CV-8877 (соединение B), CV-8685 (индоло[3,2-b]карбазол), соединения B10 и CV-8687 (соединение IV) представлены на Фиг. 45A-45B, 46A-46B, 47A-47B, 48A-48B, 49A-49B, 50A-50B, 51A-51B, 52A-52B, 53A-53B, 54A-54B, 55A-55B, 56A-56B и 57A-57B, соответственно.

[0996] Активность в отношении AhR согласно полученным результатам анализа на клетках HepG2-AhR-Luc после воздействия различными концентрациями омепразола, TCDD, предшественника малассезина, AB11644, 3-метилхолантрена (3-MC), AB12976 (O52), AB17011 (полученного из *Malassezia* индола A), питириацитрина, AB17151 и AB17225 представлены на Фиг. 58A-58B, 59A-59B, 60A-60B, 61A-61B, 62A-62B, 63A-63B, 64A-64B, 65A-65B, 66A-66B и 67A-67B, соответственно.

[0997] Результаты двух серий экспериментов обобщены в представленных ниже Таблицах 1 и 2.

Таблица 1

ID соединения	EC_{50} (мкМ)
Омепразол	21,36
CV-8684	4,19
CV-8685	6,60
CV-8686	3,17
Неизвестная композиция	15,72
CV-8803	13,88
CV-8804	15,70
AB12508	15,44
CV-8688	19,86

Таблица 2

ID соединения	EC_{50} (мкМ)
Омепразол	39,78
Неизвестная композиция	9,90
TCDD	0,0031
Соединение A5 (CV-8819)	4,11
Малассезин	13,39
Соединение E (AB12508)	14,24

ID соединения	EC_{50} (мкМ)
Соединение I (CV-8686)	5,45
Соединение H (AB12509)	11,58
Соединение II (CV-8688	13,37
Соединение B (CV-8877)	13,81
Индолкарбазол (CV-8685)	15,18
Соединение B10	4,29
Соединение IV (CV-8687)	33,55
Омепразол	42,29
TCDD	0,0018
Предшественник малассезина	37,28
AB11644	14,88
3-MC	4,34
AB12976	16,50
AB17011	35,78
AB17014	3,46
AB17151	13,72
AB17225	3,93

Пример 19

Анализ с MelanoDerm™

Реферат исследования 1

[0998] Целью данного исследования являлась оценка на модели кожи MelanoDerm™ потенциального действия тестируемых соединений в качестве модуляторов меланогенеза в коже после повторных воздействий. Варианты обработки были следующими: обработка через сутки в течение 7 суток (7TD); обработка через сутки в течение 7 суток с последующими 7 сутками без обработки (восстановление) (7TD+7NTD); и обработка через сутки в течение 14 суток (14TD). В данном исследовании также оценивалось возможное раздражение кожи, индуцируемое каждым тестируемым образцом, путем измерения преобразования MTT в тканях MelanoDerm™ после повторных воздействий тестируемыми образцами в течение периодов обработки, определенных в протоколе.

[0999] Анализ преобразования MTT (3-[4,5-диметилтиазол-2-ил]-2,5-дифенилтетразолия бромид), в котором измеряется NAD(P)H-зависимое микросомальное ферментативное восстановление MTT (и, в меньшей степени, восстановление MTT сукцинатдегидрогеназой) до формирующего осадок синего формазана, использовали для оценки метаболизма клеток после воздействия тестируемым образцом (Berridge *et al.*, 1996). Токсичность тестируемых образцов в отношении ткани, которое свидетельствует в пользу потенциального раздражения кожи, определяли путем измерения относительной

выживаемости - преобразования MTT по сравнению с тканями, обработанными отрицательным контролем.

Материалы и методы

Описание методики на модели кожи MelanoDerm™

[1000] Согласно описанию методики к набору MelanoDerm™ (MatTek Corporation), растворы хранили в соответствии с инструкциями производителя. Ткани MelanoDerm™ хранили при 2-8°C до момента использования. В день получения (за сутки до дозированного введения), поддерживающую среду MelanoDerm™ (EPI-100-LLMM) нагревали приблизительно до 37°C. В соответствующие лунки 6-луночных планшетов добавляли 0,9 мл аликвоты EPI-100-LLMM. 6-луночные планшеты помечали для указания тестируемых образцов или контролей и их дозируемых объемов и условий обработки (предназначенных для получения показателей MTT и меланина). Перед раскрытием герметизированной упаковки каждую ткань MelanoDerm™ проверяли на наличие пузырей воздуха между агарозным гелем и вставкой культуры клеток. Ткани с пузырями воздуха, покрывающими более 50% области вставки культуры клеток, не использовали. 24-луночные контейнеры для транспортировки извлекали из пластикового мешка, и дезинфицировали их поверхности 70% этанолом. Ткани MelanoDerm™ асептически переносили в 6-луночные планшеты. Затем, ткани MelanoDerm™ инкубировали при 37±1°C в увлажненной атмосфере 5±1% CO_2 в воздухе (стандартные условия культивирования) в течение ночи (по меньшей мере 16 часов).

[1001] Спустя по меньшей мере 16 часов после инкубации тканей от момента получения, восемь тканей MelanoDerm™, предназначенных для анализа MTT (2 образца тканей с названием «сутки 0 без обработки» для целей данного отчета) и меланина (3 образца тканей), соответственно, фотографировали цифровой камерой (камера CANON, PowerShot SX130IS, 12× оптическое увеличение, ручная настройка) для содействия визуальной оценке степени пигментации тканей в начале анализа. Изображения получали со дна тканей MelanoDerm™, которые инвертировали для лучшего отображения меланина. Изображения также получали с использованием камеры Infinity 2, соединенной с инвертированным микроскопом Nikon Eclipse TE 2000U (увеличение 15× и 60×, соответственно).

[1002] Затем, необработанные ткани MelanoDerm™ осторожно промывали стерильным фосфатно-солевым буфером Дульбекко без Ca++ и Mg++ (CMF-DPBS), промакивали насухо стерильной впитывающей бумагой и покрывали избытком жидкости. Затем, два образца тканей переносили с соответствующие содержащие MTT лунки на 3±0,1 часа для получения показателя жизнеспособности с MTT (см. раздел «Анализ MTT»). Три необработанные ткани MelanoDerm™ удаляли из вставки для клеточных культур с использованием стерильного скальпеля, помещали в помеченную микроцентрифужную пробирку емкостью 1,5 мл и хранили при <-60°C для последующего анализа меланина (см. раздел «Анализ меланина»).

Приготовление тестируемого образца

[1003] Тестируемые образцы соединения CV-8686 и AB11644 получали в виде маточных растворов (~100 мМ каждый) в DMSO. Тестируемые образцы вводили в тест-систему в виде 50 мкМ и 200 мкМ разбавления в стерильной EPI-100-LLMM. Тестовый образец DMSO (контроль с несущей средой) вводили в тест-систему в виде 0,2% разбавления в стерильной EPI-100-LLMM.

[1004] Каждый из тестируемых образцов приготавливали следующим образом: используя в качестве исходных полученные маточные концентрации, 2 мкл каждого тестируемого образца сначала разбавляли соответствующим объемом EPI-100-LLMM до конечной концентрации 200 мкМ. К 750 мкл EPI-100-LLMM добавляли 250 мкл 200 мкМ разбавления (соответствующего каждому тестируемому образцу) с приготовлением 50 мкл разбавления, используемого в исследовании. Разбавления тестируемых образцов перемешивали на вортексе по меньшей мере в течение 1 мин, нагревали при 37°±1°C (на водяной бане) в течение 15 мин и снова перемешивали на вортексе по меньшей мере в течение 1 мин, после чего производили нанесение на ткани в объеме 25 мкл.

[1005] Контроль с растворителем, DMSO, разбавляли (об./об.) EPI-100-LLMM до конечной концентрации 0,2%. Контроль с разбавленным растворителем перемешивали на вортексе по меньшей мере в течение 1 мин, после чего производили нанесение на ткани в объеме 25 мкл.

Оценка самостоятельного восстановления MTT тестируемым образцом

[1006] Каждое разбавление тестируемого образца добавляли к 1,0 мг/мл раствору MTT (Sigma) в теплой модифицированной по Дульбекко среде Игла (DMEM), содержащей 2 мМ L-глутамин (среда для добавления MTT), для оценки его способности самостоятельно восстанавливать MTT. Приблизительно 25 мкл каждого тестируемого образца добавляли к 1 мл раствора MTT, и инкубировали смеси в стандартных условиях культивирования приблизительно в течение 1 часа. Отрицательный контроль, 25 мкл стерильной деионизированной воды (Quality Biological), тестировали одновременно. Если цвет раствора MTT становился синим/пурпурным, то имелись основания предполагать, что тестируемый образец восстанавливал MTT.

[1007] Для тестируемых образцов соединения CV-8686, AB11644 и DMSO самостоятельного восстановления MTT в отсутствие жизнеспособных клеток не наблюдалось.

Определение pH

[1008] Значение pH для каждого тестируемого образца измеряли с использованием pH-индикаторной бумаги (EMD Millipore Corporation). Сначала, каждый тестируемый образец добавляли к pH-индикаторной бумаге с диапазоном pH 0-14 с инкрементом в 1,0 единицу pH для апроксимации значений pH в узком диапазоне. Затем, каждый тестируемый образец добавляли к pH-индикаторной бумаге с более узким диапазоном pH 5-10 с инкрементом в 0,5 единицы pH для определения более точного значения pH. Значение pH для каждого тестируемого образца измеряли для каждой дозы, наносимой на ткани (соответствующим образом на сутки 0, 2, 4, 6, 10, 12, 14).

Определяющий анализ

Обработка тестируемым образцом: Группа 7TD=анализ в течение 7 суток (обработка через день)

[1009] Восемь тканей MelanoDerm™ местно обрабатывали каждые 48±2 часов тестируемым образцом (CV-8686 и AB11644 в указанных концентрациях) дозированным объемом 25 мкл в течение 7 суток. Две ткани MelanoDerm™ местно обрабатывали каждые 48±2 часов каждым из отрицательного контроля, 25 мкл стерильной деионизированной воды (Quality Biological), и положительного контроля (1% койевая кислота, приготовленная в стерильной деионизированной воды), соответственно, для эксперимента продолжительностью 7 суток. Раствор койевой кислоты фильтровали в момент приготовления и хранили в пробирке, покрытой алюминиевой фольгой до момента использования (2 часа от момента приготовления). Ткани обрабатывали тестируемыми образцами и контролями, соответственно, каждые 48±2 часов в течение 7 суток. Затем, обработанные ткани инкубировали в стандартных условиях культивирования.

Обработка тестируемым образцом: Группа 7TD+7NTD=Обработка в течение 7 суток через сутки с последующими 7 сутками без обработки (восстановление)

[1010] Восемь тканей MelanoDerm™ местно обрабатывали каждые 48±2 часов тестируемым образцом (CV-8686 в указанных в протоколе концентрациях) дозированным объемом 25 мкл в течение 7 суток. Ткани обрабатывали тестируемым образцом каждые 48±2 часов в течение 7 суток. После первых 7 суток обработки через сутки, ткани культивировали дополнительно в течение 7 суток без наносимой местно обработки. Ткани ежесуточно повторно «подпитывали», как указано ниже. Затем, обработанные ткани инкубировали в стандартных условиях культивирования.

Обработка тестируемым образцом: Группа 14TD=Обработка в течение 14 суток через сутки

[1011] Восемь тканей MelanoDerm™ местно обрабатывали каждые 48±2 часов тестируемым образцом (CV-8686 и DMSO в указанных в протоколе концентрациях) дозированным объемом 25 мкл в течение 7 суток. Две ткани MelanoDerm™ местно обрабатывали каждые 48±2 часов каждым из отрицательного контроля, 25 мкл стерильной деионизированной воды (Quality Biological), и положительного контроля (1% койевая кислота, приготовленная в стерильной деионизированной воды), соответственно, для эксперимента продолжительностью 14 суток. Раствор койевой кислоты фильтровали в момент приготовления и хранили в пробирке, покрытой алюминиевой фольгой до момента использования (2 часа от момента приготовления). После первых 7 суток обработки через сутки, ткани культивировали дополнительно в течение 7 суток без наносимой местно обработки. Ткани обрабатывали тестируемыми образцами и контролями, соответственно, каждые 48±2 часов в течение 14 суток. Затем, обработанные ткани инкубировали в стандартных условиях культивирования.

[1012] Обработанные ткани MelanoDerm™ ежесуточно повторно «подпитывали». Ткани осторожно осушали для гарантированного повторного распределения местно

наносимых контролей. Затем, обработанные ткани помещали в новые предварительно размеченные 6-луночные планшеты, содержащие 0,9 мл предварительно нагретой (~37°C) EPI-100-LLMM, возвращали в инкубатор и оставляли в стандартных условиях культивирования.

[1013] После обработки каждые 48±2 часов, ткани MelanoDerm™ осторожно трижды промывали ~500 мкл DPBS без Ca++ и Mg++ для удаления любого оставшегося тестируемого образца. Ткани сначала помещали в новые предварительно размеченные 6-луночные планшеты, содержащие 0,9 мл предварительно нагретой (~37°C) EPI-100-LLMM, а затем дозированно обрабатывали соответствующим тестируемым образцом, отрицательным или положительным контролями, как рассматривалось выше.

[1014] По завершению каждого отдельного исследования (7TD; 7TD+7NTD; и 14TD, соответственно), ткани из каждой обрабатываемой группы (тестируемый образец, отрицательный контроль и положительный контроль) осторожно промывали DPBS без Ca++ и Mg++, промакивали насухо стерильной впитывающей бумагой и очищали от избытка жидкости. Затем, ткани фотографировали цифровой камерой камера CANON, PowerShot SX130IS, 12× оптическое увеличение, ручная настройка) для содействия визуальной оценке степени пигментации тканей в начале анализа. Данные макроскопические изображения получали со дна тканей MelanoDerm™, которые инвертировали для лучшего отображения меланина. Микроскопические изображения получали с использованием камеры Infinity 2, соединенной с инвертированным микроскопом Nikon Eclipse TE 2000U (увеличение 15× и 60×, соответственно).

[1015] Затем, три ткани из каждой обрабатываемой группы промывали CMF-DPBS, промакивали насухо стерильной впитывающей бумагой и очищали от избытка жидкости. Ткани удаляли из вставки с использованием стерильных скальпелей, помещали в помеченную микроцентрифужную пробирку емкостью 1,5 мл и хранили при <-60ºC в течение ночи для последующего анализа меланина, (как описано в разделе «Анализ меланина». Затем, две ткани MelanoDerm™ из каждой обрабатываемой группы (тестируемый образец, отрицательный контроль и положительный контроль) осторожно промывали стерильным фосфатно-солевым буфером Дульбекко без Ca++ и Mg++ (CMF-DPBS), промакивали насухо стерильной впитывающей бумагой и очищали от избытка жидкости. Затем, ткани переносили в соответствующие содержащие MTT лунки приблизительно на 3 часа для получения показателя жизнеспособности при анализе с MTT (см. раздел «Анализ с MTT»).

Анализ с MTT

[1016] Не более чем за два часа до момента использования приготавливали 1,0 мг/мл раствор MTT в теплой среде для добавления MTT. После соответствующего времени воздействия ткани MelanoDerm™, предназначенные для получения показателя MTT, обильно промывали CMF-DPBS, и декантировали промывочную среду. В помеченные лунки предварительно размеченного 24-луночного планшета добавляют 0,3 мл раствора MTT. После промывки, ткани MelanoDerm™ переносили в соответствующие лунки.

Планшеты инкубировали приблизительно в течение 3 часов в стандартных условиях культивирования.

[1017] После периода инкубации с раствором MTT, ткани MelanoDerm™ промакивали насухо стерильной впитывающей бумагой, очищали от избытка жидкости и переносили в предварительно размеченный 24-луночный планшет, содержащий 2,0 мл изопропанола в каждой помеченной лунке. Затем, планшеты перемешивали встряхиванием по меньшей мере в течение 2 часов при комнатной температуре.

[1018] По завершению периода экстрагирования, жидкость во вставках для клеточных культур декантировали в лунку, из которой была взята вставка для клеточных культур. Раствор экстракта смешивали и переносили 200 мкл в две лунки 96-луночного планшета, предназначенные для каждого образца, а в две лунки, помеченные как холостой контроль, добавляли 200 мкл изопропанола. Оптическую плотность при 550 нм (OD_{550}) в каждой лунке измеряли на планшетном ридере Molecular Devices Vmax (с включенной функцией AUTOMIX).

Анализ меланина

[1019] На сутки экстрагирования меланина, отделенные ткани размораживали при комнатной температуре приблизительно в течение 20 мин. В каждую микроцентрифужную пробирку добавляли 250 мкл Solvable, и инкубировали пробирки по меньшей мере в течение 16 часов при 60±2°C вместе со стандартами меланина в бане сухого нагрева. Вместе с образцами, 25 мкл каждого разбавления тестируемого образца, полученного в тот же день, смешивали с 250 мкл Solvable и инкубировали по меньшей мере в течение 16 часов при 60±2°C в бане сухого нагрева (исключительно для исследовательских целей). Путем растворения меланина в Solvable приготавливали 1 мг/мл маточный раствор стандарта меланина. Серию стандартов меланина приготавливали из 1 мг/мл маточного раствора. Серию стандартов приготавливали путем добавления 0,6 мл 1 мг/мл маточного раствора стандарта меланина к 1,2 мл Solvable, а затем приготавливали серию из пяти дополнительных разбавлений (кратность разбавления 3). Solvable использовали в качестве нулевого стандарта.

[1020] Спустя по меньшей мере 16 часов после экстрагирования меланина, содержащие образцы пробирки (представляющие собой меланин, экстрагированный из тканей MelanoDerm™), смешанные с Solvable разбавления тестируемого образца и стандарты охлаждали до комнатной температуры, а затем центрифугировали при 13000 об/мин в течение 5 мин при комнатной температуре. В соответствующие лунки 96-луночного планшета переносили 200 мкл образцов. В соответствующие лунки 96-луночного планшета переносили 200 мкл стандартов и холостых контролей в двух повторах. В соответствующие лунки 96-луночного планшета переносили 200 мкл разбавлений тестируемого образца и среды EPI-100-LLMM в единственную лунку. Оптическую плотность при 490 нм (OD_{490}) для каждой лункиwas измеряли на планшетном ридере Molecular Devices Vmax.

Представление данных

Данные по МТТ - сутки 0

[1021] Собирали исходные данные оптической плотности. Рассчитывали среднее значение OD_{550} для холостых лунок. Скорректированное среднее значение OD_{550} для необработанной ткани определяли путем вычитания среднего значения OD_{550} для холостых лунок из средних значений OD_{550} для необработанной ткани. В таблицу вносили выраженные в процентах отдельные значения жизнеспособности для отдельной ткани, полученные путем деления отдельного скорректированного значения OD_{550} на среднее значение из всех значений OD_{550}, рассчитанное для необработанной ткани. Рассчитывали выраженное в процентах общее среднее значение жизнеспособности. В завершение, на столбчатой диаграмме откладывали среднее значение жизнеспособности для необработанных тканей (с величиной ошибки стандартного отклонения±1).

Данные по МТТ - сутки 7, сутки 14

[1022] Собирали исходные данные оптической плотности. Рассчитывали среднее значение OD_{550} для холостых лунок. Скорректированное среднее значение OD_{550} для отрицательного контроля определяли путем вычитания среднего значения OD_{550} для холостых лунок из их средних значений OD_{550}. Скорректированные значения OD_{550} для отдельного воздействия тестируемым образцом, воздействий положительным контролем и отрицательным контролем определяли путем вычитания из каждого значения среднего значения OD_{550} для холостых лунок.

Скорректированное среднее значение OD_{550} после воздействия тестируемым образцом=Значение OD_{550} после воздействия тестируемым образцом - Значение OD_{550} для холостых лунок

[1023] Следующие выраженные в процентах контрольные расчеты производили для тканей, обработанных тестируемым образцом и положительным контролем:

Жизнеспособность (%) = [(Конечное скорректированное значение OD_{550} для тестируемого образца или положительного контроля)/(Скорректированное среднее значение OD_{550} для отрицательного контроля/контроля с растворителем)] × 100

[1024] Следующие выраженные в процентах контрольные расчеты производили для тканей, обработанных тестируемым образцом, где тестируемым образцом являлся DMSO (контроль с растворителем):

Жизнеспособность (%) = [(Конечное скорректированное значение OD_{550} для тестируемого образца (контроля с растворителем))/(Скорректированное среднее значение OD_{550} для отрицательного контроля)] × 100

[1025] Для каждого тестируемого образца или положительного контроля, отдельные выраженные в процентах значения контролей усредняли для расчета выраженного в процентах среднего значения для контроля. Рассчитывали общее среднее значение жизнеспособности согласно анализу МТТ. В завершение, средние значения жизнеспособности окладывали на столбчатой диаграмме (с величиной ошибки стандартного отклонения±1).

Данные по меланину

[1026] Собирали исходные данные оптической плотности. Определяли значение OD_{490} для каждого стандарта меланина. Среднее значение OD_{490} для каждого стандарта меланина использовали для построения калибровочной кривой. Скорректированное значение OD_{490} для каждой стандартной концентрации меланина определяли путем вычитания значения OD_{490} для холостой лунки из значения OD_{490} для стандартной концентрации меланина. Калибровочную кривую строили в виде концентрационной зависимости стандартов в мг/мл (ось Y) относительно соответствующей скорректированной оптической плотности (значение OD_{490}). Количество меланина в тканях, обработанных тестируемым образцом или положительным контролем, математически интерполировали из калибровочной кривой (квадратически).

Результаты и обсуждения

[1027] С использованием тканевой модели Asian MelanoDerm™ тестируемые образцы соединения CV-8686, DMSO и AB11644 были протестированы в скрининговом исследовании модулирования меланогенеза для оценки возможного раздражения кожи и влияния на меланогенез, после повторных воздействий образцами. Были протестированы следующие варианты обработки: обработка через сутки в течение 7 суток (7TD); обработка через сутки в течение 7 суток с последующими 7 сутками без обработки (восстановление) (7TD+7NTD); и обработка через сутки в течение 14 суток (14TD).

[1028] Тестируемые образцы вводили в тест-систему в виде разбавлений по объему, полученных в стерильной EPI-100-LLMM. Тестируемые образцы CV-8686 и AB11644 вводили в тест-систему в виде 200 мкМ и 50 мкМ разбавлений. Тестируемый образец DMSO (контроль с растворителем) вводили в тест-систему в виде 0,2% (об./об.) разбавления. Каждое разбавление тестируемых образцов наносили местно на пять тканей MelanoDerm™ (две предназначенные для получения показателя MTT и три для получения показателя меланина). Ткани обрабатывали 25 мкл каждого тестируемого образца каждые 48±2 часов в течение каждого отдельного периода тестирования. Каждый из отрицательного контроля (стерильная деионизированная вода) и положительного контроля (1% койевая кислота, приготовленная в стерильной деионизированной воде) наносили местно на пять тканей MelanoDerm™ (две предназначенные для получения показателя MTT и три для получения показателя меланина) и обрабатывали 25 мкл каждые 48±2 часов в течение 7 суток и 14 суток, соответственно.

[1029] На Фиг. 68-69 обобщены результаты исследования средней жизнеспособности тканей и концентрации меланина, полученные для тестируемых образцов, отрицательного контроля и положительного контроля. На Фиг. 70-74 представлены типичные макроскопические и микроскопические фотографии (только 15× увеличение) тканей, полученных для содействия визуальной оценке степени пигментации тканей на сутки 0, сутки 7 и сутки 14. Они считаются типичными для повторяющихся тканей внутри каждой обрабатываемой группы и релевантными для последующей интерпретации данных. Макроскопические изображения указывают на общую продукцию меланина в тканях и его распределение по поверхности тканей. Микроскопические

изображения обеспечивают общее понимание физиологического статуса меланоцитов применительно к продукции меланина, присутствия дендритов или любых морфологических изменений, связанных с обработкой тестируемым образцом/контролями.

[1030] Оценку жизнеспособности тканей использовали для оценки возможного раздражения кожи в тканях MelanoDerm™ после повторных воздействий тестируемыми образцами в течение периодов времени, указанных в протоколе. Жизнеспособность тканей, обработанных тестируемыми образцами, была сравнительно высокой (>75% во всех случаях, для периода тестирования 7TD), указывая на минимальную или отсутствующую токсичность, индуцированную тестируемыми образцами в тканевой модели. Дозозависимый эффект был отмечен для тестируемых CV-8686 и AB11644, где ткань, обработанная более высокой концентрацией (200 мкМ), характеризовалась слегка меньшей жизнеспособностью по сравнению с соединениями, приготовленными в виде 50 мкМ разбавлений. Жизнеспособность тканей последовательно снижалась с увеличением продолжительности воздействия (для периода тестирования 7TD+7NTD и 14TD); кроме того, жизнеспособность тканей, обработанных положительным аналитическим контролем, 1% койевой кислотой, составляла 119,0% для периода тестирования 7TD и снижалась до 48,8% для периода тестирования 14TD. Указанные результаты указывают на то, что тканевая модель способна различать эффекты различных концентраций тестируемых образцов на жизнеспособность.

[1031] Оценку продукции меланина тканями после повторных воздействий тестируемыми образцами в течение периодов времени, указанных в протоколе, использовали для оценки способности тестируемых образцов выступать в качестве модуляторов меланогенеза. Положительный контроль, 1% койевая кислота, снижала концентрацию меланина до 23,3 мкг/мл в обработанных положительным контролем тканях (7TD) по сравнению с тканями, обработанными отрицательным контролем (55,8 мкг/мл). Положительный контроль, 1% койевая кислота, снижала концентрацию меланина до 29,1 мкг/мл в обработанных положительным контролем тканях (14TD) по сравнению с тканями, обработанными отрицательным контролем (174,0 мкг/мл). Концентрация меланина, определенная для обработанных DMSO тканей, составила 135,8 мкг/мл (14TD), указывая тем самым на то, что контроль в несущей средой не влияет сам по себе на продукцию меланина. Концентрация меланина в обработанных тестируемым образцом тканях была ниже по сравнению с тканями, обработанными отрицательным контролем (акцентировано для периода 14TD). В общем, объективные результаты, полученные в результате анализа меланина, подтверждаются субъективными наблюдениями, основанными на анализе макроскопических и микроскопических изображений, полученных в процессе исследования.

[1032] Тестируемые образцы соединения CV-8686, DMSO и AB11644 самостоятельно не восстанавливали MTT в отсутствие жизнеспособных клеток. Поэтому, эксперимент с инактивированным контролем не проводили.

Реферат исследования 2

[1033] Целью данного исследования являлась оценка потенциального действия тестируемых соединений в качестве модуляторов меланогенеза в коже после повторных воздействий на модели кожи MelanoDerm™ в течение 7 суток. В данном исследовании также оценивалось возможное раздражение кожи, индуцируемое каждым тестируемым образцом, путем измерения преобразования MTT в тканях MelanoDerm™ после повторных воздействий тестируемыми образцами в течение периодов обработки, равного 7 суткам.

[1034] Анализ преобразования MTT (3-[4,5-диметилтиазол-2-ил]-2,5-дифенилтетразолия бромид), в котором измеряется NAD(P)H-зависимое микросомальное ферментативное восстановление MTT (и, в меньшей степени, восстановление MTT сукцинатдегидрогеназой) до формирующего осадок синего формазана, использовали для оценки метаболизма клеток после воздействия тестируемым образцом. Токсичность тестируемых образцов в отношении ткани, которое свидетельствует в пользу потенциального раздражения кожи, определяли путем измерения относительной выживаемости - преобразования MTT по сравнению с тканями, обработанными отрицательным контролем.

Материалы и методы

Описание методики на модели кожи MelanoDerm™

[1035] Согласно описанию методики к набору MelanoDerm™ (MatTek Corporation), растворы хранили в соответствии с инструкциями производителя. Ткани MelanoDerm™ хранили при 2-8°C до момента использования. В день получения (за сутки до дозированного введения), поддерживающую среду MelanoDerm™ (EPI-100-LLMM) нагревали приблизительно до 37°C. В соответствующие лунки 6-луночных планшетов добавляли 0,9 мл аликвоты EPI-100-LLMM. 6-луночные планшеты помечали для указания тестируемых образцов или контролей и их дозируемых объемов и условий обработки (предназначенных для получения показателей MTT и меланина). Перед раскрытием герметизированной упаковки каждую ткань MelanoDerm™ проверяли на наличие пузырей воздуха между агарозным гелем и вставкой культуры клеток. Ткани с пузырями воздуха, покрывающими более 50% области вставки культуры клеток, не использовали. 24-луночные контейнеры для транспортировки извлекали из пластикового мешка, и дезинфицировали их поверхности 70% этанолом. Ткани MelanoDerm™ асептически переносили в 6-луночные планшеты. Затем, ткани MelanoDerm™ инкубировали при 37±1°C в увлажненной атмосфере 5±1% CO_2 в воздухе (стандартные условия культивирования) в течение ночи (по меньшей мере 16 часов).

[1036] Спустя по меньшей мере 16 часов после инкубации тканей от момента получения, восемь тканей MelanoDerm™, предназначенных для анализа MTT (2 образца тканей с названием «сутки 0 без обработки» для целей данного отчета) и меланина (3 образца тканей), соответственно, осторожно промывали стерильным фосфатно-солевым буфером Дульбекко без Ca++ и Mg++ (CMF-DPBS), промакивали насухо стерильной впитывающей бумагой, очищали от избытка жидкости. Затем, ткани фотографировали цифровой камерой (камера CANON, PowerShot SX130IS, 12× оптическое увеличение,

ручная настройка, и Ricoh WG-50, режим микроскопа, 1 см зумирование) для содействия визуальной оценке степени пигментации тканей в начале анализа. Изображения получали со дна тканей MelanoDerm™, которые инвертировали для лучшего отображения меланина. Изображения также получали с использованием камеры Infinity 2, соединенной с инвертированным микроскопом Nikon Eclipse TE 2000U (увеличение 15× и 60×, соответственно).

[1037] Затем, две необработанные ткани MelanoDerm™ переносили с соответствующие содержащие MTT лунки на 3±0,1 часа для получения показателя жизнеспособности с MTT. Три необработанные ткани MelanoDerm™ удаляли из вставки для клеточных культур с использованием стерильного скальпеля, помещали в помеченную микроцентрифужную пробирку емкостью 1,5 мл и хранили при <-60°C для последующего анализа меланина (см. раздел «Анализ меланина»).

Приготовление тестируемого образца

[1038] Тестируемые образцы малассезина (CV-8684), соединения B (CV-8877), соединения E (AB12508), соединения H (AB12509), неизвестной композиции, соединения A5 (CV-8819) и O52 (AB12976) приготавливали путем разбавления маточных растворов EPI-100-LLMM до конечных концентраций 200 мкМ и 500 мкМ. Тестируемый образец соединения I (CV-8686) приготавливали путем разбавления маточного раствора до концентрации 500 мкМ. Все разбавления перемешивали на вортексе по меньшей мере в течение 1 мин, а затем нагревали на водяной бане при 37°±1°C в течение 15 мин. Затем, разбавления снова перемешивали на вортексе по меньшей мере в течение 1 мин, после чего дозированно наносили на ткани. Тестируемый образец и контроль с растворителем, DMSO, приготавливали в виде 0,5% (об./об.) разбавления в EPI-100-LLMM. Разбавление тестируемого образца перемешивали на вортексе по меньшей мере в течение 1 мин, а затем еще по меньшей мере в течение 1 мин, после чего наносили на ткани. Тестируемый образец состава с соединением I тестировали без разбавления (в чистом виде).

Оценка самостоятельного восстановления MTT тестируемым образцом

[1039] Наивысшую концентрацию каждого разбавленного тестируемого образца добавляли к 1,0 мг/мл раствору MTT (Sigma) в теплой модифицированной по Дульбекко среде Игла (DMEM), содержащей 2 мМ L-глутамин (MTT Addition Medium), для оценки его способности самостоятельно восстанавливать MTT. Приблизительно 25 мкл каждого тестируемого образца добавляли к 1 мл раствора MTT, и инкубировали смеси в стандартных условиях культивирования приблизительно в течение 1 часа. Отрицательный контроль, 25 мкл стерильной деионизированной воды (Quality Biological), тестировали одновременно. Если цвет раствора MTT становился синим/пурпурным, то имелись основания предполагать, что тестируемый образец восстанавливал MTT.

[1040] Для тестируемых образцов DMSO, соединения I (CV-8686), малассезина (CV-8684), соединения B (CV-8877), соединения E (AB12508), соединения H (AB12509), неизвестной композиции, соединения A5 (CV-8819), O52 (AB12976) и состава с соединением I самостоятельного восстановления MTT в отсутствие жизнеспособных

клеток не наблюдалось.

Определение pH

[1041] Значение pH для каждого тестируемого образца и положительного контроля измеряли с использованием pH-индикаторной бумаги (EMD Millipore Corporation). Сначала, каждый тестируемый образец или положительный контроль добавляли к pH-индикаторной бумаге с диапазоном pH 0-14 с инкрементом в 1,0 единицу pH для апроксимации значений pH в узком диапазоне. Затем, каждый тестируемый образец или положительный контроль добавляли к pH-индикаторной бумаге с более узким диапазоном значений pH 0-6 или pH 5-10 с инкрементами в 0,5 единицы pH для определения более точного значения pH. Значение pH для каждого тестируемого образца или положительного контроля измеряли соответствующим образом для каждой дозы, наносимой на ткани (на сутки 0, 2, 4, 6).

Определяющий анализ

Обработка тестируемым образцом

[1042] Пять тканей MelanoDerm™ местно обрабатывали каждые 48±2 часов тестируемыми образцами контроля с растворителем (DMSO), соединения I (CV-8686), малассезина (CV-8684), соединения B (CV-8877), соединения E (AB12508), соединения H (AB12509), неизвестной композиции, соединения A5 (CV-8819), O52 (AB12976) и состава с соединением I в указанных концентрациях дозированным объемом 25 мкл в течение 7 суток.

[1043] Одну ткань MelanoDerm™ местно обрабатывали каждые 48±2 часов отрицательным контролем, 25 мкл стерильной деионизированной воды (Quality Biological). Пять тканей MelanoDerm™ местно обрабатывали каждые 48±2 часов положительным контролем (1% койевая кислота, приготовленная в стерильной деионизированной воды) для эксперимента в течение 7 суток. Раствор койевой кислоты фильтровали в момент приготовления и хранили в пробирке, покрытой алюминиевой фольгой до момента использования (2 часа от момента приготовления). Ткани обрабатывали тестируемыми образцами и контролями, соответственно, каждые 48±2 часов в течение 7 суток. Затем, обработанные ткани инкубировали в стандартных условиях культивирования.

[1044] Обработанные ткани MelanoDerm™ ежесуточно повторно «подпитывали». Ткани осторожно осушали для гарантированного повторного распределения местно наносимых контролей. Затем, обработанные ткани помещали в новые предварительно размеченные 6-луночные планшеты, содержащие 0,9 мл предварительно нагретой (~37°C) EPI-100-LLMM, возвращали в инкубатор и оставляли в стандартных условиях культивирования.

[1045] После обработки каждые 48±2 часов, ткани MelanoDerm™ осторожно трижды промывали ~500 мкл DPBS без Ca++ и Mg++ для удаления любого оставшегося тестируемого образца. Затем, ткани помещали в новые предварительно размеченные 6-луночные планшеты, содержащие 0,9 мл предварительно нагретой (~37°C) EPI-100-LLMM, а затем дозированно обрабатывали соответствующим тестируемым образцом,

отрицательным или положительным контролями, как рассматривалось выше.

[1046] По завершению периода воздействия в течение 7 суток, ткани из каждой обрабатываемой группы (тестируемый образец, отрицательный контроль и положительный контроль) осторожно промывали DPBS без Ca++ и Mg++, промакивали насухо стерильной впитывающей бумагой и очищали от избытка жидкости. Затем, ткани фотографировали цифровой камерой камера CANON, PowerShot SX130IS, 12× оптическое увеличение, ручная настройка, и Ricoh WG-50, режим микроскопа, 1 см зумирование) для содействия визуальной оценке степени пигментации тканей в начале анализа. Данные макроскопические изображения получали со дна тканей MelanoDerm™, которые инвертировали для лучшего отображения меланина. Микроскопические изображения получали с использованием камеры Infinity 2, соединенной с инвертированным микроскопом Nikon Eclipse TE 2000U (увеличение 15×).

[1047] Затем, для каждой концентрации тестируемого образца, положительного контроля и контроля с растворителем, две ткани промывали CMF-DPBS, промакивали насухо стерильной впитывающей бумагой и очищали от избытка жидкости. Для отрицательного контроля, одну ткань промывали CMF-DPBS, промакивали насухо стерильной впитывающей бумагой и очищали от избытка жидкости. Ткани удаляли из вставки для клеточных культур с использованием стерильного скальпеля, помещали в помеченную микроцентрифужную пробирку емкостью 1,5 мл и хранили при <-60°C для последующего анализа меланина.

[1048] Две ткани MelanoDerm™ с обработкой тестируемыми образцами DMSO, соединения I (CV-8686), малассезина (CV-8684), соединения B (CV-8877), соединения E (AB12508), соединения H (AB12509), неизвестной композиции, соединения A5 (CV-8819) (500 мкМ), O52 (AB12976) (500 мкМ), состава с соединением I и положительного контроля, и три ткани MelanoDerm™ с обработкой тестируемыми образцами соединения A5 (CV-8819) (200 мкМ) и O52 (AB12976) (200 мкМ) осторожно промывали стерильным фосфатно-солевым буфером Дульбекко без Ca++ и Mg++ (CMF-DPBS), промакивали насухо стерильной впитывающей бумагой и очищали от избытка жидкости. Затем, ткани переносили в соответствующие содержащие MTT лунки приблизительно в течение 3 часов для получения показателя жизнеспособности с MTT.

Анализ с MTT

[1049] Не более чем за два часа до момента использования, приготавливали 1,0 мг/мл раствор MTT в теплой среде для добавления MTT. После соответствующего времени воздействия, ткани MelanoDerm™, предназначенные для получения показателя MTT, обильно промывали CMF-DPBS, и декантировали промывочную среду. В помеченные лунки предварительно размеченного 24-луночного планшета добавляют 0,3 мл раствора MTT. После промывки, ткани MelanoDerm™ переносили в соответствующие лунки. Планшеты инкубировали приблизительно в течение 3 часов в стандартных условиях культивирования.

[1050] После периода инкубации с раствором MTT, ткани MelanoDerm™

промакивали насухо стерильной впитывающей бумагой, очищали от избытка жидкости и переносили в предварительно размеченный 24-луночный планшет, содержащий 2,0 мл изопропанола в каждой помеченной лунке. Затем, планшеты перемешивали встряхиванием по меньшей мере в течение 2 часов при комнатной температуре.

[1051] По завершению периода экстрагирования, жидкость во вставках для клеточных культур декантировали в лунку, из которой была взята вставка для клеточных культур. Раствор экстракта смешивали и переносили 200 мкл в две лунки 96-луночного планшета, предназначенные для каждого образца, а в две лунки, помеченные как холостой контроль, добавляли 200 мкл изопропанола. Оптическую плотность при 550 нм (OD_{550}) в каждой лунке измеряли на планшетном ридере Molecular Devices Vmax.

Анализ меланина

[1052] На сутки экстрагирования меланина, отделенные ткани размораживали при комнатной температуре приблизительно в течение 15 мин. В каждую микроцентрифужную пробирку добавляли 250 мкл Solvable, и инкубировали пробирки по меньшей мере в течение 16 часов при 60±2°C вместе со стандартами меланина в бане сухого нагрева. Путем растворения меланина в Solvable приготавливали 1 мг/мл маточный раствор стандарта меланина. Серию стандартов меланина приготавливали из 1 мг/мл маточного раствора. Серию стандартов приготавливали путем добавления 0,6 мл 1 мг/мл маточного раствора стандарта меланина к 1,2 мл Solvable, а затем приготавливали серию из пяти дополнительных разбавлений (кратность разбавления 3). Solvable использовали в качестве нулевого стандарта.

[1053] Спустя по меньшей мере 16 часов после экстрагирования меланина, содержащие образцы пробирки (представляющие собой меланин, экстрагированный из тканей MelanoDerm™), смешанные с Solvable разбавления тестируемого образца и стандарты охлаждали до комнатной температуры, а затем центрифугировали при 13000 об/мин в течение 5 мин при комнатной температуре. В соответствующие лунки 96-луночного планшета переносили 200 мкл образцов. В соответствующие лунки 96-луночного планшета переносили 200 мкл стандартов и холостых контролей в двух повторах. Оптическую плотность при 490 нм (OD_{490}) для каждой лунки измеряли на планшетном ридере Molecular Devices Vmax.

Представление данных

Данные по MTT - сутки 0

[1054] Собирали исходные данные оптической плотности. Рассчитывали среднее значение OD_{550} для холостых лунок. Скорректированное значение OD_{550} для необработанной ткани определяли путем вычитания среднего значения OD_{550} для холостых лунок из средних значений OD_{550} для необработанной ткани. В таблицу вносили выраженные в процентах отдельные значения жизнеспособности для каждой отдельной ткани, полученные путем деления отдельного скорректированного значения OD_{550} на среднее значение из всех значений OD_{550}, рассчитанное для необработанных тканей. Рассчитывали выраженное в процентах общее среднее значение жизнеспособности. В

завершение, на столбчатой диаграмме откладывали среднее значение жизнеспособности для необработанных тканей (с величиной ошибки стандартного отклонения±1).

MTT - сутки 7

[1055] Собирали исходные данные оптической плотности. Все расчеты проводили с использованием электронной таблицы Excel®. Рассчитывали среднее значение OD_{550} для холостых лунок. Скорректированное среднее значение OD_{550} для отрицательного контроля определяли путем вычитания среднего значения OD_{550} для холостых лунок из их средних значений OD_{550}. Скорректированные значения OD_{550} для отдельного воздействия тестируемым образцом, воздействий положительным контролем и отрицательным контролем определяли путем вычитания из каждого значения среднего значения OD_{550} для холостых лунок.

Скорректированное среднее значение OD_{550} после воздействия тестируемым образцом=Значение OD_{550} после воздействия тестируемым образцом - Значение OD_{550} для холостых лунок

[1056] Следующие выраженные в процентах контрольные расчеты производили для тканей, обработанных тестируемым образцом и положительным контролем:

Жизнеспособность (%) = [(Конечное скорректированное значение OD_{550} для тестируемого образца или положительного контроля)/(Скорректированное среднее значение OD_{550} для отрицательного контроля/контроля с растворителем)] × 100

[1057] Для каждого тестируемого образца или положительного контроля, отдельные выраженные в процентах значения контролей усредняли для расчета выраженного в процентах среднего значения для контроля. Рассчитывали общее среднее значение жизнеспособности согласно анализу MTT. В завершение, средние значения жизнеспособности окладывали на столбчатой диаграмме (с величиной ошибки стандартного отклонения±1).

Данные по меланину

[1058] Собирали исходные данные оптической плотности. Определяли значение OD_{490} для каждого стандарта меланина. Среднее значение OD_{490} для каждого стандарта меланина использовали для построения калибровочной кривой. Скорректированное значение OD_{490} для каждой стандартной концентрации меланина определяли путем вычитания значения OD_{490} для холостой лунки из значения OD_{490} для стандартной концентрации меланина. Калибровочную кривую строили в виде концентрационной зависимости стандартов в мг/мл (ось Y) относительно соответствующей скорректированной оптической плотности (значение OD_{490}). Количество меланина в тканях, обработанных тестируемым образцом или положительным контролем, математически интерполировали из калибровочной кривой (квадратически).

Результаты и обсуждения

[1059] С использованием тканевой модели Asian MelanoDerm™, тестируемые образцы DMSO, соединения I (CV-8686), малассезина (CV-8684), соединения B (CV-8877), соединения E (AB12508), соединения H (AB12509), неизвестную композицию, соединения

A5 (CV-8819), O52 (AB12976) и состава с соединением I были протестированы в скрининговом исследовании модулирования меланогенеза для оценки возможного раздражения кожи и влияния на меланогенез после повторных воздействий образцами в течение 7 суток.

[1060] Тестируемые образцы вводили в тест-систему в чистом виде или в виде разбавлений по объему, полученных в стерильной EPI-100-LLMM. Тестируемые образцы малассезина (CV-8684), соединения B (CV-8877), соединения E (AB12508), соединения H (AB12509), неизвестной композиции, соединения A5 (CV-8819) и O52 (AB12976) вводили в тест-систему в виде 500 мкМ и 200 мкМ разбавлений. Тестируемый образец соединения I (CV-8686) вводили в тест-систему в виде 500 мкМ разбавления. Тестируемый образец DMSO (контроль с несущей средой) вводили в тест-систему в виде 0,5% (об./об.) разбавления. Тестируемый образец состава с соединением I тестировали в чистом виде. Каждое разбавление тестируемых образцов наносили местно на пять тканей MelanoDerm™, причем две (или три для соединения A5 (CV-8819) (200 мкМ) и O52 (AB12976) (200 мкМ)) предназначались для показателя MTT, и две предназначались для показателя меланина (за исключением соединения A5 (CV-8819) (200 мкМ) и O52 (AB12976) (200 мкМ)). Ткани обрабатывали 25 мкл каждого тестируемого образца каждые 48±2 часов в течение каждого отдельного периода тестирования. Положительный контроль (1% койевая кислота, приготовленная в стерильной деионизированной воде) наносили местно на пять тканей MelanoDerm™ (две предназначенные для получения показателя MTT и три для получения показателя меланина) и обрабатывали 25 мкл каждые 48±2 часов в течение 7 суток.

[1061] На Фиг. 75 обобщены результаты исследования средней жизнеспособности тканей и концентрации меланина, полученные для тестируемых образцов, отрицательного контроля и положительного контроля. На Фиг. 76-87 представлены типичные макроскопические и микроскопические фотографии (только 15× увеличение) тканей, полученных для содействия визуальной оценке степени пигментации тканей на сутки 0 и сутки 7. Они считаются типичными для повторяющихся тканей внутри каждой обрабатываемой группы и релевантными для последующей интерпретации данных. Макроскопические изображения указывают на общую продукцию меланина в тканях и его распределение по поверхности тканей. Микроскопические изображения обеспечивают общее понимание физиологического статуса меланоцитов применительно к продукции меланина, присутствия дендритов или любых морфологических изменений, связанных с обработкой тестируемым образцом/контролями.

[1062] Оценку продукции меланина тканями после повторных воздействий тестируемыми образцами в течение 7 суток, использовали для оценки способности тестируемых образцов выступать в качестве модуляторов меланогенеза. Положительный контроль, 1% койевая кислота, снижала концентрацию меланина до 22,01 мкг/мл в обработанных положительным контролем тканях по сравнению с тканями, обработанными контролем с растворителем (53,82 мкг/мл). В общем, объективные результаты, полученные в результате анализа меланина, подтверждаются субъективными наблюдениями,

основанными на анализе макроскопических и микроскопических изображений, полученных в процессе исследования.

[1063] Тестируемые образцы DMSO, соединения I (CV-8686), малассезина (CV-8684), соединения B (CV-8877), соединения E (AB12508), соединения H (AB12509), неизвестной композиции, соединения A5 (CV-8819), O52 (AB12976) и состава с соединением I самостоятельно не восстанавливали MTT в отсутствие жизнеспособных клеток. Поэтому, эксперимент с инактивированным контролем не проводили.

[1064] Тестируемые образцы снижали концентрацию меланина в соответствующих тканях по сравнению с тканями, обработанными DMSO, до уровней сравнимых с уровнями, полученными для тканей, обработанных положительным контролем. Например, концентрация меланина в тканях, обработанных тестируемым образцом соединения B (CV-8877) (500 мкМ), составляла 25,99 мкг/мл, и концентрация в тканях, обработанных тестируемым образцом соединения E (AB12508) (500 мкМ), составляла 25,26 мкг/мл по сравнению с концентрацией в тканях, обработанных положительным контролем (22,01 мкг/мл).

Дополнительные исследования

[1065] Результаты исследований на Melanoderm™ для соединения AB17151, соединения B10, предшественника малассезина, соединения AB17011, соединения AB17014, DMSO, соединения CV-8484, соединения E и койевой кислоты представлены на Фиг. 88.

Пример 20

Способность малассезина и производных малассезина индуцировать меланогенез

[1066] Целью данного исследования являлось наблюдение и документирование меланогенеза и жизнеспособности меланоцитов B16, подвергнутых воздействию малассезина и производных малассезина.

Материалы и реагенты

[1067] Посевная среда содержала DMEM без L-глутамина, FBS, пенициллин/стрептомицин и L-глутамин. Аналитическая среда содержала DMEM без фенолового красного и L-глутамина, FBS, пенициллин/стрептомицин, L-глутамин и aMSH. Другие реагенты включали в себя койевую кислоту, DMSO и MTT. Тестируемыми клетками являлись клетки B16 (ATCC CRL-6475).

Протокол

[1068] Меланоциты B16 культивировали до степени срастания 70% и собирали. Клетки высевали в 96-луночные планшеты с плотностью 4000 клеток на лунку и оставляли для прикрепления в течение ночи. На следующие сутки, тестируемые образцы и контроли разбавляли аналитической средой B16. После инкубации в течение ночи, среду удаляли путем аспирации и добавляли 200 мкл тестируемых образцов и контролей. Клетки инкубировали при 37°C и 10% CO_2 в течение 72 часов. После инкубации в течение 72 часов, собирали данные оптической плотности при 540 нм. Среду удаляли, заменяли 100 мкл посевной среды с 1 мг/мл MTT и инкубировали в течение 2 часов при 37°C и 10% CO_2.

Среду с МТТ удаляли, заменяли 200 мкл смеси 95% этанол/5% изопропанол и оставляли перемешиваться встряхиванием в течение 15 мин. Затем, собирали данные оптической плотности МТТ при 570 нм.

Результаты

[1069] Выраженное в процентах изменение содержания меланина и результаты по жизнеспособности представлены на Фиг. 89A-89X.

Пример 21

Составы с малассезином и производными малассезина

Состав с 0,1% малассезина

[1070] Композицию с 0,1% малассезина приготавливали с использованием следующих ингредиентов: вода, каприлат/капрат триглицерид, глицерин, масло *Butyrospermum parkii* (ши), гептил ундециленат, цетеарил олеат, цетиловый спирт, диметилизосорбид, диметикон, сорбитана оливат, малассезин, сквален, дикалий глициризинат, тринатрия этилендиаминдисукцинат, смола склероции, ксантановая камедь, каприлилгликоль, хлорфенезин и феноксиэтанол.

[1071] Полученная композиция представляла собой непрозрачный, вязкий, не совсем белый крем с pH 5,72 и вязкостью 14000 сП.

Состав с 0,1% соединения I

[1072] Композицию с 0,1% соединения I приготавливали с использованием тех же ингредиентов, что и описанные выше для состава с 0,1% малассезина, используя соединение I вместо малассезина.

[1073] Полученная композиция представляла собой непрозрачный, вязкий, не совсем белый крем с pH 5,66 и вязкостью 14000 сП.

Состав с 0,1% малассезина

[1074] Композицию с 0,1% малассезина приготавливали с использованием следующих ингредиентов: вода, диметилизосорбид, Glycereth-8 эфиры оливкового масла; глицерин; кокосовые алканы; сополимер гидроксиэтилакрилата/акрилоилдиметилтаурата натрия; малассезин; токоферол; пентиленгликоль; коко-каприлат/капрат; гидроксид натрия; двунатриевая соль ЭДТА; каприлилгликоль; хлорфенезин и феноксиэтанол.

[1075] Полученная композиция представляла собой непрозрачный, вязкий, не совсем белый крем pH 6,27 и вязкостью 2000 сП.

Состав с 0,1% соединения I

[1076] Композицию с 0,1% соединения I приготавливали с использованием тех же ингредиентов, что и описанные выше для состава с 0,1% малассезина, используя соединение I вместо малассезина.

[1077] Полученная композиция представляла собой непрозрачный, вязкий, не совсем белый крем pH 6,00 и вязкостью 30000 сП.

Состав с 0,1% соединения II

[1078] Композицию с 0,1% соединения II приготавливали с использованием следующих ингредиентов: вода, каприлат/капрат триглицерид, глицерин, масло

Butyrospermum parkii (ши), гептил ундециленат, пентиленгликоль, цетеарил олеат, цетиловый спирт, диметикон, сорбитана оливат, соединение II, дикалий глициризинат, сквален, смола склероции, ксантановая камедь, тринатрия этилендиаминдисукцинат, гидроксид натрия, каприлилгликоль, хлорфенезин и феноксиэтанол.

[1079] Полученная композиция представляла собой непрозрачную полувязкую жидкость не совсем белого цвета с pH 5,80 и вязкостью 8000 сП.

Пример 22

Апоптоз-индуцирующая активность индирубина и производных индирубина

Реагенты

[1080] Набор для анализа мертвых клеток/апоптоза с Alexa Fluor 488/аннексином V, фетальная бычья сыворотка (FBS), 0,25% трипсин-EDTA (1×), набор для анализа Caspase-Glo 3/7, среда RPMI 1640, модифицированная по способу Дульбекко среда Игла и антибиотический/противогрибковый раствор (100×).

[1081] Линии клеток MeWo (ATCC® HTB-65™), WM115 (ATCC® CRL-1675) и B16F1 (ATCC® CRL-6323) поддерживают в следующих культуральных средах: культуральная среда для MeWo и B16F1: DMEM с добавлением 10% FBS; культуральная среда для WM115: RPMI 1640 с добавлением 10% FBS.

Экспериментальные данные

[1082] Клетки собирают, и определяют число клеток с использованием счетчика клеток Countess. Клетки разбавляют культуральной средой до требуемой плотности. Конечная плотность клеток может составлять, например, 4000 клеток на лунку для обработки в течение 6 ч и 24 ч, и 2000 клеток на лунку для обработки в течение 48 ч и 72 ч. Для анализа с аннексином V используют 384-луночные планшеты с прозрачным дном (Corning 3712), тогда как для анализа с Caspase-Glo используют белые 384-луночные планшеты с непрозрачным дном (Corning 3570). Все планшеты накрывают крышкой и помещают на ночь в условия 37°C и 5% CO_2 для прикрепления клеток.

[1083] Тестируемые соединения растворяют в DMSO до 30 мМ маточного раствора. Для получения концентраций 3 мМ и 0,3 мМ проводят 10-кратные разбавления. В качестве положительного контроля используют 0,9 мМ стауроспорин, и в качестве отрицательного контроля (NC) используют DMSO. С использованием устройства для обращения с жидкостями Echo550 из планшета-источника соединения в 384-луночные культуральные клеточные планшеты переносят 132,5 нл соединений. После указанного времени инкубирования, планшеты удаляют из инкубатора для проведения измерений.

[1084] Для анализа с аннексином V, планшеты удаляют из инкубатора, и удаляют культуральную среду. Клетки дважды промывают 40 мкл PBS, и в каждую лунку добавляют 15 мкл рабочего раствора из предварительно смешанных аннексина V-FITC и красителя Hoechst 33342. Планшеты инкубируют при комнатной температуре в течение 20 мин, герметизируют и центрифугируют в течение 1 мин при 1000 об/мин для удаления пузырей. Сбор данных с планшетов производят с использованием ImageXpress Nano.

[1085] Для анализа с Caspase-Glo, планшеты удаляют из инкубатора и

уравновешивают при комнатной температуре в течение 15 мин. Реагенты Caspase-Glo 3/7 также размораживают и уравновешивают до комнатной температуры до проведения эксперимента. Реагент Caspase-Glo добавляют в требуемые лунки в соотношении 1:1 с культуральной средой. Планшеты инкубируют при комнатной температуре в течение 15 мин, и проводят сбор данных с использованием планшетного ридера EnSpire™. Кратность индукции рассчитывают в соответствии со следующей формулой: Кратность индукции=$Lum_{образец}/Lum_{N}C$.

Анализ с аннексином V и анализ каспазы-3/7

Результаты

[1086] Ожидается, что соединения и композиции согласно настоящему изобретению, включая индирубин и его химические аналоги, будут индуцировать гибель клеток. Ожидается, что химические аналоги индирубина будут демонстрировать, например, более эффективную апоптоз-индуцирующую активность по сравнению с индирубином. По аналогии, ожидается, что определенные химические аналоги индирубина будут демонстрировать, например, менее эффективную апоптоз-индуцирующую активность по сравнению с индирубином. Такие соединения могут характеризоваться более выигрышными профилями токсичности по сравнению с более эффективными веществами.

Пример 23

Жизнеспособность клеток после воздействия индирубином производными индирубина

Реагенты

[1087] Анализ с CellTiter-Glo® 2.0

Экспериментальные данные

[1088] Для анализа CellTiter-Glo, тестируемые соединения приготавливали в виде 10 мМ раствора в DMSO. Соединения последовательно разбавляли с получением 12 концентраций. В каждую лунку 384-луночного планшета (Corning 3570) вносили 40 мкл клеток из суспензии с плотностью 100000 клеток на мл. Планшеты инкубировали в течение ночи при 37°C, 5% CO_2 и влажности 95%. Тестируемые соединения добавляли, используя DMSO в качестве контроля с несущей средой. Планшеты инкубировали при 37°C, 5% CO_2 и влажности 95% в течение 6, 24 или 48 часов, и добавляли в лунки 40 мкл реагента CellTiter-Glo для оценки жизнеспособности клеток.

Результаты

[1089] Ожидается, что соединения и композиции согласно настоящему изобретению, включая индирубин и его химические аналоги, будут индуцировать гибель клеток. Ожидается, что химические аналоги индирубина будут демонстрировать, например, более эффективную апоптоз-индуцирующую активность по сравнению с индирубином. По аналогии, ожидается, что определенные химические аналоги индирубина будут демонстрировать, например, менее эффективную апоптоз-индуцирующую активность по сравнению с индирубином. Такие соединения могут характеризоваться более выигрышными профилями токсичности по сравнению с более эффективными веществами.

Пример 24

Способность индирубина и производных индирубина активировать рецептор ароматических углеводородов

Аналитические процедуры

[1090] Культуральную среду для стабильно трансфицированных клеток HepG2 приготавливают путем добавления DMEM с высоким содержанием глюкозы и L-глутамина, а также 10% FBS.

[1091] Клетки HepG2-AhR-Luc культивируют в колбах T-75 при 37°C, 5% CO_2 и относительной влажности 95%. Клетки оставляют достигать степени срастания 80-90%, после чего отделяют и разъединяют.

[1092] Культивированные клетки промывают 5 мл PBS. PBS удаляют аспирацией, в колбу добавляют 1,5 мл трипсина, и инкубируют клетки при 37°C приблизительно в течение 5 мин или до тех пор, пока клетки не отделяются, оставаясь на плаву. Трипсин инактивируют путем добавления избытка содержащей сыворотку среды.

[1093] Суспензию клеток переносят в коническую пробирку и центрифугируют при 120g в течение 10 мин для осаждения клеток. Клетки ресуспендируют в посевной среде с нужной плотностью. В 384-луночный культуральный планшет переносят 40 мкл клеток (5×10^3 клеток на лунку). Планшеты помещают в инкубатор при 37°C на 24 часа.

[1094] После этого, приготавливают маточные растворы тестируемых соединений и положительный контроль с омепразолом. Растворы соединений переносят с использованием Echo550 в аналитический планшет. Затем, планшет возвращают в инкубатор для обработки соединением.

[1095] Позднее, после обработки в течение 24 часов, планшет удаляют из инкубатора и оставляют охлаждаться при температуре окружающей среды. В каждую лунку добавляют 30 мкл реагента One-Glo, равных по объему культуральной среде. Клетки оставляют для лизиса по меньшей мере на 3 мин, а затем проводят измерение на люминометре.

[1096] Дозовый ответ отображают в виде графиков с использованием нелинейного регрессионного анализа в программном обеспечении XLfit, и также рассчитывают значения EC_{50}.

Результаты

[1097] Ожидается, что соединения и композиции согласно настоящему изобретению, включая индирубин и его химические аналоги, будут модулировать активность AhR. Ожидается, что химические аналоги индирубина будут демонстрировать, например, более эффективную агонистическую активность в отношении AhR по сравнению с индирубином. По аналогии, ожидается, что определенные химические аналоги индирубина будут демонстрировать, например, менее эффективную агонистическую активность в отношении AhR по сравнению с индирубином.

Пример 25

Анализ с MelanoDerm™

[1098] Целью данного исследования являлась оценка на модели кожи MelanoDerm™

потенциального действия тестируемых соединений в качестве модуляторов меланогенеза в коже после повторных воздействий. Во-вторых, целью данного исследования являлась оценка возможного раздражения кожи на модели кожи MelanoDerm™ после повторных воздействий тестируемым образцом.

Токсичность определяли путем измерения относительного преобразования MTT (3-[4,5-диметилтиазол-2-ил]-2,5-дифенилтетразолия бромид) в тканях, обработанных тестируемым образцом, по сравнению с тканями, обработанными отрицательным контролем/контролем с растворителем. Потенциальное влияние на продукцию меланина определяли путем измерения концентрации меланина, продуцируемого тканями, обработанными тестируемым образцом, по сравнению с тканями, обработанными отрицательным контролем/контролем с растворителем.

Идентификация тестируемых веществ и контролей исследования

Таблица 3

Образцы, протестированные в форме разбавления

Обозначение тестируемого образца	Обозначение спонсора	Дозируемая концентрация	Инструкции по приготовлению
17AA70	DMSO (контроль с растворителем)	0,5% (об./об.)	Тестируемый образец разбавляли (об./об.) EPI-100-LLMM до конечной концентрации 0,5%; разбавленный тестируемый образец перемешивали на вортексе по меньшей мере в течение 1 мин и дозированно наносили на ткани в дозируемом объеме 25 мкл. Для каждой обработки ткани приготавливали общий объем ~0,5 мл.
17AD45	соединение K (CV-8803)	500 мкМ	Используя исходный предоставленный маточный раствор, тестируемый образец разбавляли (об./об.) EPI-100-LLMM до конечной концентрации 500 мкМ. Разбавление тестируемого образца перемешивали на вортексе по меньшей мере в течение 1 мин, нагревали при 37°±1°C (на водяной
17AJ41	малассезин (CV-8684)	500 мкМ	
17AJ43	соединение B (CV-8877)	500 мкМ	
17AJ44	соединение E (AB12508)	500 мкМ	

18AA14	соединение AB17151	500 мкМ	бане) в течение 15 мин, снова перемешивали на вортексе по меньшей мере в течение 1 мин, и дозированно наносили на ткани в дозируемом объеме 25 мкл. Для каждой обработки ткани приготавливали общий объем ~0,5 мл.
18AD42	индирубин	500 мкМ	Используя исходное предоставленное твердое вещество, приготавливали ~100 мМ маточный раствор в DMSO. Маточный раствор хранили при температуре от -15ºC до -25ºC. Из полученного тем самым маточного раствора, тестируемый образец дополнительно разбавляли EPI-100-LLMM до конечной концентрации 500 мкМ. Разбавление тестируемого образца перемешивали на вортексе по меньшей мере в течение 1 мин, нагревали при 37°±1°C (на водяной бане) в течение 15 мин, снова перемешивали на вортексе по меньшей мере в течение 1 мин, и дозированно наносили на ткани в дозируемом объеме 25 мкл. Для каждой обработки ткани приготавливали общий объем ~0,5 мл.

Таблица 4

Образцы, протестированные в форме комбинаций

Обозначение тестируемого образца	Обозначение спонсора	Дозируемая концентрация	Инструкции по приготовлению
17AJ41	малассезин (CV-8684)	250 мкМ	Для каждой обработки ткани общий объем ~1,0 мл комбинированного

18AD42	индирубин	250 мкМ	тестируемого образца приготавливали следующим образом: 2 мкл 17AJ41 (100 мМ) 2 мкл 18AD42 (100 мМ) 796 мкл EPI-100-LLMM Комбинированный тестируемый образец перемешивали на вортексе по меньшей мере в течение 1 мин, нагревали при 37°±1°C (на водяной бане) в течение 15 мин, снова перемешивали на вортексе по меньшей мере в течение 1 мин, и дозированно наносили на ткани в дозируемом объеме 25 мкл.
18AD42	индирубин	250 мкМ	Для каждой обработки ткани общий объем ~1,0 мл комбинированного тестируемого образца приготавливали следующим образом: 2 мкл 18AD42 (100 мМ) 2 мкл 18AA14 (100 мМ) 796 мкл EPI-100-LLMM Комбинированный тестируемый образец перемешивали на вортексе по меньшей мере в течение 1 мин, нагревали при 37°±1°C (на водяной бане) в течение 15 мин, снова перемешивали на вортексе по меньшей мере в течение 1 мин, и дозированно наносили на ткани в дозируемом объеме 25 мкл.
18AA14	AB17151	250 мкМ	
17AJ44	соединение E (AB12508)	100 мкМ	Для каждой обработки ткани общий объем ~1,0 мл комбинированного

17AJ43	соединение B (CV-8877)	100 мкМ	тестируемого образца приготавливали следующим образом: 1 мкл 17AJ44 (100 мМ) 1 мкл 17AJ43 (100 мМ) 998 мкл EPI-100-LLMM Комбинированный тестируемый образец перемешивали на вортексе по меньшей мере в течение 1 мин, нагревали при 37°±1°C (на водяной бане) в течение 15 мин, снова перемешивали на вортексе по меньшей мере в течение 1 мин, и дозированно наносили на ткани в дозируемом объеме 25 мкл.
17AJ43	соединение B (CV-8877)	100 мкМ	Для каждой обработки ткани общий объем ~1,0 мл комбинированного тестируемого образца приготавливали следующим образом: 1 мкл 17AJ43 (100 мМ) 1 мкл 18AA14 (100 мМ) 998 мкл EPI-100-LLMM Комбинированный тестируемый образец перемешивали на вортексе по меньшей мере в течение 1 мин, нагревали при 37°±1°C (на водяной бане) в течение 15 мин, снова перемешивали на вортексе по меньшей мере в течение 1 мин, и дозированно наносили на ткани в дозируемом объеме 25 мкл.
18AA14	соединение AB17151	100 мкМ	

[1099] Контроли включают в себя: положительный контроль - 1% койевая кислота; отрицательный контроль - стерильная деионизированная вода; и контроль с растворителем - DMSO (диметилсульфоксид) в EPI-100-LLMM.

[1100] Для данного исследования, отрицательный контроль не использовали. Вместо этого, контроль с растворителем (17AA70) использовали для корректировки данных,

полученных для тканей, обработанных положительным контролем и тестируемым образцом, соответственно.

[1101] Кроме того, тестируемый образец и контроли наносили на группы из 4 тканей, в которых 2 ткани использовали для получения показателя жизнеспособности ткани (MTT), и 2 ткани для получения показателя меланина, соответственно.

Тест-система

[1102] В данном исследовании использовали модель кожи MelanoDerm™ производства MatTek Corporation (Ashland, MA). Ткань MelanoDerm™ состоит из нормальных полученных от человека эпидермальных кератиноцитов (NHEK) и меланоцитов (NHM), которые культивировали до формирования многослойной, высокодифференцированной модели эпидермиса человека. NHM в сокультурах претерпевают спонтанный меланогенез, приводящий к формированию тканей с различающимися уровнями пигментации. Сокультуры выращивали во вставках для клеточных культур на границе раздела воздух-жидкость, что позволяло производить местное нанесение модуляторов кожи. Модель MelanoDerm™ обладает морфологическими и ультраструктурными характеристиками, подобными встречающимся *in vivo*. NHM, локализованные в базальном слое клеток тканей MelanoDerm™, являются дендритными и спонтанно продуцируют гранулы меланина, которые поступательно заселяют слои ткани. Таким образом, тест-систему используют для проведения скрининга веществ, которые могут ингибировать или стимулировать продукцию меланина по сравнению с отрицательным контролем.

Дизайн и методология эксперимента

[1103] Дизайн эксперимента при проведении данного исследования состоял из определения значения pH тестируемого образца в чистом виде при наличии возможности (и/или дозируемого раствора в соответствующих случаях) и определяющего анализа на модели кожи MelanoDerm™ для определения относительной жизнеспособности тканей и возможного действия тестируемого образца в качестве модулятора меланогенеза после повторных воздействий. Модель кожи MelanoDerm™ подвергали воздействию тестируемых образцов всего в течение 7 суток. Тестируемые образцы местно наносили на модель кожи MelanoDerm™ каждые 48 часов (в пределах временного интервала 48±2 часа от предыдущей обработки). Токсичность тестируемого образца определяли по NAD(P)H-зависимому микросомальному ферментативному восстановлению MTT (и, в меньшей степени, по восстановлению MTT сукцинатдегидрогеназой) в тканях, обработанных контролем и тестируемым образцом. Данные представляли в виде относительной выживаемости (преобразование MTT по сравнению с отрицательным контролем/контролем с растворителем). Потенциальное влияние на продукцию меланина оценивали путем измерения концентрации меланина, продуцируемого тканями, обработанными тестируемым образцом, по сравнению с тканями, обработанными отрицательным контролем/контролем с растворителем. Данные представляли в форме концентрации меланина, продуцируемого обработанными тестируемым образцом тканями, с

использованием калибровочной кривой содержания меланина. В качестве альтернативы, данные могут быть представлены в виде выраженного в процентах изменения концентрации меланина по сравнению с тканями, обработанными отрицательным контролем/контролем с растворителем.

[1104] Использованные способы представляют собой модификацию методик, предоставленных MatTek Corporation.

Среды и реагенты

[1105] Поддерживающую среду MelanoDerm™ (EPI-100-LLMM) приобретали у MatTek Corporation. Модель кожи MelanoDerm™ (MEL-300-A) приобретали у MatTek Corporation. 1% койевую кислоту (приготовленную в стерильной деионизированной воде) приобретали у Sigma. MTT (3-[4,5-диметилтиазол-2-ил]-2,5-дифенилтетразолия бромид) приобретали у Sigma. Модифицированную по способу Дульбекко среду Игла (DMEM), содержащую 2 мМ L-глутамина (среда для добавления MTT), приобретали у Quality Biological. Экстракционный растворитель (изопропанол) приобретали у Aldrich. Стерильный фосфатно-солевой буфер Дульбекко без Ca^{++} и Mg^{++} (CMF-DPBS) приобретали у Invitrogen. Меланин приобретали у Sigma. Стерильную деионизированную воду приобретали у Quality Biological. Solvable приобретали у Perkin Elmer.

Приготовление и доставка тестируемого образца

[1106] Если в данном протоколе не указано иное, то 25 мкл каждого тестируемого образца наносили непосредственно на ткань так, чтобы покрыть верхнюю поверхность. В зависимости от природы тестируемого образца (жидкости, гели, кремы, пены и т. д.) может понадобиться использование дозирующего устройства, сита или другого вспомогательного устройства для обеспечения равномерного распределения тестируемого образца по поверхности ткани.

Путь введения

[1107] В процессе исследования в течение 7 суток, тестируемые образцы местно наносили на ткань MelanoDerm™ каждые 48 часов (в пределах временного интервала 48±2 часа от предыдущей обработки). На каждую ткань наносят 25 микролитров каждого тестируемого образца. На каждую ткань наносят 25 микролитров положительного/отрицательного контроля и контроля с растворителем, соответственно.

Определение pH

[1108] При наличии возможности определяли значение pH для жидкого тестируемого образца в чистом виде (и/или дозируемого раствора в соответствующих случаях). Значение pH определяли с использованием pH-индикаторной бумаги (например, с диапазоном pH 0-14 для оценки и/или с диапазоном pH 5-10 для определения более точной величины). Типичные значения инкремента для pH-индикаторной бумаги с более узким диапазоном определения pH составляли приблизительно от 0,3 до 0,5 единиц pH. Максимальный инкремент для pH-индикаторной бумаги для определения pH составлял 1,0 единицу pH.

Контроли

[1109] Определяющий анализ включал в себя отрицательный контроль, положительный контроль и один контроль с растворителем (DMSO). Ткани MelanoDerm™, принятые за отрицательный контроль анализа, обрабатывали 25 мкл стерильной деионизированной воды. Для нанесения на ткани, принятые за положительный контроль метода анализа, использовали 25 микролитров 1% койевой кислоты (приготовленной в стерильной деионизированной воде и профильтрованной в момент приготовления). До применения 1% койевую кислоту хранили в пробирке, закрытой алюминиевой фольгой, не более 2 часов от времени приготовления. Значения длительности воздействия положительным и отрицательным контролями были идентичны таковым, использованным для тестируемых образцов. В качестве контролей также использовали необработанные ткани.

Оценка самостоятельного восстановления MTT тестируемым образцом

[1110] Было необходимо оценить способность каждого тестируемого образца самостоятельно восстанавливать MTT. 1,0 мг/мл раствор MTT приготавливали в среде для добавления MTT. Приблизительно 25 мкл тестируемого образца добавляли к 1 мл раствора MTT, и инкубировали смесь в темноте при 37±1°C в течение 1-3 часов. Отрицательный контроль, 25 мкл стерильной деионизированной воды, тестировали одновременно. Если цвет раствора MTT становится синим/пурпурным, то имелись основания предполагать, что тестируемый образец восстанавливал MTT. Нерастворимые в воде тестируемые образцы могут демонстрировать прямое восстановление (потемнение) только на границе фаз между тестируемым образцом и средой.

Описание методики MelanoDerm™

[1111] Согласно описанию методики к набору MelanoDerm™ (MatTek Corporation), растворы хранили, как указано производителем. Ткани MelanoDerm™ хранили при 2-8°C до момента использования.

[1112] В день получения (за сутки до дозированного введения), соответствующий объем поддерживающей среды MelanoDerm™ (EPI-100-LLMM) удаляли и нагревали приблизительно до 37°C. В соответствующие лунки 6-луночных планшетов добавляли 0,9 мл аликвоты EPI-100-LLMM. Перед раскрытием герметизированной упаковки каждую ткань MelanoDerm™ проверяли на наличие пузырей воздуха между агарозным гелем и вставкой культуры клеток. Ткани с пузырями воздуха, покрывающими более 50% области вставки культуры клеток, не использовали. 24-луночные контейнеры для транспортировки извлекали из пластикового мешка, и дезинфицировали их поверхности 70% этанолом. Соответствующее число тканей MelanoDerm™ асептически переносили из 24-луночных контейнеров для транспортировки в 6-луночные планшеты. С целью адаптирования, ткани MelanoDerm™ инкубировали при 37±1°C в увлажненной атмосфере 5±1% CO_2 в воздухе (стандартные условия культивирования) в течение ночи (по меньшей мере 16 часов). После открытия мешка, любые неиспользованные ткани, остающиеся на транспортировочном агаре в момент переноса тканей, кратко обрабатывали атмосферой 5% CO_2/95% воздуха, мешок герметизировали и хранили при 2-8°C для последующего использования.

Определяющий анализ

[1113] Обработка ткани: Спустя по меньшей мере 16 часов после инициации культур, пять тканей MelanoDerm™ (считающихся необработанными на сутки 0) фотографировали цифровой камерой для содействия визуальной оценке степени пигментации тканей в начальный момент времени анализа. Две ткани MelanoDerm™ промывали CMF-DPBS, промакивали насухо стерильной впитывающей бумагой и очищали от избытка жидкости. После промывки, ткани MelanoDerm™ переносили в соответствующие содержащие MTT лунки и подвергали анализу с MTT. Три ткани MelanoDerm™ промывали CMF-DPBS, промакивали насухо стерильной впитывающей бумагой и очищали от избытка жидкости. Ткани MelanoDerm™ удаляли из вставки с использованием стерильных скальпелей, помещали в помеченную микроцентрифужную пробирку емкостью 1,5 мл и хранили при <-60°C для последующего анализа меланина.

[1114] Спустя по меньшей мере 16 часов после инициации культур, оставшиеся ткани переносили в новый 6-луночный планшет, содержащий 0,9 мл/лунку свежей предварительно нагретой EPI-100-LLMM. Исследование проводили в течение 7 суток. Пять тканей обрабатывали местно на первые сутки и каждые 48 часов (в пределах временного интервала 48±2 часа от предыдущей обработки) 25 мкл каждого тестируемого образца. Среду каждые сутки обновляли (в пределах временного интервала 24±2 часа от предыдущей «подпитки»); ткани переносили в новый 6-луночный планшет, содержащий 0,9 мл/лунку свежей предварительно нагретой EPI-100-LLMM.

[1115] Пять тканей обрабатывали местно на первые сутки и каждые 48 часов (в пределах временного интервала 48±2 часа от предыдущей обработки) 25 мкл положительного контроля и отрицательного контроля/контроля с растворителем, соответственно. Среду каждые сутки обновляли (в пределах временного интервала 24±2 часа от предыдущей «подпитки»); ткани переносили в новый 6-луночный планшет, содержащий 0,9 мл/лунку свежей предварительно нагретой EPI-100-LLMM. Ткани инкубировали при 37±1°C в увлажненной атмосфере 5±1% CO_2 в воздухе (стандартные условия культивирования) в течение соответствующего времени воздействия.

[1116] На сутки дозированного введения, для удаления любого остаточного количества тестируемого образца, ткань MelanoDerm™ сначала осторожно трижды промывали ~500 мкл CMF-DPBS в каждую промывку. CMF-DPBS осторожно вносили пипеткой в лунку, а затем удаляли стерильным аспиратором. Ткани переносили в новый 6-луночный планшет, содержащий 0,9 мл/лунку свежей предварительно нагретой EPI-100-LLMM и обрабатывали соответствующим тестируемым образцом, отрицательным контролем/контролем с растворителем или положительным контролем. Ткани инкубировали при 37±1°C в увлажненной атмосфере 5±1% CO_2 в воздухе (стандартные условия культивирования) в течение соответствующего времени воздействия.

[1117] По завершению исследования в течение 7 суток, ткани MelanoDerm™, обработанные отрицательным контролем/контролем с растворителем или положительным контролем и каждым тестируемым образцом, фотографировали цифровой камерой для

содействия визуальной оценке степени пигментации тканей в конце исследования (сутки 7). Затем, по восстановлению MTT определяли жизнеспособность двух тканей, обработанных положительным и отрицательным контролем, соответственно, и каждым тестируемым образцом. По завершению исследования в течение 7 суток, определяли количество меланина, продуцированного тремя тканями, обработанными каждым тестируемым образцом, положительным контролем и отрицательным контролем/контролем с растворителем, соответственно.

[1118] Анализ с MTT: Не более чем за два часа до момента использования, 10× маточный раствор MTT, приготовленный в PBS (профильтрованный в момент приготовления партии) размораживали и разбавляли теплой средой для добавления MTT с получением 1,0 мг/мл раствора. В каждую помеченную лунку предварительно размеченного 24-луночного планшета добавляют 300 мкл раствора MTT.

[1119] По завершению воздействия, каждую ткань MelanoDerm™, предназначенную для MTT анализа, промывали CMF-DPBS (использовали пульверизатор, подходящий для этой стадии), промакивали насухо стерильной впитывающей бумагой и очищали от избытка жидкости. После промывки, ткани MelanoDerm™ переносили в соответствующие содержащие MTT лунки. 24-луночные планшеты инкубируют в стандартных условиях в течение 3±0,1 часа.

[1120] Спустя 3±0,1 часа, ткани MelanoDerm™ промакивали насухо стерильной впитывающей бумагой, очищали от избытка жидкости и переносили в предварительно размеченный 24-луночный планшет, содержащий 2,0 мл изопропанола в каждой помеченной лунке. Планшеты покрывали парафильмом и хранили в холодильнике (2-8ºC) до момента сбора образцов для последнего времени воздействия. В случае необходимости, планшеты хранили в течение ночи (или до 24 часов после сбора образцов для последнего времени воздействия) в холодильнике до экстрагирования MTT. Затем, планшеты перемешивали встряхиванием по меньшей мере в течение 2 часов при комнатной температуре. По завершению периода экстрагирования, жидкость во вставках для клеточных культур декантировали в лунку, из которой была взята вставка для клеточных культур. Раствор экстракта смешивали, и переносили 200 мкл в соответствующие лунку 96-луночного планшета. В лунки, помеченные как холостой контроль, добавляли 200 мкл изопропанола. Оптическую плотность при 550 нм (OD_{550}) в каждой лунке измеряли на планшетном ридере Molecular Devices Vmax.

[1121] Анализ меланина: По завершению соответствующего времени воздействия, для удаления любых остаточных количеств тестируемого образца или избытка фенолового красного из культуральной среды ткани MelanoDerm™, предназначенные для анализа меланина, осторожно трижды промывали ~500 мкл CMF-DPBS в каждую промывку, промакивали насухо стерильной впитывающей бумагой и очищали от избытка жидкости. Ткани MelanoDerm™ фотографировали с использованием цифровой камеры по завершению анализа. Ткани MelanoDerm™ удаляли из вставки для клеточных культур с использованием стерильных скальпелей, помещали в помеченную микроцентрифужную

пробирку емкостью 1,5 мл и хранили при <-60ºС для последующего анализа меланина.

[1122] На сутки экстрагирования меланина, отделенные ткани размораживали при комнатной температуре приблизительно в течение 10 мин. В каждую микроцентрифужную пробирку добавляли 250 мкл Solvable, и инкубировали пробирки по меньшей мере в течение 16 часов при 60±2°С. Путем растворения меланина в Solvable приготавливали 1 мг/мл маточный раствор стандарта меланина. Серию стандартов меланина в диапазоне концентраций от 0 мг/мл до 0,33 мг/мл приготавливали из 1 мг/мл маточного раствора. Серию стандартов приготавливали путем добавления 0,6 мл 1 мг/мл маточного раствора стандарта меланина к 1,2 мл Solvable, с последующим приготовлением серии еще из пяти разбавлений (кратность разбавления 3). Solvable использовали в качестве нулевого стандарта. Серии стандартов меланина и Solvable инкубировали по меньшей мере в течение 16 часов при 60+2ºС.

[1123] Спустя по меньшей мере 16 часов после начала экстрагирования меланина, содержащие образцы пробирки (представляющие собой меланин, экстрагированный из тканей MelanoDerm™) и стандарты охлаждали до комнатной температуры и центрифугировали при 13000 об/мин в течение 5 мин при комнатной температуре. В соответствующие лунки 96-луночного планшета переносили 200 мкл образцов (один повтор) или стандартов (два повтора). В лунки, обозначенные как холостые, в двух повторах переносили 200 мкл Solvable. Оптическую плотность при 490 нм (OD_{490}) для каждой лунки измеряли на планшетном ридере Molecular Devices Vmax (с выбранной функцией Automix).

Инактивированные контроли для оценки восстановления MTT остаточными количествами тестируемого образца

[1124] Для того, чтобы продемонстрировать, что остаточные количества тестируемого образца самостоятельно не восстанавливают MTT, в процессе определяющего анализа проводили функциональную проверку с целью показать, что тестируемый образец не связывается с тканью и не приводит к ложному сигналу о восстановлении MTT.

[1125] Для того, чтобы определить, восстанавливают ли MTT остаточные количества тестируемого образца, использовали инактивированную заморозкой контрольную ткань. Инактивированную заморозкой ткань получали путем помещения необработанных тканей MelanoDerm™/EpiDerm™ (Melanoderm™ без меланоцитов) в морозильную камеру при -20ºС по меньшей мере на ночь, размораживания до комнатной температуры с последующим повторным замораживанием. После инактивации, ткань может неограниченное время храниться в морозильной камере. Инактивированные заморозкой ткани могут быть получены в готовом виде от MatTek Corporation и храниться в морозильной камере при -20ºС до момента использования. Для исследования восстановления остаточными количествами тестируемого образца, инактивированные ткани обычным образом обрабатывали тестируемым образцом. Все аналитические процедуры проводили тем же образом, что и для жизнеспособной ткани. По причине того, что в результате присутствия

в инактивированной ткани остаточного количества NADH и ассоциированных ферментов ожидается незначительное восстановление МТТ, параллельно тестировали по меньшей мере один инактивированный контроль, обработанный стерильной деионизированной водой (отрицательный инактивированный контроль).

[1126] Если в инактивированном контроле, обработанном тестируемым образцом, наблюдается незначительное восстановление МТТ, или оно отсутствует, то наблюдаемое восстановление МТТ в жизнеспособной ткани, обработанной тестируемым образцом, может быть приписано жизнеспособным клеткам. Если в инактивированном контроле, обработанном тестируемым образцом, наблюдается значительное восстановление МТТ (по сравнению с обработанной жизнеспособной тканью), то следует предпринять дополнительные шаги с целью учета химического восстановления, или тестируемый образец не может считаться пригодным для тестирования в данной системе. Значения OD_{550} для инактивированных контрольных образцов анализируют, как описано ниже.

[1127] Анализ данных

[1128] Рассчитывали среднее значение OD_{550} для холостых лунок. Скорректированное среднее значение OD_{550} для отрицательного контроля/контроля с растворителем определяли путем вычитания среднего значения OD_{550} для холостых лунок из их средних значений OD_{550}. Скорректированные значения OD_{550} для воздействий отдельным тестируемым образцом и воздействия положительным контролем определяли путем вычитания среднего значения OD_{550} для холостых лунок из каждого из значений. Все расчеты проводили с использованием электронной таблицы Excel. Хотя обсуждаемые алгоритмы используют для расчета конечного показателя при анализе на групповом уровне обработки, те же расчеты могут применяться в отношении отдельных повторов.

Скорректированное значение OD_{550} для воздействия тестируемым образцом=Значение OD_{550} для воздействия тестируемым образцом -Среднее значение OD_{550} для холостого контроля

[1129] В случае использования инактивированного контроля (КС), для корректировки количества МТТ, самостоятельно восстановленного остаточными количествами тестируемого образца, проводили следующие дополнительные расчеты. Для определения действительных значений OD_{550} для инактивированных контролей, обработанных тестируемыми образцами, исходное значение OD_{550} для инактивированного контроля, обработанного отрицательным контролем, вычитали из исходных значений OD_{550} для каждого из инактивированных контролей, обработанных тестируемыми образцами.

Действительное значение OD_{550} для каждого КС, обработанного тестируемым образцом=Исходное значение OD_{550} для каждого КС, обработанного тестируемым образцом - Исходное значение OD_{550} для КС, обработанного отрицательным контролем/контролем с растворителем

[1130] Действительные значения OD_{550} представляют собой количество МТТ, восстановленного путем самостоятельного восстановления остаточными количествами

тестируемого образца при конкретных значениях времени воздействия. В общем, если действительное значение OD_{550} превышает 0,150, то для получения конечного скорректированного значения OD_{550} действительное значение восстановления МТТ вычитают из скорректированных значений OD_{550} жизнеспособных обработанных тканей. Эти конечные скорректированные значения OD_{550} затем используют для определения выраженной в процентах жизнеспособности контрольных образцов.

Конечное скорректированное значение OD_{550}=скорректированное значение OD_{550} для обработанных тестируемым образцом тканей (жизнеспособных) - Действительное значение OD_{550} для обработанных тестируемым образцом тканей (КС)

[1131] В завершение, могут быть проведены следующие расчеты, выраженные в процентах к контролю:

Жизнеспособность (%) = [(Конечное скорректированное значение OD_{550} для тестируемого образца или положительного контроля)/(скорректированное среднее значение OD_{550} для отрицательного контроля/контроля с растворителем)] × 100

[1132] Анализ меланина: Исходные данные оптической плотности собирали, сохраняли в виде файла печати и импортировали в электронную таблицу Excel. Собирали исходные данные оптической плотности. Определяли значение OD_{490} для каждого тестируемого образца (представляющего собой меланин, экстрагированный из необработанной ткани MelanoDerm™ на сутки 0, ткани MelanoDerm™, обработанной каждым тестируемым образцом, отрицательным контролем/контролем с растворителем или положительным контролем на сутки 7) и стандартов меланина. Скорректированное значение OD_{490} для тестируемых образцов и каждого стандарта меланина определяли путем вычитания значения OD_{490} для холостой лунки. Калибровочную кривую строили в виде концентрационной зависимости стандартов в мг/мл (ось Y) относительно соответствующей скорректированной оптической плотности. Количество меланина в каждой отдельной ткани интерполировали из калибровочной кривой (линейно). В завершение, рассчитывали среднюю концентрацию меланина для каждой группы с обработкой тестируемым образцом или контролем, соответственно.

Результаты

[1133] На Фиг. 128 обобщены результаты анализа средней выживаемости тканей и концентрации меланина для тестируемых образцов, положительного контроля и необработанных тканей. Предварительные результаты указывают на то, что определенные составы с карбазольными соединениями согласно настоящему изобретению могут независимо демонстрируют умеренную способность осветлять кожу, что смягчает эффект карбазолов, приводящих к потемнению кожи.

[1134] На Фиг. 129 обобщены результаты анализа средней выживаемости тканей и концентрации меланина для тестируемых образцов и необработанных тканей, наблюдавшиеся в отдельном эксперименте. Комбинированные виды обработки, включая, например, обработку малассезином и индирубином, демонстрируют более выраженные эффекты осветления кожи, чем любое из соединений само по себе.

Пример 26

Способность индирубина и производных индирубина индуцировать меланогенез

[1135] Целью данного исследования являлось наблюдение и документирование меланогенеза и жизнеспособности меланоцитов B16, подвергнутых воздействию индирубина и производных индирубина.

Материалы и реагенты

[1136] Посевная среда содержит DMEM без L-глутамина, FBS, пенициллин/стрептомицин и L-глутамин. Аналитическая среда содержит DMEM без фенолового красного и L-глутамина, FBS, пенициллин/стрептомицин, L-глутамин и aMSH. Другие реагенты включают в себя койевую кислоту, DMSO и MTT. Тестируемыми клетками являются клетки B16 (ATCC CRL-6475).

Протокол

[1137] Меланоциты B16 культивируют до степени срастания 70% и собирают. Клетки высевают в 96-луночные планшеты с плотностью 4000 клеток на лунку и оставляют для прикрепления в течение ночи. На следующие сутки, тестируемые образцы и контроли разбавляют аналитической средой B16. После инкубации в течение ночи, среду удаляют путем аспирации, и добавляют 200 мкл тестируемых образцов и контролей. Клетки инкубируют при 37°C и 10% CO_2 в течение 72 часов. После инкубации в течение 72 часов, собирают данные оптической плотности при 540 нм. Среду удаляют, заменяют 100 мкл посевной среды с 1 мг/мл MTT и инкубируют в течение 2 часов при 37°C и 10% CO_2. Среду с MTT удаляют, заменяют 200 мкл смеси 95% этанол/5% изопропанол и оставляют перемешиваться встряхиванием в течение 15 мин. Затем, собирают данные оптической плотности MTT при 570 нм.

Результаты

[1138] Ожидается, что соединения и композиции согласно настоящему изобретению, включая индирубин и его химические аналоги, будут ингибировать меланогенез. Ожидается, что химические аналоги индирубина будут демонстрировать, например, более эффективную способность ингибировать меланогенез по сравнению с индирубином. По аналогии, ожидается, что определенные химические аналоги индирубина будут демонстрировать, например, менее эффективную способность ингибировать меланогенез по сравнению с индирубином.

Пример 27

Эффективность *in vitro*

[1139] Ожидается, что соединения и композиции согласно настоящему изобретению будут индуцировать апоптоз меланоцитов и модулировать активность меланоцитов, продукцию меланина, биогенез меланосом и/или перенос меланосом по меньшей мере так же эффективно, как и индирубин. Также предполагается, что определенные соединения и композиции согласно настоящему изобретению будут влиять на указанные биологические процессы с меньшей эффективностью, чем индирубин. Такие соединения и композиции могут характеризоваться более выигрышными профилями токсичности по сравнению с

более эффективными веществами.

Пример 28

Эффективность *in vivo*

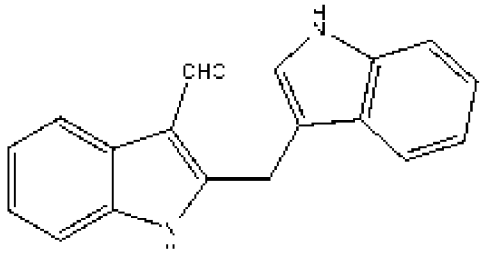
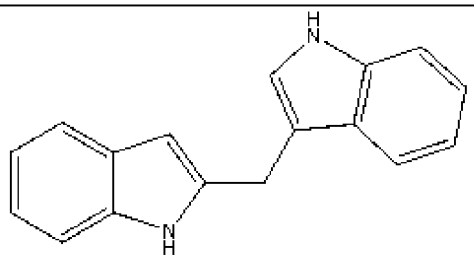
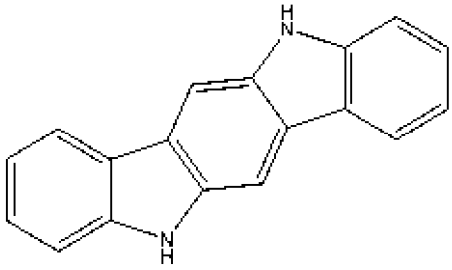
[1140] Ожидается, что соединения и композиции согласно настоящему изобретению будут по меньшей мере так же эффективны, как и индирубин, модулировать пигментацию кожи, включая осветление кожи и коррекцию гиперпигментации/гипопигментации, вызванных различными нарушениями. Также ожидается, что соединения и композиции согласно настоящему изобретению будут демонстрировать выигрышные фармакокинетические профили, например, применительно к времени полувыведения и всасывания. Определенные соединения будут демонстрировать большее время полувыведения, тогда как другие будут демонстрировать меньшее время полувыведения. По аналогии, определенные соединения будут демонстрировать разные профили всасывания, причем для некоторых соединений для полного всасывания потребуется большее время, а для других для полного всасывания потребуется меньшее время.

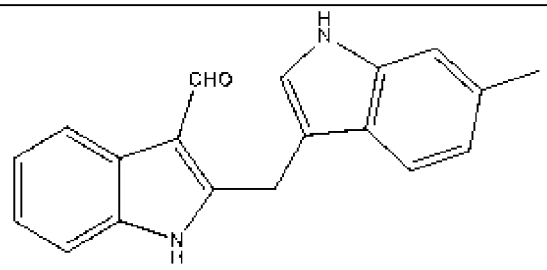
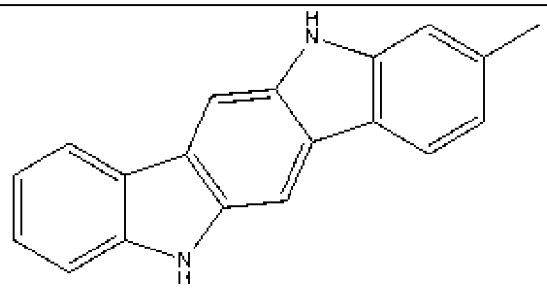
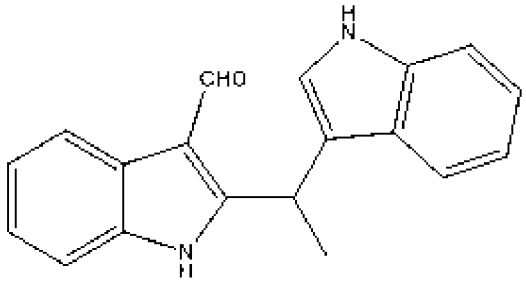
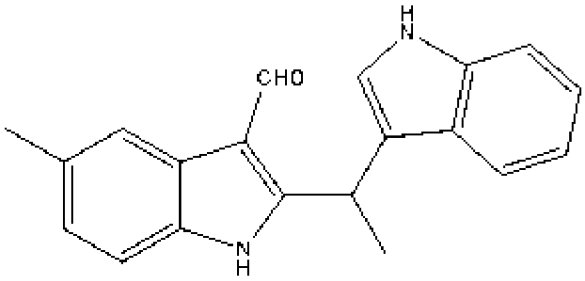
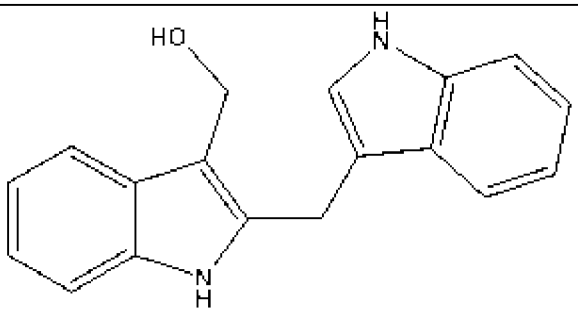
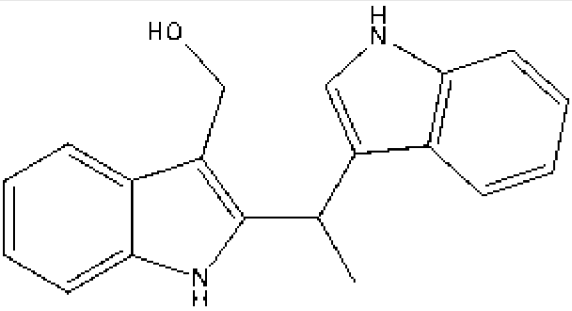
Пример 29

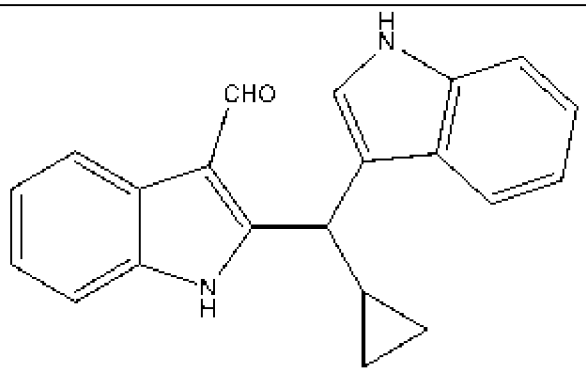
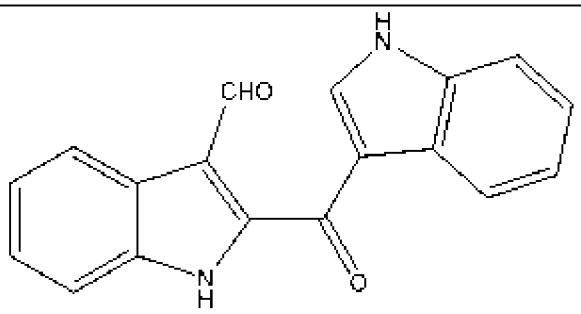
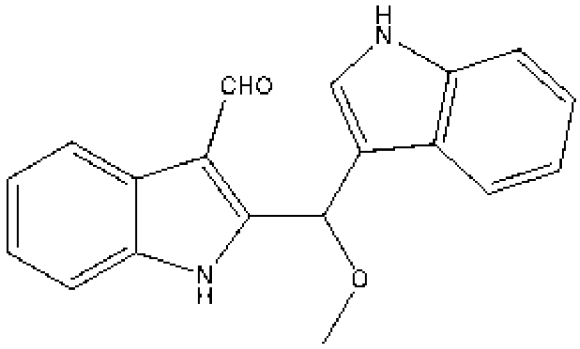
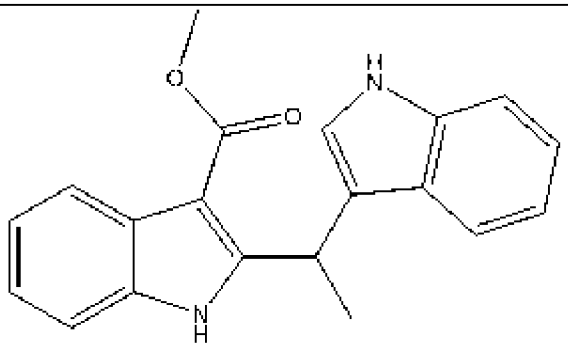
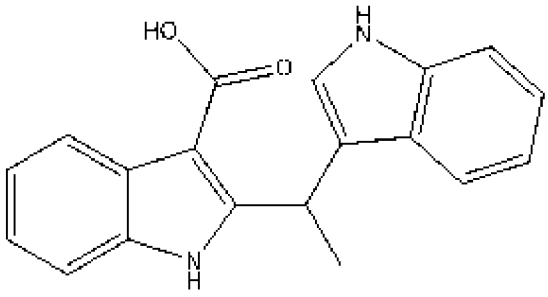
Обозначение соединений

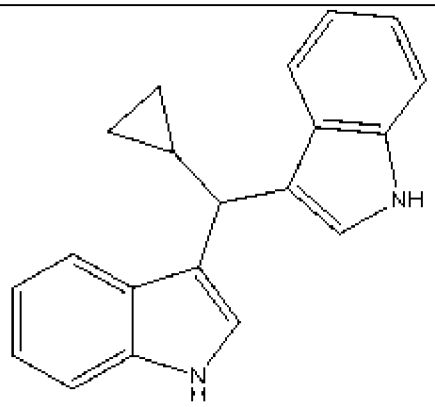
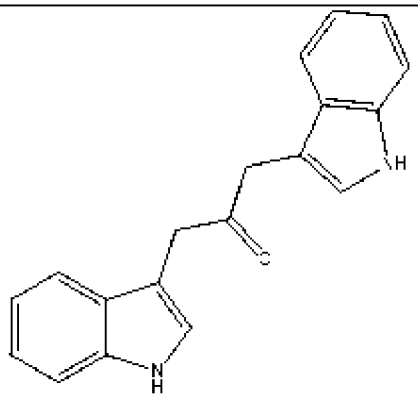
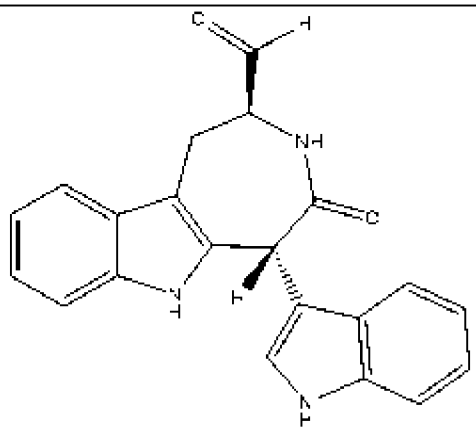
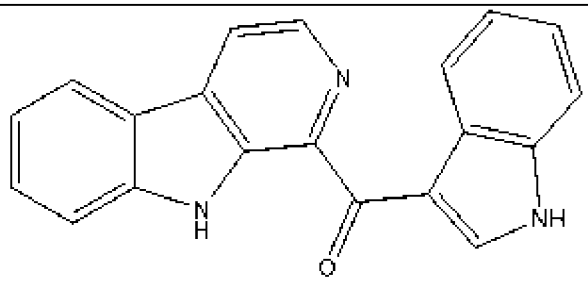
[1141] В представленной ниже Таблице 5 указаны структуры и названия соединений согласно настоящему изобретению.

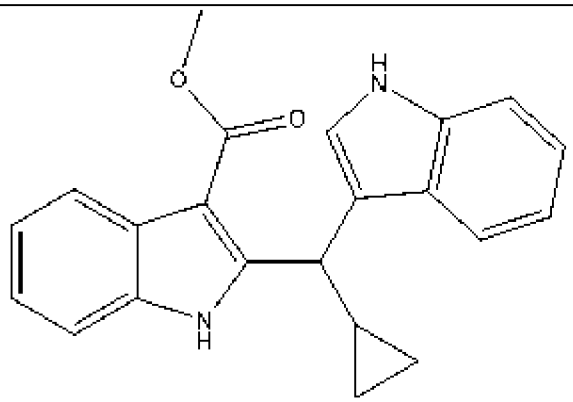
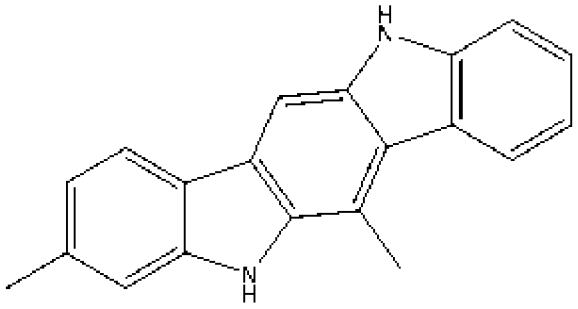
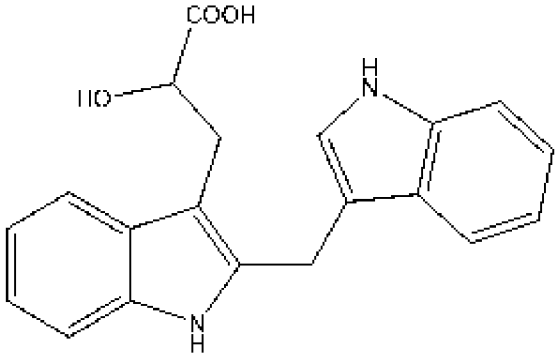
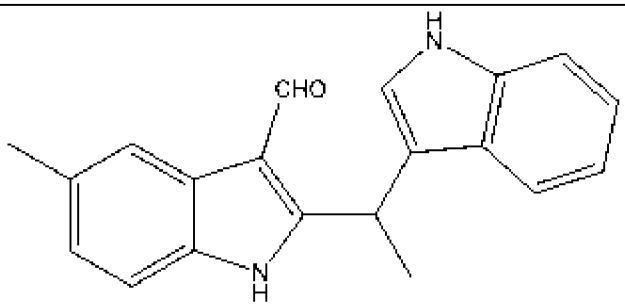
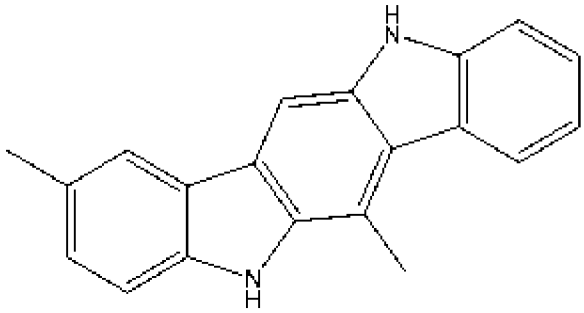
Таблица 5

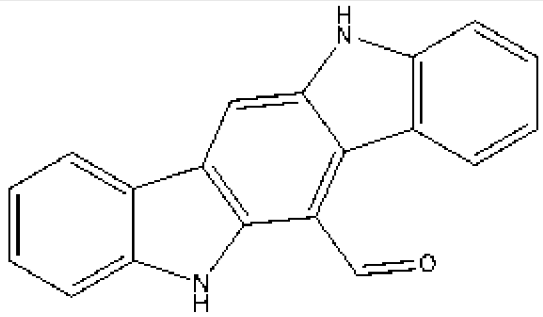
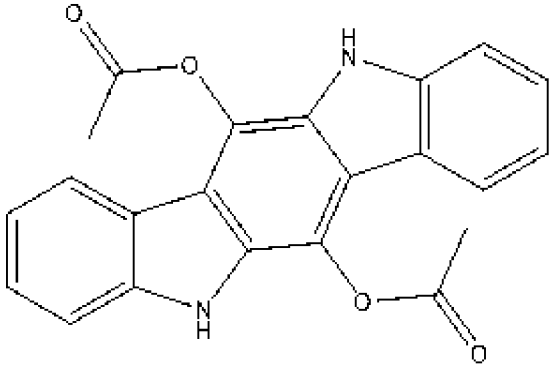
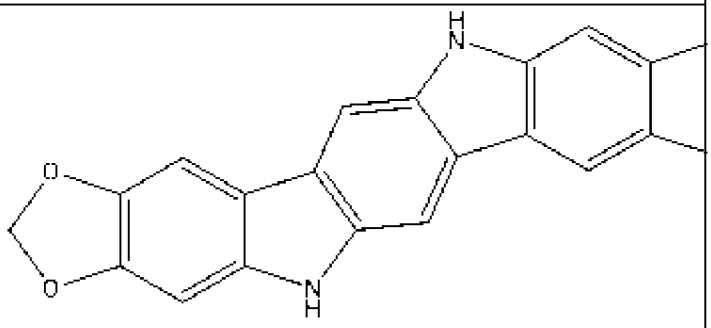
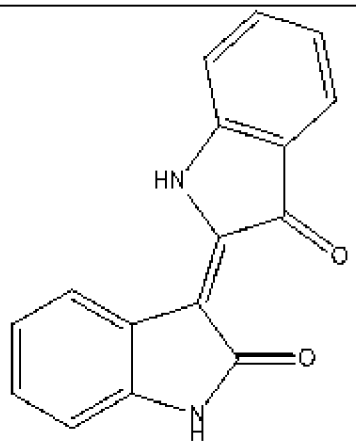
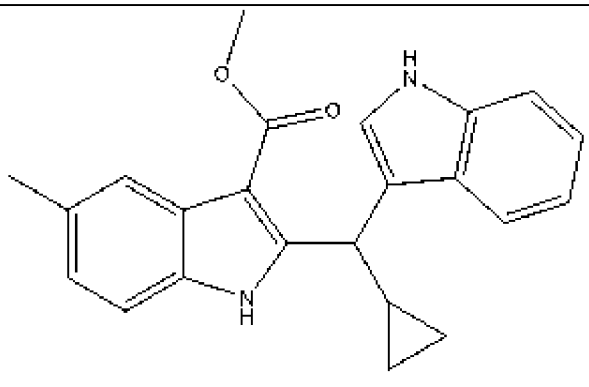
Код соединения	Название соединения	Структура
CV-8684	малассезин	
N/A	Предшественник малассезина	
CV-8685	Индоло[3,2-b]карбазол	

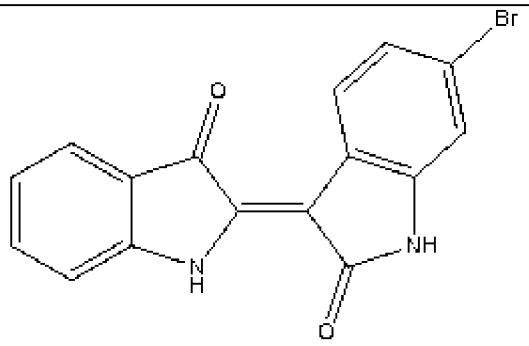
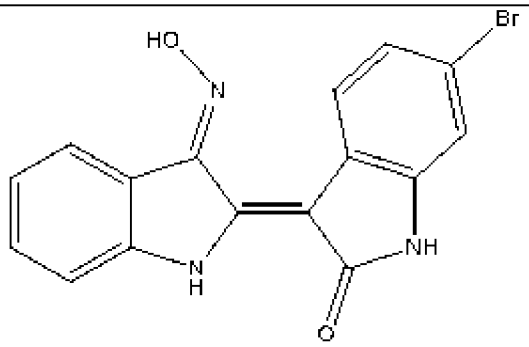
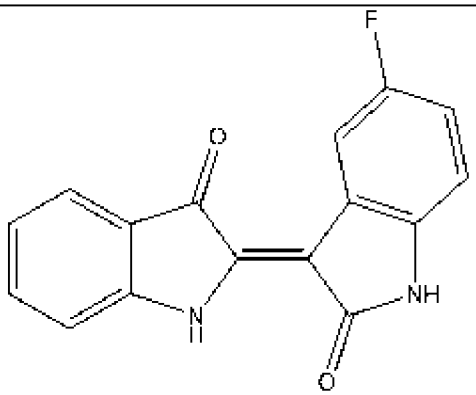
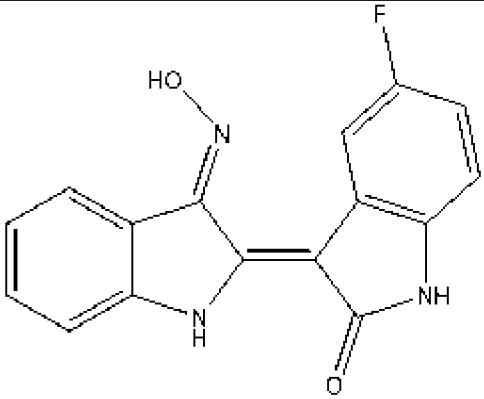
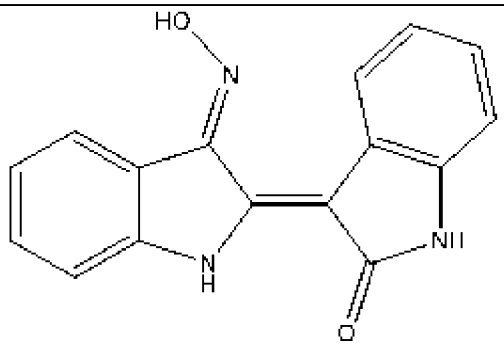
CV-8686	Соединение I	
CV-8687	Соединение IV	
CV-8688	Соединение II	
CV-8802	Соединение C	
CV-8803	Соединение K	
CV-8804	Соединение A	

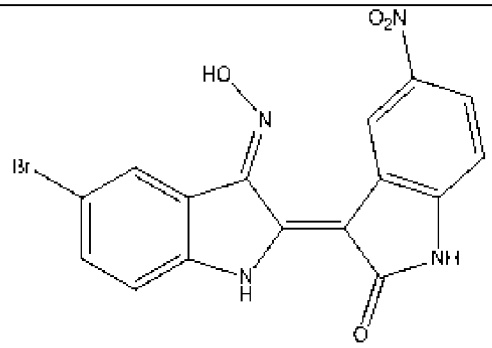
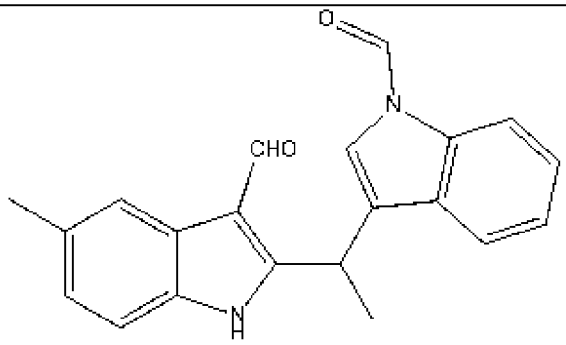
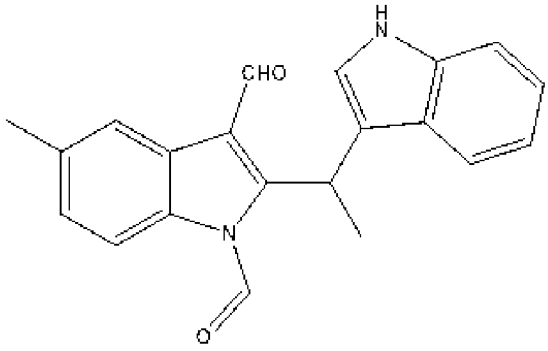
AB12508	Соединение E	
CV-8819	Соединение A5	
AB12509	Соединение H	
CV-8877	Соединение B	
N/A	Соединение B10	

AB11644	н.д.	
AB12976	O52	
AB17011	*Malassezia* индол A	
AB17014	питириацитрин	

AB17151	н.д.	
AB17225	Соединение VI	
AB17227	*Malassezia* лактоновая кислота	
AB12507	н.д.	
AB17219	Соединение V	

н.д.	FICZ	
AB17220	Соединение VIII	
AB17221	Соединение VII	
н.д.	индирубин	
AB17590	н.д.	

AB17653	н.д.	
AB17654	н.д.	
AB17655	н.д.	
AB17656	н.д.	
AB17657	н.д.	

AB17658	н.д.	
н.д.	Соединение C1	
н.д.	Соединение C2	

Пример 30

Апоптоз-индуцирующая активность композиций, содержащих полученные из *Malassezia* соединения и/или их химические аналоги

Реагенты

[1142] Набор для анализа мертвых клеток/апоптоза с Alexa Fluor 488/аннексином V, фетальная бычья сыворотка (FBS), 0,25% трипсин-EDTA (1×), набор для анализа Caspase-Glo 3/7, среда RPMI 1640, модифицированная по способу Дульбекко среда Игла и антибиотический/противогрибковый раствор (100×).

[1143] Линии клеток MeWo (ATCC® HTB-65™), WM115 (ATCC® CRL-1675) и B16F1 (ATCC® CRL-6323) поддерживают в следующих культуральных средах: культуральная среда для MeWo и B16F1: DMEM с добавлением 10% FBS; культуральная среда для WM115: RPMI 1640 с добавлением 10% FBS.

Экспериментальные данные

[1144] Клетки собирают, и определяют число клеток с использованием счетчика клеток Countess. Клетки разбавляют культуральной средой до требуемой плотности. Конечная плотность клеток может составлять, например, 4000 клеток на лунку для обработки в течение 6 ч и 24 ч, и 2000 клеток на лунку для обработки в течение 48 ч и 72 ч.

Для анализа с аннексином V используют 384-луночные планшеты с прозрачным дном (Corning 3712), тогда как для анализа с Caspase-Glo используют белые 384-луночные планшеты с непрозрачным дном (Corning 3570). Все планшеты накрывают крышкой и помещают на ночь в условия 37°C и 5% CO_2 для прикрепления клеток.

[1145] Тестируемые соединения растворяют в DMSO до 30 мМ маточного раствора. Для получения концентраций 3 мМ и 0,3 мМ проводят 10-кратные разбавления. В качестве положительного контроля используют 0,9 мМ стауроспорин, и в качестве отрицательного контроля (NC) используют DMSO. С использованием устройства для обращения с жидкостями Echo550 из планшета-источника соединения в 384-луночные культуральные клеточные планшеты переносят 132,5 нл соединений. После указанного времени инкубирования, планшеты удаляют из инкубатора для проведения измерений.

[1146] Тестируемые соединения растворяют в DMSO, EPI-100-LLMM или другом подходящем растворителе, и могут быть получены в соответствии с инструкциями, представленными ниже в Таблицах 2-7. Подходящие растворители хорошо известны специалистам в данной области.

[1147] Для анализа с аннексином V, планшеты удаляют из инкубатора, и удаляют культуральную среду. Клетки дважды промывают 40 мкл PBS, и в каждую лунку добавляют 15 мкл рабочего раствора из предварительно смешанных аннексина V-FITC и красителя Hoechst 33342. Планшеты инкубируют при комнатной температуре в течение 20 мин, герметизируют и центрифугируют в течение 1 мин при 1000 об/мин для удаления пузырей. Сбор данных с планшетов производят с использованием ImageXpress Nano.

[1148] Для анализа с Caspase-Glo, планшеты удаляли из инкубатора и уравновешивали при комнатной температуре в течение 15 мин. Реагенты Caspase-Glo 3/7 также размораживали и уравновешивали до комнатной температуры до проведения эксперимента. Реагент Caspase-Glo добавляли в требуемые лунки в соотношении 1:1 с культуральной средой. Планшеты инкубировали при комнатной температуре в течение 15 мин и проводили сбор данных с использованием планшетного ридера EnSpire™. Кратность индукции рассчитывали в соответствии со следующей формулой: Кратность индукции=$Lum_{образец}/Lum_{N}C$.

Анализ с аннексином V и анализ каспазы-3/7

Результаты

[1149] Ожидается, что соединения и композиции согласно настоящему изобретению, включая композиции #1-5, будут индуцировать гибель клеток. Ожидается, что композиции согласно настоящему изобретению будут демонстрировать, например, более эффективную апоптоз-индуцирующую активность по сравнению по меньшей мере с одним отдельным соединением, входящим в состав композиции. По аналогии, ожидается, что определенные композиции согласно настоящему изобретению будут демонстрировать, например, менее эффективную апоптоз-индуцирующую активность по сравнению по меньшей мере с одним отдельным соединением, входящим в состав композиции. Такие композиции могут характеризоваться более выигрышными профилями токсичности по

сравнению с более эффективными веществами.

Пример 31

Жизнеспособность клеток после воздействия композициями, содержащими полученные из *Malassezia* соединения и/или их химические аналоги

Реагенты

[1150] Анализ с CellTiter-Glo® 2.0

Экспериментальные данные

[1151] Для анализа CellTiter-Glo, тестируемые соединения приготавливали в виде 10 мМ раствора в DMSO. Соединения последовательно разбавляли с получением 12 концентраций. В каждую лунку 384-луночного планшета (Corning 3570) вносили 40 мкл клеток из суспензии с плотностью 100000 клеток на мл. Планшеты инкубировали в течение ночи при 37°C, 5% CO_2 и влажности 95%. Тестируемые соединения добавляли, используя DMSO в качестве контроля с несущей средой. Планшеты инкубировали при 37°C, 5% CO_2 и влажности 95% в течение 6, 24 или 48 часов, и добавляли в лунки 40 мкл реагента CellTiter-Glo для оценки жизнеспособности клеток.

[1152] Тестируемые композиции растворяют в DMSO, EPI-100-LLMM или другом подходящем растворителе, и могут быть приготовлены в соответствии с инструкциями, представленными ниже в Таблицах 2-7. Подходящие растворители хорошо известны специалистам в данной области.

Результаты

[1153] Ожидается, что соединения и композиции согласно настоящему изобретению, включая композиции #1-5, будут индуцировать гибель клеток. Ожидается, что композиции согласно настоящему изобретению будут демонстрировать, например, более эффективную апоптоз-индуцирующую активность по сравнению по меньшей мере с одним отдельным соединением, входящим в состав композиции. По аналогии, ожидается, что определенные композиции согласно настоящему изобретению будут демонстрировать, например, менее эффективную апоптоз-индуцирующую активность по сравнению меньшей мере с одним отдельным соединением, входящим в состав композиции. Такие композиции могут характеризоваться более выигрышными профилями токсичности по сравнению с более эффективными веществами.

Пример 32

Способность композиций, содержащих полученные из *Malassezia* соединения и/или их химические аналоги, активировать рецептор ароматических углеводородов

Аналитические процедуры

[1154] Культуральную среду для стабильно трансфицированных клеток HepG2 приготавливают путем добавления DMEM с высоким содержанием глюкозы и L-глутамина, а также 10% FBS.

[1155] Клетки HepG2-AhR-Luc культивируют в колбах T-75 при 37°C, 5% CO_2 и относительной влажности 95%. Клетки оставляют достигать степени срастания 80-90%, после чего отделяют и разъединяют.

[1156] Культивированные клетки промывают 5 мл PBS. PBS удаляют аспирацией, в колбу добавляют 1,5 мл трипсина, и инкубируют клетки при 37°C приблизительно в течение 5 мин или до тех пор, пока клетки не отделяются, оставаясь на плаву. Трипсин инактивируют путем добавления избытка содержащей сыворотку среды.

[1157] Суспензию клеток переносят в коническую пробирку и центрифугируют при 120g в течение 10 мин для осаждения клеток. Клетки ресуспендируют в посевной среде с нужной плотностью. В 384-луночный культуральный планшет переносят 40 мкл клеток (5×10^3 клеток на лунку). Планшеты помещают в инкубатор при 37°C на 24 часа.

[1158] После этого, приготавливают маточные растворы тестируемых соединений, тестируемых композиций и положительный контроль с омепразолом. Растворы соединений и композиций переносят с использованием Echo550 в аналитический планшет. Затем, планшет возвращают в инкубатор для обработки соединением/композицией.

[1159] Позднее, после обработки в течение 24 часов, планшет удаляют из инкубатора и оставляют охлаждаться при температуре окружающей среды. В каждую лунку добавляют 30 мкл реагента One-Glo, равных по объему культуральной среде. Клетки оставляют для лизиса по меньшей мере на 3 мин, а затем проводят измерение на люминометре.

[1160] Дозовый ответ отображают в виде графиков с использованием нелинейного регрессионного анализа в программном обеспечении XLfit, и также рассчитывают значения EC_{50}.

Результаты

[1161] Ожидается, что соединения и композиции согласно настоящему изобретению, включая композиции #1-5, будут модулировать активность AhR. Ожидается, что композиции согласно настоящему изобретению будут демонстрировать, например, более эффективную агонистическую активность в отношении AhR по сравнению по меньшей мере с одним отдельным соединением, входящим в состав композиции. По аналогии, ожидается, что определенные что композиции согласно настоящему изобретению будут демонстрировать, например, менее эффективную агонистическую активность в отношении AhR по сравнению по меньшей мере с одним отдельным соединением, входящим в состав композиции. Ожидается, что композиции согласно настоящему изобретению также будут демонстрировать, например, более эффективную антагонистическую активность в отношении AhR по сравнению по меньшей мере с одним отдельным соединением, входящим в состав композиции. По аналогии, ожидается, что определенные что композиции согласно настоящему изобретению будут демонстрировать, например, менее эффективную антагонистическую активность в отношении AhR по сравнению по меньшей мере с одним отдельным соединением, входящим в состав композиции.

Пример 33

Анализ с MelanoDerm™

[1162] Целью данного исследования являлась оценка на модели кожи MelanoDerm™ потенциального действия тестируемых соединений в качестве модуляторов меланогенеза в

коже после повторных воздействий. Во-вторых, целью данного исследования являлась оценка на модели кожи MelanoDerm™ возможного раздражения кожи после повторных воздействий тестируемым образцом. Токсичность определяли путем измерения относительного преобразования МТТ (3-[4,5-диметилтиазол-2-ил]-2,5-дифенилтетразолия бромид) в тканях, обработанных тестируемым образцом, по сравнению с тканями, обработанными отрицательным контролем/контролем с растворителем. Потенциальное влияние на продукцию меланина определяли путем измерения концентрации меланина, продуцируемого тканями, обработанными тестируемым образцом, по сравнению с тканями, обработанными отрицательным контролем/контролем с растворителем.

Идентификация тестируемых веществ и контролей исследования

Таблица 6

Образцы, протестированные в форме разбавления

Обозначение тестируемого образца	Обозначение спонсора	Дозируемая концентрация	Инструкции по приготовлению
18AH47	DMSO (контроль с растворителем)	0,5% (об./об.)	Контроль с растворителем разбавляли (об./об.) EPI-100-LLMM до конечной концентрации 0,5%; разбавленный контроль с растворителем перемешивали на вортексе по меньшей мере в течение 1 мин и дозированно наносили на ткани в дозируемом объеме 25 мкл. Для каждой обработки ткани приготавливали общий объем ~0,5 мл.
17AJ41	Малассезин (CV-8684) (положительный контроль)	500 мкМ	Используя исходный маточный раствор, предоставленный спонсором/приготовленный из предоставленного спонсором твердого вещества, тестируемый образец/контроль разбавляли (об./об.) EPI-100-LLMM до указанной дозируемой концентрации. Разбавление тестируемого образца перемешивали на вортексе по меньшей мере в течение 1 мин, нагревали при 37°±1°C (на водяной бане) в течение 15 мин, снова перемешивали на вортексе по меньшей мере в течение 1 мин, и дозированно наносили на ткани в дозируемом объеме 25 мкл. Для каждой обработки ткани приготавливали общий объем ~0,5 мл.
17AJ55	O52	650 мкМ	
18AA21	*Malassezia* индол A	650 мкМ	
18AF50	AB17151	300 мкМ	
18AH15	AB17590	300 мкМ	
18AH21	AB11644	650 мкМ	
18AH38	индол-3-карбальдегид	500 мкМ	
18AH39	D-индол-3-молочная кислота	500 мкМ	

Таблица 7

Композиция #1

Обозначение тестируемого образца	Обозначение спонсора	Инструкция для приготовления рабочих маточных растворов	Дозируемая концентрация	Инструкция для приготовления разбавлений, используемых для дозированного нанесения на ткани
17AD42	индолокарбазол (ICZ)	Рабочий 360 мкМ маточный раствор приготавливали из предоставленного маточного раствора в DMSO следующим образом: Маточный раствор размораживали при комнатной температуре и перемешивали на вортексе в течение ~1 мин. Соответствующий объем, необходимый для приготовления ~0,5 мл/1,0 мл рабочего маточного раствора переносили в новый флакон и разбавляли EPI-100-LLMM до 360 мкМ. Разбавление перемешивали на вортексе по меньшей мере в течение 1 мин, нагревали при 37°±1°C (на водяной бане) в течение 15 мин и снова перемешивали на вортексе по меньшей мере в течение 1	Дозируемая концентрация каждого из компонентов составляла 18 мкМ.	Пятьдесят (50) мкл каждого рабочего маточного раствора переносили в новый флакон (суммарный объем 700 мкл) и смешивали с 300 мкл EPI-100-LLMM с получением общего объема 1000 мкл. Разбавление перемешивали на вортексе по меньшей мере в течение 1 мин, после чего наносили на ткани.
17AJ41	малассезин (CV-8684) (положительный контроль)			
17AJ47	соединение A5 (также известно как кетомалассезин)			
17AJ55	O52			
18AA21	Malassezia индол A			
18AA22	питириацитрин			
18AA24	FICZ			
18AD42	индирубин			
18AH16	триптантрин			
18AH20	Malassezia-молочная кислота			
18AH24	2-гидрокси-1-(1H-индол-3-ил)этанон			
18AH38	индол-3-карбальдегид			

18AH39	D-индол-3-молочная кислота	мин, после чего производили разбавление.		
18AH44	(индол-3-ил)-пировиноградная кислота			

Таблица 8

Композиция #2

Обозначение тестируемого образца	Обозначение спонсора	Инструкция для приготовления рабочих маточных растворов	Дозируемая концентрация	Требуемый объем (мкл)	Инструкция для приготовления разбавлений, используемых для дозированного нанесения на ткани
17AD42	индолокарбазол (ICZ)	Рабочий 360 мкМ маточный раствор приготавливали из предоставленного маточного раствора в DMSO следующим образом: Маточный раствор размораживали при комнатной температуре и перемешивали на вортексе в течение ~1 мин. Соответствующий объем, необходимый для приготовления ~0,5 мл/1,0 мл рабочего маточного раствора переносили в новый флакон и разбавляли EPI-100-LLMM до 360	12,6 мкМ	35	Объем дозируемого маточного раствора для каждого компонента переносили в новый флакон и смешивали с 297 мкл EPI-100-LLMM. Разбавление
17AJ41	малассезин (CV-8684) (положительный контроль)		50,4 мкМ	140	
17AJ47	соединение A5 (также известно как кетомалассезин)		10,1 мкМ	28	
17AJ55	O52		10,1 мкМ	28	
18AA21	*Malassezia* индол A		10,1 мкМ	28	
18AA22	питириацитрин		50,4 мкМ	140	
18AA24	FICZ		10,1 мкМ	28	
18AD42	индирубин		24,5 мкМ	68	
18AH16	триптантрин		24,5 мкМ	68	
18AH20	*Malassezia*-молочная кислота		10,1 мкМ	28	

18AH24	2-гидрокси-1-(1H-индол-3-ил)этанон	мкМ. Разбавление перемешивали на вортексе по меньшей мере в течение 1 мин, нагревали при 37°±1°C (на водяной бане) в течение 15 мин и снова перемешивали на вортексе по меньшей мере в течение 1 мин, после чего производили разбавление.	10,1 мкМ	28	перемешивали на вортексе по меньшей мере в течение 1 мин, после чего наносили на ткани.
18AH38	индол-3-карбальдегид		10,1 мкМ	28	
18AH39	D-индол-3-молочная кислота		10,1 мкМ	28	
18AH44	(индол-3-ил)-пировиноградная кислота		10,1 мкМ	28	

Таблица 9

Композиция #3

Обозначение тестируемого образца	Обозначение спонсора	Инструкция для приготовления рабочих маточных растворов	Дозируемая концентрация (мкМ)	Требуемый объем (мкл)	Инструкция для приготовления разбавлений, используемых для дозированного нанесения на ткани
17AJ41	малассезин (CV-8684) (положительный контроль)	Рабочий 360 мкМ маточный раствор приготавливали из предоставленного маточного раствора в DMSO следующим образом: Маточный раствор размораживали при комнатной температуре и перемешивали на вортексе в течение ~1 мин. Соответствующий объем, необходимый для приготовления ~0,5	50,4	140	Объем дозируемого маточного раствора для каждого компонента переносили в новый флакон и
17AD46	соединение A5 (также известно как кетомалассезин)		10,1	28	
17AJ55	O52		10,1	28	
18AA21	*Malassezia* индол A		10,1	28	
18AD42	индирубин		24,5	68	

18AH20	AB17227 (также известно как *Malassezia*-молочная кислота)	мл/1,0 мл рабочего маточного раствора переносили в новый флакон и разбавляли EPI-100-LLMM до 360 мкМ. Разбавление перемешивали на вортексе по меньшей мере в течение 1 мин, нагревали при 37°±1°C (на водяной бане) в течение 15 мин и снова перемешивали на вортексе по меньшей мере в течение 1 мин, после чего производили разбавление.	10,1	28	смешивали с 568 мкл EPI-100-LLMM. Разбавление перемешивали на вортексе по меньшей мере в течение 1 мин, после чего наносили на ткани.
18AH24	2-гидрокси-1-(1H-индол-3-ил)этанон		10,1	28	
18AH38	индол-3-карбальдегид		10,1	28	
18AH39	D-индол-3-молочная кислота		10,1	28	
18AH44	(индол-3-ил)-пировиноградная кислота		10,1	28	

Таблица 10

Композиция #4

Обозначение тестируемого образца	Обозначение спонсора	Инструкция для приготовления рабочих маточных растворов	Дозируемая концентрация (мкМ)	Требуемый объем (мкл)	Инструкция для приготовления разбавлений, используемых для дозированного нанесения на ткани
17AD42	CV-8685 (также известно как индолокарбазол или ICZ)	Рабочий 360 мкМ маточный раствор приготавливали из предоставленного маточного раствора в DMSO следующим образом: Маточный раствор размораживали при комнатной	12,6	35	Объем дозируемого маточного раствора для каждого
17AJ41	малассезин (CV-8684) (положительный контроль)		50,4	140	

17AD46	соединение A5 (CV-8819) (также известно как кетомалассезин)	температуре и перемешивали на вортексе в течение ~1 мин. Соответствующий объем, необходимый для приготовления ~0,5 мл/1,0 мл рабочего маточного раствора переносили в новый флакон и разбавляли EPI-100-LLMM до 360 мкМ. Разбавление перемешивали на вортексе по меньшей мере в течение 1 мин, нагревали при 37°±1°C (на водяной бане) в течение 15 мин и снова перемешивали на вортексе по меньшей мере в течение 1 мин, после чего производили разбавление.	10,1	28	компонента переносили в новый флакон и смешивали с 505 мкл EPI-100-LLMM. Разбавление перемешивали на вортексе по меньшей мере в течение 1 мин, после чего наносили на ткани.
17AJ55	O52 (AB12976)		10,1	28	
18AA21	*Malassezia* индол A (AB17011)		10,1	28	
18AA24	FICZ		10,1	28	
18AD42	индирубин		24,5	68	
18AH20	AB17227 (также известно как *Malassezia*-молочная кислота)		10,1	28	
18AH24	2-гидрокси-1-(1H-индол-3-ил)этанон		10,1	28	
18AH38	индол-3-карбальдегид		10,1	28	
18AH39	D-индол-3-молочная кислота		10,1	28	
18AH44	(индол-3-ил)-пировиноградная кислота		10,1	28	

Таблица 11

Композиция #5

Обозначение тестируемого образца	Обозначение спонсора	Инструкция для приготовления рабочих маточных растворов	Дозируемая концентрация (мкМ)	Требуемый объем (мкл)	Инструкция для приготовления разбавлений, используемых для дозированного нанесения на ткани

17AD42	CV-8685 (также известно как индолокарбазол или ICZ)	Рабочий 360 мкМ маточный раствор приготавливали из предоставленного маточного раствора в DMSO следующим образом: Маточный раствор размораживали при комнатной температуре и перемешивали на вортексе в течение ~1 мин. Соответствующий объем, необходимый для приготовления ~0,5 мл/1,0 мл рабочего маточного раствора переносили в новый флакон и разбавляли EPI-100-LLMM до 360 мкМ. Разбавление перемешивали на вортексе по меньшей мере в течение 1 мин, нагревали при 37°±1°C (на водяной бане) в течение 15 мин и снова перемешивали на вортексе по меньшей мере в течение 1 мин, после чего производили разбавление.	74,9	208	Объем дозируемого маточного раствора для каждого компонента переносили в новый флакон и смешивали с 306 мкл EPI-100-LLMM. Разбавление перемешивали на вортексе по меньшей мере в течение 1 мин, после чего наносили на ткани.
17AJ41	малассезин (CV-8684) (положительный контроль)		10,1	28	
18AA22	питириацитрин (AB17014)		10,1	28	
18AA24	FICZ		74,9	208	
18AD42	индирубин		24,8	69	
18AH16	триптантрин		10,1	28	
18AH24	2-гидрокси-1-(1H-индол-3-ил)этанон		10,1	28	
18AH39	D-индол-3-молочная кислота		24,8	69	
18AH44	(индол-3-ил)-пировиноградная кислота		10,1	28	

[1163] Контроли включают в себя: положительный контроль - малассезин (CV-8684) (500 мкМ) (17AJ41) и контроль с растворителем - DMSO (диметилсульфоксид) в EPI-100-LLMM.

[1164] Кроме того, тестируемый образец и контроли наносили на группы из 4 тканей, в которых 2 ткани использовали для получения показателя жизнеспособности ткани (MTT), и 2 ткани для получения показателя меланина, соответственно.

Тест-система

[1165] В данном исследовании использовали модель кожи MelanoDerm™ производства MatTek Corporation (Ashland, MA). Ткань MelanoDerm™ состоит из нормальных полученных от человека эпидермальных кератиноцитов (NHEK) и меланоцитов (NHM), которые культивировали до формирования многослойной, высокодифференцированной модели эпидермиса человека. NHM в сокультурах претерпевают спонтанный меланогенез, приводящий к формированию тканей с различающимися уровнями пигментации. Культуры выращивали во вставках для клеточных культур на границе раздела воздух-жидкость, что позволяло производить местное нанесение модуляторов кожи. Модель MelanoDerm™ обладает морфологическими и ультраструктурными характеристиками, подобными встречающимся *in vivo*. NHM, локализованные в базальном слое клеток тканей MelanoDerm™, являются дендритными и спонтанно продуцируют гранулы меланина, которые поступательно заселяют слои ткани. Таким образом, тест-систему используют для проведения скрининга веществ, которые могут ингибировать или стимулировать продукцию меланина по сравнению с отрицательным контролем.

Дизайн и методология эксперимента

[1166] Дизайн эксперимента при проведении данного исследования состоял из определения значения pH тестируемого образца в чистом виде при наличии возможности (и/или дозируемого раствора в соответствующих случаях) и определяющего анализа на модели кожи MelanoDerm™ для определения относительной жизнеспособности тканей и возможного действия тестируемого образца в качестве модулятора меланогенеза после повторных воздействий. Модель кожи MelanoDerm™ подвергали воздействию тестируемых образцов всего в течение 7 суток. Тестируемые образцы местно наносили на модель кожи MelanoDerm™ каждые 48 часов (в пределах временного интервала 48±2 часа от предыдущей обработки). Токсичность тестируемого образца определяли по NAD(P)H-зависимому микросомальному ферментативному восстановлению MTT (и, в меньшей степени, по восстановлению MTT сукцинатдегидрогеназой) в тканях, обработанных контролем и тестируемым образцом. Данные представляли в виде относительной выживаемости (преобразование MTT по сравнению с отрицательным контролем/контролем с растворителем). Потенциальное влияние на продукцию меланина оценивали путем измерения концентрации меланина, продуцируемого тканями, обработанными тестируемым образцом, по сравнению с тканями, обработанными отрицательным контролем/контролем с растворителем. Данные представляли в форме концентрации

меланина, продуцируемого обработанными тестируемым образцом тканями, с использованием калибровочной кривой содержания меланина. В качестве альтернативы, данные могут быть представлены в виде выраженного в процентах изменения концентрации меланина по сравнению с тканями, обработанными отрицательным контролем/контролем с растворителем.

[1167] Использованные способы представляют собой модификацию методик, предоставленных MatTek Corporation.

Среды и реагенты

[1168] Поддерживающую среду MelanoDerm™ (EPI-100-LLMM) приобретали у MatTek Corporation. Модель кожи MelanoDerm™ (MEL-300-A) приобретали у MatTek Corporation. 1% койевую кислоту (приготовленную в стерильной деионизированной воде) приобретали у Sigma. MTT (3-[4,5-диметилтиазол-2-ил]-2,5-дифенилтетразолия бромид) приобретали у Sigma. Модифицированную по способу Дульбекко среду Игла (DMEM), содержащую 2 мМ L-глутамина (среда для добавления MTT), приобретали у Quality Biological. Экстракционный растворитель (изопропанол) приобретали у Aldrich. Стерильный фосфатно-солевой буфер Дульбекко без Ca^{++} и Mg^{++} (CMF-DPBS) приобретали у Invitrogen. Меланин приобретали у Sigma. Стерильную деионизированную воду приобретали у Quality Biological. Solvable приобретали у Perkin Elmer.

Приготовление и доставка тестируемого образца

[1169] Если в данном протоколе не указано иное, то 25 мкл каждого тестируемого образца наносили непосредственно на ткань так, чтобы покрыть верхнюю поверхность. В зависимости от природы тестируемого образца (жидкости, гели, кремы, пены и т. д.) может понадобиться использование дозирующего устройства, сита или другого вспомогательного устройства для обеспечения равномерного распределения тестируемого образца по поверхности ткани.

Путь введения

[1170] В процессе исследования в течение 7 суток, тестируемые образцы местно наносили на ткань MelanoDerm™ каждые 48 часов (в пределах временного интервала 48±2 часа от предыдущей обработки). На каждую ткань наносят 25 микролитров каждого тестируемого образца. На каждую ткань наносят 25 микролитров положительного/отрицательного контроля и контроля с растворителем, соответственно.

Определение pH

[1171] При наличии возможности определяли значение pH для жидкого тестируемого образца в чистом виде (и/или дозируемого раствора в соответствующих случаях). Значение pH определяли с использованием pH-индикаторной бумаги (например, с диапазоном pH 0-14 для оценки и/или с диапазоном pH 5-10 для определения более точной величины). Типичные значения инкремента для pH-индикаторной бумаги с более узким диапазоном определения pH составляли приблизительно от 0,3 до 0,5 единиц pH. Максимальный инкремент для pH-индикаторной бумаги для определения pH составлял 1,0 единицу pH.

Контроли

[1172] Определяющий анализ включал в себя отрицательный контроль, положительный контроль и один контроль с растворителем (DMSO). Ткани MelanoDerm™, принятые за отрицательный контроль анализа, обрабатывали 25 мкл стерильной деионизированной воды или DMSO. Для нанесения на ткани, принятые за положительный контроль метода анализа, использовали 25 микролитров 1% койевой кислоты, малассезина (CV-8684) (17AJ41) 500 мкМ или композиции #2. До применения 1% койевую кислоту хранили в пробирке, закрытой алюминиевой фольгой, не более 2 часов от времени приготовления. Значения длительности воздействия отрицательным контролем/контролем с растворителем и положительным контролем были идентичны таковым, использованным для тестируемых образцов. В качестве контролей также использовали необработанные ткани.

Оценка самостоятельного восстановления MTT тестируемым образцом

[1173] Было необходимо оценить способность каждого тестируемого образца самостоятельно восстанавливать MTT. 1,0 мг/мл раствор MTT приготавливали в среде для добавления MTT. Приблизительно 25 мкл тестируемого образца добавляли к 1 мл раствора MTT, и инкубировали смесь в темноте при 37±1°C в течение 1-3 часов. Отрицательный контроль (25 мкл стерильной деионизированной воды) или контроль с растворителем (25 мкл DMSO) тестировали одновременно. Если цвет раствора MTT становится синим/пурпурным, то имелись основания предполагать, что тестируемый образец восстанавливал MTT. Нерастворимые в воде тестируемые образцы могут демонстрировать прямое восстановление (потемнение) только на границе фаз между тестируемым образцом и средой.

Описание методики MelanoDerm™

[1174] Согласно описанию методики к набору MelanoDerm™ (MatTek Corporation), растворы хранили, как указано производителем. Ткани MelanoDerm™ хранили при 2-8°C до момента использования.

[1175] В день получения (за сутки до дозированного введения), соответствующий объем поддерживающей среды MelanoDerm™ (EPI-100-LLMM) удаляли и нагревали приблизительно до 37°C. В соответствующие лунки 6-луночных планшетов добавляли 0,9 мл аликвоты EPI-100-LLMM. Перед раскрытием герметизированной упаковки каждую ткань MelanoDerm™ проверяли на наличие пузырей воздуха между агарозным гелем и вставкой культуры клеток. Ткани с пузырями воздуха, покрывающими более 50% области вставки культуры клеток, не использовали. 24-луночные контейнеры для транспортировки извлекали из пластикового мешка, и дезинфицировали их поверхности 70% этанолом. Соответствующее число тканей MelanoDerm™ асептически переносили из 24-луночных контейнеров для транспортировки в 6-луночные планшеты. С целью адаптирования, ткани MelanoDerm™ инкубировали при 37±1°C в увлажненной атмосфере 5±1% CO_2 в воздухе (стандартные условия культивирования) в течение ночи (по меньшей мере 16 часов). После открытия мешка, любые неиспользованные ткани, остающиеся на транспортировочном

агаре в момент переноса тканей, кратко обрабатывали атмосферой 5% CO_2/95% воздуха, мешок герметизировали и хранили при 2-8°C для последующего использования.

Определяющий анализ

[1176] Обработка ткани: Спустя по меньшей мере 16 часов после инициации культур, пять тканей MelanoDerm™ (считающихся необработанными на сутки 0) фотографировали цифровой камерой для содействия визуальной оценке степени пигментации тканей в начальный момент времени анализа. Две ткани MelanoDerm™ промывали CMF-DPBS, промакивали насухо стерильной впитывающей бумагой и очищали от избытка жидкости. После промывки, ткани MelanoDerm™ переносили в соответствующие содержащие MTT лунки и подвергали анализу с MTT. Две или три ткани MelanoDerm™ промывали CMF-DPBS, промакивали насухо стерильной впитывающей бумагой и очищали от избытка жидкости. Ткани MelanoDerm™ удаляли из вставки с использованием стерильных скальпелей, помещали в помеченную микроцентрифужную пробирку емкостью 1,5 мл и хранили при <-60°C для последующего анализа меланина.

[1177] Спустя по меньшей мере 16 часов после инициации культур, оставшиеся ткани переносили в новый 6-луночный планшет, содержащий 0,9 мл/лунку свежей предварительно нагретой EPI-100-LLMM. Исследование проводили в течение 7 суток. Четыре или пять тканей обрабатывали местно на первые сутки и каждые 48 часов (в пределах временного интервала 48±2 часа от предыдущей обработки) 25 мкл каждого тестируемого образца. Среду каждые сутки обновляли (в пределах временного интервала 24±2 часа от предыдущей «подпитки»); ткани переносили в новый 6-луночный планшет, содержащий 0,9 мл/лунку свежей предварительно нагретой EPI-100-LLMM.

[1178] Четыре или пять тканей обрабатывали местно на первые сутки и каждые 48 часов (в пределах временного интервала 48±2 часа от предыдущей обработки) 25 мкл положительного контроля и отрицательного контроля/контроля с растворителем, соответственно. Среду каждые сутки обновляли (в пределах временного интервала 24±2 часа от предыдущей «подпитки»); ткани переносили в новый 6-луночный планшет, содержащий 0,9 мл/лунку свежей предварительно нагретой EPI-100-LLMM. Ткани инкубировали при 37±1°C в увлажненной атмосфере 5±1% CO_2 в воздухе (стандартные условия культивирования) в течение соответствующего времени воздействия.

[1179] На сутки дозированного введения, для удаления любого остаточного количества тестируемого образца, ткань MelanoDerm™ сначала осторожно трижды промывали ~500 мкл CMF-DPBS в каждую промывку. CMF-DPBS осторожно вносили пипеткой в лунку, а затем удаляли стерильным аспиратором. Ткани переносили в новый 6-луночный планшет, содержащий 0,9 мл/лунку свежей предварительно нагретой EPI-100-LLMM и обрабатывали соответствующим тестируемым образцом, отрицательным контролем/контролем с растворителем или положительным контролем. Ткани инкубировали при 37±1°C в увлажненной атмосфере 5±1% CO_2 в воздухе (стандартные условия культивирования) в течение соответствующего времени воздействия.

[1180] По завершению исследования в течение 7 суток, ткани MelanoDerm™,

обработанные отрицательным контролем/контролем с растворителем или положительным контролем и каждым тестируемым образцом, фотографировали цифровой камерой для содействия визуальной оценке степени пигментации тканей в конце исследования (сутки 7). Затем, по восстановлению MTT определяли жизнеспособность двух тканей, обработанных положительным и отрицательным контролем, соответственно, и каждым тестируемым образцом. По завершению исследования в течение 7 суток, определяли количество меланина, продуцированного тремя тканями, обработанными каждым тестируемым образцом, положительным контролем и отрицательным контролем/контролем с растворителем, соответственно.

[1181] Анализ с MTT: Не более чем за два часа до момента использования, 10× маточный раствор MTT, приготовленный в PBS (профильтрованный в момент приготовления партии) размораживали и разбавляли теплой средой для добавления MTT с получением 1,0 мг/мл раствора. В каждую помеченную лунку предварительно размеченного 24-луночного планшета добавляют 300 мкл раствора MTT.

[1182] По завершению воздействия, каждую ткань MelanoDerm™, предназначенную для MTT анализа, промывали CMF-DPBS (использовали пульверизатор, подходящий для этой стадии), промакивали насухо стерильной впитывающей бумагой и очищали от избытка жидкости. После промывки, ткани MelanoDerm™ переносили в соответствующие содержащие MTT лунки. 24-луночные планшеты инкубируют в стандартных условиях в течение 3±0,1 часа.

[1183] Спустя 3±0,1 часа, ткани MelanoDerm™ промакивали насухо стерильной впитывающей бумагой, очищали от избытка жидкости и переносили в предварительно размеченный 24-луночный планшет, содержащий 2,0 мл изопропанола в каждой помеченной лунке. Планшеты покрывали парафильмом и хранили в холодильнике (2-8ºC) до момента сбора образцов для последнего времени воздействия. В случае необходимости, планшеты хранили в течение ночи (или до 24 часов после сбора образцов для последнего времени воздействия) в холодильнике до экстрагирования MTT. Затем, планшеты перемешивали встряхиванием по меньшей мере в течение 2 часов при комнатной температуре. По завершению периода экстрагирования, жидкость во вставках для клеточных культур декантировали в лунку, из которой была взята вставка для клеточных культур. Раствор экстракта смешивали, и переносили 200 мкл в соответствующие лунку 96-луночного планшета. В лунки, помеченные как холостой контроль, добавляли 200 мкл изопропанола. Оптическую плотность при 550 нм (OD_{550}) в каждой лунке измеряли на планшетном ридере Molecular Devices Vmax.

[1184] Анализ меланина: По завершению соответствующего времени воздействия, для удаления любых остаточных количеств тестируемого образца или избытка фенолового красного из культуральной среды ткани MelanoDerm™, предназначенные для анализа меланина, осторожно трижды промывали ~500 мкл CMF-DPBS в каждую промывку, промакивали насухо стерильной впитывающей бумагой и очищали от избытка жидкости. Ткани MelanoDerm™ фотографировали с использованием цифровой камеры по

завершению анализа. Ткани MelanoDerm™ удаляли из вставки для клеточных культур с использованием стерильных скальпелей, помещали в помеченную микроцентрифужную пробирку емкостью 1,5 мл и хранили при <-60°C для последующего анализа меланина.

[1185] На сутки экстрагирования меланина, отделенные ткани размораживали при комнатной температуре приблизительно в течение 10 мин. В каждую микроцентрифужную пробирку добавляли 250 мкл Solvable, и инкубировали пробирки по меньшей мере в течение 16 часов при 60±2°C. Путем растворения меланина в Solvable приготавливали 1 мг/мл маточный раствор стандарта меланина. Серию стандартов меланина в диапазоне концентраций от 0 мг/мл до 0,33 мг/мл приготавливали из 1 мг/мл маточного раствора. Серию стандартов приготавливали путем добавления 0,6 мл 1 мг/мл маточного раствора стандарта меланина к 1,2 мл Solvable, с последующим приготовлением серии еще из пяти разбавлений (кратность разбавления 3). Solvable использовали в качестве нулевого стандарта. Серии стандартов меланина и Solvable инкубировали по меньшей мере в течение 16 часов при 60+2°C.

[1186] Спустя по меньшей мере 16 часов после начала экстрагирования меланина, содержащие образцы пробирки (представляющие собой меланин, экстрагированный из тканей MelanoDerm™) и стандарты охлаждали до комнатной температуры и центрифугировали при 13000 об/мин в течение 5 мин при комнатной температуре. В соответствующие лунки 96-луночного планшета переносили 200 мкл образцов (один повтор) или стандартов (два повтора). В лунки, обозначенные как холостые, в двух повторах переносили 200 мкл Solvable. Оптическую плотность при 490 нм (OD_{490}) для каждой лунки измеряли на планшетном ридере Molecular Devices Vmax (с выбранной функцией Automix).

Инактивированные контроли для оценки восстановления MTT остаточными количествами тестируемого образца

[1187] Для того, чтобы продемонстрировать, что остаточные количества тестируемого образца самостоятельно не восстанавливают MTT, в процессе определяющего анализа проводили функциональную проверку с целью показать, что тестируемый образец не связывается с тканью и не приводит к ложному сигналу о восстановлении MTT.

[1188] Для того, чтобы определить, восстанавливают ли MTT остаточные количества тестируемого образца, использовали инактивированную заморозкой контрольную ткань. Инактивированную заморозкой ткань получали путем помещения необработанных тканей MelanoDerm™/EpiDerm™ (Melanoderm™ без меланоцитов) в морозильную камеру при -20°C по меньшей мере на ночь, размораживания до комнатной температуры с последующим повторным замораживанием. После инактивации, ткань может неограниченное время храниться в морозильной камере. Инактивированные заморозкой ткани могут быть получены в готовом виде от MatTek Corporation и храниться в морозильной камере при -20°C до момента использования. Для исследования восстановления остаточными количествами тестируемого образца, инактивированные ткани обычным образом

обрабатывали тестируемым образцом. Все аналитические процедуры проводили тем же образом, что и для жизнеспособной ткани. По причине того, что в результате присутствия в инактивированной ткани остаточного количества NADH и ассоциированных ферментов ожидается незначительное восстановление МТТ, параллельно тестировали по меньшей мере один инактивированный контроль, обработанный стерильной деионизированной водой (отрицательный инактивированный контроль).

[1189] Если в инактивированном контроле, обработанном тестируемым образцом, наблюдается незначительное восстановление МТТ, или оно отсутствует, то наблюдаемое восстановление МТТ в жизнеспособной ткани, обработанной тестируемым образцом, может быть приписано жизнеспособным клеткам. Если в инактивированном контроле, обработанном тестируемым образцом, наблюдается значительное восстановление МТТ (по сравнению с обработанной жизнеспособной тканью), то следует предпринять дополнительные шаги с целью учета химического восстановления, или тестируемый образец не может считаться пригодным для тестирования в данной системе.

Анализ данных

[1190] Рассчитывали среднее значение OD_{550} для холостых лунок. Скорректированное среднее значение OD_{550} для отрицательного контроля/контроля с растворителем определяли путем вычитания среднего значения OD_{550} для холостых лунок из их средних значений OD_{550}. Скорректированные значения OD_{550} для воздействий отдельным тестируемым образцом и воздействия положительным контролем определяли путем вычитания среднего значения OD_{550} для холостых лунок из каждого из значений. Все расчеты проводили с использованием электронной таблицы Excel. Хотя обсуждаемые алгоритмы используют для расчета конечного показателя при анализе на групповом уровне обработки, те же расчеты могут применяться в отношении отдельных повторов.

Скорректированное значение OD_{550} для воздействия тестируемым образцом=Значение OD_{550} для воздействия тестируемым образцом -Среднее значение OD_{550} для холостого контроля

[1191] В случае использования инактивированного контроля (КС), для корректировки количества МТТ, самостоятельно восстановленного остаточными количествами тестируемого образца, проводили следующие дополнительные расчеты. Для определения действительных значений OD_{550} для инактивированных контролей, обработанных тестируемыми образцами, исходное значение OD_{550} для инактивированного контроля, обработанного отрицательным контролем, вычитали из исходных значений OD_{550} для каждого из инактивированных контролей, обработанных тестируемыми образцами.

Действительное значение OD_{550} для каждого КС, обработанного тестируемым образцом=Исходное значение OD_{550} для каждого КС, обработанного тестируемым образцом - Исходное значение OD_{550} для КС, обработанного отрицательным контролем/контролем с растворителем

[1192] Действительные значения OD_{550} представляют собой количество МТТ,

восстановленного путем самостоятельного восстановления остаточными количествами тестируемого образца при конкретных значениях времени воздействия. В общем, если действительное значение OD_{550} превышает 0,150, то для получения конечного скорректированного значения OD_{550} действительное значение восстановления MTT вычитают из скорректированных значений OD_{550} жизнеспособных обработанных тканей. Эти конечные скорректированные значения OD_{550} затем используют для определения выраженной в процентах жизнеспособности контрольных образцов.

Конечное скорректированное значение OD_{550}=скорректированное значение OD_{550} для обработанных тестируемым образцом тканей (жизнеспособных) - Действительное значение OD_{550} для обработанных тестируемым образцом тканей (КС)

[1193] В завершение, могут быть проведены следующие расчеты, выраженные в процентах к контролю:

Жизнеспособность (%) = [(Конечное скорректированное значение OD_{550} для тестируемого образца или положительного контроля)/(скорректированное среднее значение OD_{550} для отрицательного контроля/контроля с растворителем)] × 100

[1194] Анализ меланина: Исходные данные оптической плотности собирали, сохраняли в виде файла печати и импортировали в электронную таблицу Excel. Собирали исходные данные оптической плотности. Определяли значение OD_{490} для каждого тестируемого образца (представляющего собой меланин, экстрагированный из необработанной ткани MelanoDerm™ на сутки 0, ткани MelanoDerm™, обработанной каждым тестируемым образцом, отрицательным контролем/контролем с растворителем или положительным контролем на сутки 7) и стандартов меланина. Скорректированное значение OD_{490} для тестируемых образцов и каждого стандарта меланина определяли путем вычитания значения OD_{490} для холостой лунки. Калибровочную кривую строили в виде концентрационной зависимости стандартов в мг/мл (ось Y) относительно соответствующей скорректированной оптической плотности. Количество меланина в каждой отдельной ткани интерполировали из калибровочной кривой (линейно). В завершение, рассчитывали среднюю концентрацию меланина для каждой группы с обработкой тестируемым образцом или контролем, соответственно.

Результаты

[1195] На Фиг. 131 обобщены результаты анализа средней выживаемости тканей и концентрации меланина для тестируемых образцов, тестируемых композиций, положительного контроля и контроля с растворителем. **Соединения, содержащие композиции** #1 и #2, демонстрируют синергические эффекты, будучи объединенными в одну композицию.

[1196] На Фиг. 132 обобщены результаты анализа средней выживаемости тканей и концентрации меланина для тестируемых образцов, тестируемых композиций, положительного контроля и контроля с растворителем. **Соединения, содержащие композиции** #2, #3, #4 и #5, демонстрируют синергические эффекты, будучи объединенными в одну композицию.

Пример 34

Способность композиций, содержащих полученные из *Malassezia* соединения и/или их химические аналоги, индуцировать меланогенез

[1197] Целью данного исследования являлось наблюдение и документирование меланогенеза и жизнеспособности меланоцитов B16, подвергнутых воздействию композиций, содержащих полученные из *Malassezia* соединения и/или их химические аналоги.

Материалы и реагенты

[1198] Посевная среда содержит DMEM без L-глутамина, FBS, пенициллин/стрептомицин и L-глутамин. Аналитическая среда содержит DMEM без фенолового красного и L-глутамина, FBS, пенициллин/стрептомицин, L-глутамин и aMSH. Другие реагенты включают в себя койевую кислоту, DMSO и MTT. Тестируемыми клетками являются клетки B16 (ATCC CRL-6475).

Протокол

[1199] Меланоциты B16 культивируют до степени срастания 70% и собирают. Клетки высевают в 96-луночные планшеты с плотностью 4000 клеток на лунку и оставляют для прикрепления в течение ночи. На следующие сутки, тестируемые образцы, тестируемые композиции и контроли разбавляют аналитической средой B16. После инкубации в течение ночи, среду удаляют путем аспирации, и добавляют 200 мкл тестируемых образцов и контролей. Клетки инкубируют при 37°C и 10% CO_2 в течение 72 часов. После инкубации в течение 72 часов, собирают данные оптической плотности при 540 нм. Среду удаляют, заменяют 100 мкл посевной среды с 1 мг/мл MTT и инкубируют в течение 2 часов при 37°C и 10% CO_2. Среду с MTT удаляют, заменяют 200 мкл смеси 95% этанол/5% изопропанол и оставляют перемешиваться встряхиванием в течение 15 мин. Затем, собирают данные оптической плотности MTT при 570 нм.

Результаты

[1200] Ожидается, что соединения и композиции согласно настоящему изобретению, включая композиции #1-5, будут ингибировать меланогенез. Ожидается, что композиции согласно настоящему изобретению будут демонстрировать, например, более эффективную способность ингибировать меланогенез по сравнению по меньшей мере с одним отдельным соединением, входящим в состав композиции. По аналогии, ожидается, что определенные композиции будут демонстрировать, например, менее эффективную способность ингибировать меланогенез по сравнению по меньшей мере с одним отдельным соединением, входящим в состав композиции.

Пример 35

Эффективность *in vitro*

[1201] Ожидается, что соединения и композиции согласно настоящему изобретению будут индуцировать апоптоз меланоцитов и модулировать активность меланоцитов, продукцию меланина, биогенез меланосом и/или перенос меланосом. Также предполагается, что определенные соединения и композиции согласно настоящему

изобретению будут влиять на указанные биологические процессы с меньшей эффективностью. Такие соединения и композиции могут характеризоваться более выигрышными профилями токсичности по сравнению с более эффективными веществами.

Пример 36

Эффективность *in vivo*

[1202] Ожидается, что соединения и композиции согласно настоящему изобретению будут модулировать пигментацию кожи, включая осветление кожи и коррекцию гиперпигментации/гипопигментации, вызванных различными нарушениями. Также ожидается, что соединения и композиции согласно настоящему изобретению будут демонстрировать выигрышные фармакокинетические профили, например, применительно к времени полувыведения и всасывания. Определенные соединения будут демонстрировать большее время полувыведения, тогда как другие будут демонстрировать меньшее время полувыведения. По аналогии, определенные соединения будут демонстрировать разные профили всасывания, причем для некоторых соединений для полного всасывания потребуется большее время, а для других для полного всасывания потребуется меньшее время.

Пример 37

Синтез химических аналогов малассезина и индирубина

Синтез соединения AB17590

[1203] Как представлено на Фиг. 133A, к раствору соединения 1a (25,0 г, 0,357 моль, 1,0 экв.) в тетрагидрофуране (250 мл) при 0°C добавляли этинилмагнийбромид (0,5 M в THF, 1,07 L, 0,535 моль, 1,5 экв.), реакционную смесь нагревали до комнатной температуры и перемешивали в течение 2 ч. Затем, смесь гасили добавлением насыщенного водного хлорида аммония и экстрагировали этилацетатом. Органический слой сушили над безводным Na_2SO_4 и концентрировали в условиях пониженного давления. Остаток очищали методом хроматографии на силикагеле (0-10% этилацетат в петролейном эфире) с получением соединения 1b (9,5 г, 27%). TLC: PE:EA=20:1, 254 нм; R_f (соединение 1a)=0,3; R_f (соединение 1b)=0,7.

[1204] К смеси соединения 1b (9,5 г, 98,96 ммоль, 1,0 экв.) в тетрагидрофуране (100 мл) при 0°C в атмосфере азота добавляли 60% раствор гидрида натрия (4,7 г, 0,119 моль, 1,2 экв.) в диметилформамиде (50 мл). Спустя 30 мин , при 0°C добавляли диметилсульфат (22,4 г, 0,178 моль, 1,8 экв.). После добавления, реакционную смесь оставляли нагреваться до комнатной температуры и перемешивали при комнатной температуре в течение 30 мин, а затем медленно добавляли уксусную кислоту (1 мл). Продукт отгоняли непосредственно из реакционной смеси. Таким образом, получали соединение 1c (10,0 г, выход 91%).

[1205] К раствору соединения 1 (8,0 г, 24,02 ммоль, 1,0 экв.) и соединения 1c (2,9 г, 26,43 ммоль, 1,1 экв.) в триэтиламине (80 мл) при комнатной температуре в атмосфере азота добавляли йодид меди (456 мг, 2,40 ммоль, 0,1 экв.) и $Pd(PPh_3)_2Cl_2$ (337 мг, 0,480 ммоль, 0,02 экв.). Смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 2 ч. Развитие реакции отслеживали методом TLC. Реакционную смесь разбавляли водой и экстрагировали

этилацетатом. Органический слой сушили над безводным сульфатом натрия и концентрировали в условиях пониженного давления. Остаток очищали методом хроматографии на силикагеле (0~10% этилацетат в петролейном эфире) с получением соединения 2 (7,0 г, 92%). TLC: PE:EA=10:1, 254 нм; R_f (соединение 1)=0,8; R_f (соединение 2)=0,6.

[1206] В высушенную в печи колбу добавляли смесь дихлорида платины (694 мг, 2,06 ммоль, 0,1 экв.), карбонат натрия (3,3 г, 30,95 ммоль, 1,5 экв.), трис(пентафторфенил)фосфин (2,2 г, 4,13 ммоль, 0,2 экв.), 6-метилиндол (4,8 г, 41,27 ммоль, 2,0 экв.) и соединение 2 (6,5 г, 20,63 ммоль, 1,0 экв.) в диоксане (650 мл). Колбу дегазировали азотом, герметизировали и нагревали до 100°C в течение 16 ч. Развитие реакции отслеживали методом TLC. Растворитель концентрировали в условиях пониженного давления. Остаток разбавляли этилацетатом и экстрагировали водой и насыщенным солевым раствором. Органический слой сушили над безводным сульфатом натрия и концентрировали в условиях пониженного давления. Остаток очищали методом хроматографии на силикагеле (0~10% этилацетат в петролейном эфире) с получением соединения 3 (3,0 г, 36%). TLC: PE:EA=10:1, 254 нм; R_f (соединение 2)=0,6; R_f (соединение 3)=0,2.

[1207] К раствору соединения 3 (3,0 г, 7,50 ммоль, 1,0 экв.) в тетрагидрофуране (30 мл) при 0°C добавляли метанолят натрия (5 М в MeOH, 6,0 мл, 29,98 ммоль, 4,0 экв.). Реакционную смесь оставляли нагреваться до комнатной температуры и перемешивали в течение 2 ч. Развитие реакции отслеживали методом TLC. Реакционную смесь концентрировали в условиях пониженного давления. Остаток очищали методом хроматографии на силикагеле (0~10% этилацетат в петролейном эфире) с получением соединения 4 (1,5 г, 66%). TLC: PE:EA=5:1, 254 нм; R_f (соединение 3)=0,7; R_f (соединение 4)=0,4.

[1208] В высушенную трехгорлую круглодонную колбу емкостью 500 мл в атмосфере аргона при 0°C добавляли диметилформамид (10 мл). Затем, медленно добавляли оксихлорид фосфора (1,2 г, 7,60 ммоль, 1,2 экв.), поддерживая внутреннюю температуру ниже 5°C в течение 10 мин. После перемешивания при 0°C в течение 30 мин, медленно добавляли раствор соединения 4 (1,9 г, 6,33 ммоль, 1,0 экв.) в диметилформамиде (20 мл), поддерживая внутреннюю температуру ниже 5°C в течение 10 мин. Полученную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 16 ч. После завершения реакции (отслеживали методом TLC с использованием 20% этилацетат в гексанах), реакционную смесь вливали в насыщенный водный раствор бикарбоната натрия (50 мл) и перемешивали в течение 1 ч. Полученную смесь экстрагировали этилацетатом (2×100 мл). Объединенные органические слои промывали водой и насыщенным солевым раствором и сушили над сульфатом натрия. Растворитель фильтровали и концентрировали в условиях пониженного давления. Остаток очищали методом хроматографии на силикагеле (10-50% этилацетат в петролейном эфире) с получением соединения 5 (1,8 г, 89%). TLC: PE:EA=1:1, 254 нм; R_f (соединение 4)=0,8; R_f (соединение 5)=0,5.

[1209] К раствору соединения 5 (1,8 г, 5,49 ммоль, 1,0 экв.) в тетрагидрофуране (20 мл) при 0°C добавляли ди-*трет*-бутилдикарбонат (3,0 г, 13,72 ммоль, 2,5 экв.) и 4-диметиламинопиридин (1,4 г, 11,25 моль, 2,05 экв.). Реакционную смесь нагревали до комнатной температуры и перемешивали в течение 3 ч. Развитие реакции отслеживали методом TLC. Реакционную смесь концентрировали в условиях пониженного давления, остаток разбавляли этилацетатом и промывали 1н соляной кислотой, насыщенным водным бикарбонатом натрия (300 мл) и солевым раствором (300 мл). Органические слои разделяли, сушили над безводным сульфатом натрия, фильтровали и концентрировали. Остаток очищали методом хроматографии на силикагеле (0-10% этилацетат в петролейном эфире) с получением соединения 6 (2,4 г, 82%). TLC: PE:EA=10:1, 254 нм; R_f (соединение 5)=0,1; R_f (соединение 6)=0,5.

[1210] К раствору соединения 6 (2,4 г, 4,55 ммоль, 1,0 экв.) в *трет*-бутаноле (60 мл) добавляли 2-метил-2-бутен (30 мл), а затем при 0°Сдобавляли хлорит натрия (8,2 г, 90,91 ммоль, 20,0 экв.), натрия дигидрофосфат (14,2 г, 90,91 ммоль, 20,0 экв.) и воду (60 мл). Смесь медленно нагревали до комнатной температуры и перемешивали при комнатной температуре в течение 15 ч. Развитие реакции отслеживали методом TLC. Реакционную смесь разбавляли дихлорметаном (100 мл) и разделяли. Органический слой промывали водой (80 мл), солевым раствором (80 мл), сушили над безводным сульфатом натрия и концентрировали в условиях пониженного давления с получением неочищенного соединения 7 (2,5 г, 99%). TLC: PE:EA=2:1, 254 нм; R_f (соединение 6)=0,7; R_f (соединение 7)=0,3.

[1211] К раствору соединения 7 (2,5 г, 4,60 ммоль, 1,0 экв.) в диметилформамиде (30 мл) при 0°C добавляли карбонат калия (952 мг, 6,89 ммоль, 1,5 экв.) и метилйодид (978 мг, 6,89 ммоль, 1,5 экв.). Реакционную смесь нагревали до комнатной температуры и перемешивали в течение 2 ч. Развитие реакции отслеживали методом TLC. Реакционную смесь разбавляли этилацетатом (100 мл) и промывали водой (100 мл) и солевым раствором (100 мл). Органический слой сушили над безводным сульфатом натрия и концентрировали в условиях пониженного давления. Остаток очищали методом хроматографии на силикагеле (5-17% этилацетат в петролейном эфире) с получением соединения 8 (2,3 г, 89%). TLC: PE:EA=5:1, 254 нм; R_f (соединение 7)=0,1; R_f (соединение 8)=0,6.

[1212] Смесь соединения 8 (1,3 г, 2,33 ммоль, 1,0 экв.) в соляной кислоте (3 М в EA, 30 мл) перемешивали при комнатной температуре в течение 16 ч. Реакцию отслеживали методом TLC. Затем, смесь концентрировали в условиях пониженного давления. Остаток очищали методом хроматографии на силикагеле (10-25% этилацетат в петролейном эфире) с получением соединения AB17590 (502 мг, 61%) в виде желтого твердого вещества. TLC: PE:EA=3:1, 254 нм; R_f (соединение 8)=0,8; R_f (соединение AB17590)=0,5; LC-MS: 359 $(M+1)^+$; ^{1}H-ЯМР (400 МГц, $CDCl_3$) δ 8,12 (д, J=19,7 Гц, 2H), 7,94 (с, 1H), 7,42 (с, 1H), 7,35 (д, J=8,1 Гц, 1H), 7,13 (т, J=7,8 Гц, 1H), 7,04 (д, J=8,2 Гц, 1H), 6,93 (дд, J=15,7, 8,6 Гц, 2H), 5,04 (д, J=9,1 Гц, 1H), 3,95 (с, 3H), 2,45 (с, 3H), 1,42 (д, J=8,4 Гц, 1H), 0,78-0,68 (м, 1H), 0,62 (д, J=4,8 Гц, 1H), 0,54-0,41 (м, 2H).

Синтез соединения AB17653

[1213] Как представлено на Фиг. 133B, смесь соединения 1 (721 мг, 3,20 ммоль, 1,0 экв.), соединения 1a (560 мг, 3,20 ммоль, 1,0 экв.) и карбоната натрия (866 мг, 8,17 ммоль, 2,55 экв.) в метаноле (10 мл) перемешивали при комнатной температуре в течение 3 ч в атмосфере азота. Развитие реакции отслеживали методом TLC. После завершения реакции, смесь фильтровали, и промывали осадок на фильтре метанолом и водой с получением соединения AB17653 (979 мг, 89%) в виде красного твердого вещества. TLC: PE/EA=3/1, 254 нм; R_f (соединение 1)=0,6; R_f (соединение AB17653)=0,4; LC-MS: 338,95 $(M-1)^-$; ^{1}H-ЯМР (400 МГц, d6-DMSO) δ 11,01 (д, J=21,5 Гц, 2H), 8,64 (д, J=8,3 Гц, 1H), 7,62 (д, J=7,7 Гц, 1H), 7,55 (т, J=7,6 Гц, 1H), 7,39 (д, J=8,1 Гц, 1H), 7,18 (д, J=8,4 Гц, 1H), 7,00 (дд, J=8,8, 4,6 Гц, 2H).

Синтез соединения AB17654

[1214] Как представлено на Фиг. 133B, смесь соединения AB17653 (979 мг, 2,88 ммоль, 1,0 экв.) и гидроксиламина гидрохлорида (520 мг, 7,49 ммоль, 2,6 экв.) в пиридине (30 мл) перемешивали при 120°C в течение 2 ч в атмосфере азота. Развитие реакции отслеживали методом LCMS. После завершения реакции, смесь концентрировали в условиях пониженного давления, и добавляли 1н HCl до появления твердого вещества. Смесь фильтровали, и растворяли осадок на фильтре в 1н NaOH. Затем, добавляли 3н HCl для корректировки до pH=5 и фильтровали. Осадок на фильтре промывали 1н HCl с получением соединения AB17654 (500 мг, 48%) в виде красного твердого вещества. LC-MS: 357,95 $(M+1)^+$; ^{1}H-ЯМР (400 МГц, d6-DMSO) δ 13,59 (с, 1H), 11,71 (с, 1H), 10,82 (с, 1H), 8,53 (д, J=8,4 Гц, 1H), 8,19 (д, J=7,7 Гц, 1H), 7,42-7,35 (м, 2H), 7,11-6,96 (м, 3H).

Синтез соединения AB17655

[1215] Как представлено на Фиг. 133B, смесь соединения 2 (637 мг, 3,86 ммоль, 1,0 экв.), соединения 1a (676 мг, 3,86 ммоль, 1,0 экв.) и карбоната натрия (1044 мг, 9,84 ммоль, 2,55 экв.) в метаноле (10 мл) перемешивали при комнатной температуре в течение 3 ч в атмосфере азота. Развитие реакции отслеживали методом TLC. После завершения реакции, смесь фильтровали, и промывали осадок на фильтре метанолом и водой с получением соединения AB17655 (1027 мг, 95%) в виде красного твердого вещества. LC-MS: 281,05 $(M+1)^+$; ^{1}H-ЯМР (400 МГц, d6-DMSO) δ11,06 (с, 1H), 10,86 (с, 1H), 8,54 (дд, J=10,5, 2,7 Гц, 1H), 7,67-7,53 (м, 2H), 7,41-7,38 (м, 1H), 7,09-6,98 (м, 2H), 6,85 (дд, J=8,5, 4,8 Гц, 1H).

Синтез соединения AB17656

[1216] Как представлено на Фиг. 133B, смесь соединения AB17655 (1027 мг, 3,67 ммоль, 1,0 экв.) и гидроксиламина гидрохлорида (663 мг, 9,54 ммоль, 2,6 экв.) в пиридине (30 мл) перемешивали при 110°C в течение 2 ч в атмосфере азота. Развитие реакции отслеживали методом LCMS. После завершения реакции, смесь концентрировали в условиях пониженного давления, и добавляли 1н HCl до появления твердого вещества. Смесь фильтровали, и растворяли осадок на фильтре в 1н NaOH. Затем, добавляли 3н HCl для корректировки до pH=5 и фильтровали. Осадок на фильтре промывали 1н HCl с получением соединения AB17656 (500 мг, 48%) в виде красного твердого вещества. LC-MS:

296,00 $(M+1)^+$; ^{1}H-ЯМР (400 МГц, d6-DMSO) δ13,60 (с, 1H), 11,77 (с, 1H), 10,69 (с, 1H), 8,43 (с, 1H), 8,20 (д, J=7,7 Гц, 1H), 7,39 (д, J=5,7 Гц, 2H), 7,02 (с, 1H), 6,91 (с, 1H), 6,83 (д, J=4,9 Гц, 1H).

Синтез соединения AB17657

[1217] Как представлено на Фиг. 133B, смесь соединения 3 (362 мг, 2,46 ммоль, 1,0 экв.), соединения 1a (431 мг, 2,46 ммоль, 1,0 экв.) и карбоната натрия (666 мг, 6,28 ммоль, 2,55 экв.) в метаноле (10 мл) перемешивали при комнатной температуре в течение 3 ч в атмосфере азота. Развитие реакции отслеживали методом TLC. После завершения реакции, смесь фильтровали, и промывали осадок на фильтре метанолом и водой с получением соединения 4 (606 мг, 93%). TLC: PE/EA=1/1, 254 нм; R_f (соединение 3)=0,7; R_f (соединение 4)=0,5.

[1218] Смесь соединения 4 (606 мг, 2,31 ммоль, 1,0 экв.) и гидроксиламина гидрохлорида (418 мг, 6,01 ммоль, 2,6 экв.) в пиридине (20 мл) перемешивали при 120°C в течение 2 ч в атмосфере азота. Развитие реакции отслеживали методом TLC. После завершения реакции, смесь концентрировали в условиях пониженного давления, и добавляли 1н HCl до появления твердого вещества. Смесь фильтровали, и растворяли осадок на фильтре в 1н NaOH. Затем, добавляли 3н HCl для корректировки до pH=5 и фильтровали. Осадок на фильтре промывали 1н HCl с получением соединения AB17657 (500 мг, 78%) в виде коричневого твердого вещества. TLC: PE/EA=1/1, 254 нм; R_f (соединение 4)=0,5; R_f (соединение AB17657)=0,4; LC-MS: 278,10 $(M+1)^+$; ^{1}H-ЯМР (400 МГц, d6-DMSO) δ13,60 (с, 1H), 11,77 (с, 1H), 10,69 (с, 1H), 8,43 (с, 1H), 8,20 (д, J=7,7 Гц, 1H), 7,39 (д, J=5,7 Гц, 2H), 7,02 (с, 1H), 6,91 (с, 1H), 6,83 (д, J=4,9 Гц, 1H).

Синтез соединения AB17658

[1219] Как представлено на Фиг. 133B, смесь соединения 5a (337 мг, 1,73 ммоль, 1,0 экв.), соединения 5b (554 мг, 1,73 ммоль, 1,0 экв.) и гидроксида калия (1114 мг, 3,46 ммоль, 2,0 экв.) в ацетонитриле (10 мл) перемешивали при 35°C в течение 1,5 ч в атмосфере азота. Развитие реакции отслеживали методом TLC. После завершения реакции, смесь концентрировали в условиях пониженного давления, и очищали остаток методом хроматографии на силикагеле с получением соединения 5c (436 мг, 99%). TLC: PE/EA=1/1, 254 нм; R_f (соединение 5a)=0,8; R_f (соединение 5c)=0,5.

[1220] Смесь соединения 5 (330 мг, 1,72 ммоль, 1,0 экв.), соединения 5c (436 мг, 1,72 ммоль, 1,0 экв.) и карбоната натрия (465 мг, 4,38 ммоль, 2,55 экв.) в метаноле (10 мл) перемешивали при комнатной температуре в течение 3 ч в атмосфере азота. Развитие реакции отслеживали методом TLC. После завершения реакции, смесь фильтровали, и промывали осадок на фильтре метанолом и водой с получением соединения 6 (617 мг, 93%). TLC: PE/EA=1/1, 254 нм; R_f (соединение 5)=0,5; R_f (соединение 6)=0,4.

[1221] Смесь соединения 6 (617 мг, 1,60 ммоль, 1,0 экв.) и гидроксиламина гидрохлорида (290 мг, 4,17 ммоль, 2,6 экв.) в пиридине (20 мл) перемешивали при 110°C в течение 2 ч в атмосфере азота. Развитие реакции отслеживали методом TLC. После завершения реакции, смесь концентрировали в условиях пониженного давления, и

добавляли 1н HCl до появления твердого вещества. Смесь фильтровали, и растворяли осадок на фильтре в 1н NaOH. Затем, добавляли 3н HCl для корректировки до pH=5 и фильтровали. Осадок на фильтре промывали 1н HCl с получением соединения AB17658 (500 мг, 78%) в виде красного твердого вещества. TLC: PE/EA=1/1, 254 нм; R_f (соединение 6)=0,4; R_f (соединение AB17658)=0,3; LC-MS: 402,95 $(M+1)^+$; ^{1}H-ЯМР (400 МГц, d6-DMSO) δ 11,86 (с, 1H), 11,39 (с, 1H), 9,40 (д, J=2,2 Гц, 1H), 8,33 (д, J=1,8 Гц, 1H), 8,06 (дд, J=8,6, 2,4 Гц, 1H), 7,59 (дд, J=8,4, 2,0 Гц, 1H), 7,43 (д, J=8,6 Гц, 1H), 7,02 (д, J=8,6 Гц, 1H).

Пример 38

Оценка фотозащитных свойств малассезина, других соединений, полученных из *Malassezia*, и их химических аналогов *in vivo*

Состав с 1% малассезина

[1222] Состав с 1% малассезина, использованный в настоящем исследовании, содержал следующие ингредиенты: вода - 65,939%; диметилизосорбид - 20,000%; Glycereth-8 эфиры оливкового масла - 3,000%; глицерин - 2,991%; кокосовые алканы - 2,700%; сополимер гидроксиэтилакрилата/акрилоилдиметилтаурата натрия - 1,700%; малассезин - 1,000%; пентиленгликоль - 1,000%; феноксиэтанол - 0,640%; коко-каприлат/капрат - 0,300%; каприлилгликоль - 0,200%; хлорфенезин - 0,160%; сорбитана изостеарат - 0,140%; токоферол - 0,100%; полисорбат 60-0,080%; и двунатриевая соль ЭДТА - 0,050%.

Схема эксперимента

[1223] В данное исследование обоснованности концепции была включена 39-летняя женщина с IV типом кожи.

[1224] На сутки 1 эксперимента, у субъекта оценивали минимальную эритемную дозу («МЭД») с использованием специального устройства широкого спектра Dualight UVB. Шаблон из 6 квадратов (1,5 см × 1,5 см) размещали на левой стороне нижней части спины тестируемого субъекта (см. Фиг. 134).

[1225] Значения доз для разных типов кожи субъектов при проведении фототеста на МЭД представлены в мДж/см^2 на Фиг. 135. Спустя 24 часа после облучения, субъект возвращался для оценки МЭД. Как представлено на Фиг. 139, значение МЭД для субъекта составило 120 **мДж/см^2**.

[1226] Затем, на верхний тестируемый квадрат на правой части спины дважды в сутки в течение 7 суток субъекту наносили 1% малассезин. Второй нижний правый квадрат обрабатывали дважды в сутки от суток 4 до суток 7, а на третий медиальный квадрат нанесение проводили однократно на сутки 7. Несущую среду продукта наносили дважды в сутки в течение 7 суток на левую часть спины (см. Фиг. 140). Субъект возвращался в исследовательский центр для облучения на сутки 7 (см. Фиг. 136). Каждый тестируемый участок облучали УФ-В в дозе 120 **мДж/см^2**. Субъект возвращался через 24 часа для оценки фототоксичности/фотозащиты (см. Фиг. 141).

[1227] Субъект продолжал участие в эксперименте, получая 1% малассезин всего в течение 14 суток. На Фиг. 142-143 представлены участки кожи субъекта, подвергнутые

следующей обработке: на участке 14 1% малассезин наносили дважды в сутки в течение 14 суток; на участке 10 1% малассезин наносили дважды в сутки в течение 11 суток; на участке 8 1% малассезин наносили дважды в сутки в течение 8 суток; на участке 3 1% малассезин наносили дважды в сутки в течение 3 суток; на участке 1 1% малассезин наносили однократно; и на участках с нанесением несущей среды последнюю наносили дважды в сутки в течение 7 и 9 суток, соответственно.

Результаты

[1228] Как представлено на Фиг. 141, спустя 24 часа после воздействия УФ-В, на участке с нанесением несущей среды у субъекта наблюдали эритему с оценкой от 1+ до 2+ (см. Фиг. 138 для шкалы оценки эритемы). В отличие от этого, на участке с обработкой 1% малассезином в течение 7 суток отмечали меньшую степень эритемы (слабую). При оценке участков, обработанных в течение 3 суток, была обнаружена минимальная эритема, и для участка с нанесением в течение 1 суток было обнаружено ее отсутствие. Для каждого участка с использованием Mexameter MX16 проводили колориметрические измерения, которые подтвердили клинические наблюдения. Максимальные показатели эритемы наблюдали для участка с нанесением несущей среды, за которым следовал участок с обработкой малассезином на 7 сутки. Наименьшие показатели наблюдали для участков с обработкой малассезином на сутки 3 и сутки 1, соответственно (см. Фиг. 136).

[1229] Субъект продолжал участие в эксперименте и возвращался для повторного УФ-В облучения на сутки 14 с интерпретацией на сутки 15 (см. Фиг. 142). Клиническая оценка на сутки 15 выявила умеренную эритему для участка с нанесением несущей среды на сутки 7 и значительно меньшую на сутки 9 (см. Фиг. 143). Меньшую эритему (слабую) отмечали для участков с обработкой 1% малассезином, включая участки для суток 14, суток 10 и суток 8. Минимальную эритему отмечали для участков с обработкой 1% малассезином для суток 1 и суток 3. Для каждого участка проводили колориметрические измерения для оценки эритемы и уровня меланина. Результаты подтвердили клинические наблюдения относительно меньшей эритемы для участков с обработкой 1% малассезином (см. Фиг. 137).

[1230] На участках с нанесением несущей среды на сутки 9 и для участков с обработкой 1% малассезином на сутки 1 и 3 проводили биопсию. Образцы анализировали путем окрашивания гематоксилином-эозином, по методу Фонтана-Массон и MART-1 для количественной оценки меланоцитов и аффиметрических исследований.

[1231] Диагноз: (A) Кожа - обработанная на сутки 1 (1% малассезин): «переплетенный» роговой слой, нормальный вид меланоцитов (подтверждено иммунопероксидазным окрашиванием с Mart-1) и уровень эпидермального меланина (подтверждено иммунопероксидазным окрашиванием по методу Фонтана-Массон).

[1232] Диагноз: (B) Кожа - обработанная на сутки 3 (1% малассезин): «переплетенный» роговой слой, меньшее количество меланоцитов кожи (подтверждено иммунопероксидазным окрашиванием с MART-1/Melan A) по сравнению с C и D, с небольшим снижением уровня эпидермального меланина в виде непораженных участков (подтверждено иммунопероксидазным окрашиванием по методу Фонтана-Массон).

[1233] Диагноз: (C) Кожа - нанесение несущей среды: нормальный вид меланоцитов (подтверждено иммунопероксидазным окрашиванием с Mart-1) и уровень эпидермального меланина (подтверждено иммунопероксидазным окрашиванием по методу Фонтана-Массон).

[1234] Диагноз: (D) Кожа - нормальная: нормальный вид меланоцитов (подтверждено иммунопероксидазным окрашиванием с Mart-1) и уровень эпидермального меланина (подтверждено иммунопероксидазным окрашиванием по методу Фонтана-Массон).

Заключения

[1235] Результаты данного исследования обоснованности концепции демонстрируют УФ-защитные свойства малассезина.

[1236] Предполагается, что в дальнейших исследованиях с привлечением дополнительных пациентов будут продемонстрированы эквивалентные или более эффективные УФ-защитные свойства малассезина. Также предполагается, что в дополнительных исследования будут выяснены молекулярные пути передачи сигналов, ассоциированные с малассезин-индуцированной фотозащитой.

Документы

Berridge, M.V., Tan, A.S., McCoy, K.D., Wang, R. The Biochemical and Cellular Basis of Cell Proliferation Assays That Use Tetrazolium Salts. Biochemica 4:14-19 (1996).

Black, *et al.* Athymic Nude Mice and Human Skin Grafting. In: Maibach, *et al.* (eds.). Models in Dermatology Vol. 1. Karger, Basel, 1985, 228-39.

Costin, G.-E., Raabe, R. Optimized in vitro pigmentation screening assay using a reconstructed three dimensional human skin model. Rom. J. Biochem. 50 (1), 15-27 (2013).

Donato, *et al.* A Microassay for Measuring Cytochrome P450IA1 and P450IIB1 Activities in Intact Human and Rat Hepatocytes Cultured on 96-Well Plates. Anal Biochem. 1993; 213(1):29-33.

Elmore. Apoptosis: A Review of Programmed Cell Death. Toxicologic Pathology 2007; 35:495-516.

Fitzpatrick, *et al.* The Validity and Practicality of Sun-Reactive Skin Types I Through VI. Arch Dermatol. 1988; 124(6):869-871.

Gaitanis, *et al.* Skin Diseases Associated With *Malassezia* Yeasts: Facts and Controversies. Clinics in Dermatology 2013; 31:455-463.

Gambichler, *et al.* Quantification of Ultraviolet Protective Effects of Pityriacitrin in Humans. Archives of Dermatological Research 2007; 299(10):517-520.

Guého, *et al.* The Genus *Malassezia* With Description of Four New Species. Antonie Van Leeuwenhoek 1996; 69:337-55.

Karchner, *et al.* Identification and Functional Characterization of Two Highly Divergent Aryl Hydrocarbon Receptors (AHR1 and AHR2) in the Teleost *Fundulus heteroclitus*. The Journal of Biological Chemistry 1999; 274(47):33814-24.

Krämer, *et al.* Malassezin, A Novel Analyst of the Aryl Hydrocarbon Receptor From The

Yeast *Malassezia furfur*, Induces Apoptosis in Primary Human Melanocytes. ChemBioChem 2005; 6:860-5.

Lee, *et al.* Comparison of Gene Expression Profiles Between Keratinocytes, Melanocytes and Fibroblasts. Ann Dermatol. 2013; 25(1):35-45.

Machowinski, *et al.* Pityriacitrin-A Potent UV filter Produced by Malassezia furfur and its Effect on Human Skin Microflora. Mycoses 2006; 49(5):388-392.

Manning, *et al.* Maintenance of Skin Xenografts of Widely Divergent Phylogenetic Origin on Congenitally Athymic (Nude) Mice. J Exp Med 1973; 138:488-94.

Mayser, *et al.* Pityriacitrin-An Ultraviolet-Absorbing Indole Alkaloid from the Yeast Malassezia furfur. Archives of Dermatological Research 2002; 294(3):131-134.

Mayser, *et al.* Pityrialactone-A New fluorochrome from the Tryptophan Metabolism of Malassezia furfur. Antonie van Leeuwenhoek 2003; 84(3):185-191.

Nazzaro-Porro, *et al.* Identification of Tyrosinase Inhibitors in Cultures of *Pityrosporum*. The Journal of Investigative Dermatology 1978; 71:205-208.

Noakes. The Aryl Hydrocarbon Receptor: A Review of Its Role in the Physiology and Pathology of the Integument and Its Relationship to the Tryptophan Metabolism. Journal of Tryptophan Research 2015; 8: 17-18.

Otulakowski, *et al.* Use of a Human Skin-Grafted Nude Mouse Model for the Evaluation of Topical Retinoic Acid Treatment. J Invest Dermatol 1994; 102:515-8.

Park, J.I., Lee, H.Y., Lee, J.E., Myung, C.H., Hwang, J.S. Inhibitory effect of 2-methyl-naphtho[1,2,3-de]quinolin-8-one on melanosome transport and skin pigmentation. Sci. Rep. Jul. 6:6:29189. Doi: 10.1038/srep29189 (2016).

Plenat, *et al.* Host-Donor Interactions in Healing of Human Split-Thickness Skin Grafts Onto Nude Mice: In Situ Hybridization, Immunohistochemical and Histochemical Studies. Transplantation 1992; 53:1002-10.

Reed, *et al.* Long-Term Maintenance of Normal Human Skin on Congenitally Athymic (Nude) Mice. Proc Soc Exp Biol Med 1973; 143:350-3.

Scott, *et al.* The Permeability of Grafted Human Transplant Skin in Athymic Mice. J Pharm Pharmacol 1988; 40:128-9.

Song, *et al.* A Ligand For The Aryl Hydrocarbon Receptor Isolated From Lung. PNAS 2002; 99(23):14694-9.

Taylor, *et al.* The Taylor Hyperpigmentation Scale: a new visual assessment tool for the evaluation of skin color and pigmentation. Cutis. 2005 Oct; 76(4):270-4.

Wang, *et al.* Stress-Induced RNASET2 Overexpression Mediates Melanocyte Apoptosis Via The TRAF2 Pathway *In Vitro*. Cell Death and Disease 2014; 5:e1022

Wasmeier, *et al.* Melanosomes At A Glance. Journal of Cell Science 2008; 121:3995-3999.

Wille, *et al.* Malassezin - A Novel Agonist of the Arylhydrocarbon Receptor From The Yeast *Malassezia furfur*. Bioorganic & Medicinal Chemistry 2001; 9:955-60.

Winston-McPherson, *et al.* Synthesis and Biological Evaluation of 2,3'-diindolylmethanes as Agonists of Aryl Hydrocarbon Receptor. Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters 2014;

24:4023-4025.

Whyte, *et al.* Ethoxyresorufin-*O*-deethylase (EROD) Activity in Fish As A Biomarker of Chemical Exposure. Critical Reviews in Toxicology 2000; 30(4):347-570.

Yamaguchi, *et al.* Melanocytes and Their Diseases. Cold Spring Harb Perspect Med 2014; 4:a017046.

Zonios, *et al.* Skin Melanin, Hemoglobin, and Light Scattering Properties can be Quantitatively Assessed In Vivo Using Diffuse Reflectance Spectroscopy. J Invest Dermatol. 2001; 117:1452-1457.

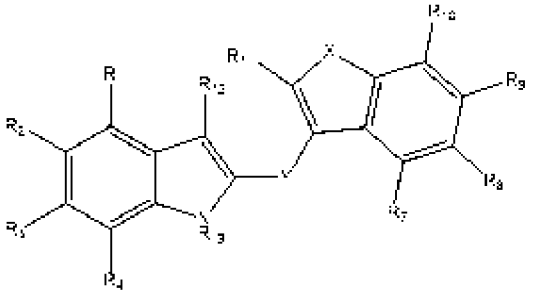
Zhang, *et al.* Environmental Adaptability for Quorum Sensing: Regulating Iron Uptake During Biofilm Formation in Paracoccus Denitrifications. Applied and Environmental Microbiology, AEM. 00865-18 (2018).

[1237] Все документы, процитированные в настоящей заявке, включены в настоящий документ посредством ссылки, как если бы они были процитированы в полном объеме.

[1238] Хотя в настоящем документе были описаны иллюстративные варианты осуществления согласно настоящему изобретению, следует понимать, что настоящее из обретение не ограничивается данными описанными вариантами, и что специалисты в данной области могут вносить различные другие изменения или модификации, не отступая от объема и сущности настоящего изобретения.

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Соединение, характеризующееся структурой следующей формулы:



где:

X выбран из группы, состоящей из NR_{14} и O;

Y представляет собой ковалентную связь, CR_5R_6, O или NR_{15};

R_1, R_2, R_3, R_4, R_7, R_8, R_9, R_{10} и R_{11} независимо выбраны из группы, состоящей из водорода, галогена, CN, гидроксила, R_{16} или OR_{16};

R_{13}, R_{14} и R_{15} независимо представляют собой водород или R_{16};

R_5 и R_6 независимо выбраны из группы, состоящей из водорода, гидроксила, OR_{16}, R_{16} и C_{3-6}циклоакила, или R_5 и R_6 объединены с формированием оксо (=O) группы или C_{3-6}циклоакила;

R_{12} выбран из группы, состоящей из водорода, $-COR^a$ и R_{16};

каждый R_{16} независимо представляет собой формил, C_{1-9}алкил, C_{2-9}алкенил или C_{2-9}алкинил; и

R^a выбран из группы, состоящей из водорода, гидроксила и OR_{16};

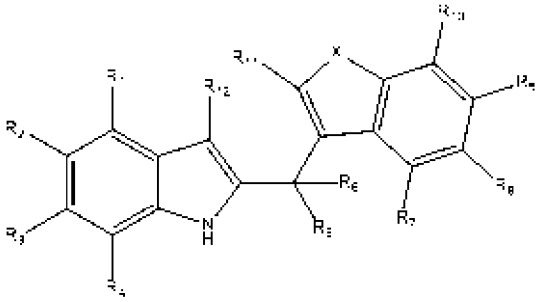
где:

если R^a представляет собой водород, Y представляет собой CR_5R_6, и R_{13} и R_{14} оба представляют собой водород, то по меньшей мере один из R_1, R_2, R_3, R_4, R_5, R_6, R_7, R_8, R_9, R_{10} и R_{11} представляет собой R_{16}; или

R_5 выбран из группы, состоящей из гидроксила, OR_{16}, R_{16} и C_{3-6}циклоакила, или R_5 и R_6 объединены с формированием оксо (=O) группы или C_{3-6}циклоакила;

или его кристаллическая форма, гидрат или косметически или фармацевтически приемлемая соль.

2. Соединение по п. 1, характеризующееся следующей структурой:



(I)

,

или его кристаллическая форма, гидрат или косметически или фармацевтически

приемлемая соль.

3. Соединение по п. 1,

где:

Y представляет собой CR_5R_6;

R_5 представляет собой водород, и R_6 представляет собой водород, C_{1-4}алкил, C_{3-6}циклоакил или O-(C_{1-4}алкил); или R_5 и R_6 объединены с формированием оксо (=O) группы.

4. Соединение по п. 1, где по меньшей мере один из R_1, R_2, R_3, R_4, R_7, R_8, R_9, R_{10} и R_{11} представляет собой C_{1-4}алкил.

5. Соединение по п. 1, где каждый из R_1, R_2, R_3, R_4, R_7, R_8, R_9, R_{10} и R_{11} представляет собой водород.

6. Соединение по п. 1, где R_{12} представляет собой -COR^a или C_{1-4}гидроксиалкил; и R^a представляет собой водород или C_{1-4}алкил.

7. Соединение по п. 1,

где:

X представляет собой NH;

Y представляет собой CR_5R_6;

каждый из R_1, R_3, R_4, R_7, R_8, R_9, R_{10}, R_{11} и R_{13} представляет собой водород;

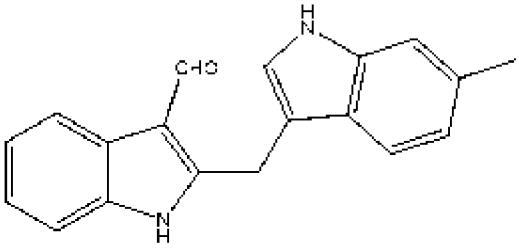
R_2 представляет собой водород или C_{1-4}алкил;

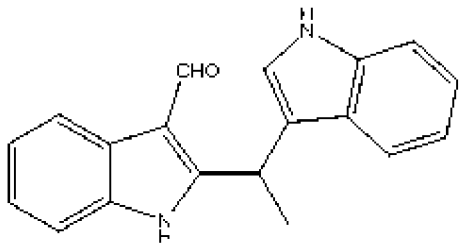
R_5 представляет собой водород, и R_6 представляет собой водород, C_{1-4}алкил, C_{3-6}циклоакил или O-(C_{1-4}алкил); или R_5 и R_6 объединены с формированием оксо (=O) группы;

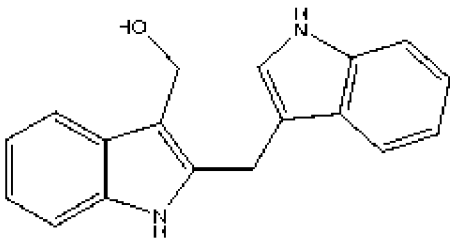
R_{12} представляет собой -COR^a или C_{1-4}гидроксиалкил; и

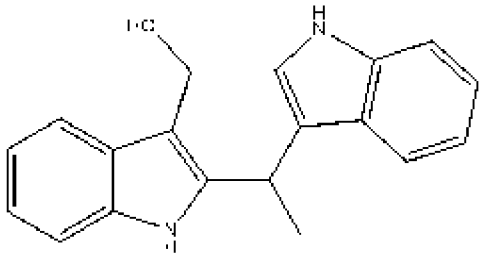
R^a представляет собой водород или C_{1-4}алкил.

8. Соединение по п. 1, где соединение выбрано из группы, состоящей из:

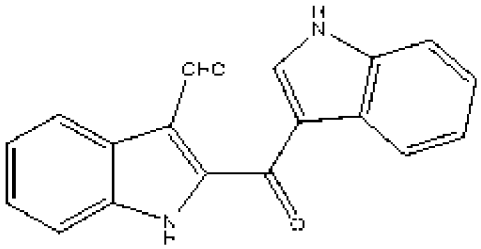
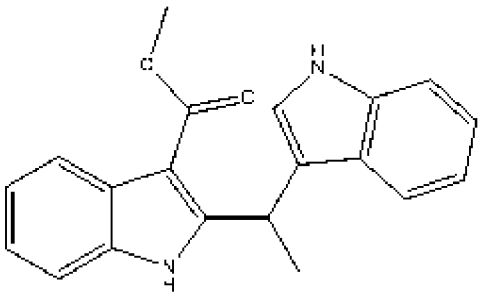
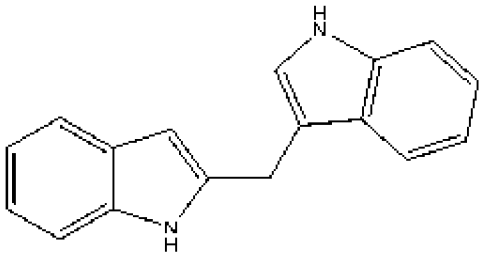
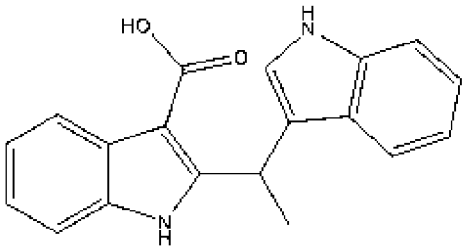
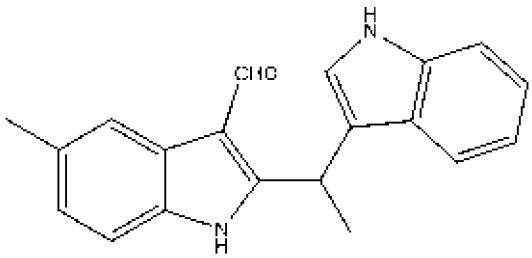
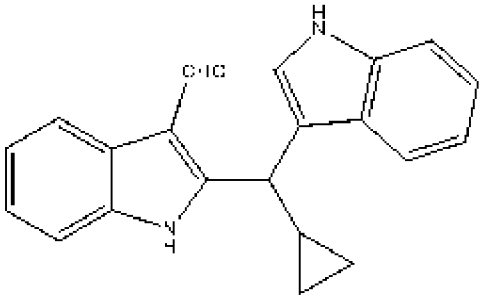
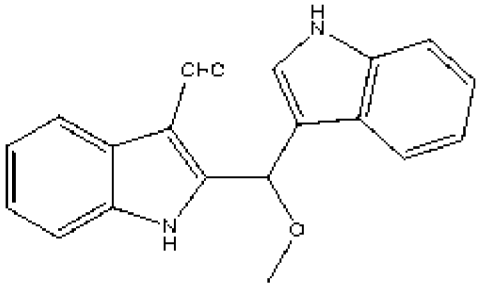
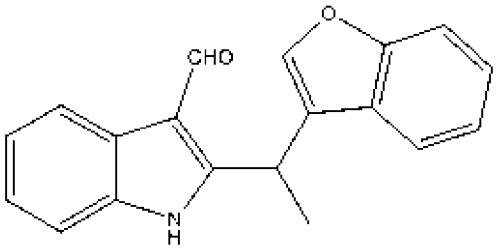
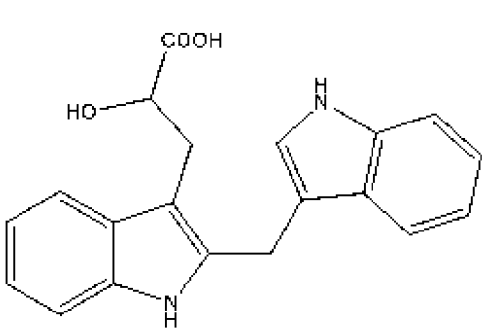
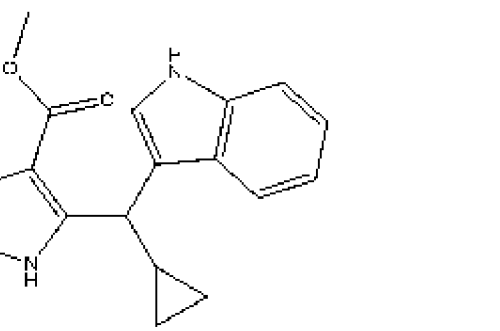


,


,


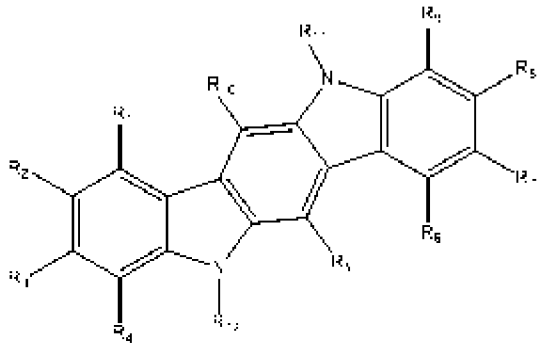
,


,

и .

9. Соединение, характеризующееся следующей структурой:



где:

R_1, R_4, R_5, R_6, R_9 и R_{10} независимо выбраны из группы, состоящей из водорода, гидроксила, галогена, CN, R_{13}, OR_{13}, $OCOR_{13}$ и -CHO;

R_2 и R_3 независимо выбраны из группы, состоящей из водорода, гидроксила, галогена, CN, R_{13}, OR_{13}, $OCOR_{13}$ и CHO, или R_2 и R_3 объединены с формированием 5- или 6-членного гетероциклила;

R_7 и R_8 независимо выбраны из группы, состоящей из водорода, гидроксила, галогена, CN, R_{13}, OR_{13}, $OCOR_{13}$ и CHO, или R_7 и R_8 объединены с формированием 5- или 6-членного гетероциклила;

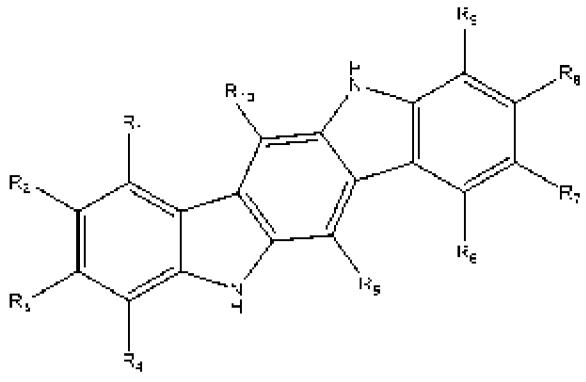
R_{11} и R_{12} независимо представляют собой водород или R_{13};

каждый R_{13} независимо представляет собой C_{1-9}алкил, C_{2-9}алкенил или C_{2-9}алкинил; и

по меньшей мере один из R_1, R_2, R_3, R_4, R_5, R_6, R_7, R_8, R_9 и R_{10} не представляет собой водород;

или его кристаллическая форма, гидрат или косметически или фармацевтически приемлемая соль.

10. Соединение по п. 9, характеризующееся структурой в соответствии с формулой (II)



(I) ,

или его кристаллическая форма, гидрат или косметически или фармацевтически приемлемая соль.

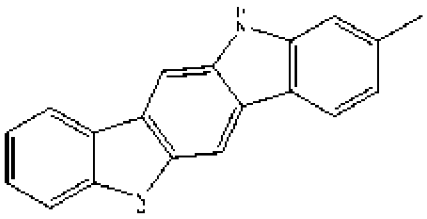
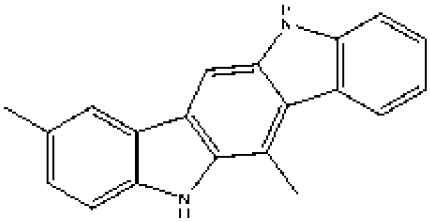
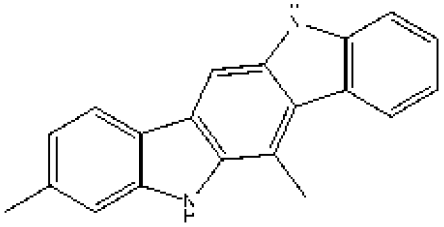
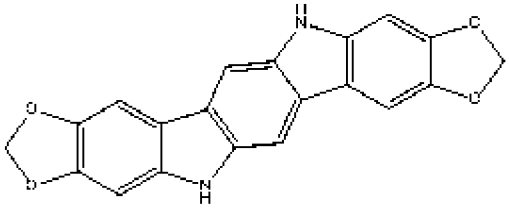
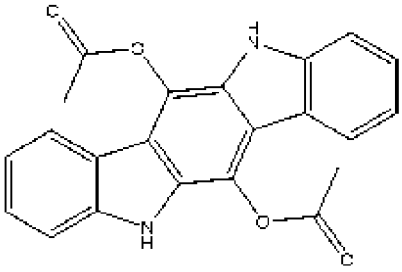
11. Соединение по п. 9, где R_1, R_2, R_3, R_4, R_5, R_6, R_7, R_8, R_9 и R_{10} независимо выбраны из группы, состоящей из водорода и C_{1-4}алкила.

12. Соединение по п. 9, где:

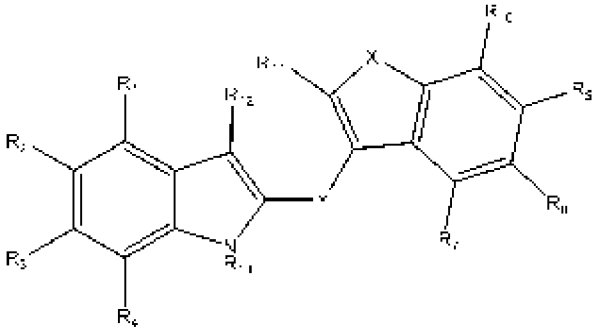
каждые R_{11} и R_{12} представляют собой водород; и

один, два, три или четыре из R_1, R_2, R_3, R_4, R_5, R_6, R_7, R_8, R_9 и R_{10} представляют собой метил, и оставшиеся группы представляют собой водород.

13. Соединение по п. 9, где соединение выбрано из группы, состоящей из:


,

,

,

и

.

14. Композиция, содержащая соединение, причем соединение характеризуется структурой следующей формулы:



где:

X выбран из группы, состоящей из NR_{14} и O;

Y представляет собой ковалентную связь, CR_5R_6, O или NR_{15};

R_1, R_2, R_3, R_4, R_7, R_8, R_9, R_{10} и R_{11} независимо выбраны из группы, состоящей из водорода, галогена, CN, гидроксила, R_{16} или OR_{16};

R_{13}, R_{14} и R_{15} независимо представляют собой водород или R_{16};

R_5 и R_6 независимо выбраны из группы, состоящей из водорода, гидроксила, OR_{16}, R_{16} и $C_{3\text{-}6}$циклоакила, или R_5 и R_6 объединены с формированием оксо (=O) группы или $C_{3\text{-}6}$циклоакила;

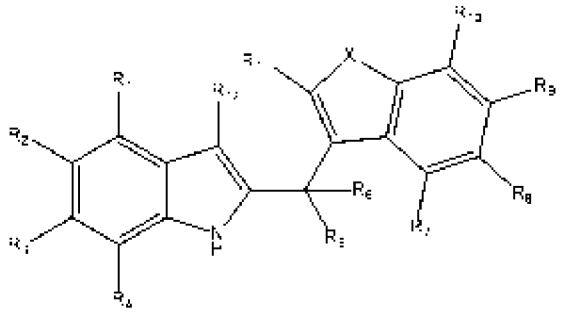
R_{12} выбран из группы, состоящей из водорода, $-COR^a$ и R_{16};

каждый R_{16} независимо представляет собой формил, C_{1-9}алкил, C_{2-9}алкенил или C_{2-9}алкинил; и

R^a выбран из группы, состоящей из водорода, гидроксила и OR_{16};

или его кристаллической формой, гидратом или косметически или фармацевтически приемлемой солью.

15. Композиция по п. 14, содержащая соединение, характеризующееся следующей структурой:



(I)

,

или его кристаллическая форма, гидрат или косметически или фармацевтически приемлемая соль.

16. Композиция по п. 14,

где:

Y представляет собой CR_5R_6;

R_5 представляет собой водород, и R_6 представляет собой водород, C_{1-4}алкил, C_{3-6}циклоакил или O-(C_{1-4}алкил); или R_5 и R_6 объединены с формированием оксо (=O) группы.

17. Композиция по п. 14, где по меньшей мере один из R_1, R_2, R_3, R_4, R_7, R_8, R_9, R_{10} и R_{11} представляет собой C_{1-4}алкил.

18. Композиция по п. 14, где каждый из R_1, R_2, R_3, R_4, R_7, R_8, R_9, R_{10} и R_{11} представляет собой водород.

19. Композиция по п. 14, где R_{12} представляет собой -COR^a или C_{1-4}гидроксиалкил; и R^a представляет собой водород или C_{1-4}алкил.

20. Композиция по п. 14,

где:

X представляет собой NH;

Y представляет собой CR_5R_6;

каждый из R_1, R_3, R_4, R_7, R_8, R_9, R_{10}, R_{11} и R_{13} представляет собой водород;

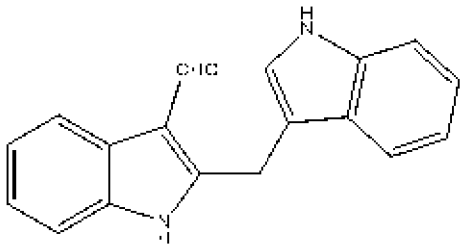
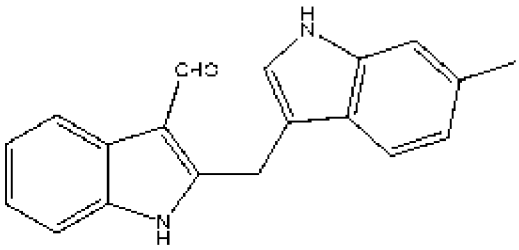
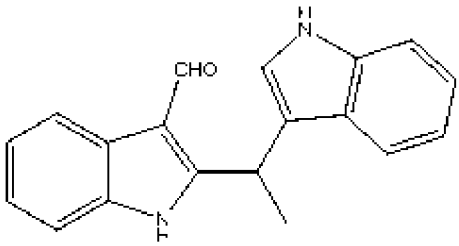
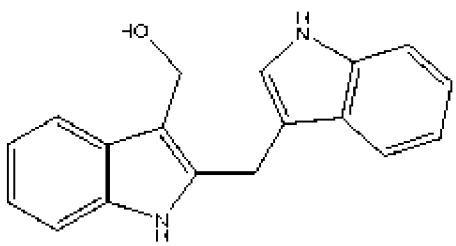
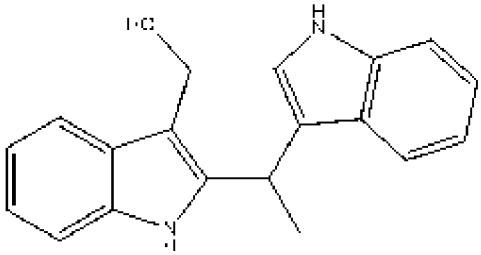
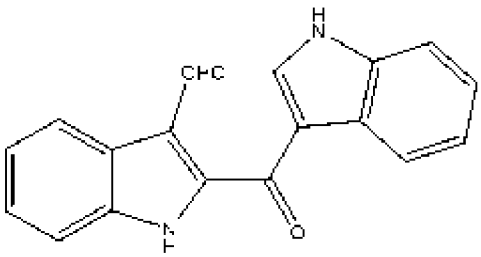
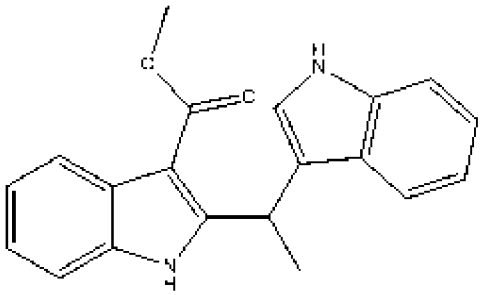
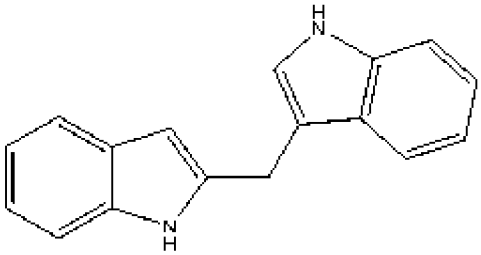
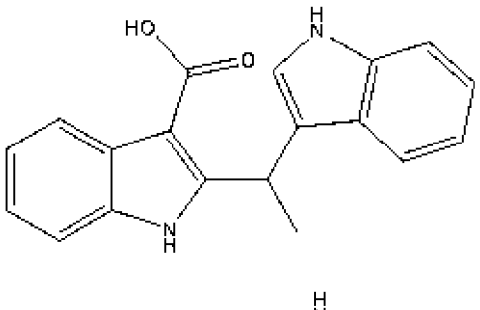
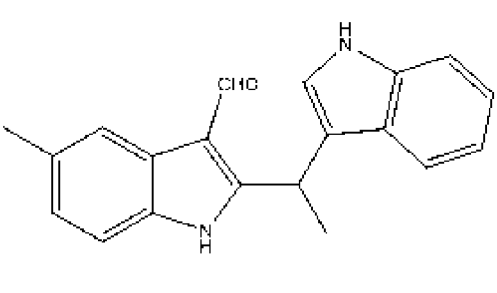
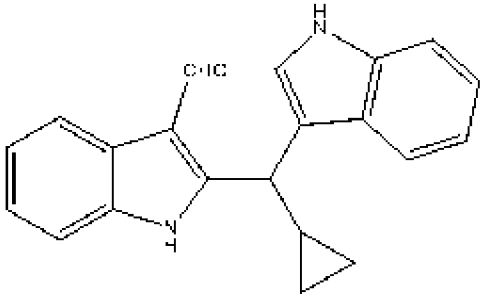
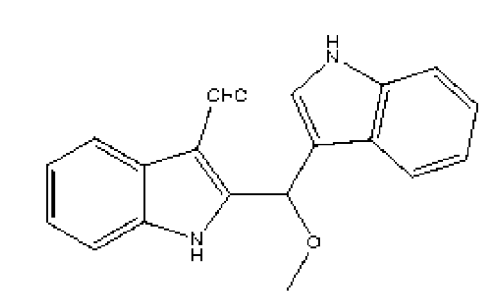
R_2 представляет собой водород или C_{1-4}алкил;

R_5 представляет собой водород, и R_6 представляет собой водород, C_{1-4}алкил, C_{3-6}циклоакил или O-(C_{1-4}алкил); или R_5 и R_6 объединены с формированием оксо (=O) группы;

R_{12} представляет собой -COR^a или C_{1-4}гидроксиалкил; и

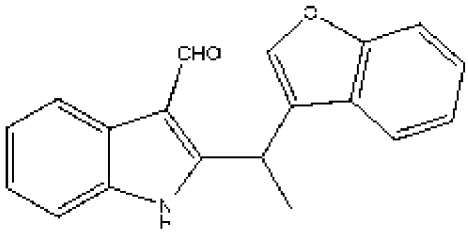
R^a представляет собой водород или C_{1-4}алкил.

21. Композиция по п. 14, где соединение выбрано из группы, состоящей из:

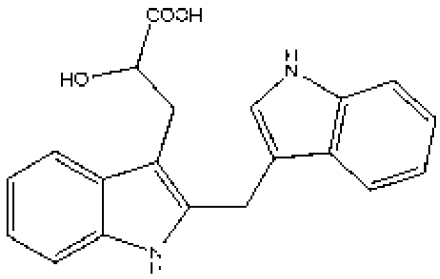

,

,

,

,

,

,

,

,

,

,

,

,

,

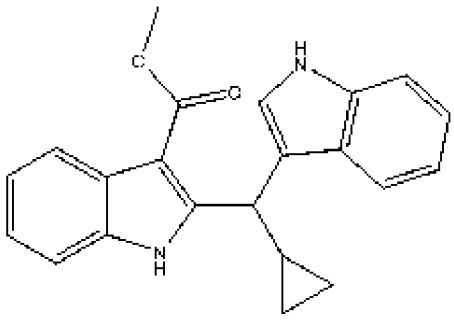
,



,

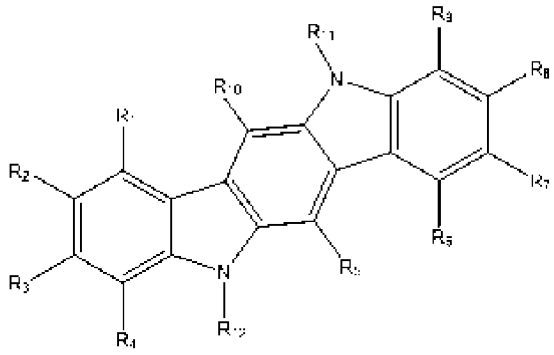


и



.

22. Композиция, содержащая соединение, причем соединение характеризуется следующей формулой:



где:

R_1, R_4, R_5, R_6, R_9 и R_{10} независимо выбраны из группы, состоящей из водорода, гидроксила, галогена, CN, R_{13}, OR_{13}, $OCOR_{13}$ и -CHO;

R_2 и R_3 независимо выбраны из группы, состоящей из водорода, гидроксила, галогена, CN, R_{13}, OR_{13}, $OCOR_{13}$ и CHO, или R_2 и R_3 объединены с формированием 5- или 6-членного гетероциклила;

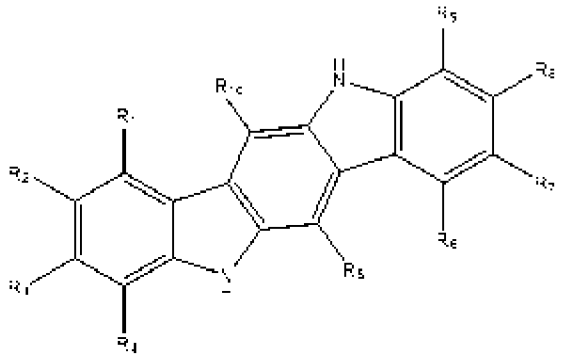
R_7 и R_8 независимо выбраны из группы, состоящей из водорода, гидроксила, галогена, CN, R_{13}, OR_{13}, $OCOR_{13}$ и CHO, или R_7 и R_8 объединены с формированием 5- или 6-членного гетероциклила;

R_{11} и R_{12} независимо представляют собой водород или R_{13}; и

каждый R_{13} независимо представляет собой C_{1-9}алкил, C_{2-9}алкенил или C_{2-9}алкинил;

или его кристаллической формой, гидратом или косметически или фармацевтически приемлемой солью.

23. Композиция по п. 22, содержащая соединение, причем соединение характеризуется следующей структурой в соответствии с формулой (II)



(II)

,

или его кристаллическая форма, гидрат или косметически или фармацевтически приемлемая соль.

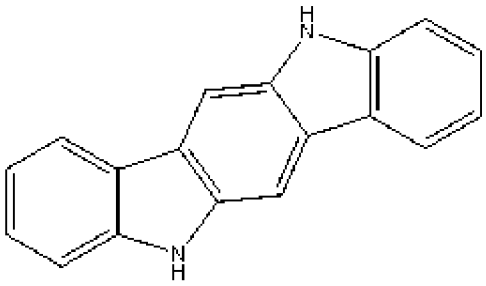
24. Композиция по п. 22, где R_1, R_2, R_3, R_4, R_5, R_6, R_7, R_8, R_9 и R_{10} независимо выбраны из группы, состоящей из водорода и C_{1-4}алкила.

25. Композиция по п. 22, где:

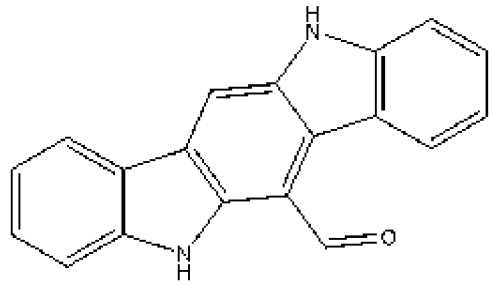
R_{11} и R_{12} каждые представляют собой водород; и

один, два, три или четыре из R_1, R_2, R_3, R_4, R_5, R_6, R_7, R_8, R_9 и R_{10} представляют собой метил, и оставшиеся группы представляют собой водород.

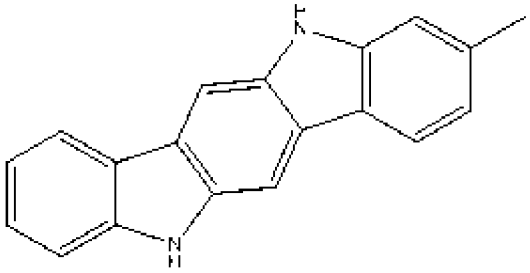
26. Композиция по п. 22, где соединение выбрано из группы, состоящей из:



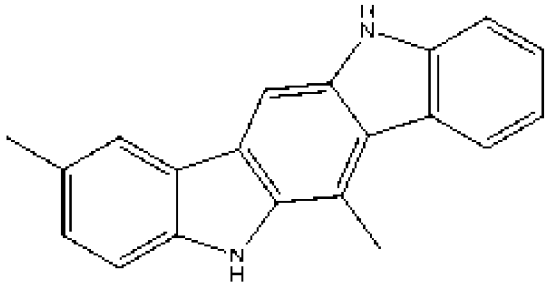
,



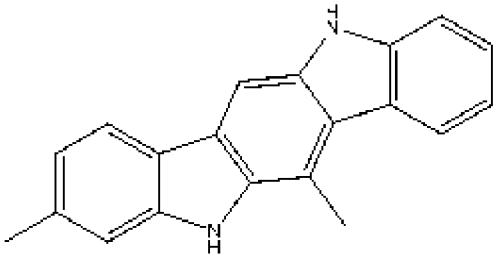
,



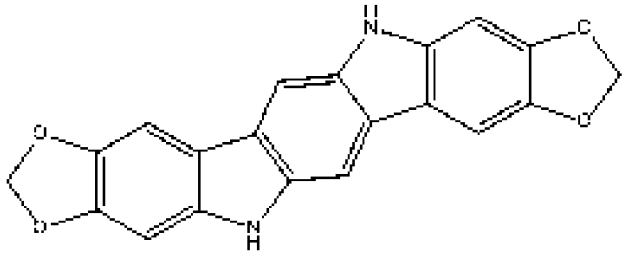
,



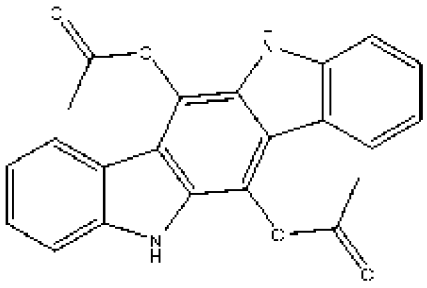
,



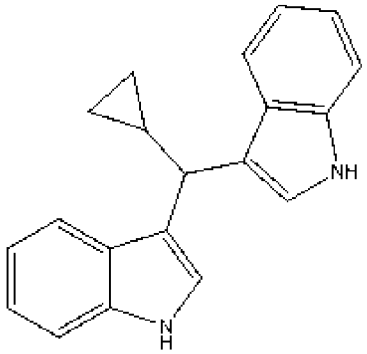
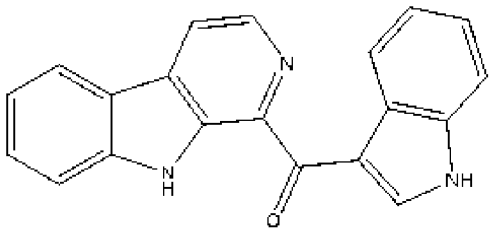
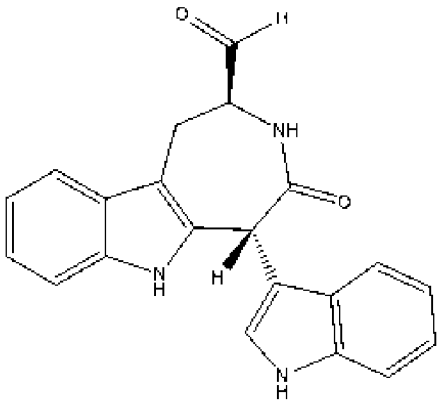
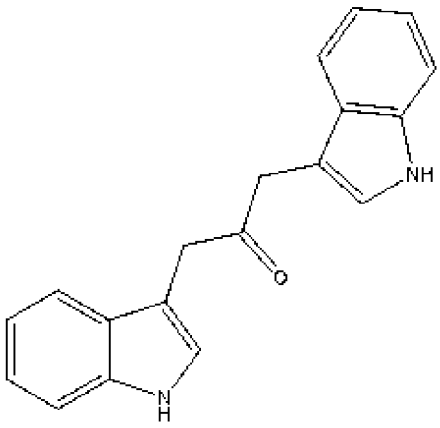
,



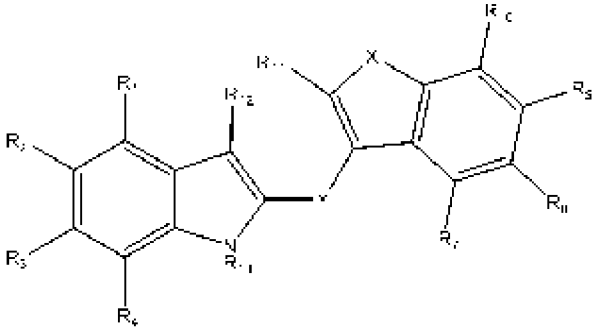
и



27. Композиция, содержащая соединение, где соединение выбрано из группы, состоящей из:


,

,

и

.

28. Способ осветления кожи у субъекта, причем способ включает в себя приведение субъекта в контакт с соединением, причем соединение характеризуется структурой следующей формулы:



где:

X выбран из группы, состоящей из NR_{14} и O;

Y представляет собой ковалентную связь, CR_5R_6, O или NR_{15};

R_1, R_2, R_3, R_4, R_7, R_8, R_9, R_{10} и R_{11} независимо выбраны из группы, состоящей из

водорода, галогена, CN, гидроксила, R_{16} или OR_{16};

R_{13}, R_{14} и R_{15} независимо представляют собой водород или R_{16};

R_5 и R_6 независимо выбраны из группы, состоящей из водорода, гидроксила, OR_{16}, R_{16} и C_{3-6}циклоакила, или R_5 и R_6 объединены с формированием оксо (=O) группы или C_{3-6}циклоакила;

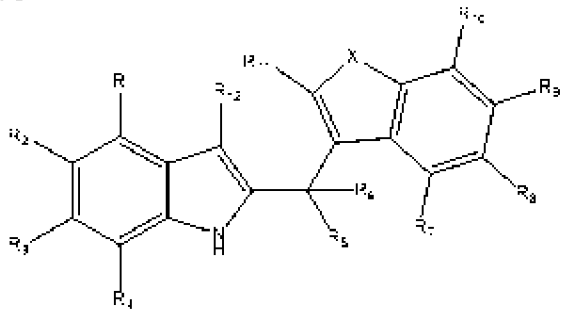
R_{12} выбран из группы, состоящей из водорода, $-COR^a$ и R_{16};

каждый R_{16} независимо представляет собой формил, C_{1-9}алкил, C_{2-9}алкенил или C_{2-9}алкинил; и

R^a выбран из группы, состоящей из водорода, гидроксила и OR_{16};

или его кристаллической формой, гидратом или косметически или фармацевтически приемлемой солью.

29. Способ по п. 28, характеризующийся применением соединения следующей структуры:



(I)

,

или его кристаллическая форма, гидрат или косметически или фармацевтически приемлемая соль.

30. Способ по п. 28,

где:

Y представляет собой CR_5R_6;

R_5 представляет собой водород, и R_6 представляет собой водород, C_{1-4}алкил, C_{3-6}циклоакил или O-(C_{1-4}алкил); или R_5 и R_6 объединены с формированием оксо (=O) группы.

31. Способ по п. 28, где по меньшей мере один из R_1, R_2, R_3, R_4, R_7, R_8, R_9, R_{10} и R_{11} представляет собой C_{1-4}алкил.

32. Способ по п. 28, где каждый из R_1, R_2, R_3, R_4, R_7, R_8, R_9, R_{10} и R_{11} представляет собой водород.

33. Способ по п. 28, где R_{12} представляет собой $-COR^a$ или C_{1-4}гидроксиалкил; и R^a представляет собой водород или C_{1-4}алкил.

34. Способ по п. 28,

где:

X представляет собой NH;

Y представляет собой CR_5R_6;

каждый из R_1, R_3, R_4, R_7, R_8, R_9, R_{10}, R_{11} и R_{13} представляет собой водород;

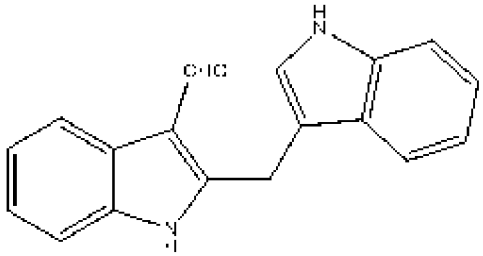
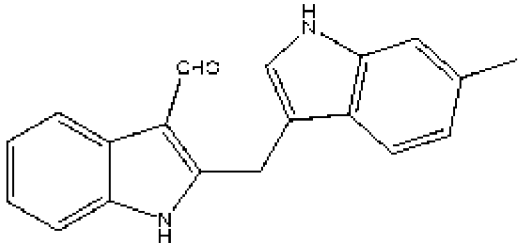
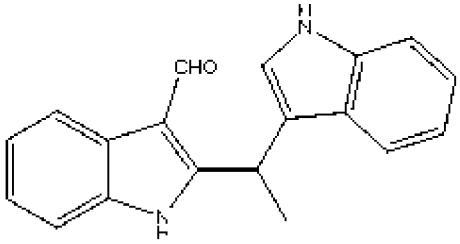
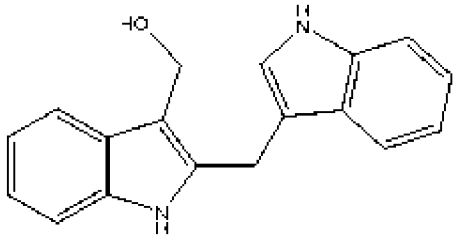
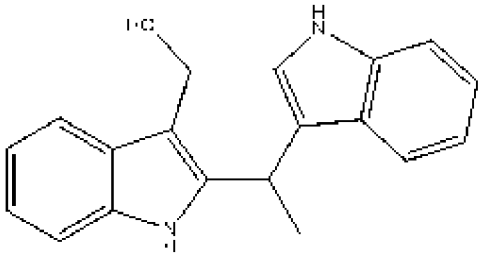
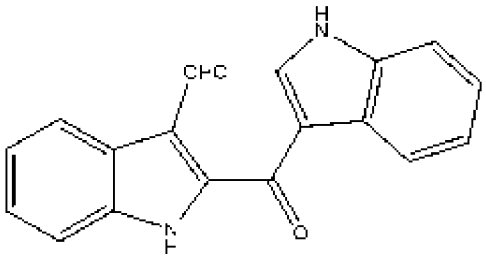
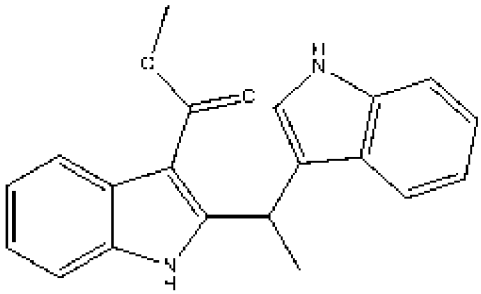
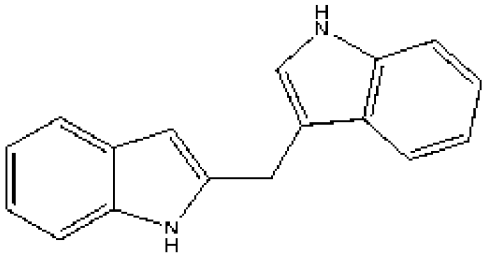
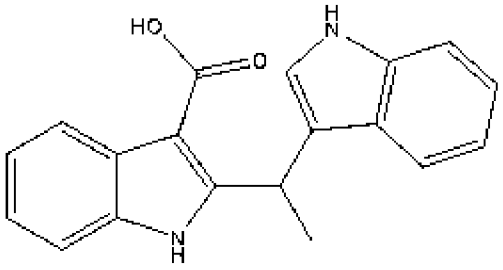
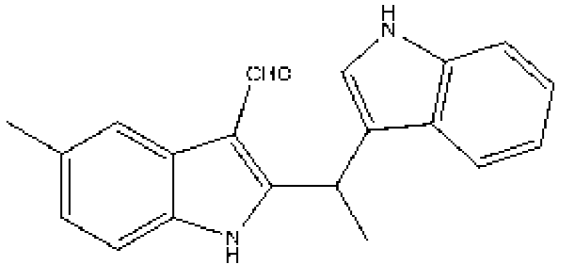
R_2 представляет собой водород или C_{1-4}алкил;

R_5 представляет собой водород, и R_6 представляет собой водород, C_{1-4}алкил, C_{3-6}циклоакил или O-(C_{1-4}алкил); или R_5 и R_6 объединены с формированием оксо (=O) группы;

R_{12} представляет собой -COR^a или C_{1-4}гидроксиалкил; и

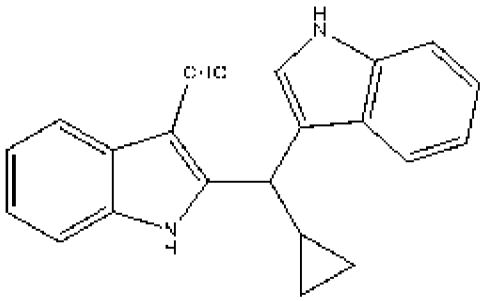
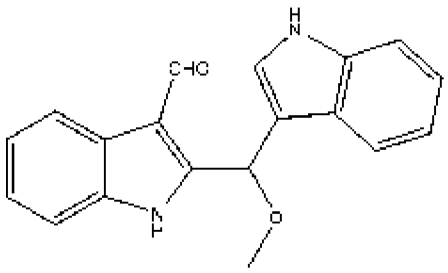
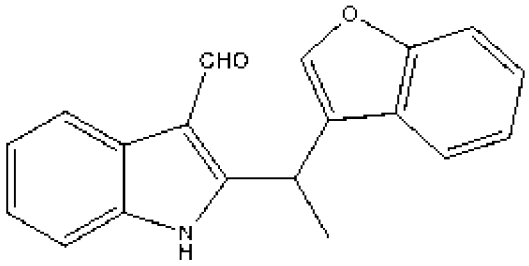
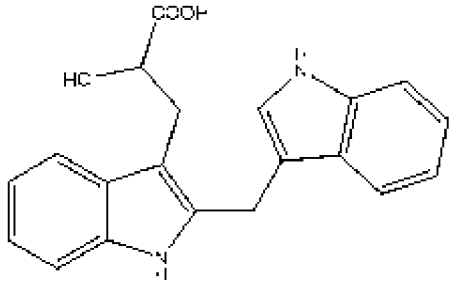
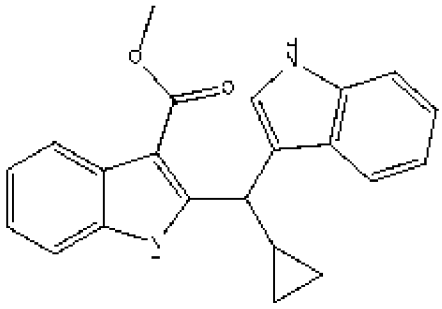
R^a представляет собой водород или C_{1-4}алкил.

35. Способ по п. 28, где соединение выбрано из группы, состоящей из:

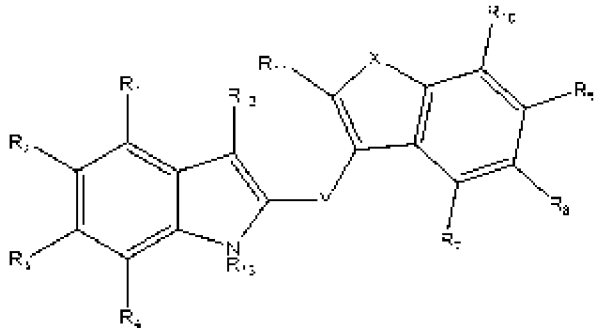

,

,

,

,

,

,

,

,

,

,

,

,

36. Способ индукции апоптоза меланоцитов у субъекта, причем способ включает в себя приведение субъекта в контакт с соединением, причем соединение характеризуется структурой следующей формулы:



где:

X выбран из группы, состоящей из NR_{14} и O;

Y представляет собой ковалентную связь, CR_5R_6, O или NR_{15};

R_1, R_2, R_3, R_4, R_7, R_8, R_9, R_{10} и R_{11} независимо выбраны из группы, состоящей из водорода, галогена, CN, гидроксила, R_{16} или OR_{16};

R_{13}, R_{14} и R_{15} независимо представляют собой водород или R_{16};

R_5 и R_6 независимо выбраны из группы, состоящей из водорода, гидроксила, OR_{16}, R_{16} и $C_{3\text{-}6}$циклоакила, или R_5 и R_6 объединены с формированием оксо (=O) группы или $C_{3\text{-}6}$циклоакила;

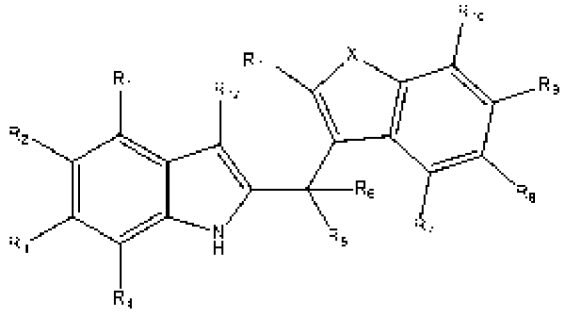
R_{12} выбран из группы, состоящей из водорода, -COR^a и R_{16};

каждый R_{16} независимо представляет собой формил, C_{1-9}алкил, C_{2-9}алкенил или C_{2-9}алкинил; и

R^a выбран из группы, состоящей из водорода, гидроксила и OR_{16};

или его кристаллической формой, гидратом или косметически или фармацевтически приемлемой солью.

37. Способ по п. 36, характеризующийся применением соединения следующей структурой:



(I)

,

или его кристаллическая форма, гидрат или косметически или фармацевтически приемлемая соль.

38. Способ по п. 36,

где:

Y представляет собой CR_5R_6;

R_5 представляет собой водород, и R_6 представляет собой водород, C_{1-4}алкил, C_{3-6}циклоакил или O-(C_{1-4}алкил); или R_5 и R_6 объединены с формированием оксо (=O) группы.

39. Способ по п. 36, где по меньшей мере один из R_1, R_2, R_3, R_4, R_7, R_8, R_9, R_{10} и R_{11} представляет собой C_{1-4}алкил.

40. Способ по п. 36, где каждый из R_1, R_2, R_3, R_4, R_7, R_8, R_9, R_{10} и R_{11} представляет собой водород.

41. Способ по п. 36, где R_{12} представляет собой -COR^a или C_{1-4}гидроксиалкил; и R^a представляет собой водород или C_{1-4}алкил.

42. Способ по п. 36,

где:

X представляет собой NH;

Y представляет собой CR_5R_6;

каждый из R_1, R_3, R_4, R_7, R_8, R_9, R_{10}, R_{11} и R_{13} представляет собой водород;

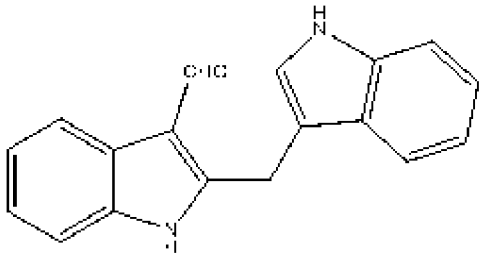
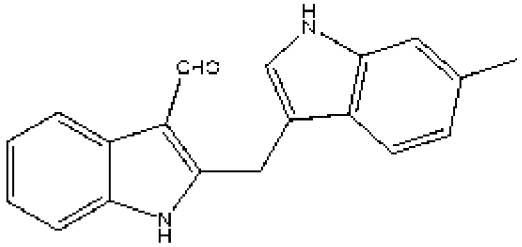
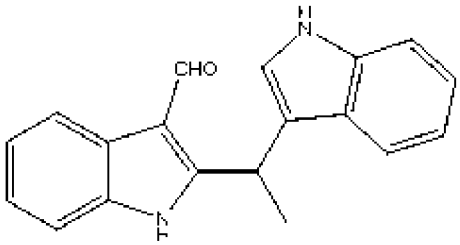
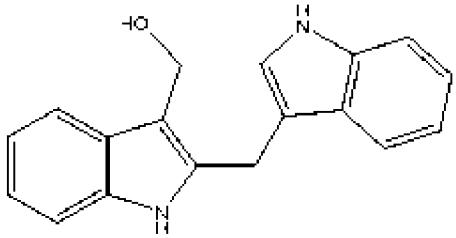
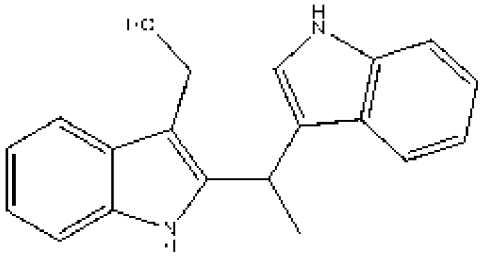
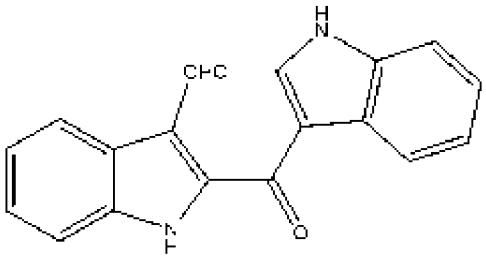
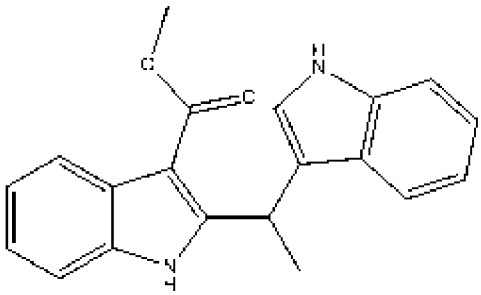
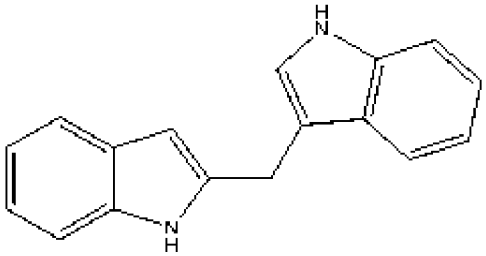
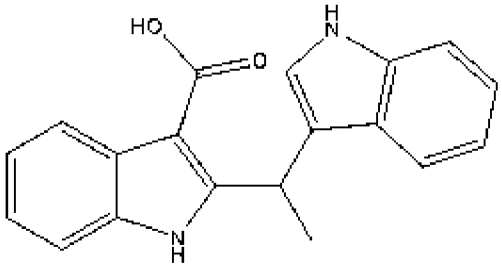
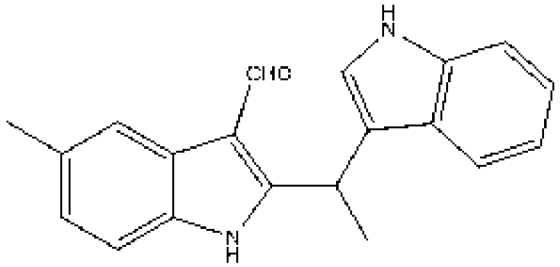
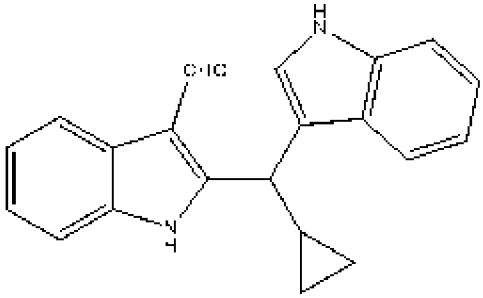
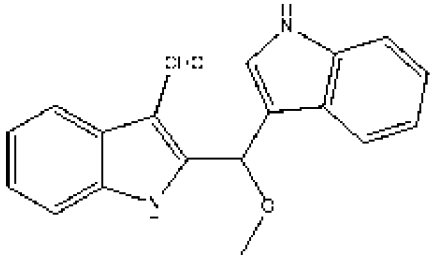
R_2 представляет собой водород или C_{1-4}алкил;

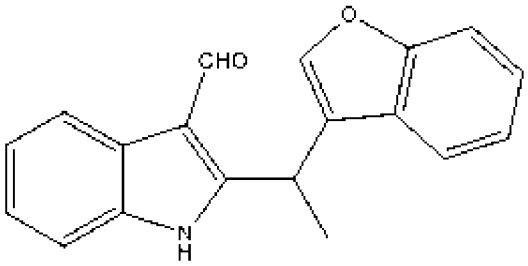
R_5 представляет собой водород, и R_6 представляет собой водород, C_{1-4}алкил, C_{3-6}циклоакил или O-(C_{1-4}алкил); или R_5 и R_6 объединены с формированием оксо (=O) группы;

R_{12} представляет собой -COR^a или C_{1-4}гидроксиалкил; и

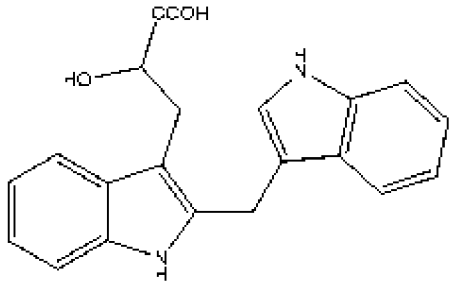
R^a представляет собой водород или C_{1-4}алкил.

43. Способ по п. 36, где соединение выбрано из группы, состоящей из:

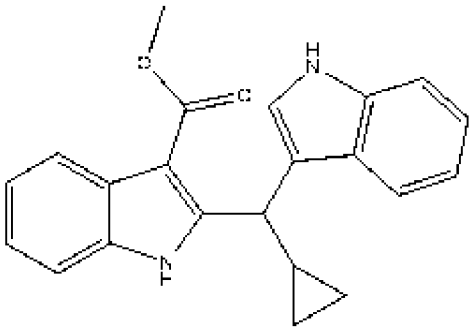

,

,

,

,

,

,

,

,

,

,

,

,



,

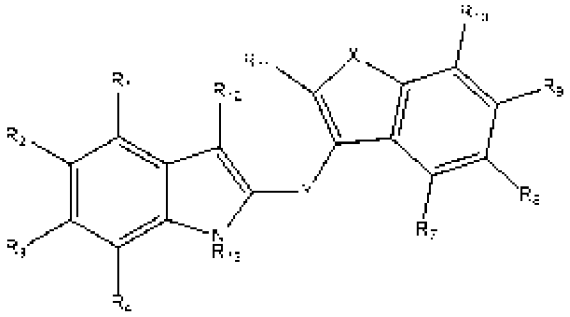


и



.

44. Способ модулирования активности рецептора ароматических углеводородов (AhR) у субъекта, причем способ включает в себя приведение субъекта в контакт с соединением, причем соединение характеризуется структурой следующей формулы:



где:

X выбран из группы, состоящей из NR_{14} и O;

Y представляет собой ковалентную связь, CR_5R_6, O или NR_{15};

R_1, R_2, R_3, R_4, R_7, R_8, R_9, R_{10} и R_{11} независимо выбраны из группы, состоящей из водорода, галогена, CN, гидроксила, R_{16} или OR_{16};

R_{13}, R_{14} и R_{15} независимо представляют собой водород или R_{16};

R_5 и R_6 независимо выбраны из группы, состоящей из водорода, гидроксила, OR_{16}, R_{16} и C_{3-6}циклоакила, или R_5 и R_6 объединены с формированием оксо (=O) группы или C_{3-6}циклоакила;

R_{12} выбран из группы, состоящей из водорода, $-COR^a$ и R_{16};

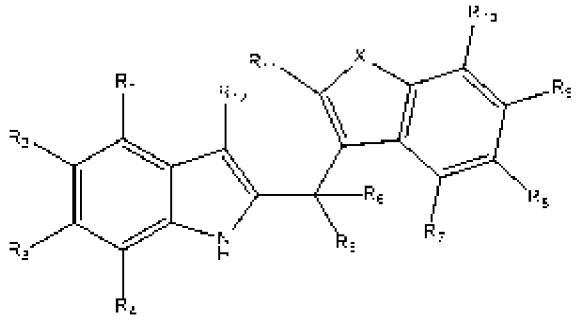
каждый R_{16} независимо представляет собой формил, C_{1-9}алкил, C_{2-9}алкенил или C_{2-9}алкинил; и

R^a выбран из группы, состоящей из водорода, гидроксила и OR_{16};

или его кристаллической формой, гидратом или косметически или фармацевтически приемлемой солью.

45. Способ по п. 44, характеризующийся применением соединения следующей

структурой:



(I)

,

или его кристаллическая форма, гидрат или косметически или фармацевтически приемлемая соль.

46. Способ по п. 44,

где:

Y представляет собой CR_5R_6;

R_5 представляет собой водород, и R_6 представляет собой водород, C_{1-4}алкил, C_{3-6}циклоакил или O-(C_{1-4}алкил); или R_5 и R_6 объединены с формированием оксо (=O) группы.

47. Способ по п. 44, где по меньшей мере один из R_1, R_2, R_3, R_4, R_7, R_8, R_9, R_{10} и R_{11} представляет собой C_{1-4}алкил.

48. Способ по п. 44, где каждый из R_1, R_2, R_3, R_4, R_7, R_8, R_9, R_{10} и R_{11} представляет собой водород.

49. Способ по п. 44, где R_{12} представляет собой -COR^a или C_{1-4}гидроксиалкил; и R^a представляет собой водород или C_{1-4}алкил.

50. Способ по п. 44,

где:

X представляет собой NH;

Y представляет собой CR_5R_6;

каждый из R_1, R_3, R_4, R_7, R_8, R_9, R_{10}, R_{11} и R_{13} представляет собой водород;

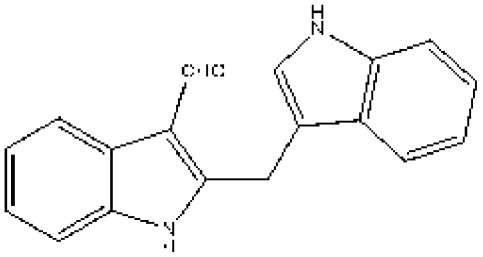
R_2 представляет собой водород или C_{1-4}алкил;

R_5 представляет собой водород, и R_6 представляет собой водород, C_{1-4}алкил, C_{3-6}циклоакил или O-(C_{1-4}алкил); или R_5 и R_6 объединены с формированием оксо (=O) группы;

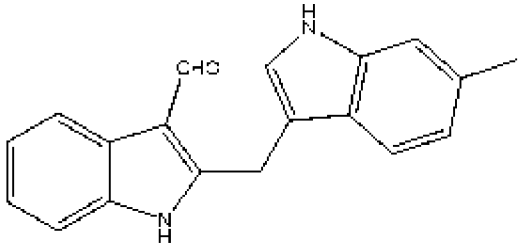
R_{12} представляет собой -COR^a или C_{1-4}гидроксиалкил; и

R^a представляет собой водород или C_{1-4}алкил.

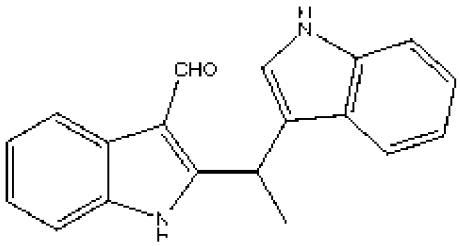
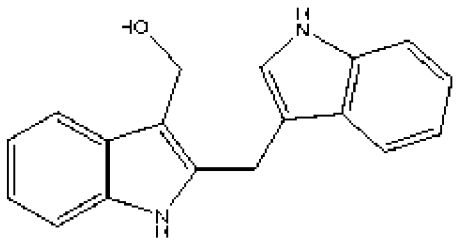
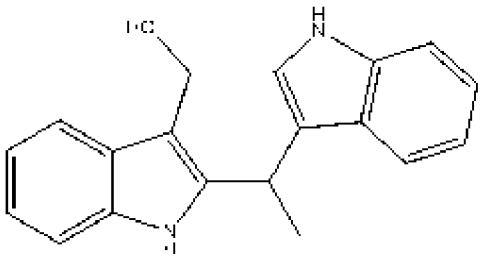
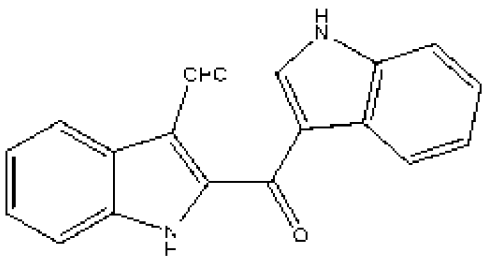
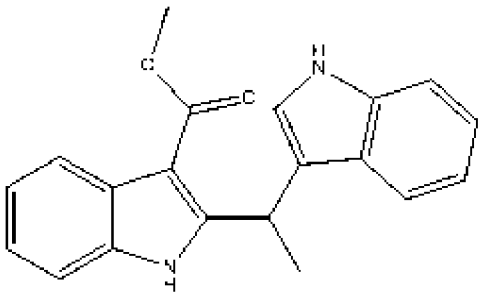
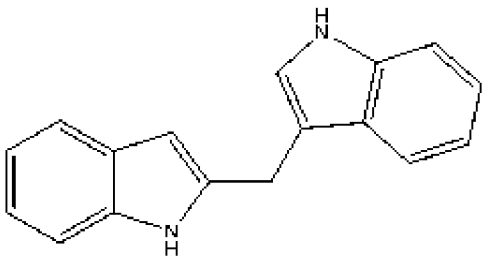
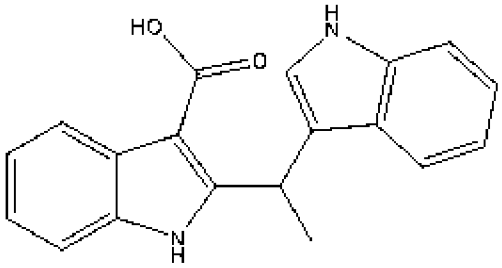
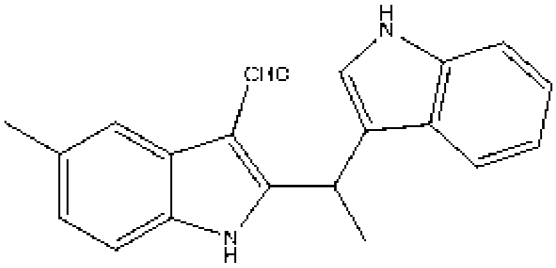
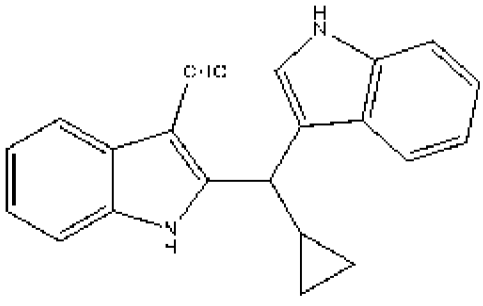
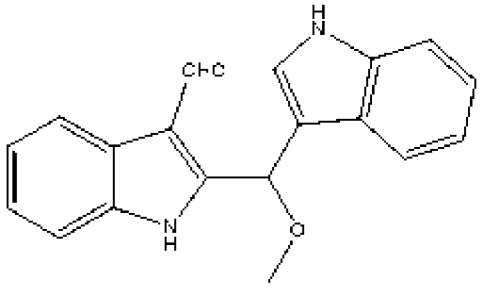
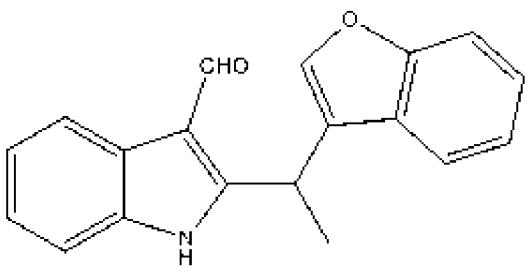
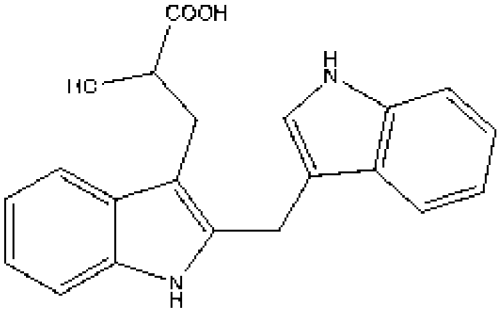
51. Способ по п. 44, где соединение выбрано из группы, состоящей из:

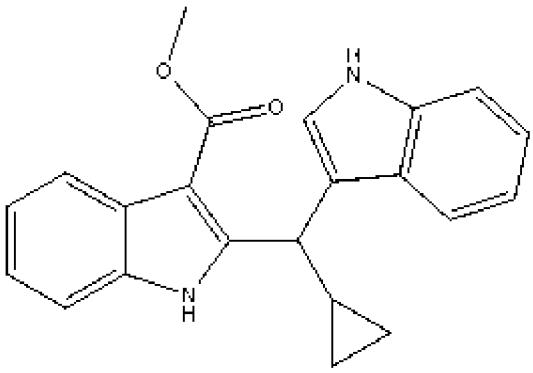


,

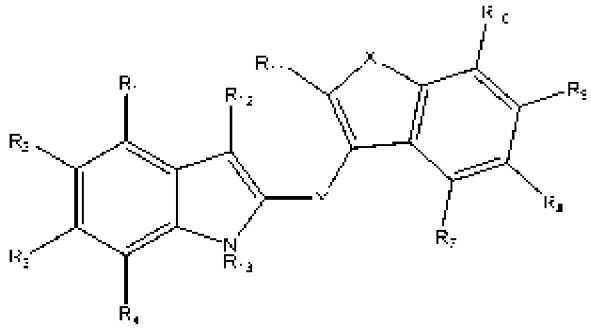


,


CHO
H
N
,

HO
H
N
,

H
N
,

CHC
O
H
N
,

C
H
N
,

H
N
,

HO
O
H
N
,

CHC
H
N
,

CHC
H
N
,

CHC
O
H
N
,

CHO
O
H
N
,

COOH
HC
H
N
и



52. Способ модулирования меланогенеза у субъекта, причем способ включает в себя приведение субъекта в контакт с соединением, причем соединение характеризуется структурой следующей формулы:



где:

X выбран из группы, состоящей из NR_{14} и O;

Y представляет собой ковалентную связь, CR_5R_6, O или NR_{15};

R_1, R_2, R_3, R_4, R_7, R_8, R_9, R_{10} и R_{11} независимо выбраны из группы, состоящей из водорода, галогена, CN, гидроксила, R_{16} или OR_{16};

R_{13}, R_{14} и R_{15} независимо представляют собой водород или R_{16};

R_5 и R_6 независимо выбраны из группы, состоящей из водорода, гидроксила, OR_{16}, R_{16} и $C_{3\text{-}6}$циклоакила, или R_5 и R_6 объединены с формированием оксо (=O) группы или $C_{3\text{-}6}$циклоакила;

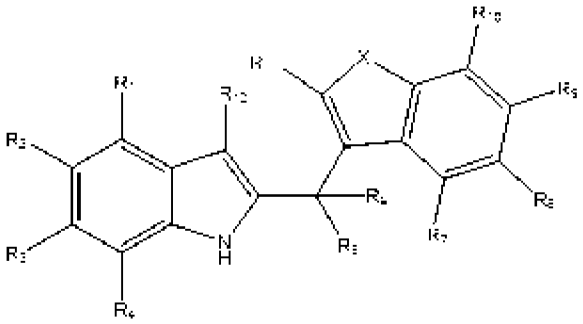
R_{12} выбран из группы, состоящей из водорода, $-COR^a$ и R_{16};

каждый R_{16} независимо представляет собой формил, $C_{1\text{-}9}$алкил, $C_{2\text{-}9}$алкенил или $C_{2\text{-}9}$алкинил; и

R^a выбран из группы, состоящей из водорода, гидроксила и OR_{16};

или его кристаллической формой, гидратом или косметически или фармацевтически приемлемой солью.

53. Способ по п. 52, характеризующийся применением соединения следующей структурой:



(I)

,

или его кристаллическая форма, гидрат или косметически или фармацевтически приемлемая соль.

54. Способ по п. 52,

где:

Y представляет собой CR_5R_6;

R_5 представляет собой водород, и R_6 представляет собой водород, C_{1-4}алкил, C_{3-6}циклоакил или O-(C_{1-4}алкил); или R_5 и R_6 объединены с формированием оксо (=O) группы.

55. Способ по п. 52, где по меньшей мере один из R_1, R_2, R_3, R_4, R_7, R_8, R_9, R_{10} и R_{11} представляет собой C_{1-4}алкил.

56. Способ по п. 52, где каждый из R_1, R_2, R_3, R_4, R_7, R_8, R_9, R_{10} и R_{11} представляет собой водород.

57. Способ по п. 52, где R_{12} представляет собой -COR^a или C_{1-4}гидроксиалкил; и R^a представляет собой водород или C_{1-4}алкил.

58. Способ по п. 52,

где:

X представляет собой NH;

Y представляет собой CR_5R_6;

каждый из R_1, R_3, R_4, R_7, R_8, R_9, R_{10}, R_{11} и R_{13} представляет собой водород;

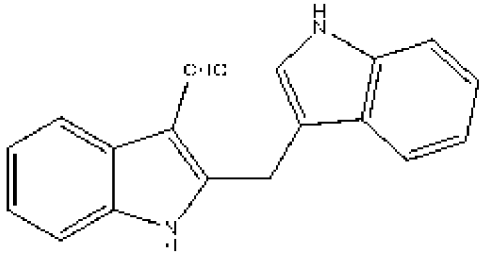
R_2 представляет собой водород или C_{1-4}алкил;

R_5 представляет собой водород, и R_6 представляет собой водород, C_{1-4}алкил, C_{3-6}циклоакил или O-(C_{1-4}алкил); или R_5 и R_6 объединены с формированием оксо (=O) группы;

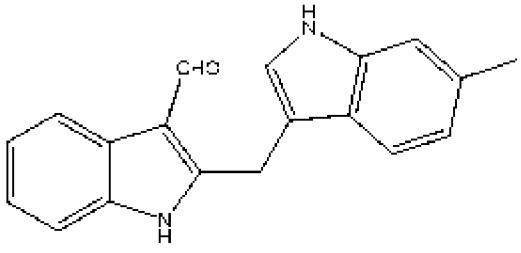
R_{12} представляет собой -COR^a или C_{1-4}гидроксиалкил; и

R^a представляет собой водород или C_{1-4}алкил.

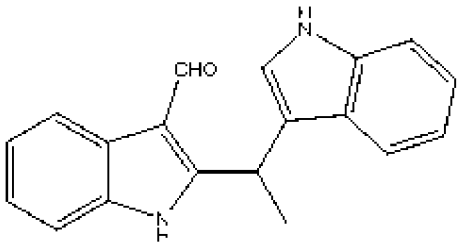
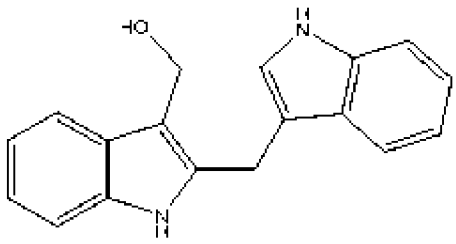
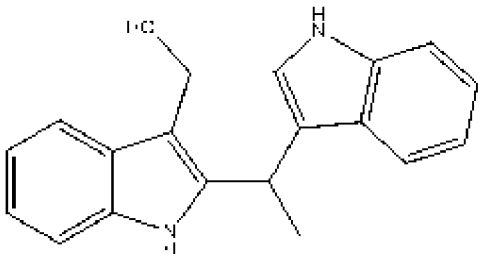
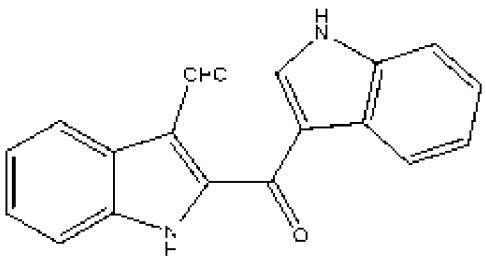
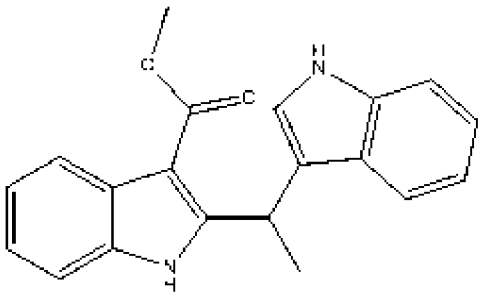
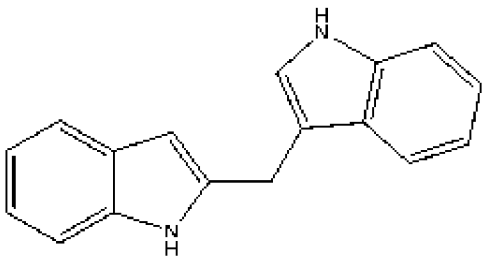
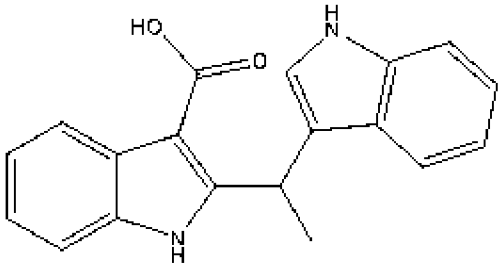
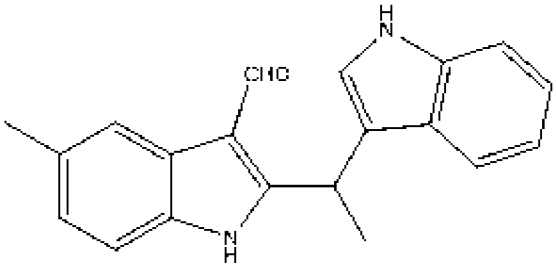
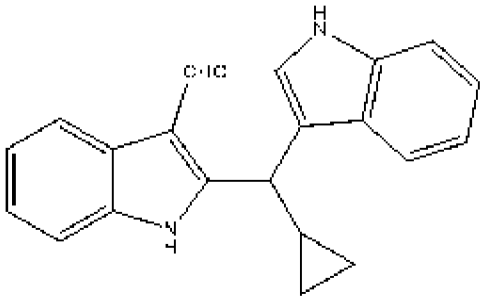
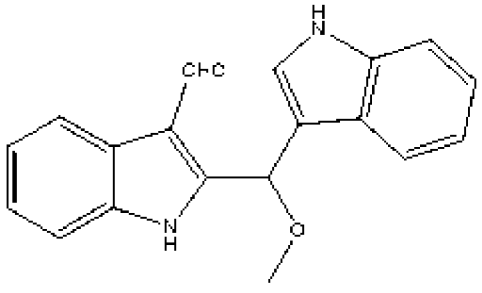
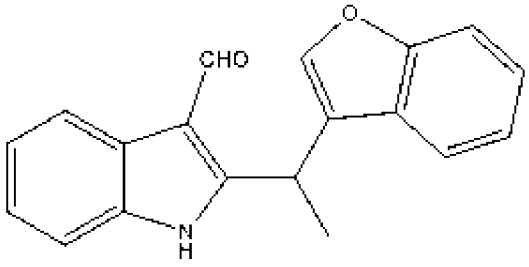
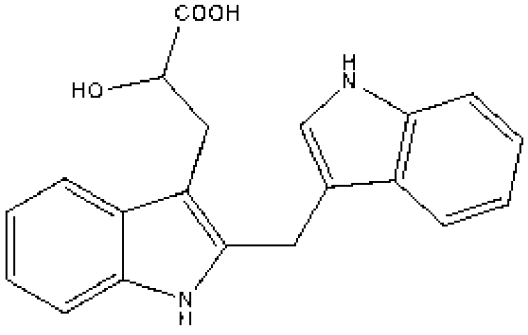
59. Способ по п. 52, где соединение выбрано из группы, состоящей из:

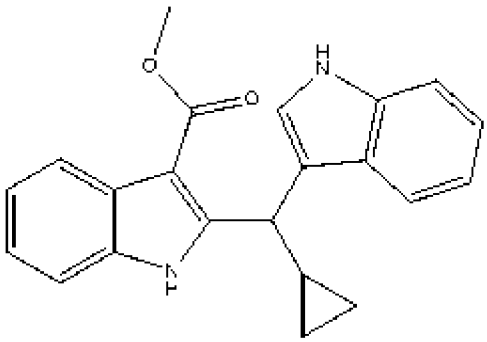


,

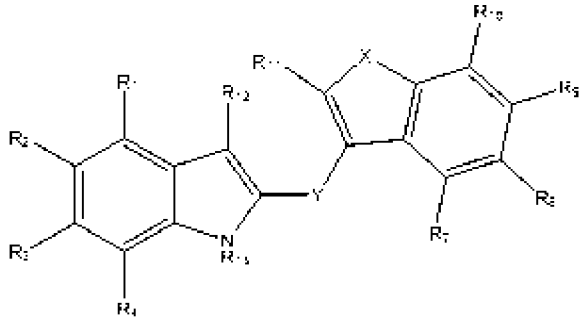


,


CHO
H
N
,

HO
H
N
,

H
N
,

CHC
O
H
N
,

C
H
N
,

H
N
,

HO
O
H
N
,

CHO
H
N
,

CHC
H
N
,

CHC
O
H
N
,

CHO
O
H
N
,

COOH
HO
H
N
, и



60. Способ модулирования концентрации меланина у субъекта, причем способ включает в себя приведение субъекта в контакт с соединением, характеризующимся структурой следующей формулы:



где:

X выбран из группы, состоящей из NR_{14} и O;

Y представляет собой ковалентную связь, CR_5R_6, O или NR_{15};

R_1, R_2, R_3, R_4, R_7, R_8, R_9, R_{10} и R_{11} независимо выбраны из группы, состоящей из водорода, галогена, CN, гидроксила, R_{16} или OR_{16};

R_{13}, R_{14} и R_{15} независимо представляют собой водород или R_{16};

R_5 и R_6 независимо выбраны из группы, состоящей из водорода, гидроксила, OR_{16}, R_{16} и C_{3-6}циклоакила, или R_5 и R_6 объединены с формированием оксо (=O) группы или C_{3-6}циклоакила;

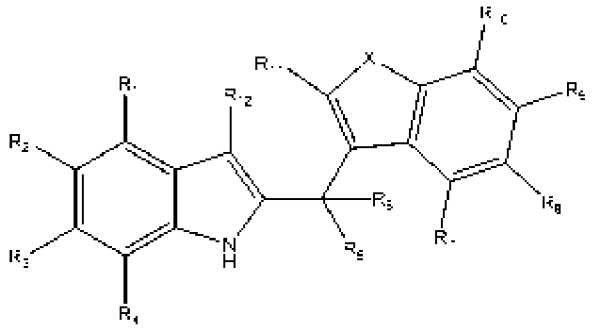
R_{12} выбран из группы, состоящей из водорода, $-COR^a$ и R_{16};

каждый R_{16} независимо представляет собой формил, C_{1-9}алкил, C_{2-9}алкенил или C_{2-9}алкинил; и

R^a выбран из группы, состоящей из водорода, гидроксила и OR_{16};

или его кристаллической формой, гидратом, или косметически или фармацевтически приемлемой солью.

61. Способ по п. 60, характеризующийся применением соединения следующей структурой:



(I)

,

или его кристаллическая форма, гидрат или косметически или фармацевтически приемлемая соль.

62. Способ по п. 60,

где:

Y представляет собой CR_5R_6;

R_5 представляет собой водород, и R_6 представляет собой водород, C_{1-4}алкил, C_{3-6}циклоакил или O-(C_{1-4}алкил); или R_5 и R_6 объединены с формированием оксо (=O) группы.

63. Способ по п. 60, где по меньшей мере один из R_1, R_2, R_3, R_4, R_7, R_8, R_9, R_{10} и R_{11} представляет собой C_{1-4}алкил.

64. Способ по п. 60, где каждый из R_1, R_2, R_3, R_4, R_7, R_8, R_9, R_{10} и R_{11} представляет собой водород.

65. Способ по п. 60, где R_{12} представляет собой -COR^a или C_{1-4}гидроксиалкил; и R^a представляет собой водород или C_{1-4}алкил.

66. Способ по п. 60,

где:

X представляет собой NH;

Y представляет собой CR_5R_6;

каждый из R_1, R_3, R_4, R_7, R_8, R_9, R_{10}, R_{11} и R_{13} представляет собой водород;

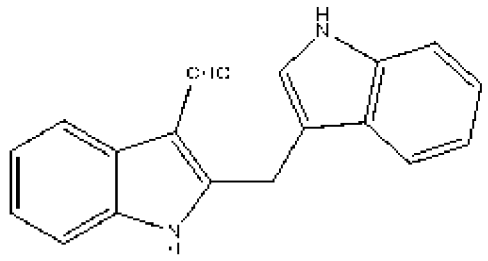
R_2 представляет собой водород или C_{1-4}алкил;

R_5 представляет собой водород, и R_6 представляет собой водород, C_{1-4}алкил, C_{3-6}циклоакил или O-(C_{1-4}алкил); или R_5 и R_6 объединены с формированием оксо (=O) группы;

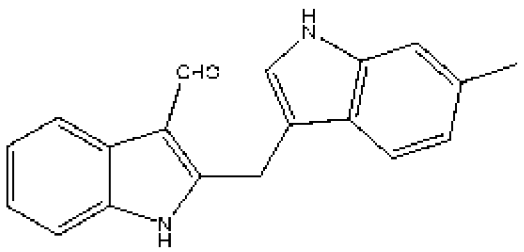
R_{12} представляет собой -COR^a или C_{1-4}гидроксиалкил; и

R^a представляет собой водород или C_{1-4}алкил.

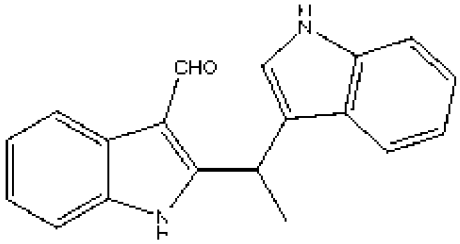
67. Способ по п. 60, где соединение выбрано из группы, состоящей из:



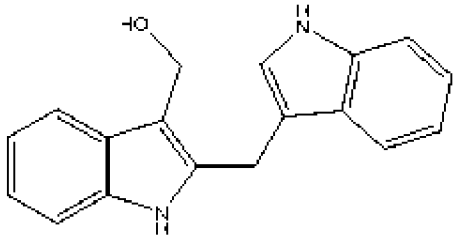
,



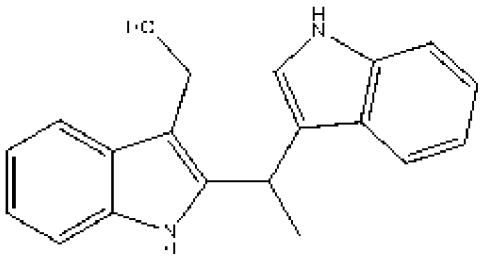
,


CHO
H
N

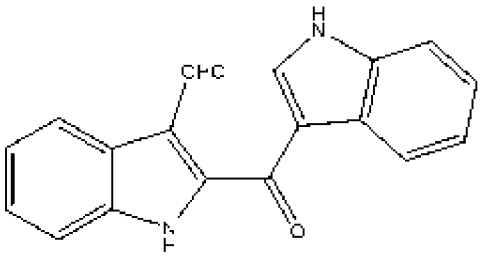
,


HO
H
N

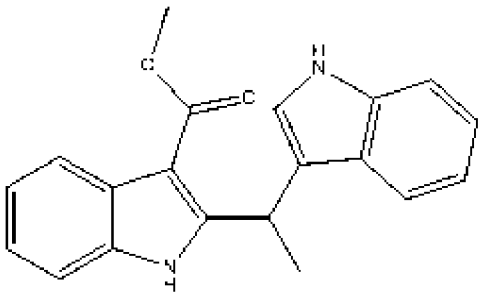
,


H
N

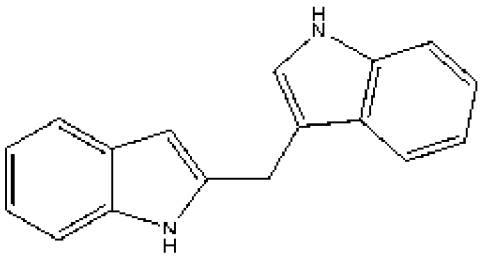
,


CHC
H
N
O

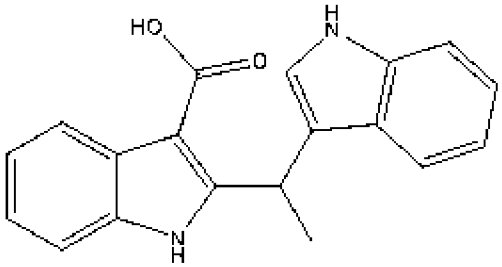
,


C
C
H
N

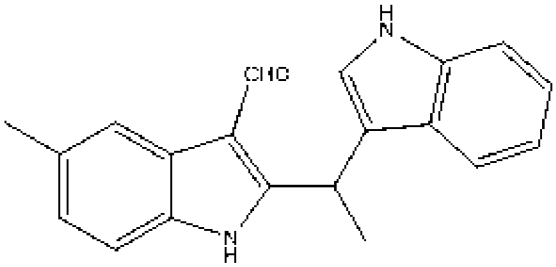
,


H
N

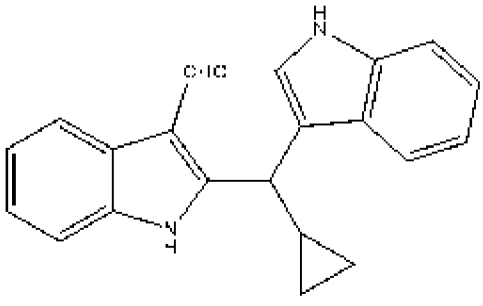
,


HO
O
H
N

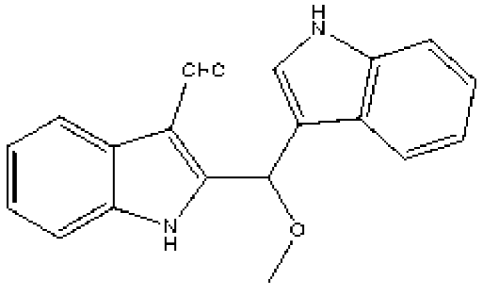
,


CHC
H
N

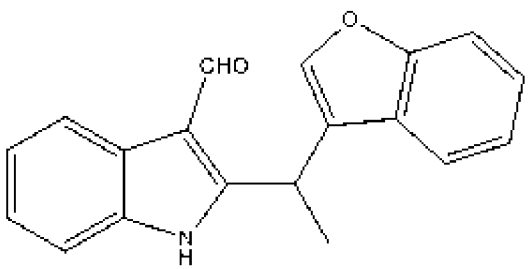
,


CHC
H
N

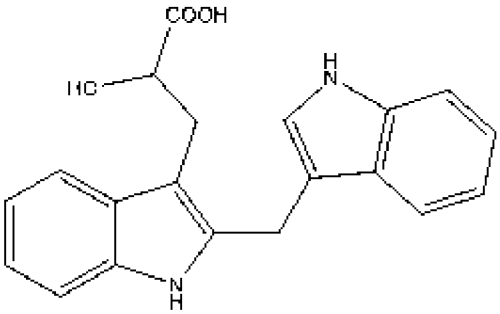
,


CHC
H
N
O

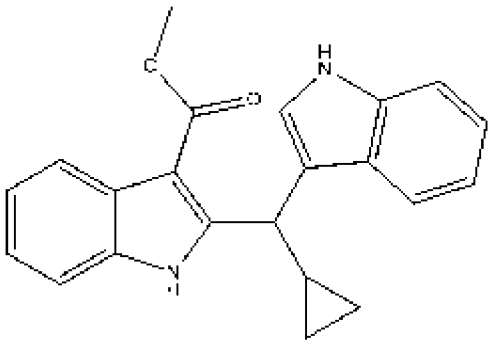
,


CHO
O
H
N

,

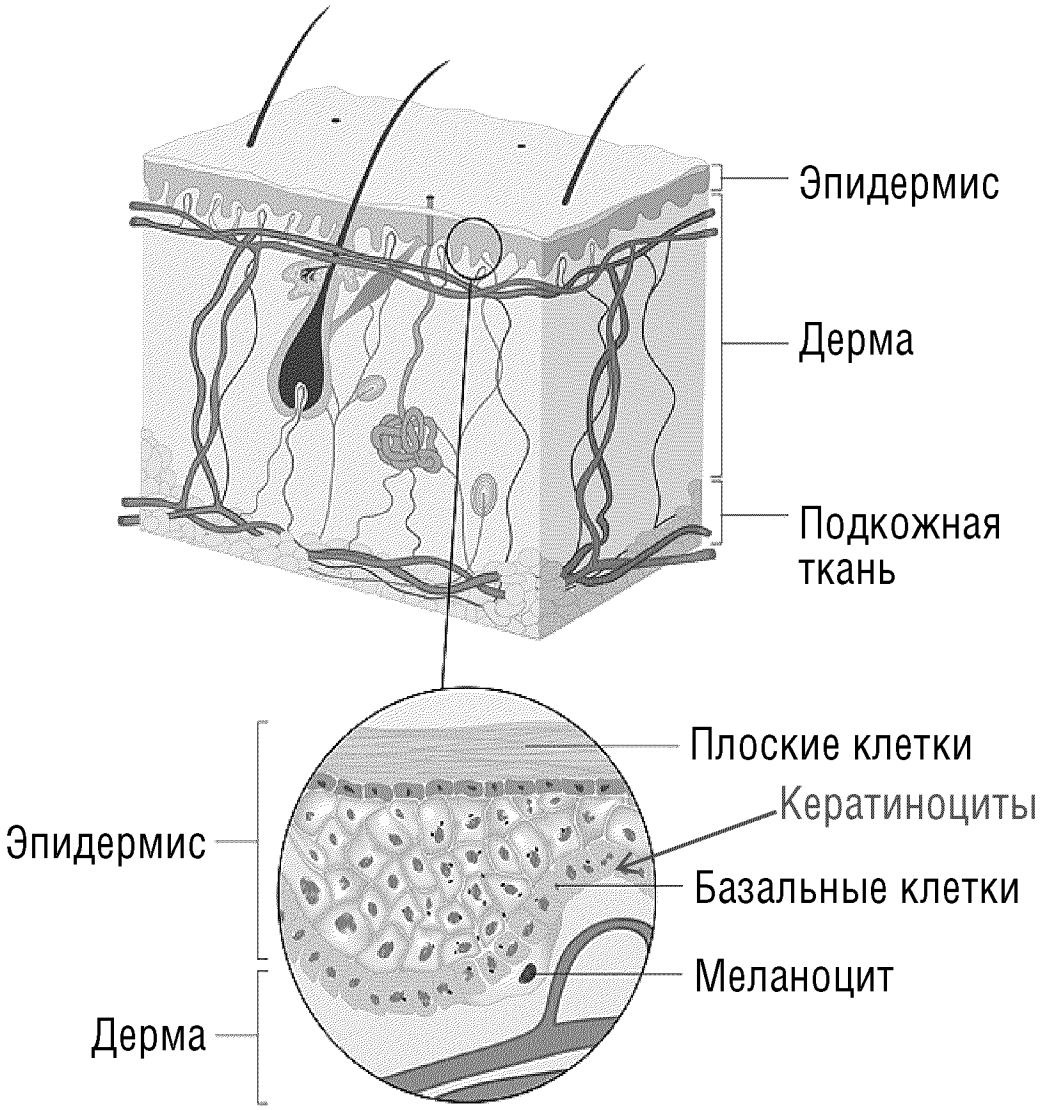

COOH
HC
H
N

и

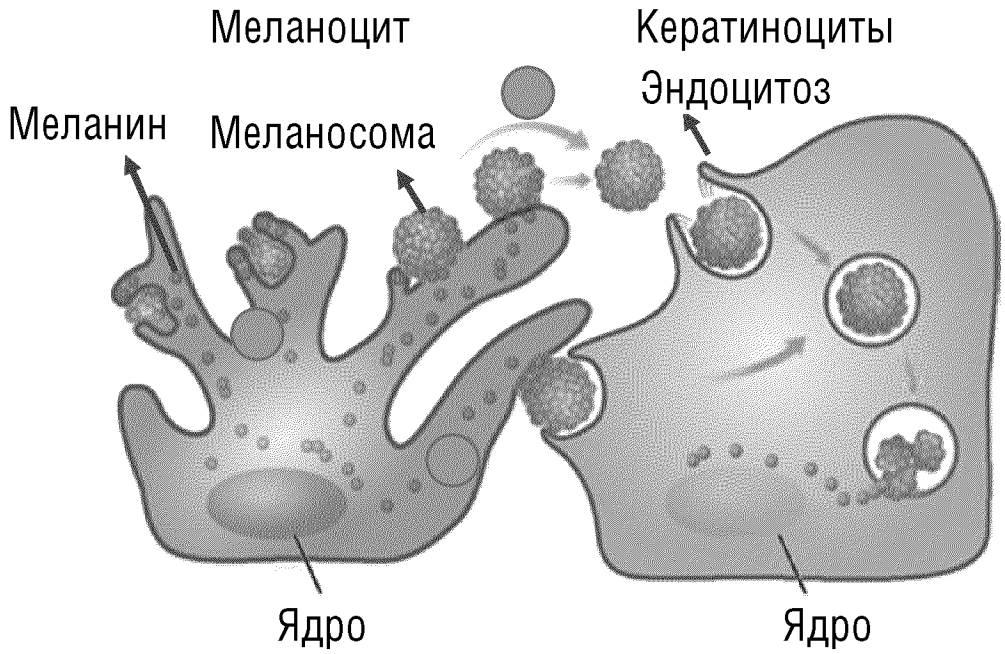


По доверенности

ФИГ.1А

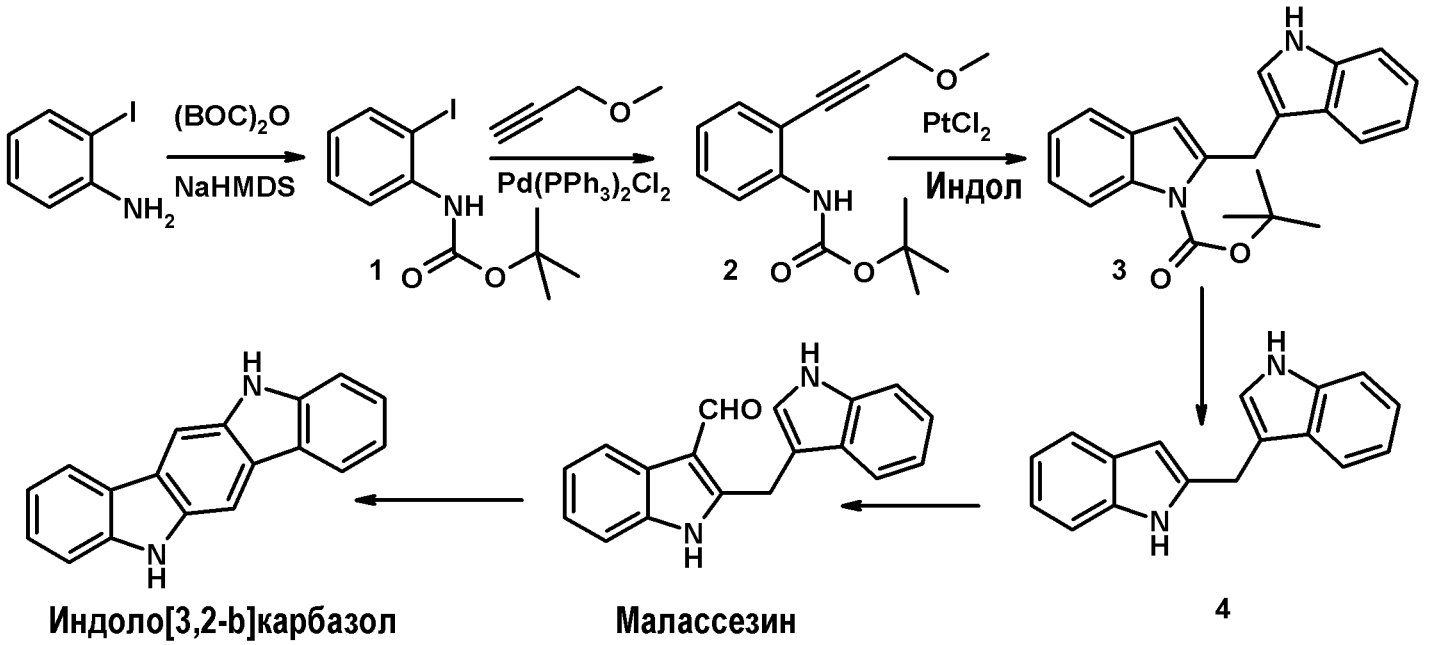

Эпидермис
Дерма
Подкожная ткань
Плоские клетки
Кератиноциты
Базальные клетки
Меланоцит
Эпидермис
Дерма

ФИГ.1В

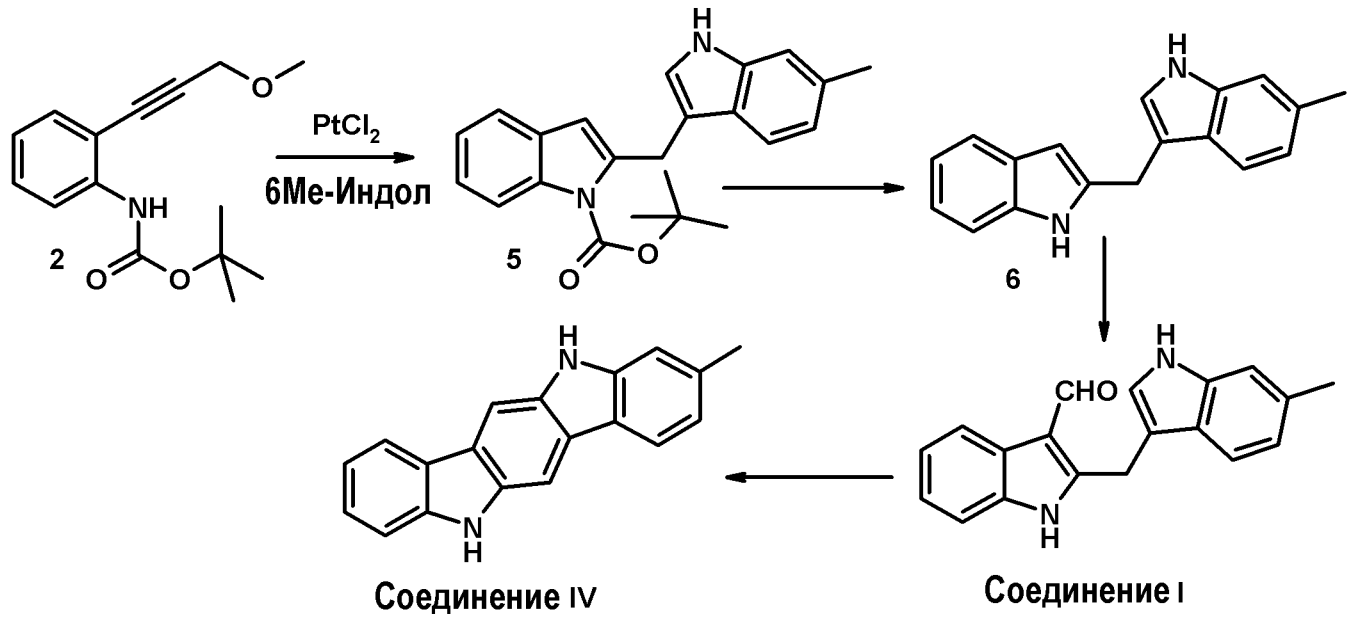


1 - Ингибирование синтеза меланина - ингибирование тирозиназы
2 - Ингибирование транспорта меланина в кератиноциты
3 - Апоптоз меланоцитов

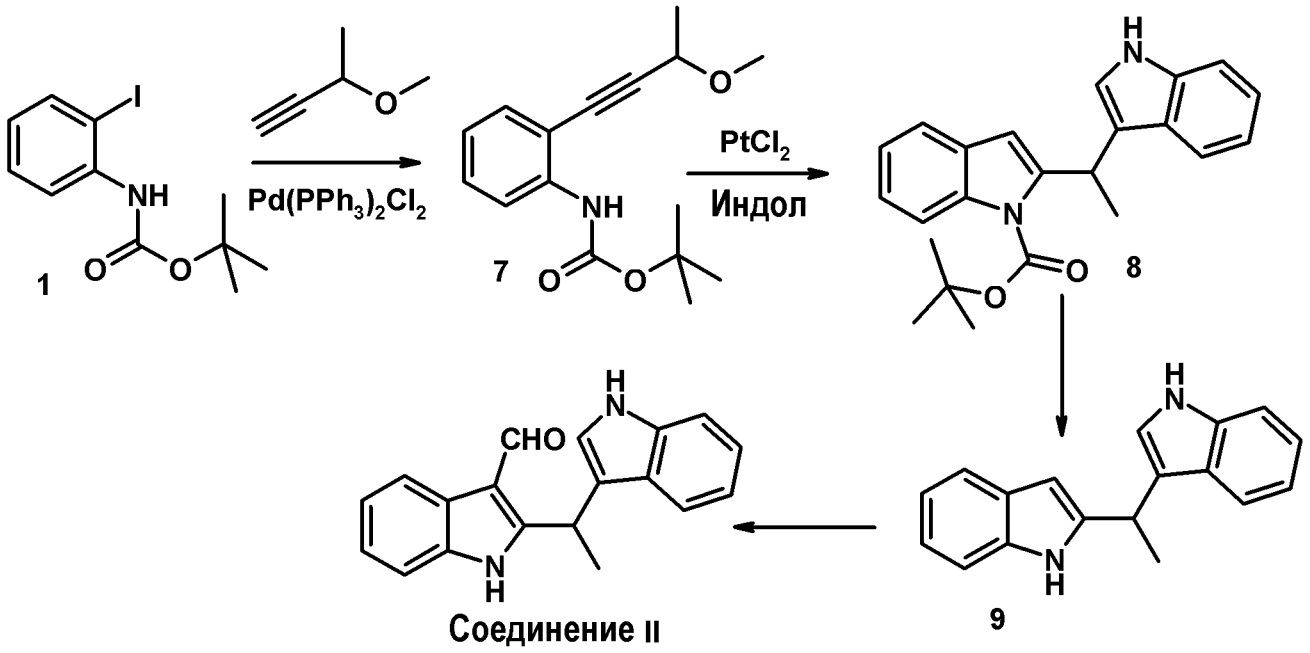
ФИГ.2А


(BOC)2O
NaHMDS
Pd(PPh3)2Cl2
PtCl2
Индол
1
2
3
4
Индоло[3,2-b]карбазол
Малассезин

ФИГ.2В



ФИГ.2С

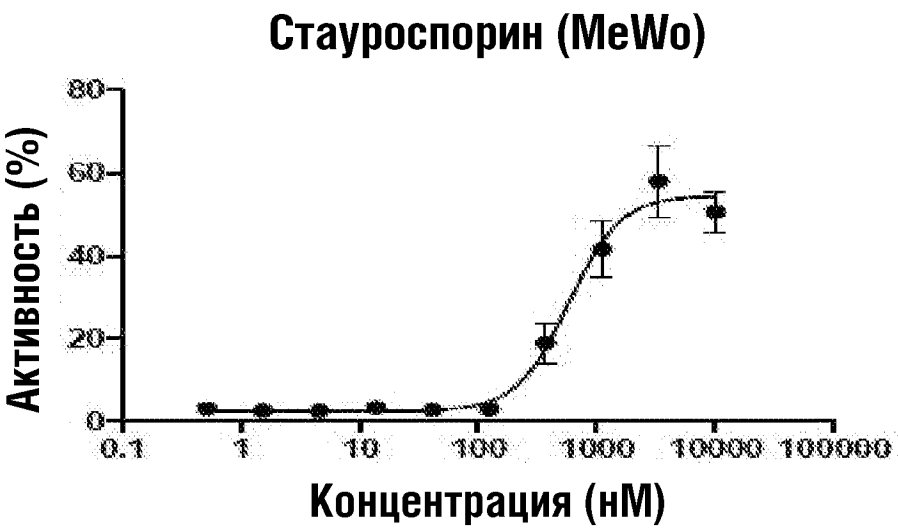

I
NH
O
O
1
Pd(PPh3)2Cl2
O
NH
O
O
7
PtCl2
Индол
H
N
N
O
O
O
8
H
N
N
H
9
H
N
CHO
N
H
Соединение II

ФИГ.3А

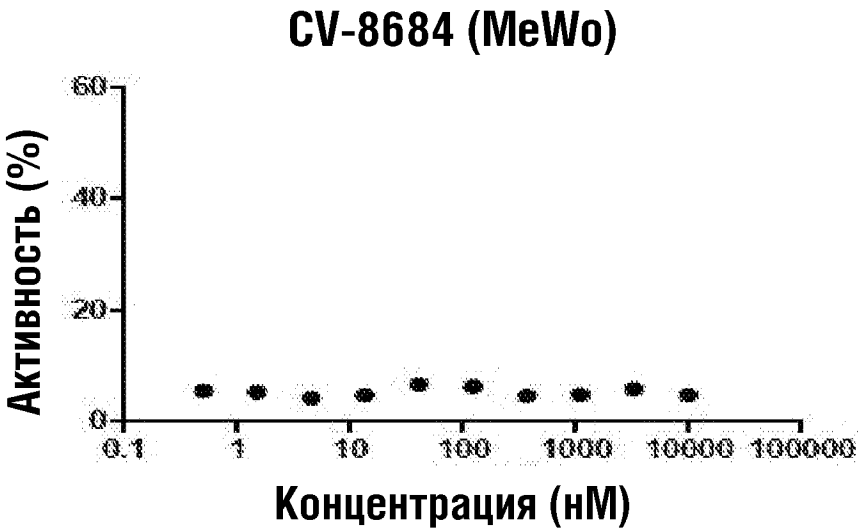
ID Соединения	EC50 [нМ] для MeWo	EC50 [нМ] для WM115
Стауроспорин	580.28	801.66
CV-8684	>10000	>10000
CV-8685	>10000	>10000
CV-8686	>10000	>10000
CV-8687	>10000	>10000
CV-8688	908.57	>10000

ФИГ.3B-D

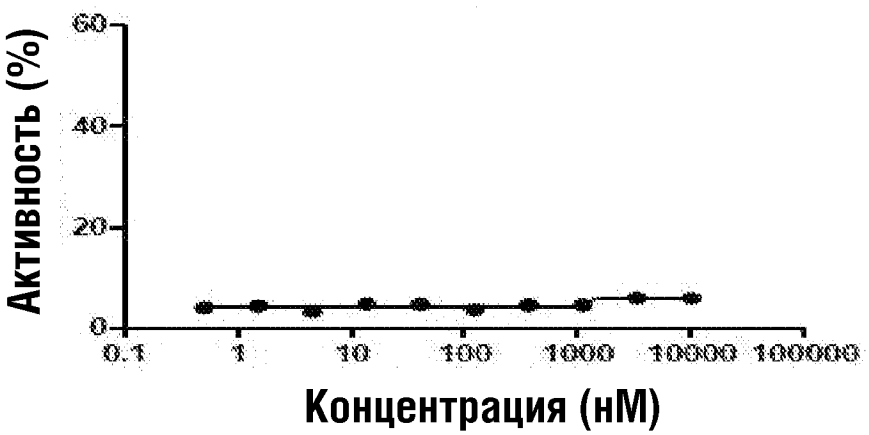
B


Стауроспорин (MeWo)
Активность (%)
80
60
40
20
0
0.1
1
10
100
1000
10000
100000
Концентрация (нМ)

C

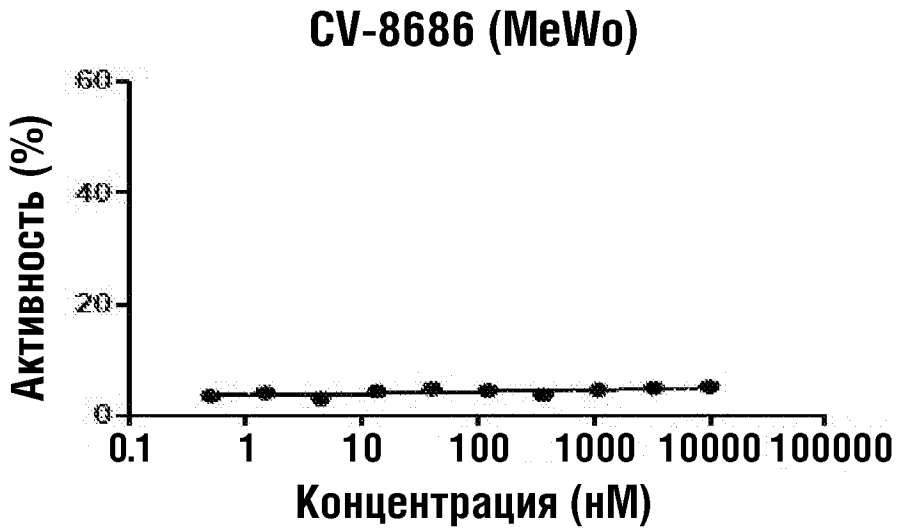

CV-8684 (MeWo)
Активность (%)
60
40
20
0
0.1
1
10
100
1000
10000
100000
Концентрация (нМ)

D

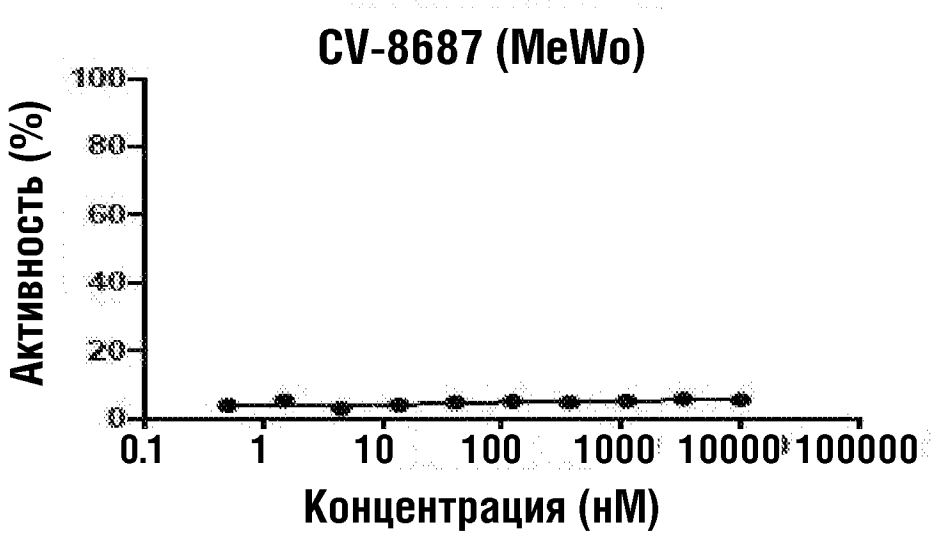

CV-8685 (MeWo)
Активность (%)
60
40
20
0
0.1
1
10
100
1000
10000
100000
Концентрация (нМ)

ФИГ.3E-G

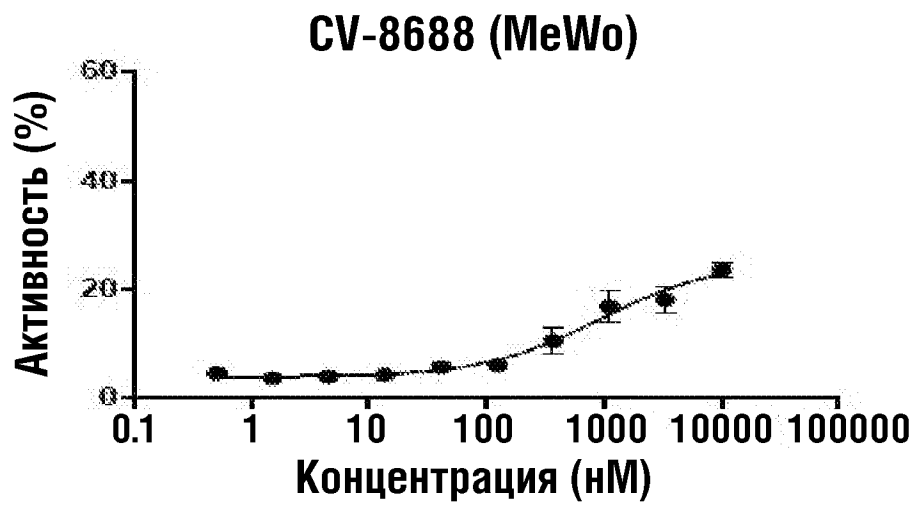
E


CV-8686 (MeWo)
Активность (%)
60
40
20
0
0.1
1
10
100
1000
10000
100000
Концентрация (нМ)

F

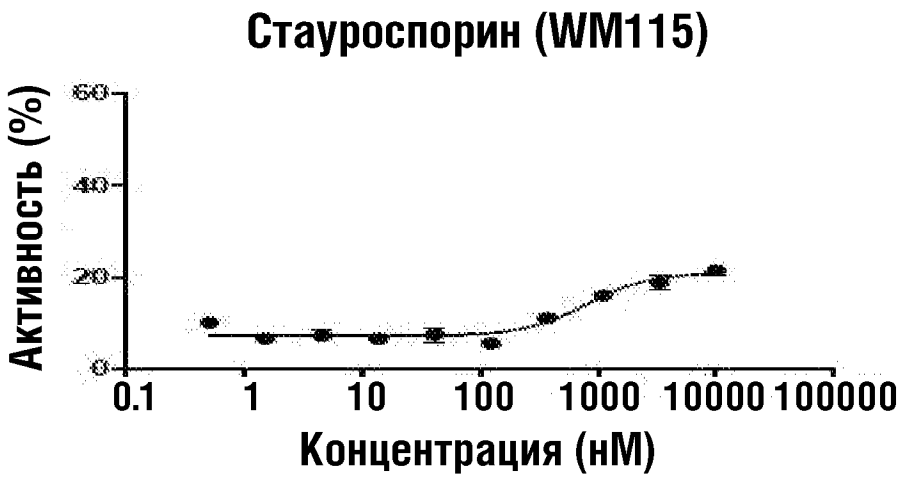

CV-8687 (MeWo)
Активность (%)
100
80
60
40
20
0
0.1
1
10
100
1000
10000
100000
Концентрация (нМ)

G

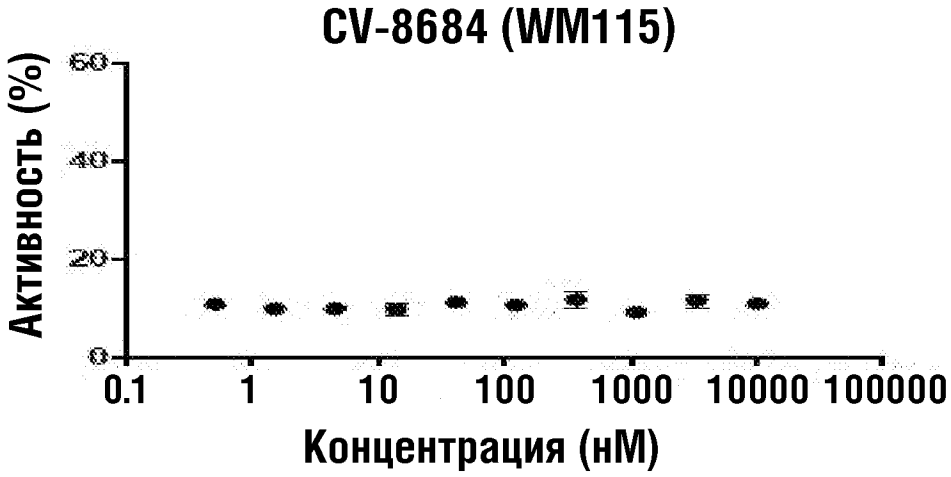

CV-8688 (MeWo)
Активность (%)
60
40
20
0
0.1
1
10
100
1000
10000
100000
Концентрация (нМ)

ФИГ.3H-J

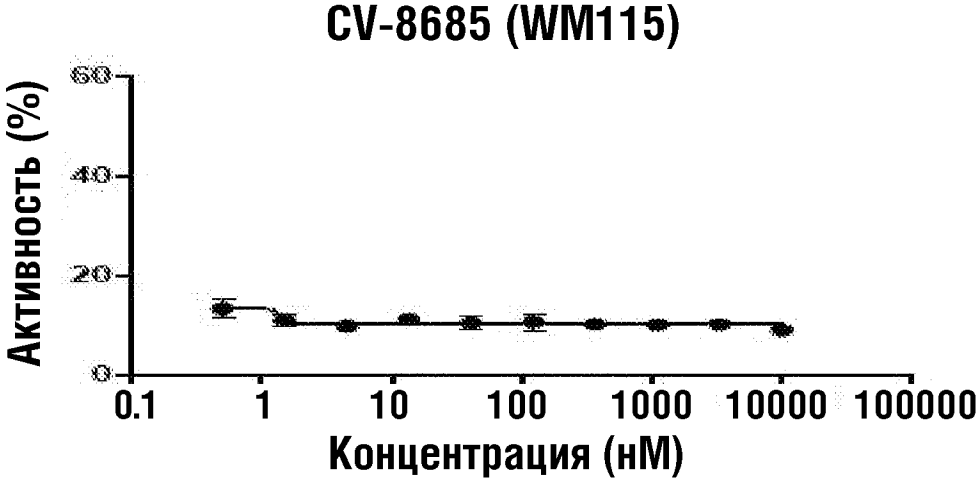
H


Стауроспорин (WM115)
Активность (%)
60
40
20
0
0.1
1
10
100
1000
10000
100000
Концентрация (нМ)

I

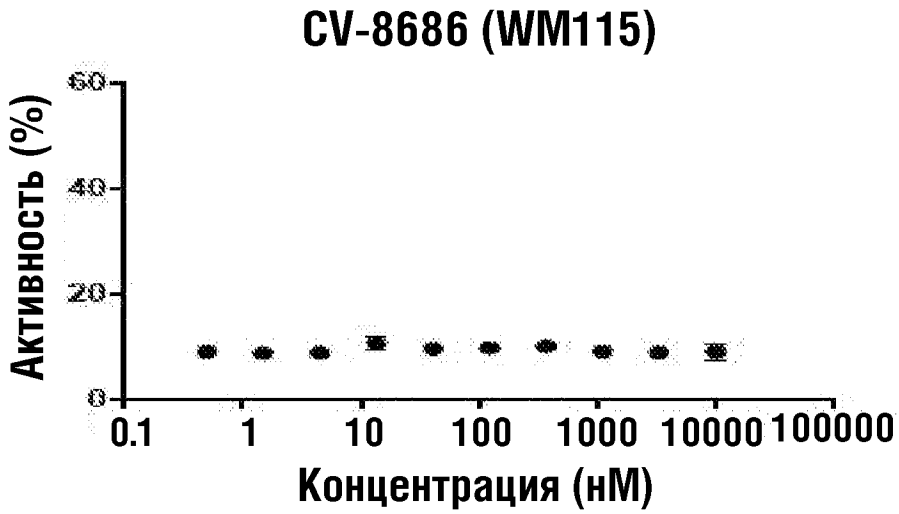

CV-8684 (WM115)
Активность (%)
60
40
20
0
0.1
1
10
100
1000
10000
100000
Концентрация (нМ)

J

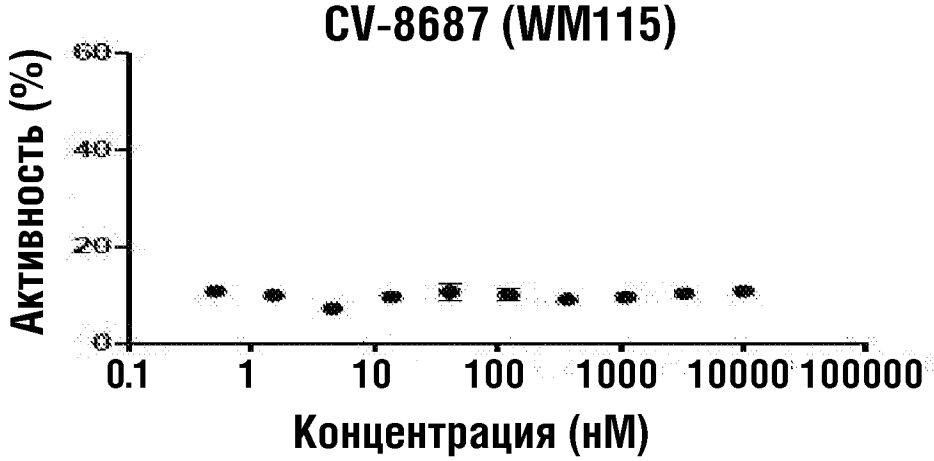

CV-8685 (WM115)
Активность (%)
60
40
20
0
0.1
1
10
100
1000
10000
100000
Концентрация (нМ)

ФИГ.3K-3M

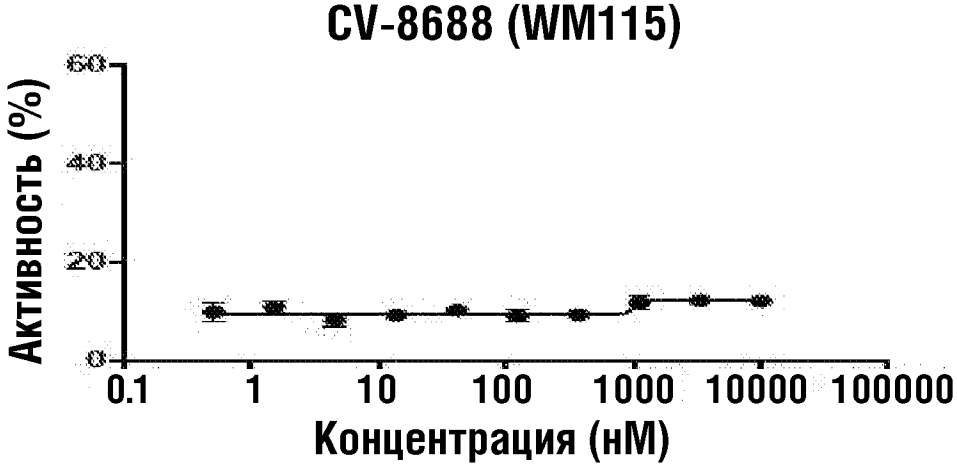
K


CV-8686 (WM115)
Активность (%)
60
40
20
0
0.1
1
10
100
1000
10000
100000
Концентрация (нМ)

L


CV-8687 (WM115)
Активность (%)
60
40
20
0
0.1
1
10
100
1000
10000
100000
Концентрация (нМ)

M


CV-8688 (WM115)
Активность (%)
60
40
20
0
0.1
1
10
100
1000
10000
100000
Концентрация (нМ)

ФИГ.4А

Продолжит. анализа	MeWo Доза аннексина V	CV-8684 Относит. уровень аннексина V (%) n=1	n=2	Среднее	STD	WM115 Доза аннексина V	CV-8684 Относит. уровень аннексина V (%) n=1	n=2	Среднее	STD
6 ч	**100**	255.88	282.35	269.12	18.72	**100**	124.91	153.90	139.41	20.50
	10	88.24	145.59	116.91	40.55	**10**	138.29	49.07	93.68	63.09
	1	136.76	158.82	147.79	15.60	**1**	104.83	111.52	108.18	4.73
24 ч	**100**	95.89	72.14	84.02	16.80	**100**	106.24	116.06	111.15	6.94
	10	90.62	80.06	85.34	7.47	**10**	126.74	99.60	113.17	19.19
	1	87.98	42.23	65.10	32.35	**1**	121.83	106.24	114.04	11.02
48 ч	**100**	125.45	105.45	115.45	14.14	**100**	23.31	29.97	26.64	4.71
	10	130.91	103.64	117.27	19.28	**10**	49.95	47.45	48.70	1.77
	1	74.55	54.55	64.55	14.14	**1**	74.09	67.43	70.76	4.71
72 ч	**100**	30.94	8.84	19.89	15.63	**100**	55.13	59.27	57.20	2.93
	10	75.14	26.52	50.83	34.38	**10**	147.98	130.57	139.27	12.31
	1	39.78	66.30	53.04	18.75	**1**	113.99	118.13	116.06	2.93

ФИГ.4B

Продолжит. анализа	MeWo Доза аннексина V	CV-8685 Относит. уровень аннексина V (%) n=1	n=2	Среднее	STD	WM115 Доза аннексина V	CV-8685 Относит. уровень аннексина V (%) n=1	n=2	Среднее	STD
6 ч	**100**	110.29	127.94	119.12	12.48	**100**	89.22	66.91	78.07	15.77
	10	202.94	101.47	152.21	71.75	**10**	149.44	75.84	112.64	52.05
	1	75.00	79.41	77.21	3.12	**1**	120.45	113.75	117.10	4.73
24 ч	**100**	106.45	60.70	83.58	32.35	**100**	146.08	143.49	144.79	1.84
	10	146.04	112.61	129.33	23.64	**10**	133.38	106.53	119.96	18.99
	1	85.34	122.29	103.81	26.13	**1**	118.95	105.95	112.45	9.19
48 ч	**100**	187.27	330.91	259.09	101.57	**100**	127.37	198.96	163.16	50.62
	10	107.27	214.55	160.91	75.85	**10**	125.70	54.94	90.32	50.03
	1	92.73	81.82	87.27	7.71	**1**	74.92	69.93	72.42	3.53
72 ч	**100**	79.56	114.92	97.24	25.00	**100**	67.56	77.51	72.54	7.03
	10	88.40	83.98	86.19	3.13	**10**	106.11	112.75	109.43	4.69
	1	30.94	92.82	61.88	43.75	**1**	98.65	97.41	98.03	0.88

ФИГ.4С

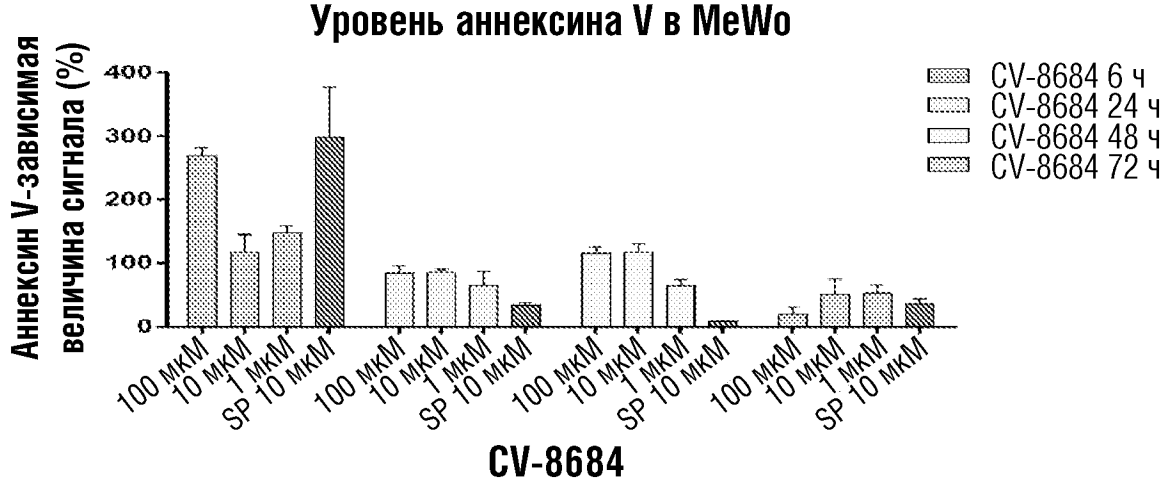
Продолжит. анализа	MeWo Доза аннексина V	CV-8688 Относит. уровень аннексина V (%) n=1	n=2	Среднее	STD	WM115 Доза аннексина V	CV-8688 Относит. уровень аннексина V (%) n=1	n=2	Среднее	STD
6 ч	**100**	123.53	145.59	134.56	15.60	**100**	180.67	194.05	187.36	9.46
	10	136.76	88.24	112.50	34.32	**10**	122.68	198.51	160.59	53.62
	1	92.65	70.59	81.62	15.60	**1**	89.22	140.52	114.87	36.28
24 ч	**100**	36.95	13.20	25.07	16.80	**100**	17.32	15.59	16.46	1.22
	10	131.09	134.60	132.84	2.49	**10**	99.31	105.09	102.20	4.08
	1	144.28	95.01	119.65	34.84	**1**	114.90	66.40	90.65	34.30
48 ч	**100**	85.45	69.09	77.27	11.57	**100**	14.15	7.49	10.82	4.71
	10	94.55	130.91	112.73	25.71	**10**	89.07	120.71	104.89	22.37
	1	120.00	90.91	105.45	20.57	**1**	130.70	125.70	128.20	3.53
72 ч	**100**	66.30	44.20	55.25	15.63	**100**	2.49	1.66	2.07	0.59
	10	66.30	110.50	88.40	31.25	**10**	108.19	114.40	111.30	4.40
	1	70.72	66.30	68.51	3.13	**1**	96.99	113.99	105.49	12.02

ФИГ.4D

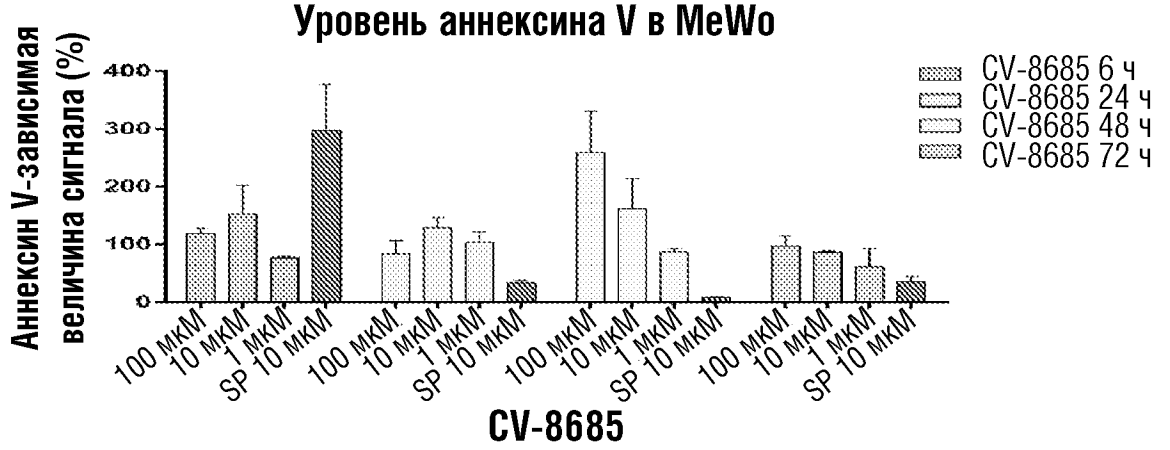
Продолжит. анализа	MeWo Доза аннексина V	Стауроспорин Относит. уровень аннексина V (%) n=1	n=2	Среднее	STD	WM115 Доза аннексина V	Стауроспорин Относит. уровень аннексина V (%) n=1	n=2	Среднее	STD
6 ч	**10**	377.03	218.92	297.97	111.80	**10**	124.91	129.37	127.14	3.15
24 ч	**10**	29.03	37.83	33.43	6.22	**10**	5.77	17.90	11.84	8.57
48 ч	**10**	9.09	7.27	8.18	1.29	**10**	7.49	6.66	7.08	0.59
72 ч	**10**	44.20	26.52	35.36	12.50	**10**	3.32	1.24	2.28	1.47

ФИГ.4E-4G

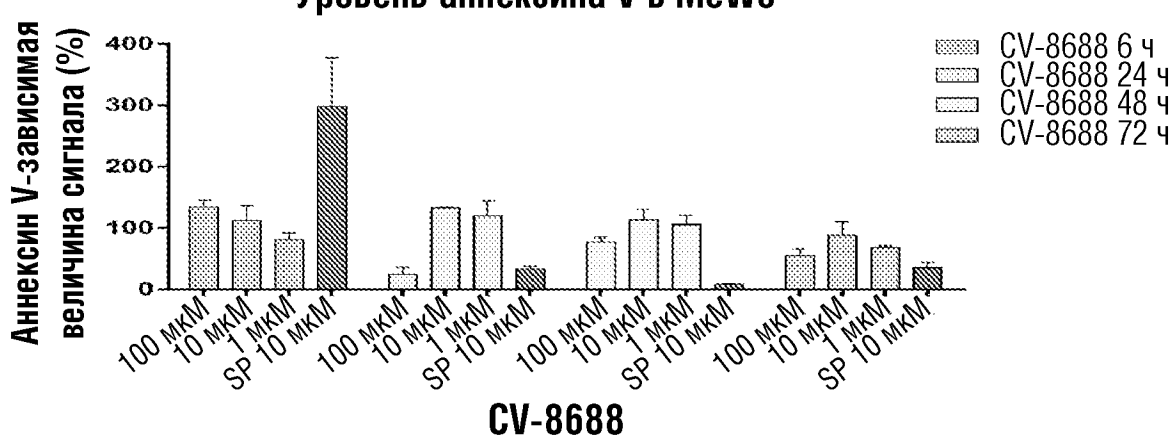
E


Уровень аннексина V в MeWo
Аннексин V-зависимая величина сигнала (%)
400
300
200
100
0
CV-8684 6 ч
CV-8684 24 ч
CV-8684 48 ч
CV-8684 72 ч
100 мкМ
10 мкМ
1 мкМ
SP 10 мкМ
CV-8684

F

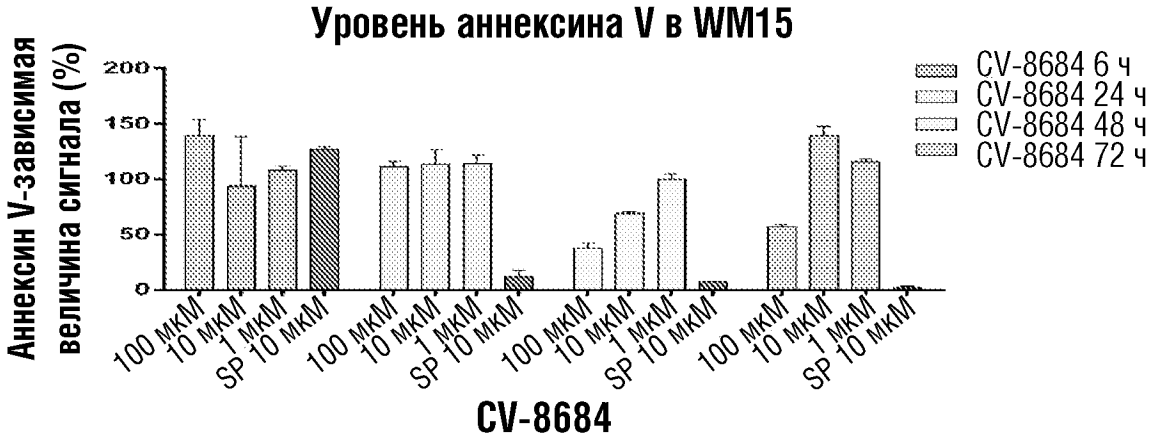

Уровень аннексина V в MeWo
Аннексин V-зависимая величина сигнала (%)
400
300
200
100
0
CV-8685 6 ч
CV-8685 24 ч
CV-8685 48 ч
CV-8685 72 ч
100 мкМ
10 мкМ
1 мкМ
SP 10 мкМ
CV-8685

G

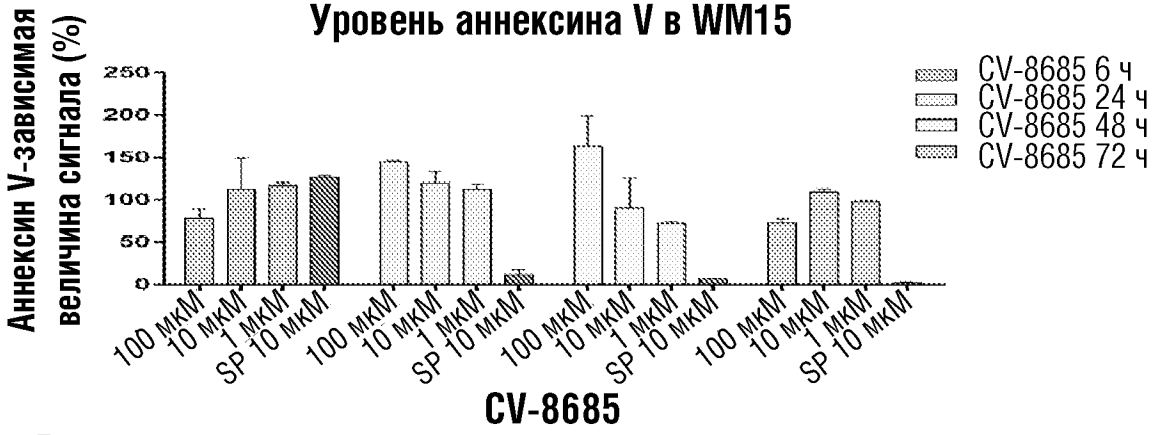

Уровень аннексина V в MeWo
Аннексин V-зависимая величина сигнала (%)
400
300
200
100
0
CV-8688 6 ч
CV-8688 24 ч
CV-8688 48 ч
CV-8688 72 ч
100 мкМ
10 мкМ
1 мкМ
SP 10 мкМ
CV-8688

ФИГ.4H-4J

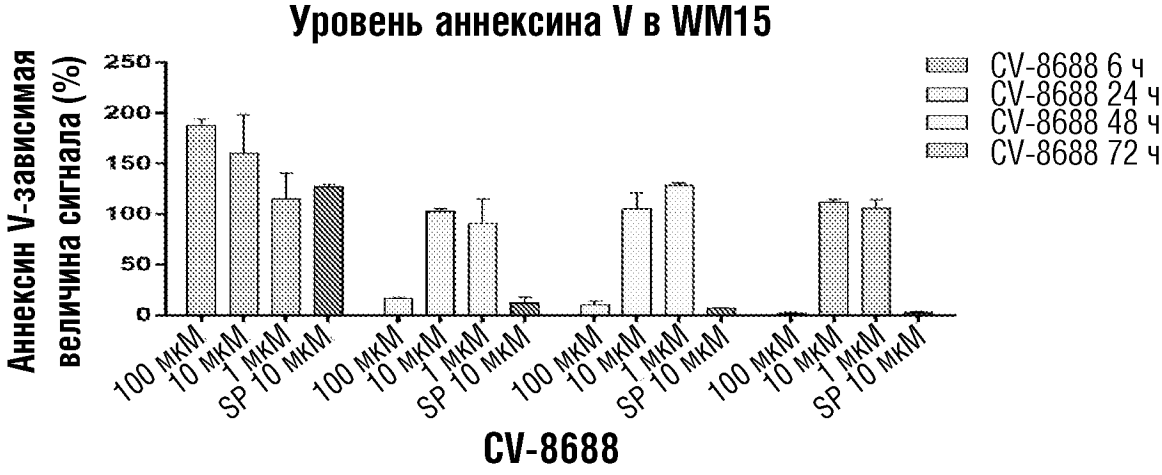
H


Уровень аннексина V в WM15
Аннексин V-зависимая величина сигнала (%)
200
150
100
50
0
100 мкМ
10 мкМ
1 мкМ
SP 10 мкМ
CV-8684 6 ч
CV-8684 24 ч
CV-8684 48 ч
CV-8684 72 ч
CV-8684

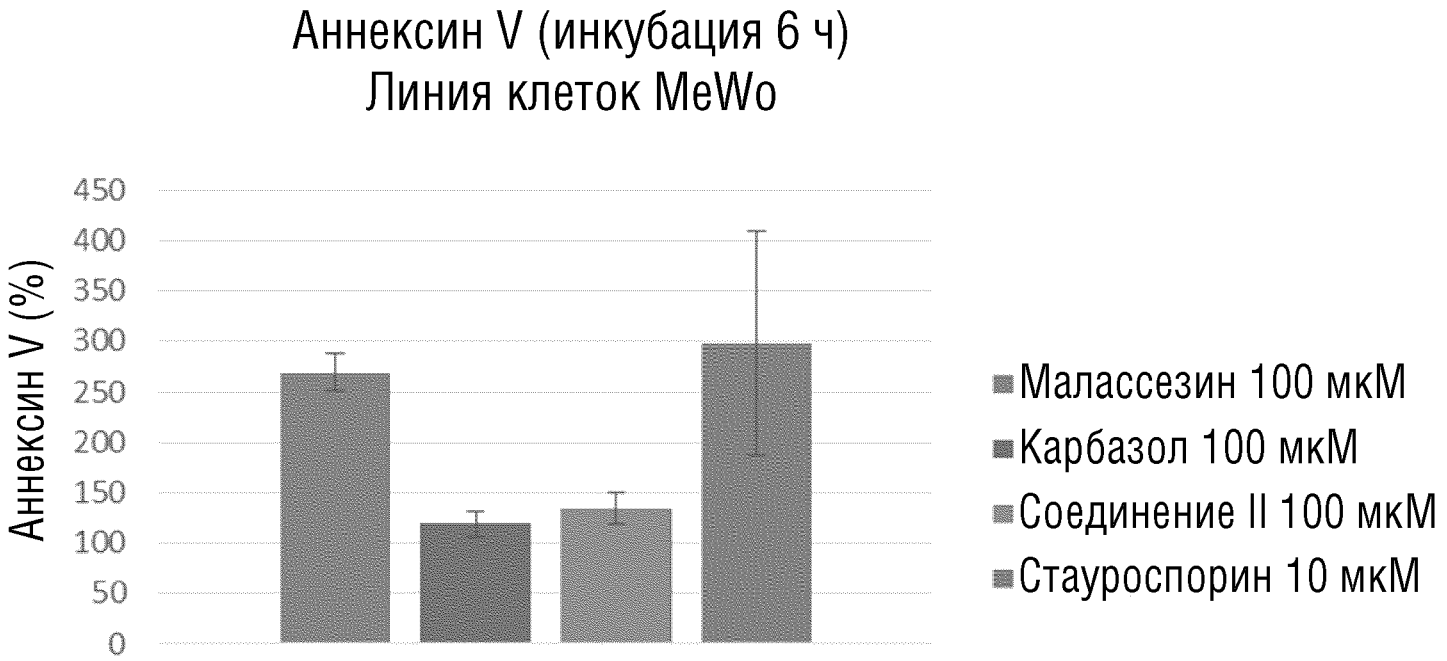
I


Уровень аннексина V в WM15
Аннексин V-зависимая величина сигнала (%)
250
200
150
100
50
0
100 мкМ
10 мкМ
1 мкМ
SP 10 мкМ
CV-8685 6 ч
CV-8685 24 ч
CV-8685 48 ч
CV-8685 72 ч
CV-8685

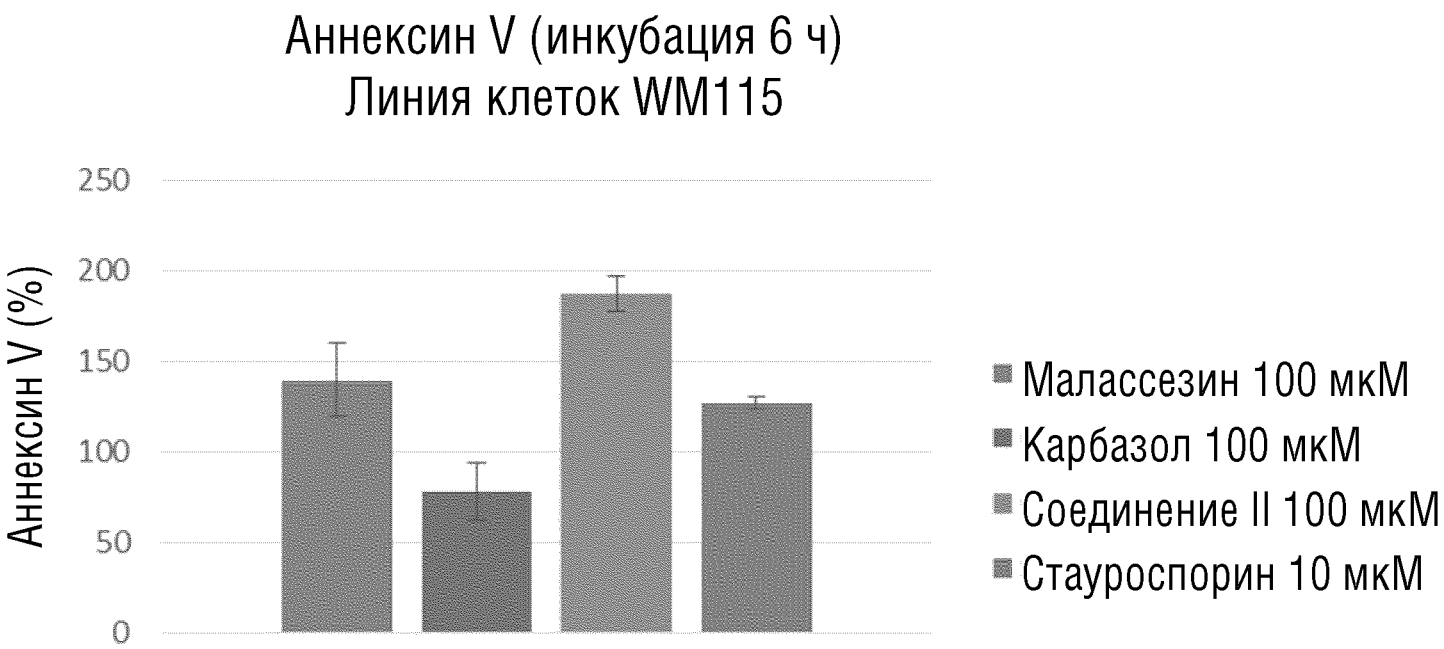
J


Уровень аннексина V в WM15
Аннексин V-зависимая величина сигнала (%)
250
200
150
100
50
0
100 мкМ
10 мкМ
1 мкМ
SP 10 мкМ
CV-8688 6 ч
CV-8688 24 ч
CV-8688 48 ч
CV-8688 72 ч
CV-8688

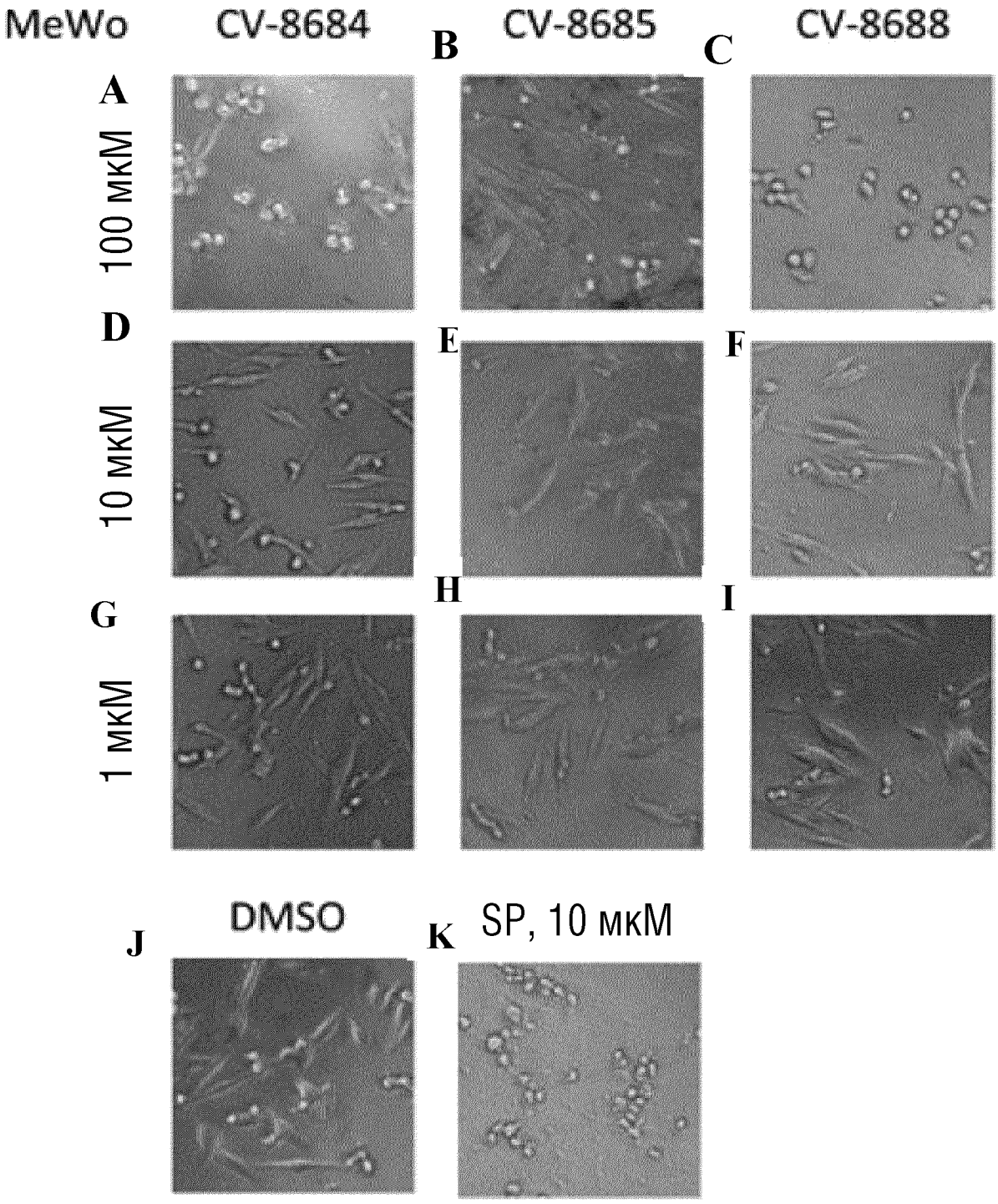
ФИГ.4К


Аннексин V (инкубация 6 ч)
Линия клеток MeWo
Аннексин V (%)
450
400
350
300
250
200
150
100
50
0
Малассезин 100 мкМ
Карбазол 100 мкМ
Соединение II 100 мкМ
Стауроспорин 10 мкМ

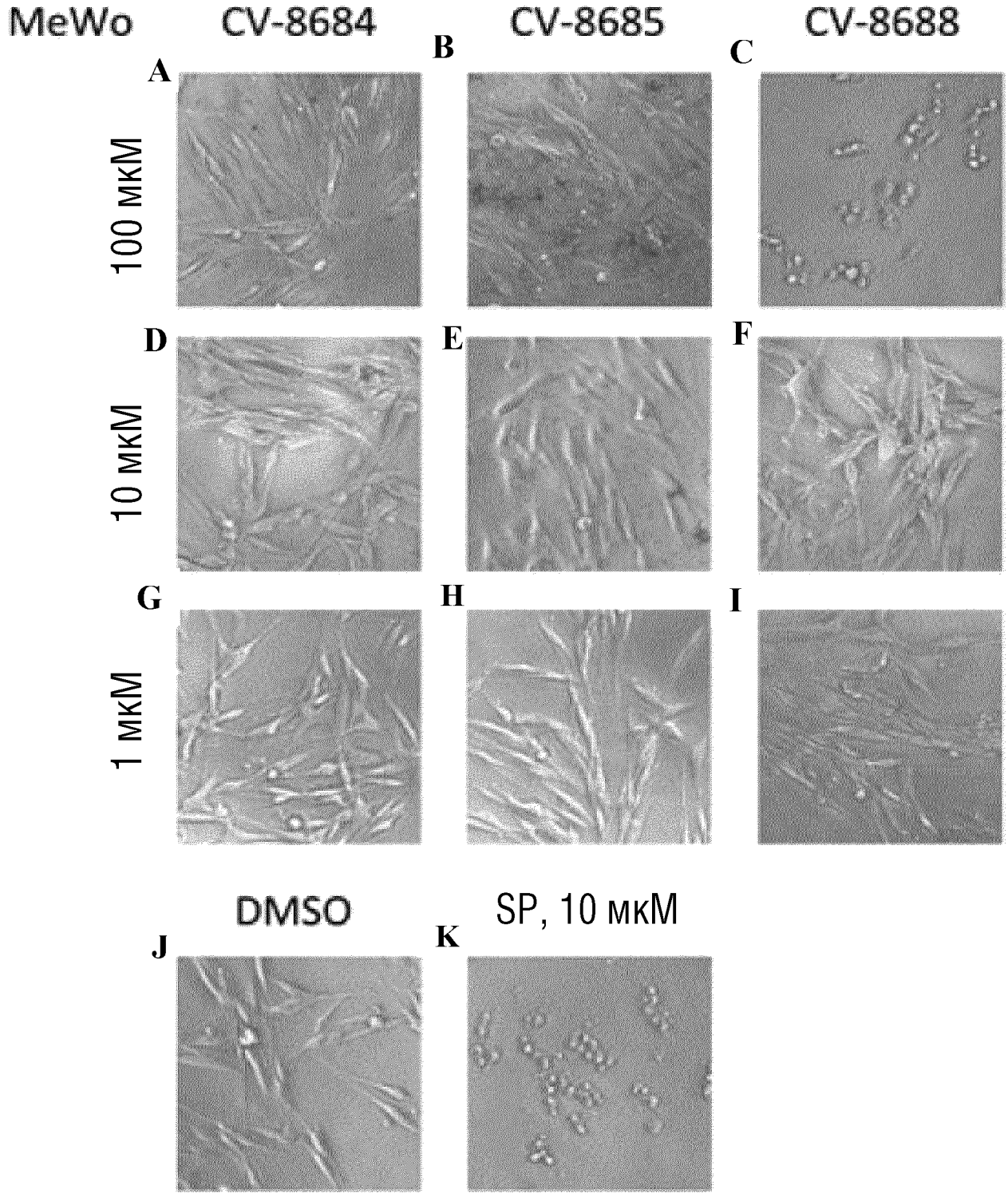
ФИГ.4L


Аннексин V (инкубация 6 ч)
Линия клеток WM115
Аннексин V (%)
250
200
150
100
50
0
Малассезин 100 мкМ
Карбазол 100 мкМ
Соединение II 100 мкМ
Стауроспорин 10 мкМ

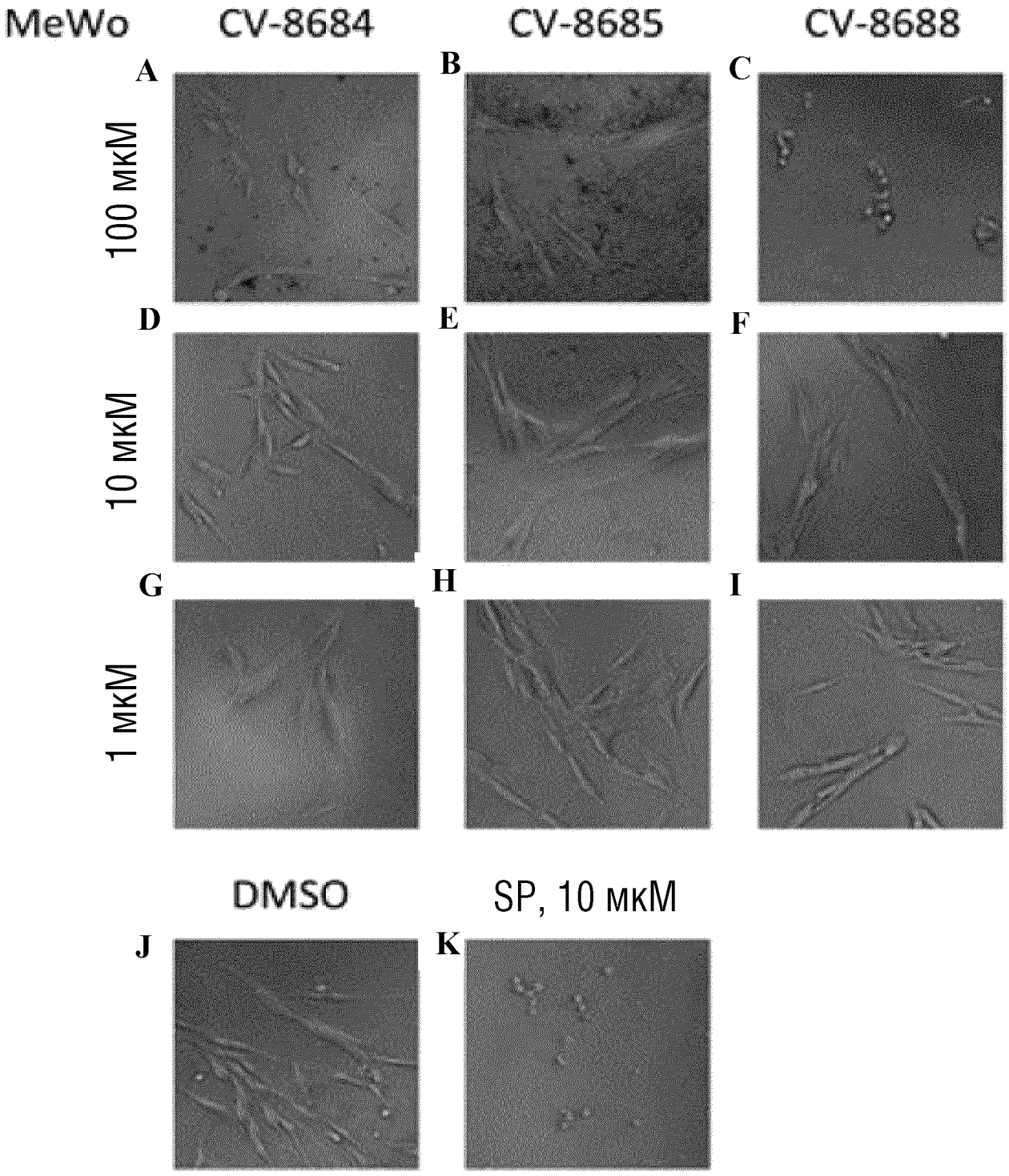
ФИГ.5A-5K


MeWo
CV-8684
B
CV-8685
C
CV-8688
A
100 мкМ
D
E
F
10 мкМ
G
H
I
1 мкМ
J
DMSO
K
SP, 10 мкМ

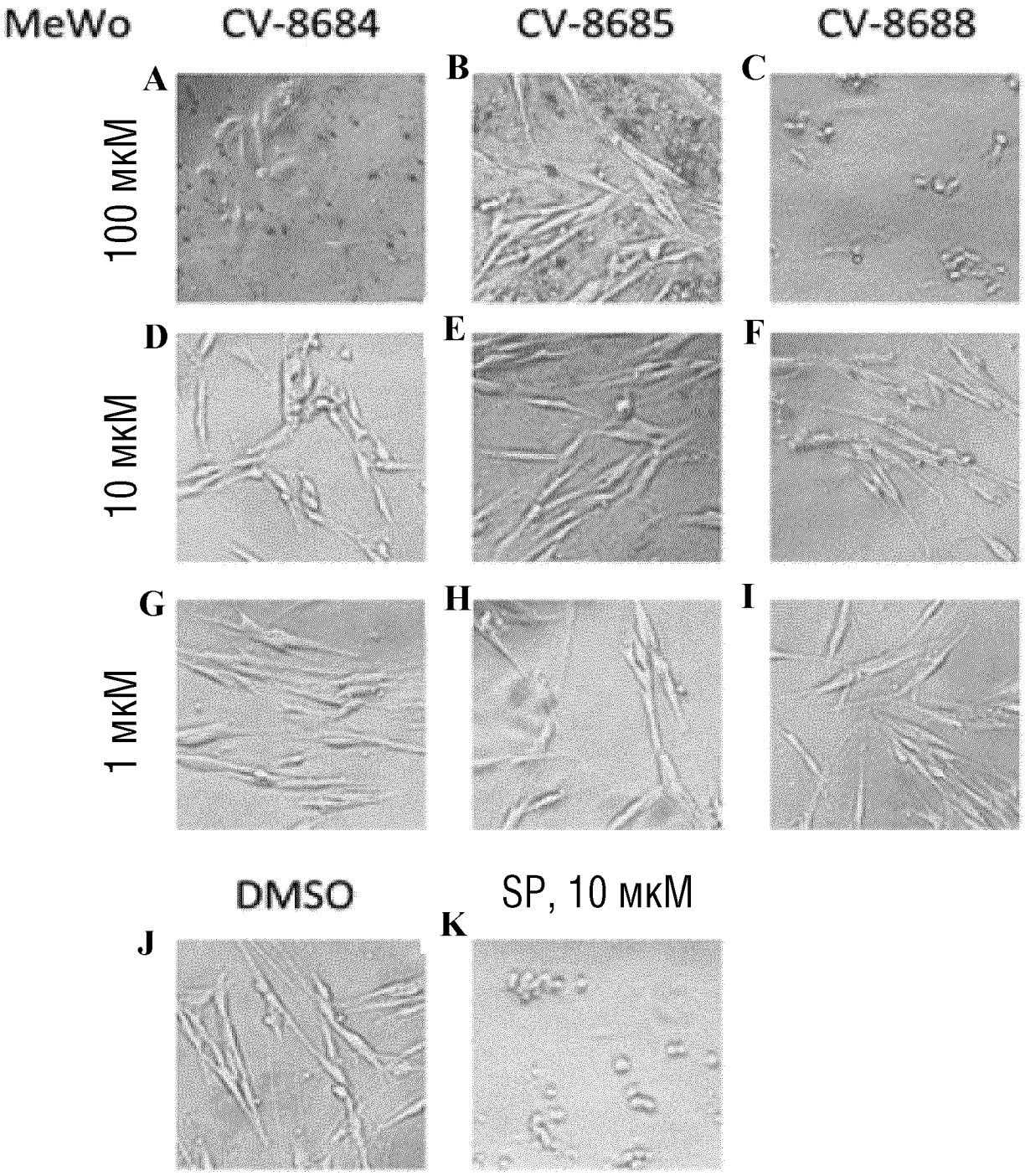
ФИГ.6A-6K


MeWo
CV-8684
CV-8685
CV-8688
A
B
C
100 мкМ
D
E
F
10 мкМ
G
H
I
1 мкМ
DMSO
SP, 10 мкМ
J
K

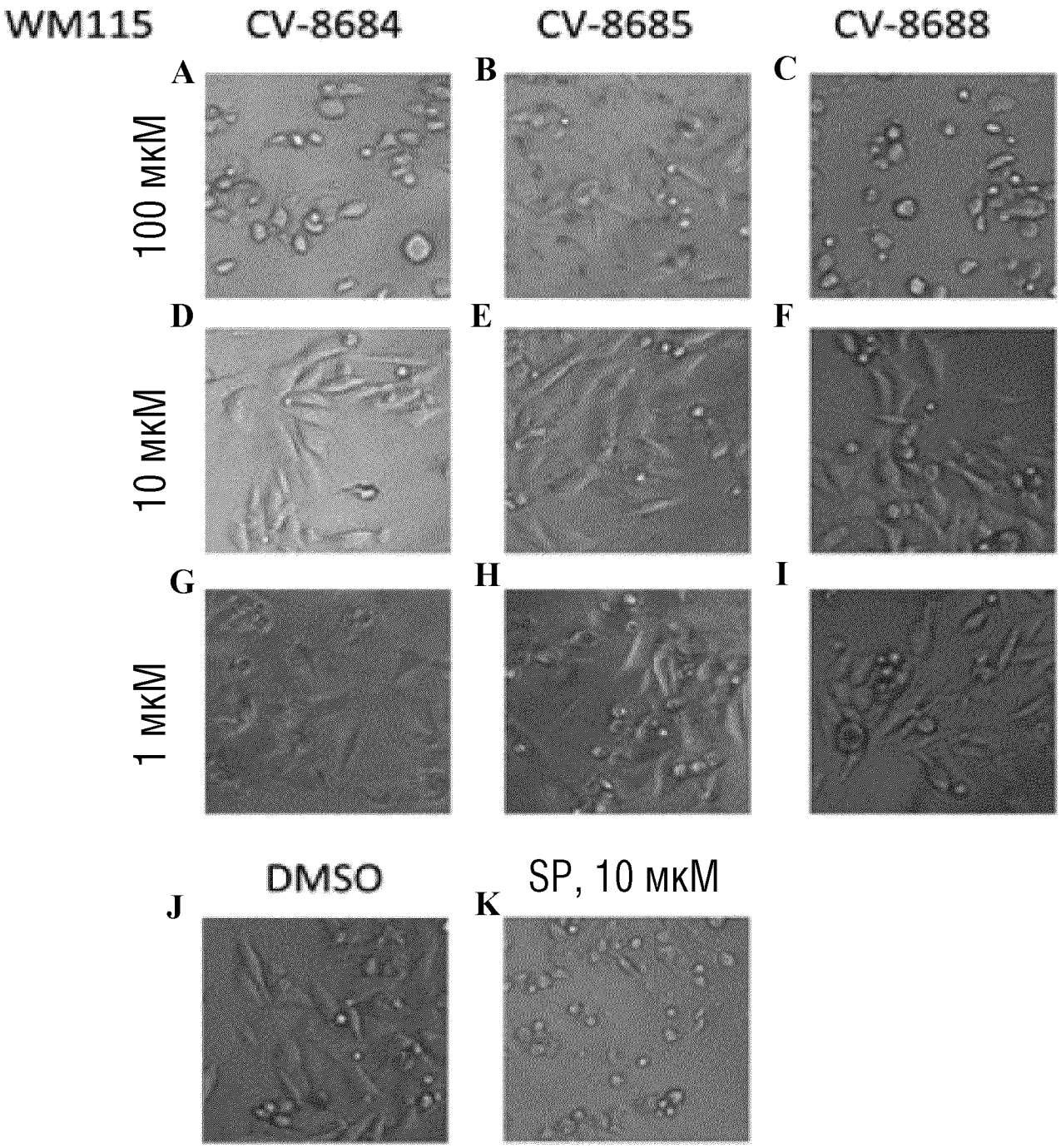
ФИГ.7A-7K


MeWo
CV-8684
CV-8685
CV-8688
A
B
C
100 мкМ
D
E
F
10 мкМ
G
H
I
1 мкМ
DMSO
SP, 10 мкМ
J
K

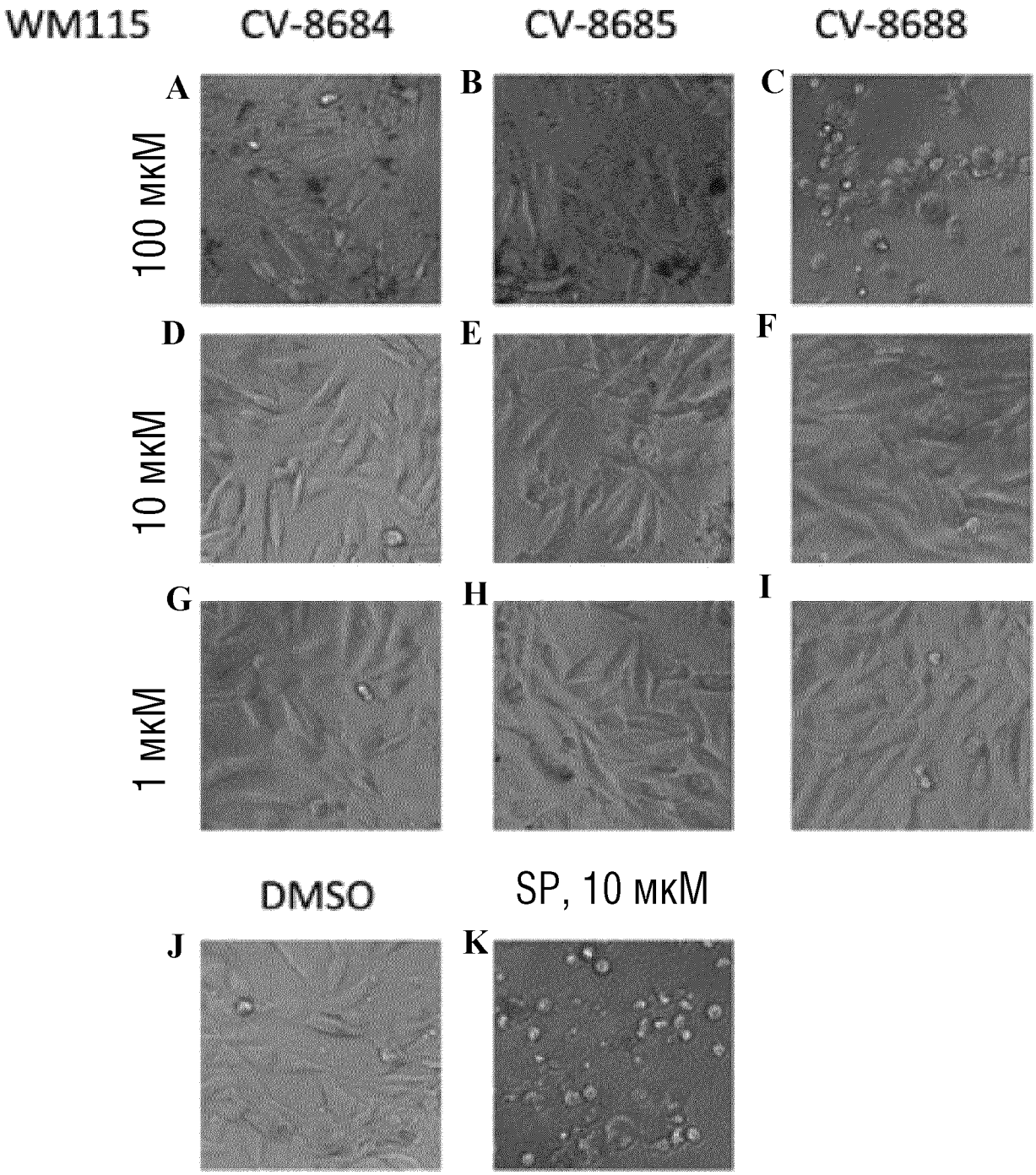
ФИГ.8A-8K


MeWo
CV-8684
CV-8685
CV-8688
A
B
C
100 мкМ
D
E
F
10 мкМ
G
H
I
1 мкМ
DMSO
SP, 10 мкМ
J
K

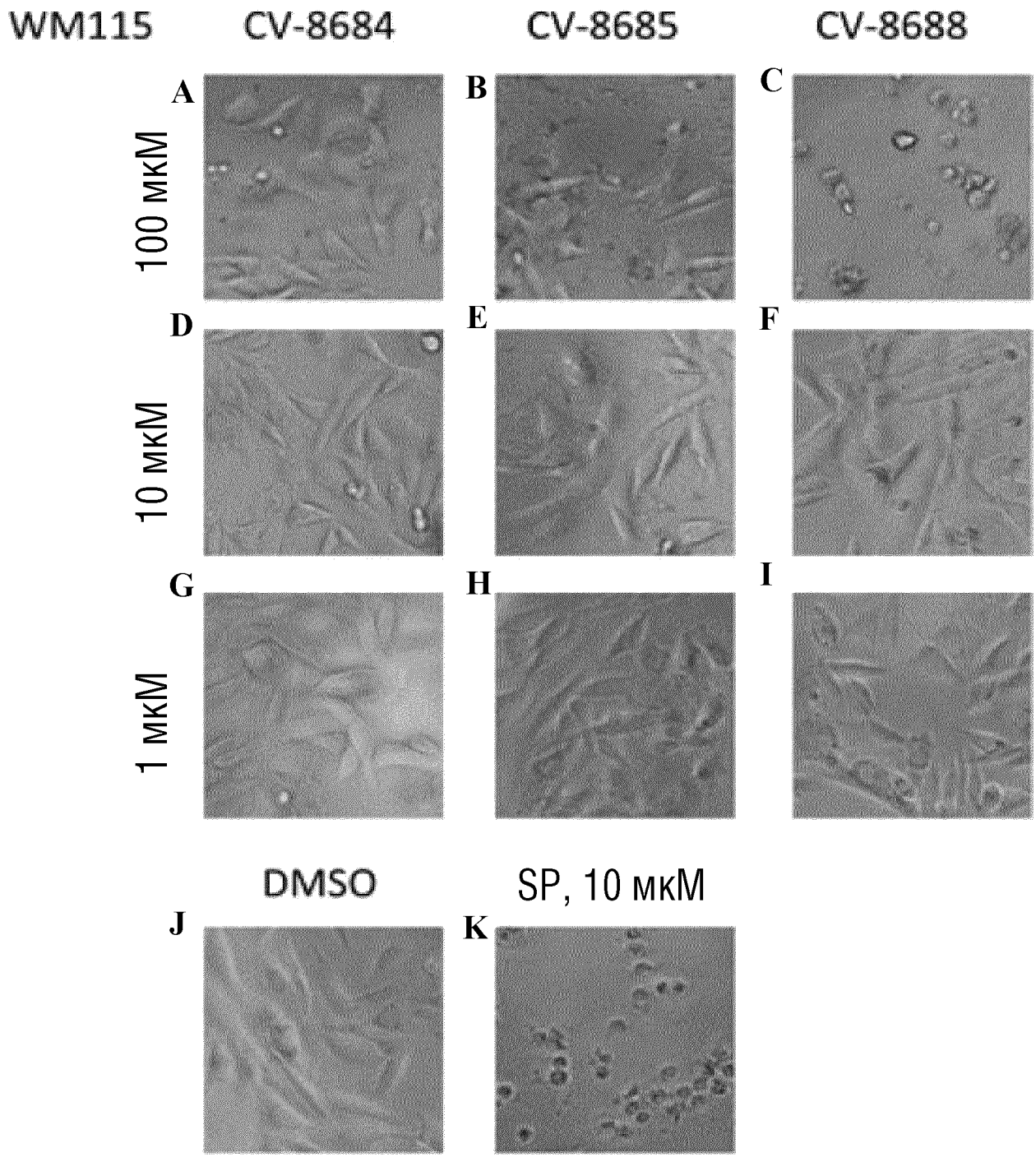
ФИГ.9A-9K


WM115
CV-8684
CV-8685
CV-8688
A
B
C
100 мкМ
D
E
F
10 мкМ
G
H
I
1 мкМ
DMSO
SP, 10 мкМ
J
K

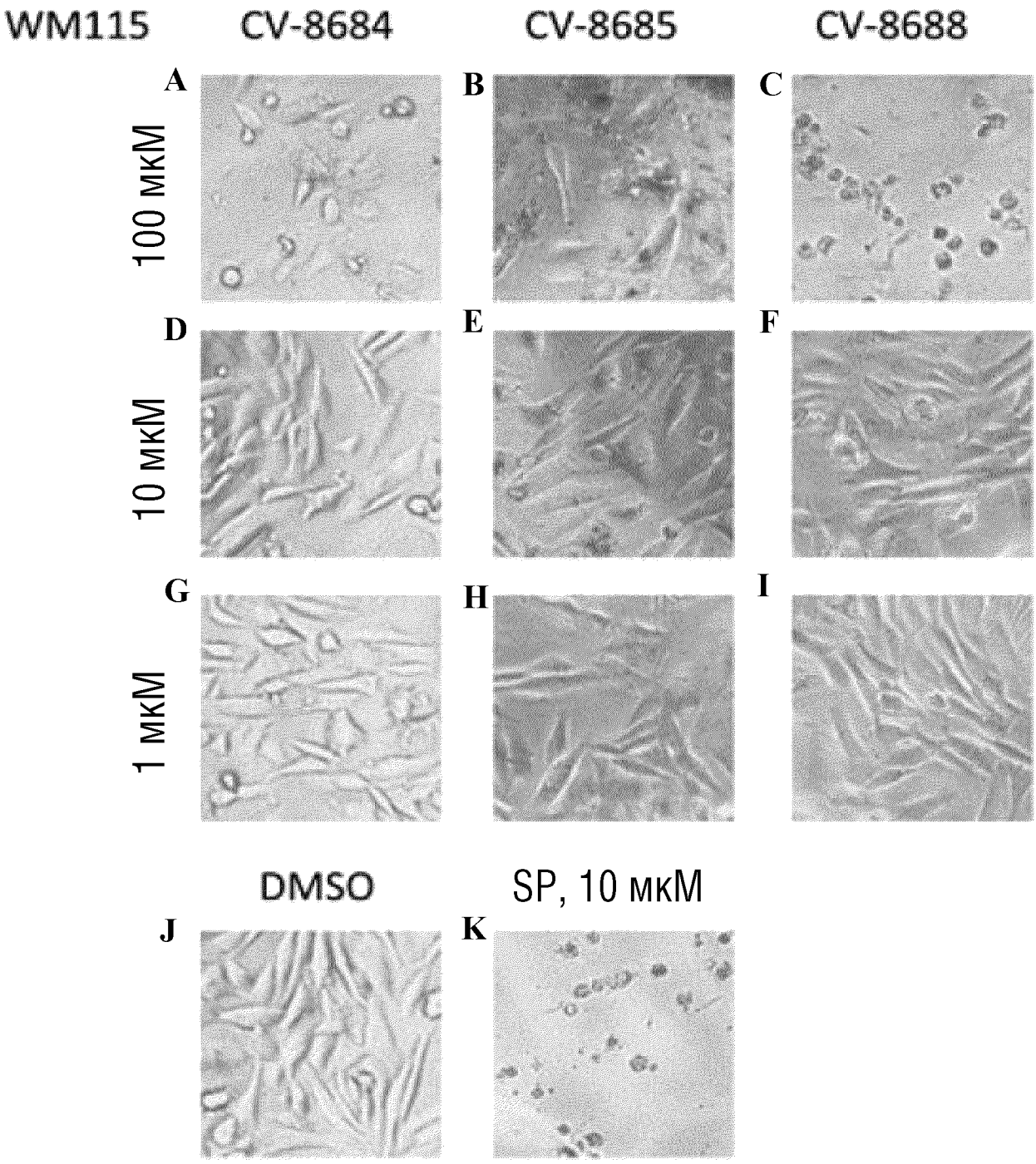
ФИГ.10A-10K


WM115
CV-8684
CV-8685
CV-8688
A
B
C
100 мкМ
D
E
F
10 мкМ
G
H
I
1 мкМ
DMSO
SP, 10 мкМ
J
K

ФИГ.11A-11K


WM115
CV-8684
CV-8685
CV-8688
A
B
C
100 мкМ
D
E
F
10 мкМ
G
H
I
1 мкМ
DMSO
SP, 10 мкМ
J
K

ФИГ.12A-12K


WM115
CV-8684
CV-8685
CV-8688
A
B
C
100 мкМ
D
E
F
10 мкМ
G
H
I
1 мкМ
DMSO
SP, 10 мкМ
J
K

ФИГ.13А

Продолжит. анализа	MeWo Доза CTG	CV-8684 Жизнеспособность оставшихся клеток (%) n=1	n=2	Среднее	STD	WM115 Доза CTG	CV-8684 Жизнеспособность оставшихся клеток (%) n=1	n=2	Среднее	STD
6 ч	**100**	34.50	32.55	33.52	1.38	**100**	62.71	45.31	54.01	12.30
	10	102.35	106.61	104.48	3.02	**10**	96.60	94.06	95.33	1.79
	1	101.49	95.16	98.33	4.47	**1**	102.04	103.31	102.67	0.90
24 ч	**100**	52.20	49.76	50.98	1.73	**100**	65.85	62.96	64.40	2.04
	10	90.73	83.62	87.18	5.03	**10**	92.21	88.80	90.51	2.41
	1	93.70	88.36	91.03	3.77	**1**	99.16	95.49	97.33	2.60
48 ч	**100**	49.17	47.86	48.52	0.93	**100**	42.46	32.16	37.31	7.28
	10	59.57	62.18	60.87	1.84	**10**	84.08	73.57	78.82	7.43
	1	76.02	71.82	73.92	2.97	**1**	98.16	90.59	94.38	5.35
72 ч	**100**	27.45	23.17	25.31	3.02	**100**	42.63	39.39	41.01	2.29
	10	38.51	35.78	37.14	1.93	**10**	112.60	110.28	111.44	1.64
	1	57.32	60.65	58.99	2.36	**1**	127.43	116.77	122.10	7.54

ФИГ.13B

	MeWo	CV-8685				WM115	CV-8685			
Продолжит. анализа	Доза CTG	Жизнеспособность оставшихся клеток (%) n=1	n=2	Среднее	STD	Доза CTG	Жизнеспособность оставшихся клеток (%) n=1	n=2	Среднее	STD
6 ч	100	75.16	79.98	77.57	3.40	100	89.53	90.26	89.90	0.51
	10	98.08	98.08	98.08	0.00	10	100.41	96.60	98.50	2.69
	1	98.65	95.79	97.22	2.02	1	99.14	98.96	99.05	0.13
24 ч	100	87.18	91.92	89.55	3.35	100	65.58	62.31	63.94	2.32
	10	94.89	93.11	94.00	1.26	10	87.49	87.10	87.29	0.28
	1	90.14	88.36	89.25	1.26	1	94.70	92.74	93.72	1.39
48 ч	100	100.26	94.13	97.19	4.33	100	57.17	57.80	57.49	0.45
	10	80.59	80.21	80.40	0.27	10	85.34	82.61	83.97	1.93
	1	97.07	92.52	94.80	3.22	1	97.32	96.06	96.69	0.89
72 ч	100	73.74	65.54	69.64	5.80	100	75.99	67.19	71.59	6.23
	10	69.51	69.56	69.53	0.04	10	108.89	101.01	104.95	5.57
	1	61.97	66.74	64.35	3.37	1	122.79	118.16	120.47	3.28

ФИГ.13C

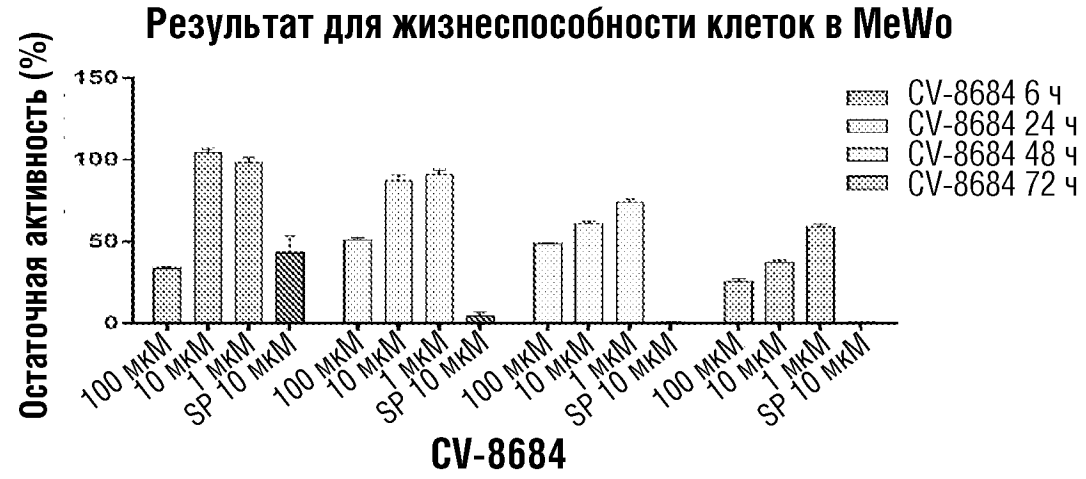
	MeWo	CV-8688				WM115	CV-8688			
Продолжит. анализа	Доза CTG	Жизнеспособность оставшихся клеток (%) n=1	n=2	Среднее	STD	Доза CTG	Жизнеспособность оставшихся клеток (%) n=1	n=2	Среднее	STD
6 ч	**100**	3.33	2.70	3.02	0.45	**100**	63.25	42.41	52.83	14.74
	10	108.32	93.82	101.07	10.25	**10**	96.78	95.51	96.15	0.90
	1	101.76	94.50	98.13	5.13	**1**	97.87	99.50	98.69	1.15
24 ч	**100**	9.91	8.85	9.38	0.74	**100**	4.32	2.25	3.29	1.47
	10	96.07	91.92	94.00	2.94	**10**	92.08	91.16	91.62	0.65
	1	88.36	99.63	94.00	7.97	**1**	91.56	93.00	92.28	1.02
48 ч	**100**	1.01	0.75	0.88	0.18	**100**	1.05	0.78	0.91	0.19
	10	70.14	66.56	68.35	2.53	**10**	91.85	88.91	90.38	2.08
	1	83.54	76.01	79.78	5.33	**1**	97.95	97.95	97.95	0.00
72 ч	**100**	0.90	0.72	0.81	0.13	**100**	2.53	2.33	2.43	0.14
	10	54.30	52.34	53.32	1.38	**10**	113.52	106.57	110.05	4.91
	1	79.95	67.49	73.72	8.81	**1**	122.79	118.62	120.71	2.95

ФИГ.13D

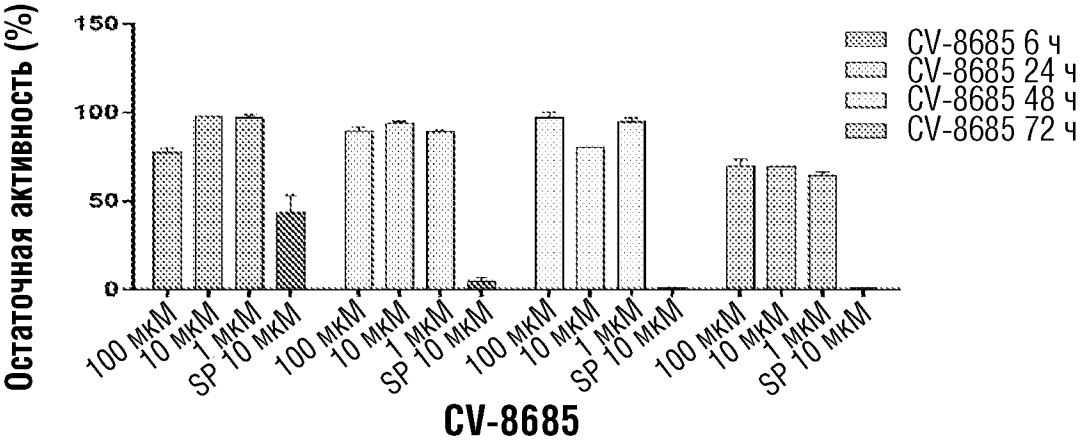
	MeWo	Стауроспорин				WM115	Стауроспорин			
Продолжит. анализа	Доза CTG	Жизнеспособность оставшихся клеток (%) n=1	n=2	Среднее	STD	Доза CTG	Жизнеспособность оставшихся клеток (%) n=1	n=2	Среднее	STD
6 ч	10	33.39	53.30	43.34	14.08	10	55.46	51.29	53.38	2.95
24 ч	10	6.94	2.53	4.73	3.11	10	1.29	1.16	1.23	0.09
48 ч	10	0.84	0.61	0.73	0.16	10	0.54	0.55	0.55	0.00
72 ч	10	0.62	0.63	0.63	0.01	10	2.65	2.78	2.71	0.09

ФИГ.13E-13G

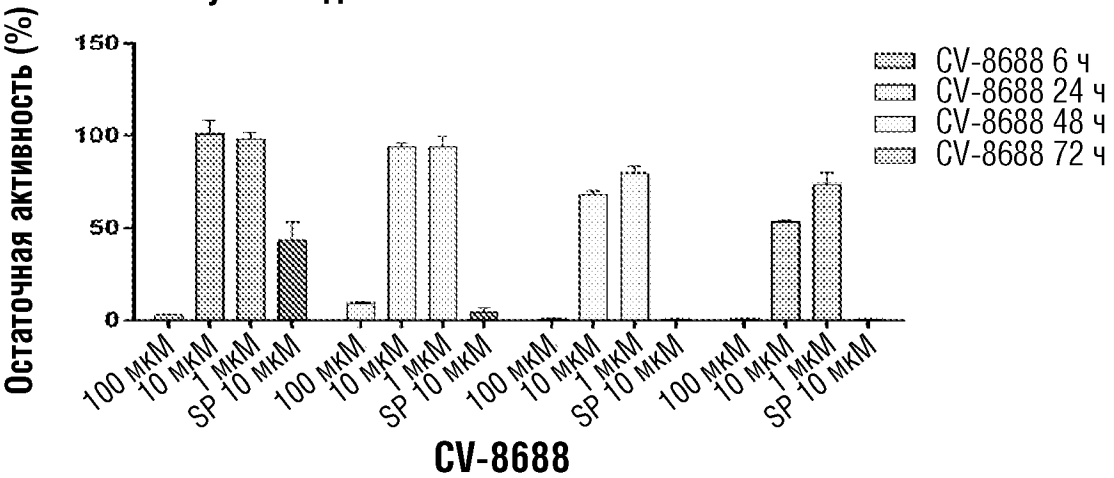
E



F

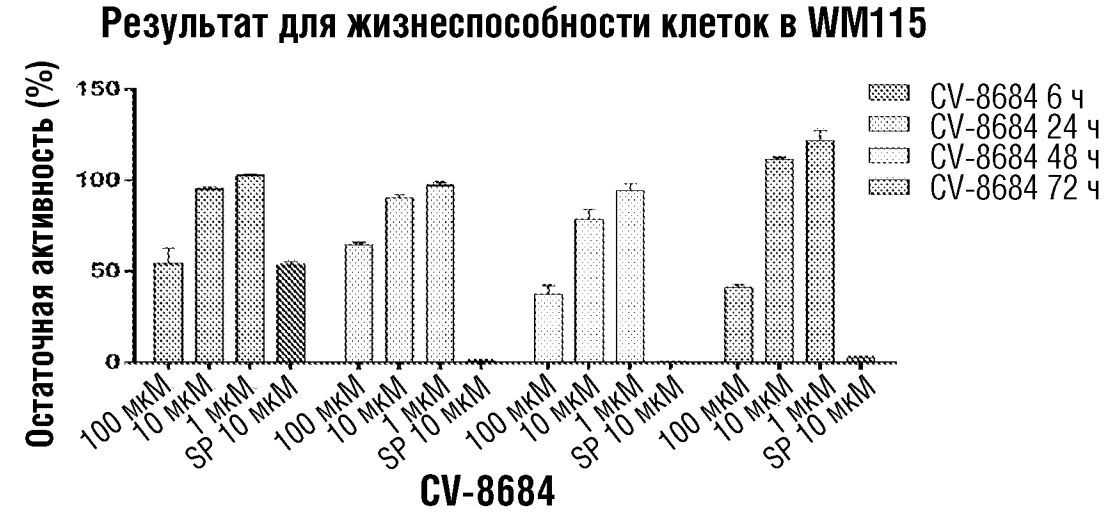


G

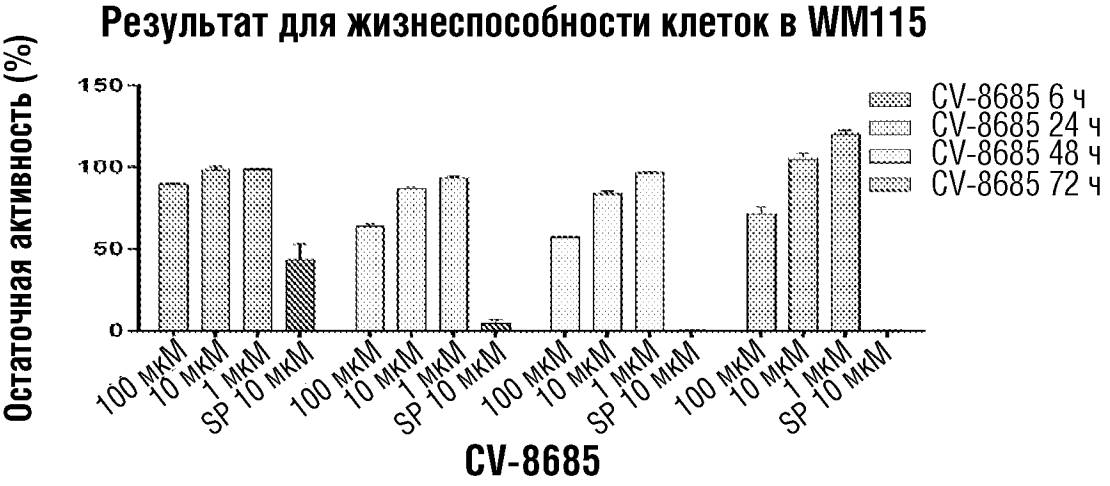


ФИГ.13H-13J

H



I



J



ФИГ.13K

Соединение	Жизнеспособность клеток (% жизнеспособных клеток)					
	Линия клеток MeWo			Линия клеток WM115		
	24 ч	48 ч	72 ч	24 ч	48 ч	72 ч
Малассезин (100 мкМ)	51%	49%	25%	64%	37%	41%
Индолокарбазол (100 мкМ)	90%	97%	70%	64%	57%	72%
Соединение II (100 мкМ)	9%	1%	1%	3%	1%	2%
Стауроспорин (10 мкМ) PC	5%	1%	1%	1%	1%	3%

ФИГ.14А

Продолжит. анализа	MeWo Доза LDH	CV-8684 Уровень LDH (%) n=1	n=2	Среднее	STD	WM115 Доза LDH	CV-8684 Уровень LDH (%) n=1	n=2	Среднее	STD
6 ч	**100**	107.53	88.80	98.17	13.25	**100**	105.30	107.71	106.50	1.71
	10	99.34	93.34	96.34	4.24	**10**	88.26	93.07	90.67	3.40
	1	100.67	93.76	97.22	4.89	**1**	95.04	88.86	91.95	4.37
24 ч	**100**	128.00	113.06	120.53	10.56	**100**	137.11	110.90	124.00	18.53
	10	104.34	91.17	97.75	9.31	**10**	111.28	108.83	110.06	1.73
	1	116.42	104.79	110.61	8.22	**1**	109.44	113.59	111.52	2.94
48 ч	**100**	108.45	129.84	119.14	15.12	**100**	141.09	120.98	131.04	14.21
	10	112.21	119.13	115.67	4.89	**10**	71.47	105.67	88.57	24.18
	1	114.69	112.52	113.60	1.53	**1**	87.84	108.38	98.11	14.52
72 ч	**100**	88.08	86.69	87.39	0.98	**100**	172.24	145.78	159.01	18.71
	10	89.41	85.17	87.29	3.00	**10**	134.39	125.37	129.88	6.38
	1	83.42	75.05	79.24	5.91	**1**	155.11	144.29	149.70	7.65

ФИГ.14B

Продолжит. анализа	MeWo Доза LDH	CV-8685 Уровень LDH (%) n=1	n=2	Среднее	STD	WM115 Доза LDH	CV-8685 Уровень LDH (%) n=1	n=2	Среднее	STD
6 ч	**100**	94.68	89.90	92.29	3.38	**100**	91.36	80.17	85.76	7.91
	10	85.58	92.47	89.03	4.87	**10**	94.90	95.37	95.14	0.33
	1	92.44	92.44	92.44	0.01	**1**	87.67	95.81	91.74	5.76
24 ч	**100**	142.99	104.54	123.76	27.19	**100**	213.02	234.98	224.00	15.53
	10	92.63	89.87	91.25	1.95	**10**	150.57	137.26	143.91	9.41
	1	101.78	105.21	103.49	2.43	**1**	94.63	109.59	102.11	10.58
48 ч	**100**	125.18	122.77	123.97	1.70	**100**	222.63	224.48	223.55	1.30
	10	108.43	111.15	109.79	1.92	**10**	143.57	113.47	128.52	21.28
	1	114.41	112.82	113.62	1.12	**1**	86.50	105.02	95.76	13.10
72 ч	**100**	88.24	56.05	72.14	22.76	**100**	262.72	259.96	261.34	1.95
	10	72.96	72.35	72.66	0.43	**10**	175.23	171.15	173.19	2.89
	1	77.93	74.86	76.40	2.17	**1**	147.09	146.42	146.75	0.47

ФИГ.14C

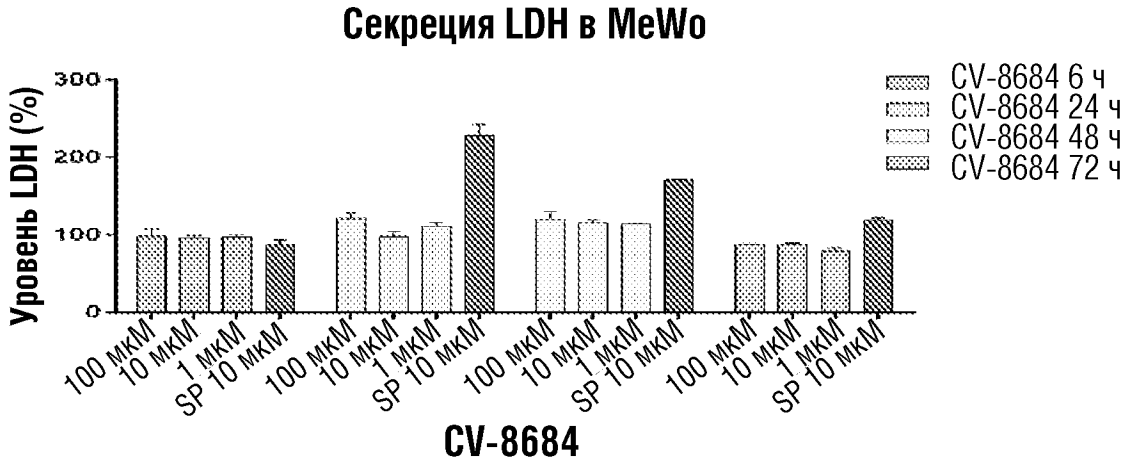
Продолжит. анализа	MeWo Доза LDH	CV-8688 Уровень LDH (%) n=1	n=2	Среднее	STD	WM115 Доза LDH	CV-8688 Уровень LDH (%) n=1	n=2	Среднее	STD
6 ч	**100**	127.34	101.13	114.23	18.53	**100**	113.29	126.97	120.13	9.68
	10	89.41	84.00	86.70	3.82	**10**	95.94	90.02	92.98	4.18
	1	92.90	92.24	92.57	0.47	**1**	93.07	89.66	91.36	2.41
24 ч	**100**	180.63	150.41	165.52	21.37	**100**	406.53	379.09	392.81	19.41
	10	103.64	99.45	101.55	2.96	**10**	115.00	102.91	108.96	8.55
	1	104.70	103.26	103.98	1.02	**1**	99.80	113.95	106.87	10.00
48 ч	**100**	142.36	143.69	143.03	0.94	**100**	240.09	276.78	258.43	25.95
	10	97.14	103.68	100.41	4.63	**10**	71.88	98.21	85.04	18.62
	1	107.03	111.80	109.42	3.37	**1**	91.02	93.94	92.48	2.07
72 ч	**100**	104.85	111.78	108.32	4.90	**100**	262.85	264.08	263.47	0.87
	10	72.51	79.43	75.97	4.89	**10**	108.06	111.37	109.71	2.34
	1	78.39	75.68	77.03	1.91	**1**	148.60	143.38	145.99	3.69

ФИГ.14D

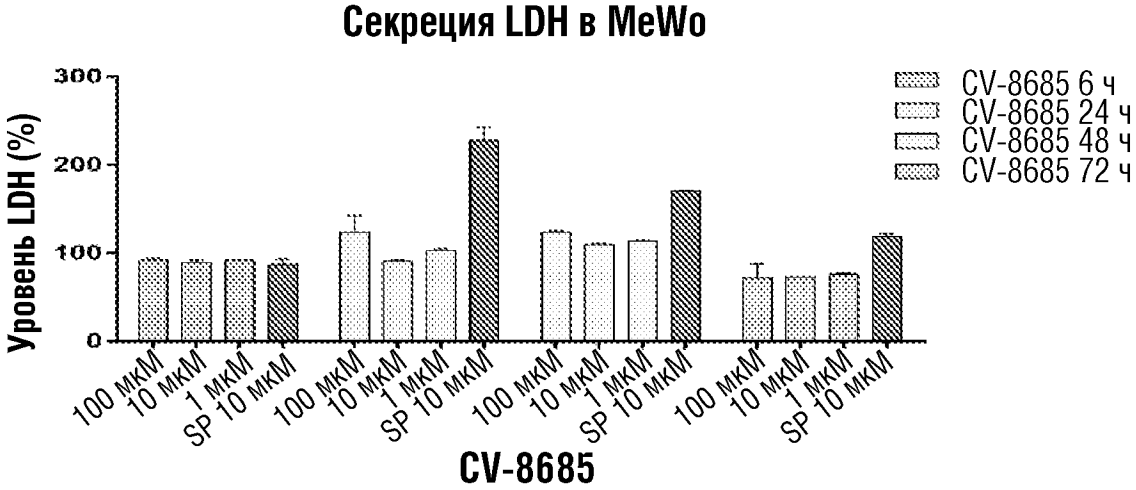
Продолжит. анализа	MeWo Доза LDH	Стауроспорин Уровень LDH (%) n=1	n=2	Среднее	STD	WM115 Доза LDH	Стауроспорин Уровень LDH (%) n=1	n=2	Среднее	STD
6 ч	**10**	80.82	93.35	87.09	8.86	**100**	96.35	101.90	99.13	3.92
24 ч	**10**	243.09	212.50	227.80	21.63	**100**	394.99	371.77	383.38	16.42
48 ч	**10**	170.60	171.35	170.98	0.53	**100**	207.76	185.08	196.42	16.04
72 ч	**10**	114.91	122.19	118.55	5.15	**100**	158.74	233.56	196.15	52.91

ФИГ.14E-14G

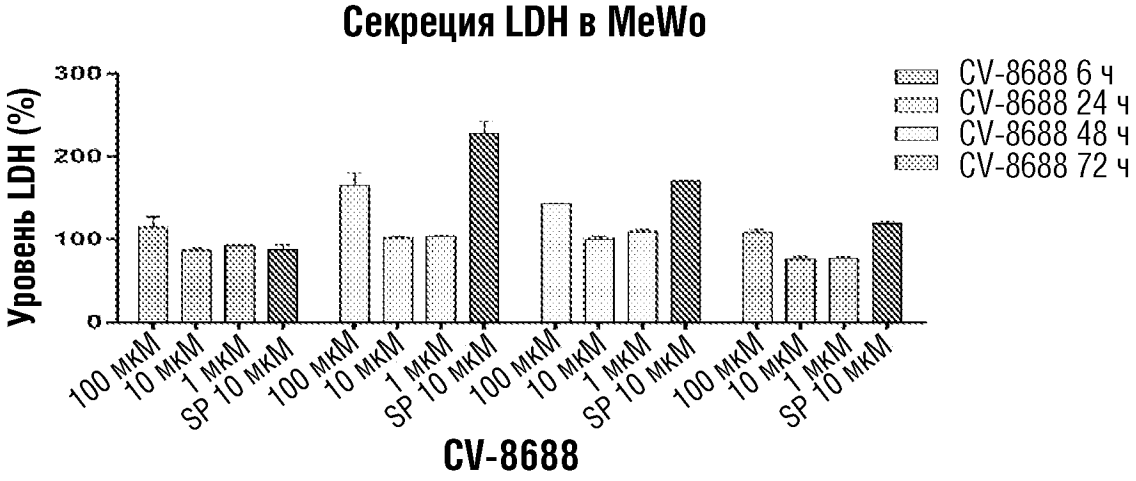
E



F

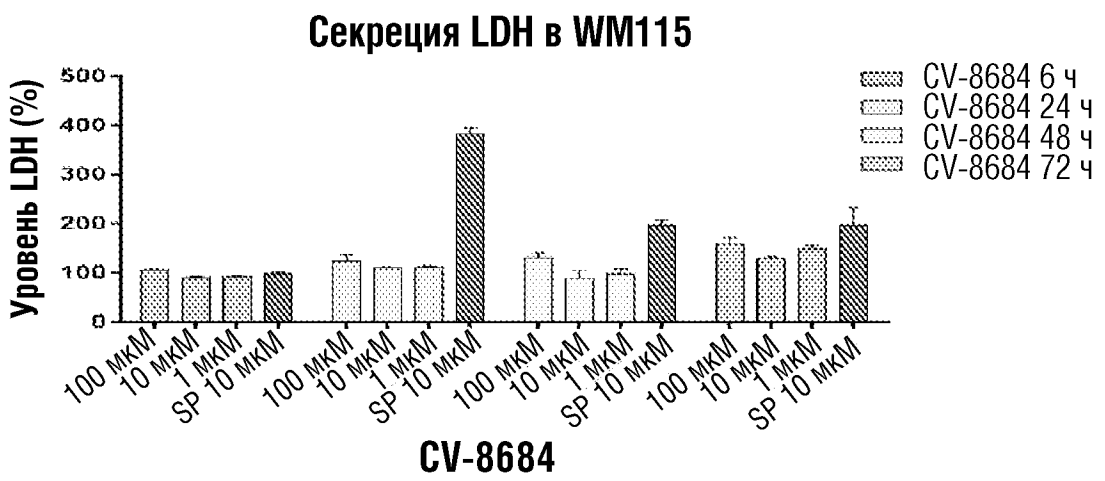


G

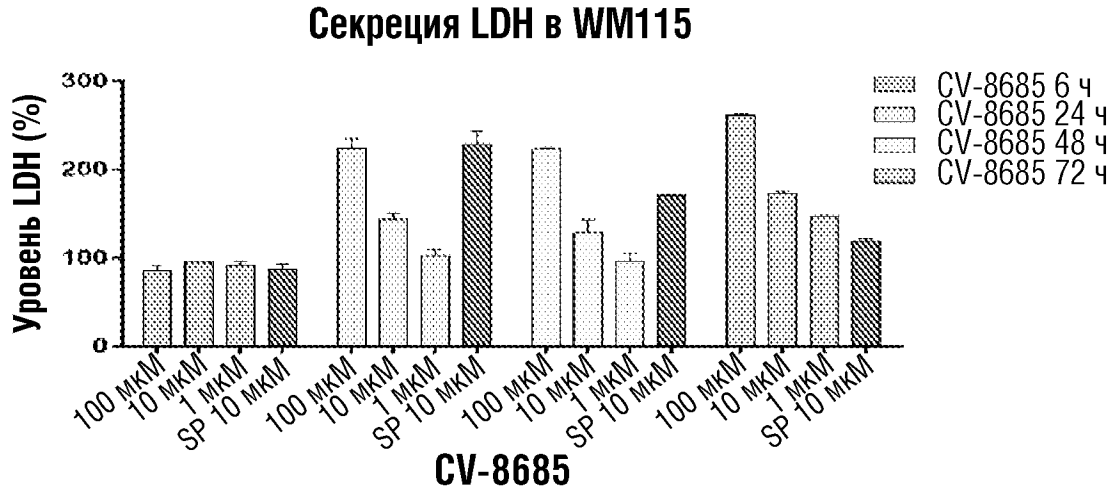


ФИГ.14H-14J

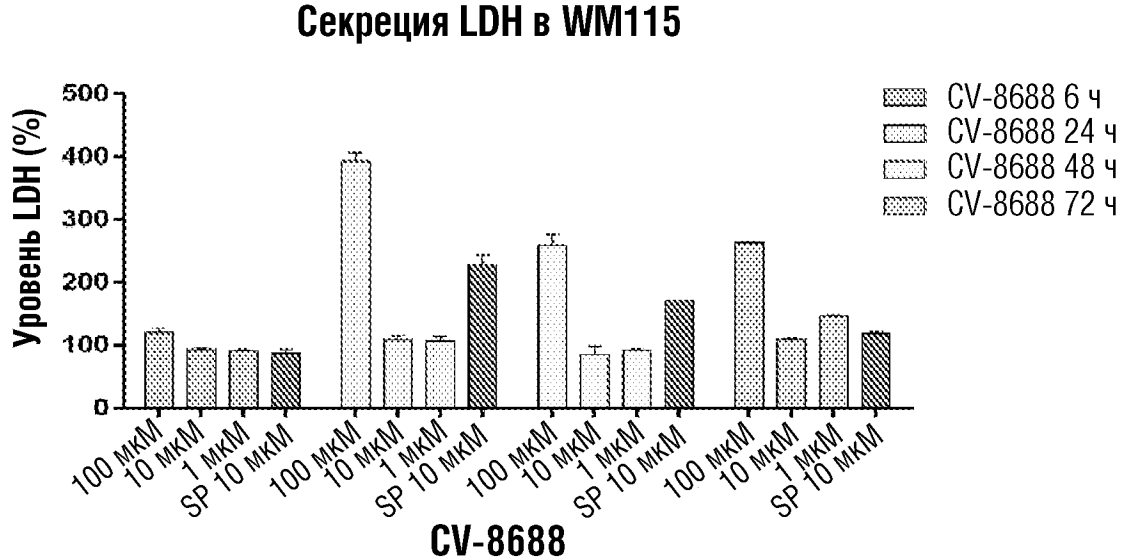
H



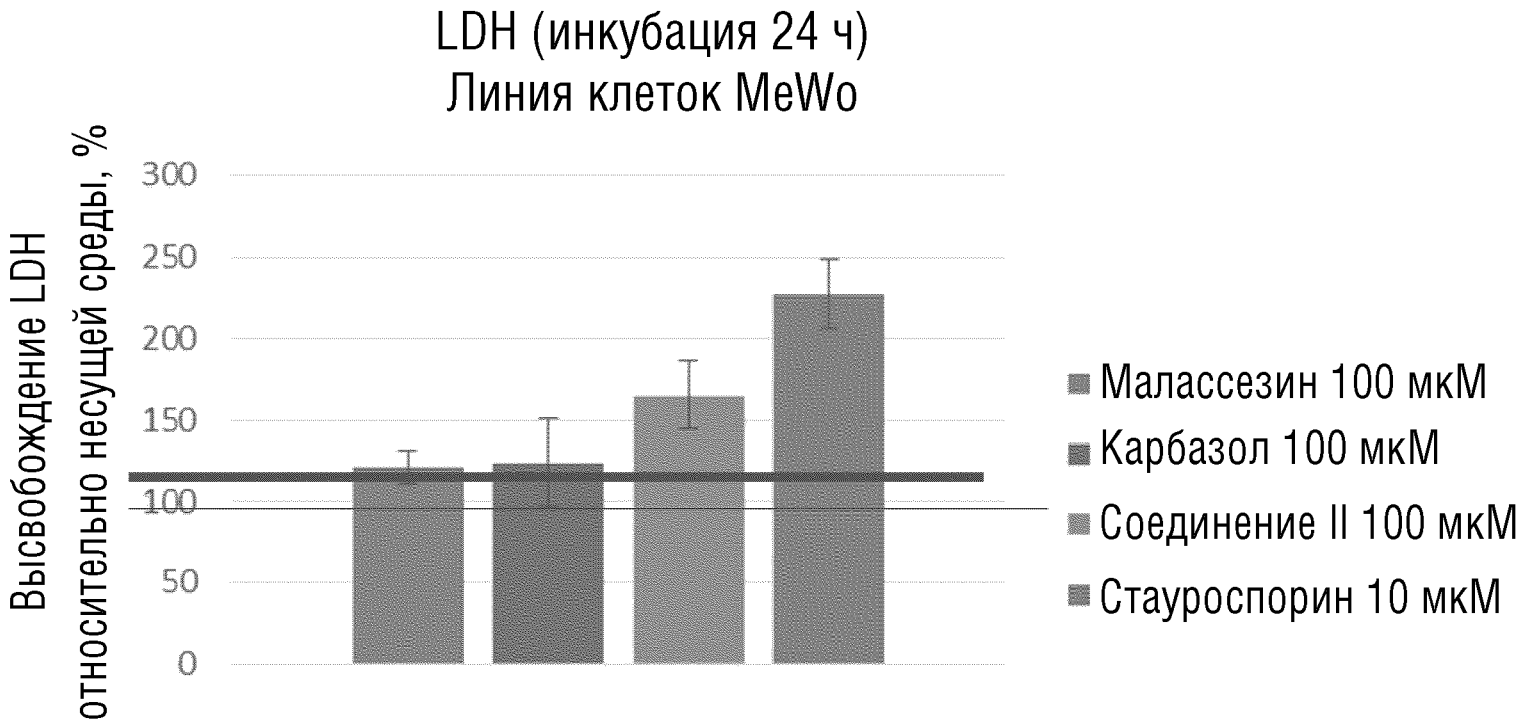
I



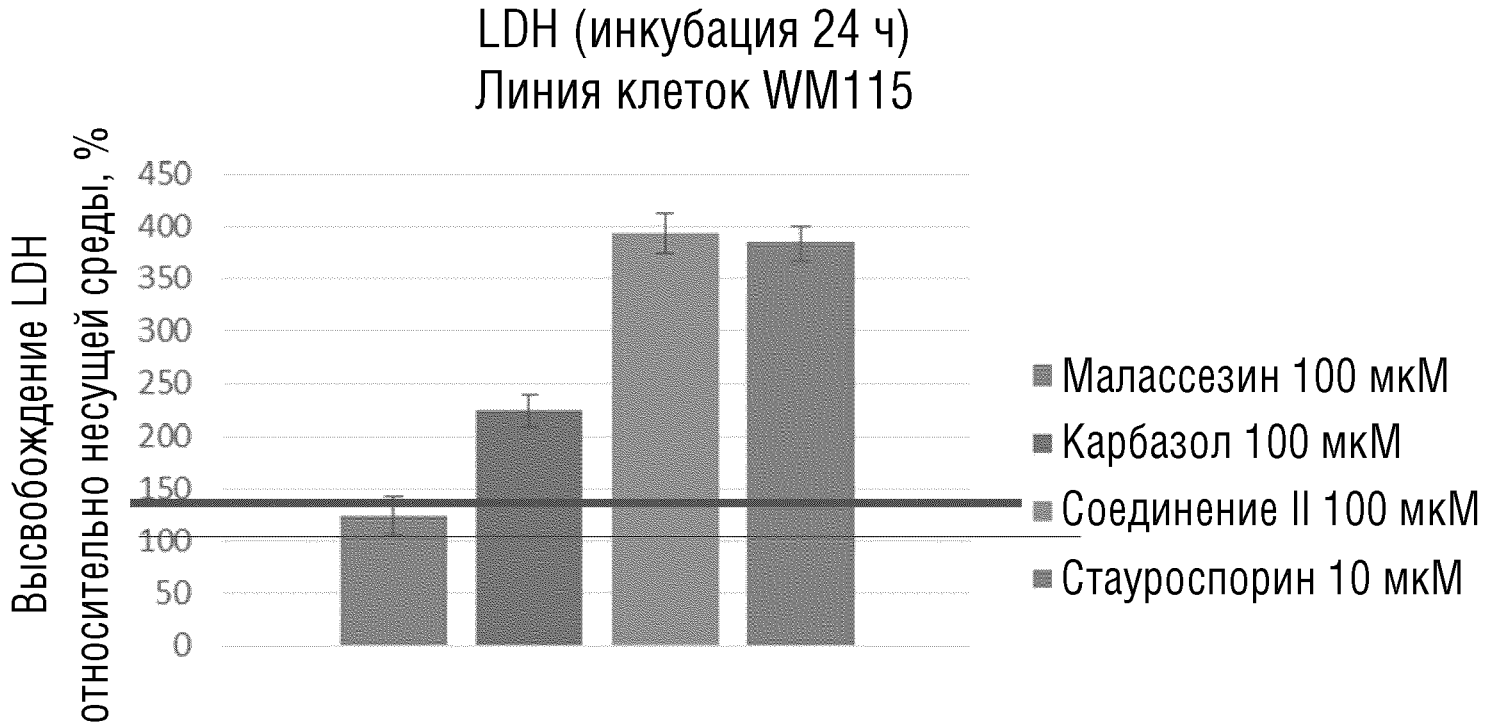
J



ФИГ.14K

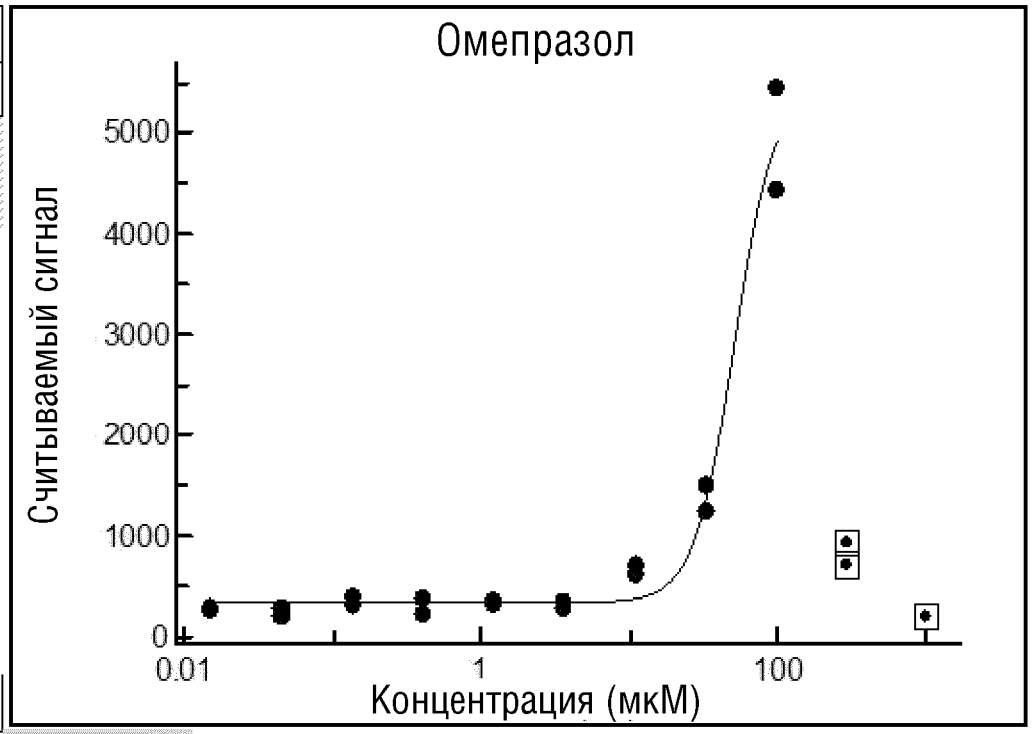

LDH (инкубация 24 ч)
Линия клеток MeWo
Высвобождение LDH
относительно несущей среды, %
300
250
200
150
100
50
0
Малассезин 100 мкМ
Карбазол 100 мкМ
Соединение II 100 мкМ
Стауроспорин 10 мкМ

ФИГ.14L


LDH (инкубация 24 ч)
Линия клеток WM115
Высвобождение LDH
относительно несущей среды, %
450
400
350
300
250
200
150
100
50
0
Малассезин 100 мкМ
Карбазол 100 мкМ
Соединение II 100 мкМ
Стауроспорин 10 мкМ

ФИГ.15А

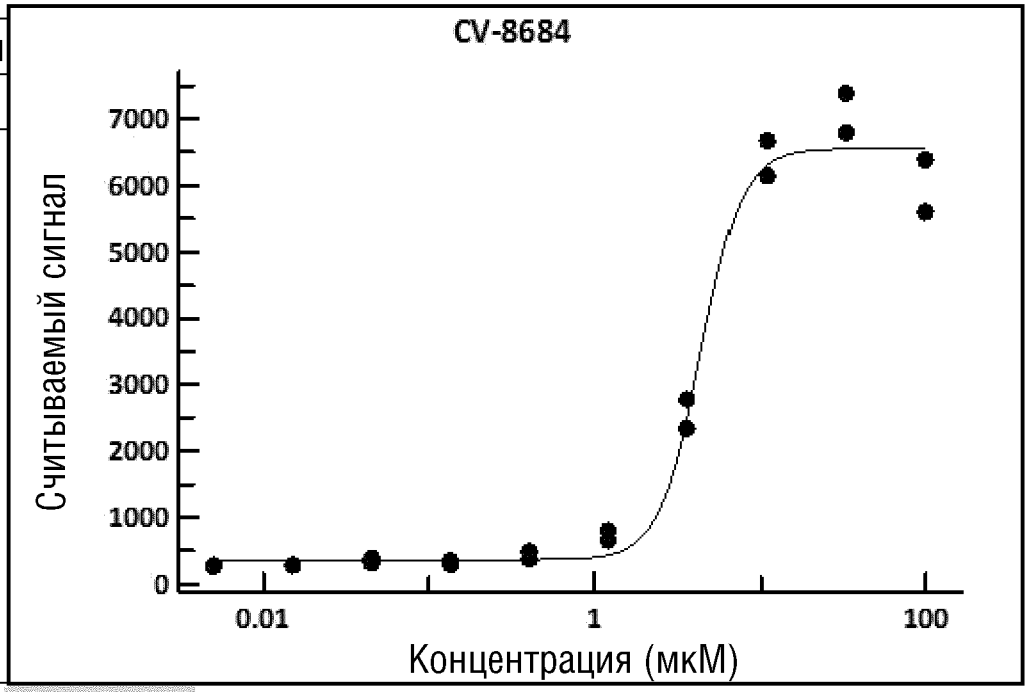
ID Соединения	Омепразол	
	Считываемый сигнал	
Конц. (мкМ)	n=1	n=2
1000.00	200	200
300.00	710	930
100.00	4420	5450
33.33	1490	1230
11.11	610	700
3.70	280	340
1.23	350	320
0.41	370	220
0.14	310	390
0.05	200	280
0.02	310	290



EC50 (мкМ) 51.01

ФИГ.15B

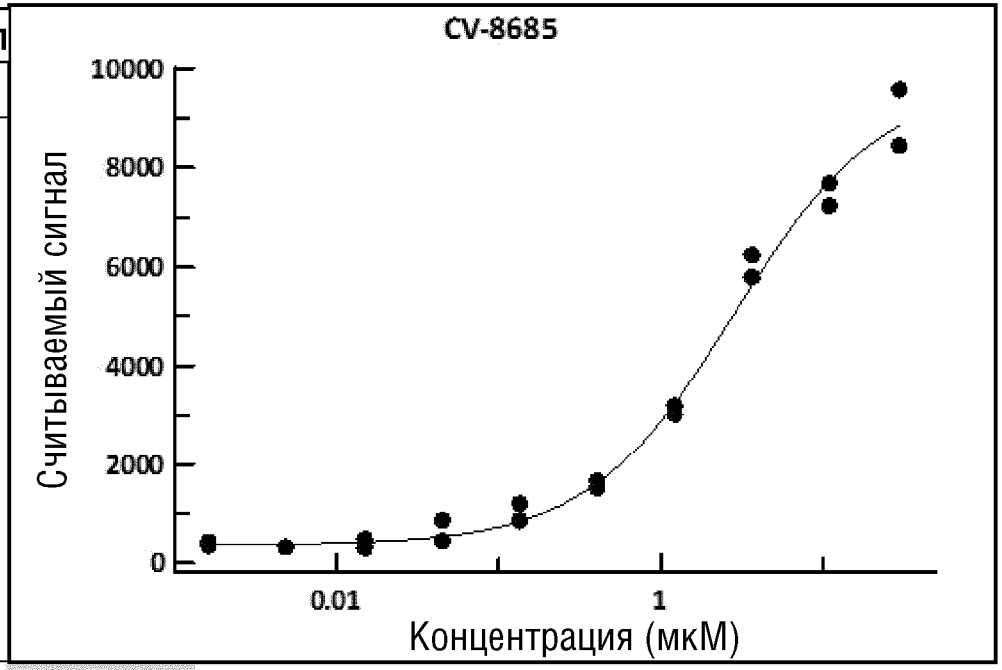
ID Соединения	CV-8684	
	Считываемый сигнал	
Конц. (мкМ)	n=1	n=2
100.00	6370	5580
33.33	7370	6770
11.11	6650	6130
3.70	2320	2760
1.23	640	780
0.41	360	460
0.14	330	280
0.05	300	370
0.02	270	270
0.01	250	260



EC50 (мкМ) 4.39

ФИГ.15C

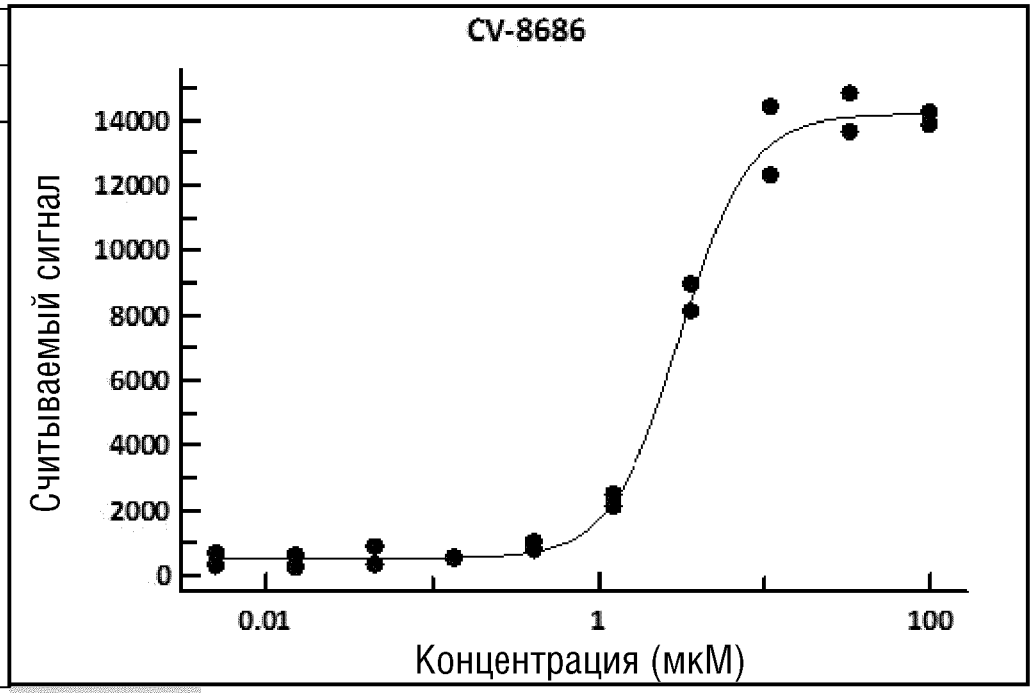
ID Соединения	CV-8685	
	Считываемый сигнал	
Конц. (мкМ)	n=1	n=2
30.00	8420	9550
11.11	7210	7660
3.70	5770	6220
1.23	3010	3180
0.41	1640	1480
0.14	1170	830
0.05	420	840
0.02	460	280
0.01	300	300
0.00	330	400



EC50 (мкМ) 2.80

ФИГ.15D

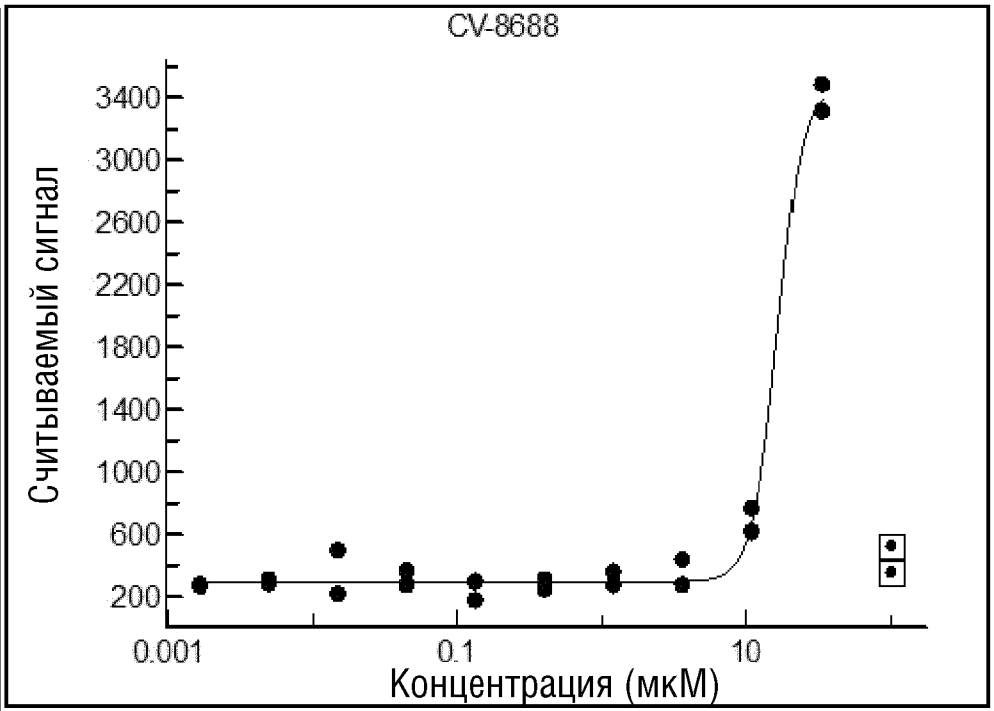
ID Соединения	CV-8686	
	Считываемый сигнал	
Конц. (мкМ)	n=1	n=2
100.00	13830	14210
33.33	14800	13610
11.11	14370	12280
3.70	8090	8930
1.23	2080	2450
0.41	750	1000
0.14	520	490
0.05	860	300
0.02	590	220
0.01	650	270



EC50 (мкМ) 3.13

ФИГ.15E

ID Соединения	CV-8688	
	Считываемый сигнал	
Конц. (мкМ)	n=1	n=2
100.00	520.00	350.00
33.33	3310.00	3480.00
11.11	610.00	760.00
3.70	270.00	430.00
1.23	270.00	350.00
0.41	300.00	240.00
0.14	170.00	290.00
0.05	360.00	270.00
0.02	490.00	210.00
0.01	300.00	280.00
0.00	270.00	260.00



EC50 (мкМ) 16.41

ФИГ.15F

Код соединения	ID Соединения	EC50 (мкМ)
PC	Омепразол	51.01
Соединение 01	CV-8684	4.39
Соединение 02	CV-8685	2.80
Соединение 03	CV-8686	3.13
Соединение 04	CV-8688	16.41

ФИГ.16A-16E

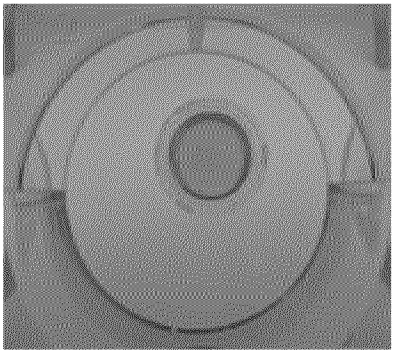
Контроли

Сутки 0

Сутки 7

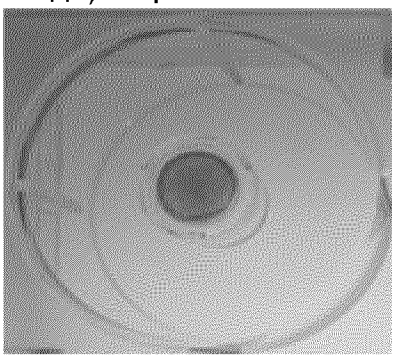
A

Необработанные ткани



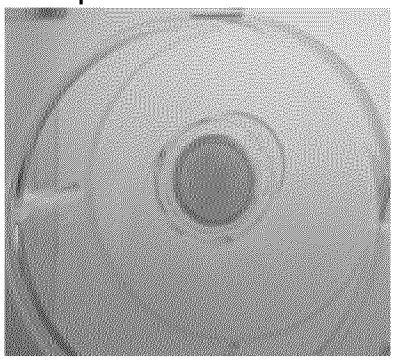
B

Отрицательный контроль (стерильная деионизированная вода)-обработанные ткани



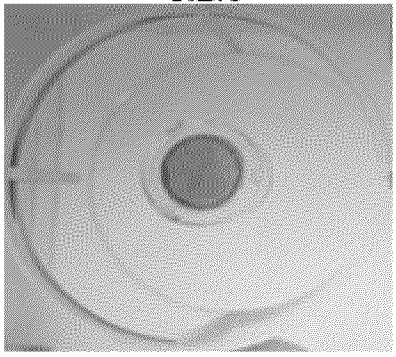
C

Положительный контроль (1% Койевой кислоты) обработанные ткани

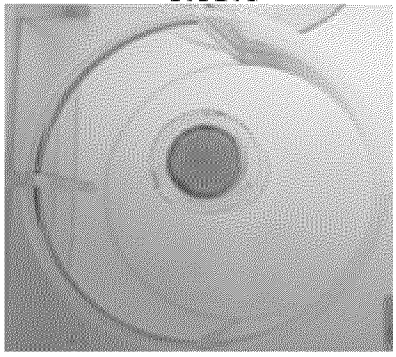


Контроль с несущей средой (DMSO) - обработанные ткани

D



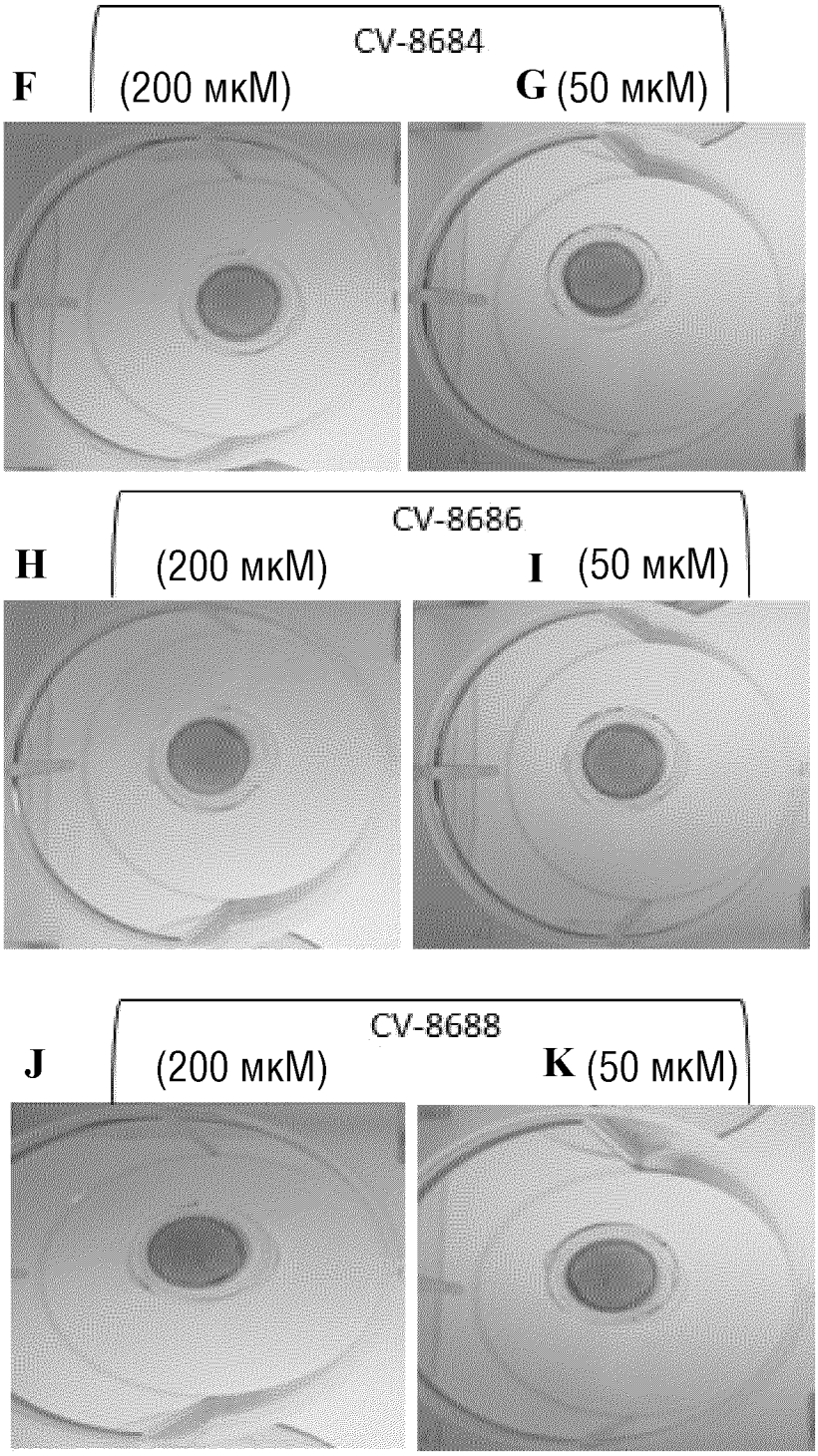
E



ФИГ.16F-16K

Ткани, обработанные тестируемым образцом

Сутки 7



ФИГ.17A-17E

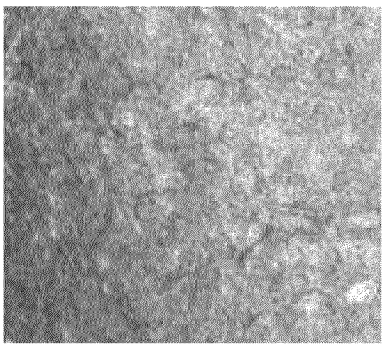
Контроли

Сутки 0

Сутки 7

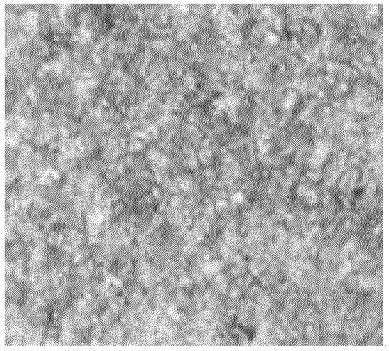
Необработанные ткани

A



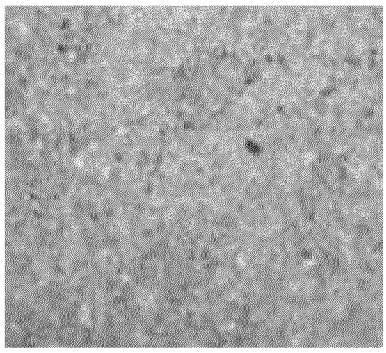
Отрицательный контроль (стерильная деионизированная вода)-обработанные ткани

B



Положительный контроль (1% Койевой кислоты) обработанные ткани

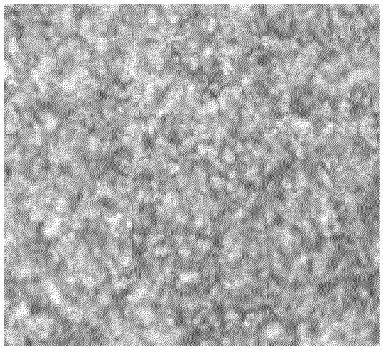
C



Контроль с несущей средой (DMSO) - обработанные ткани

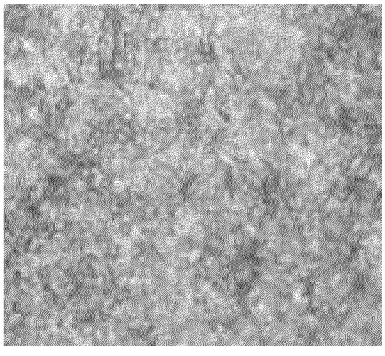
D

0.2%

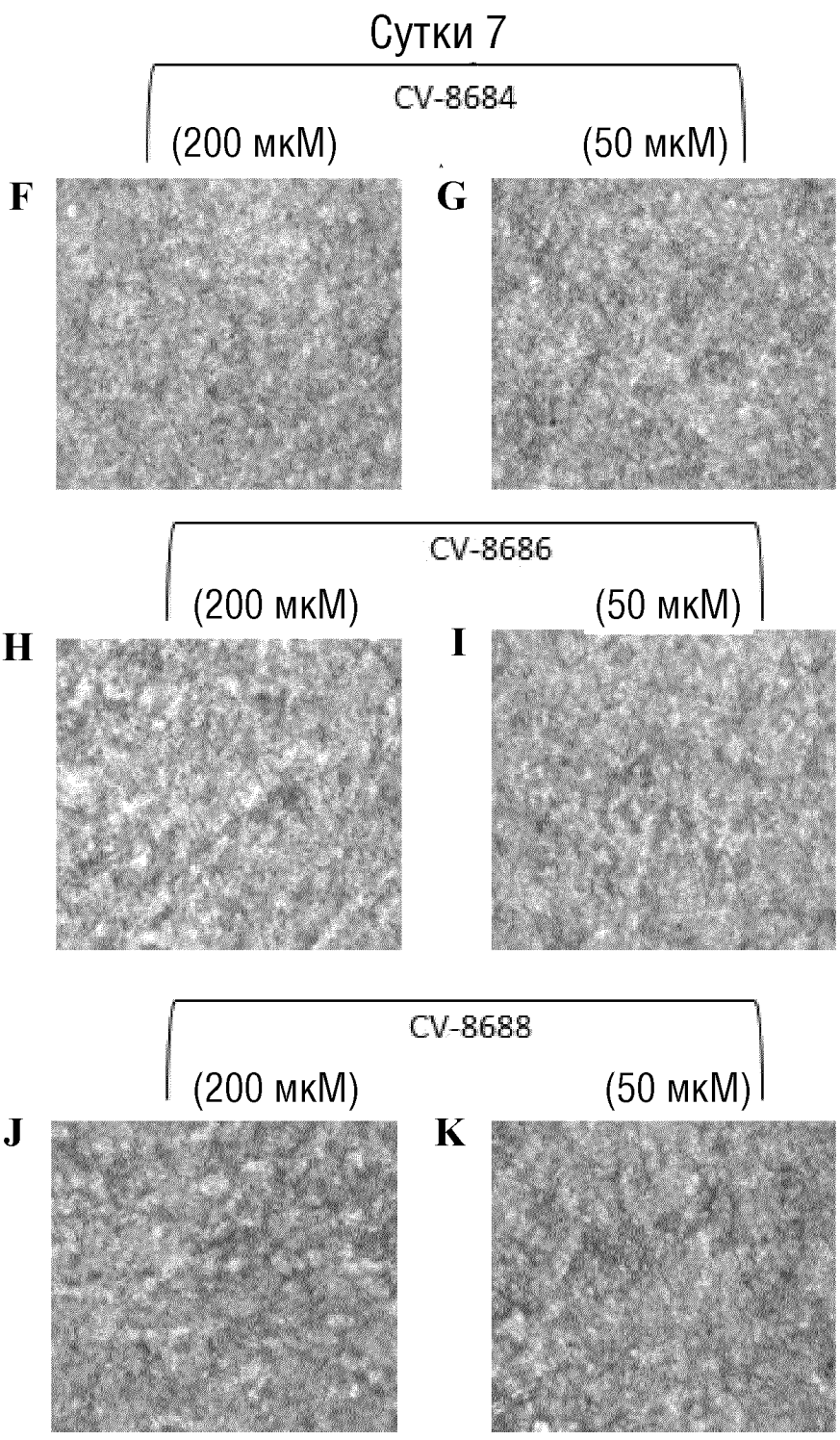


E

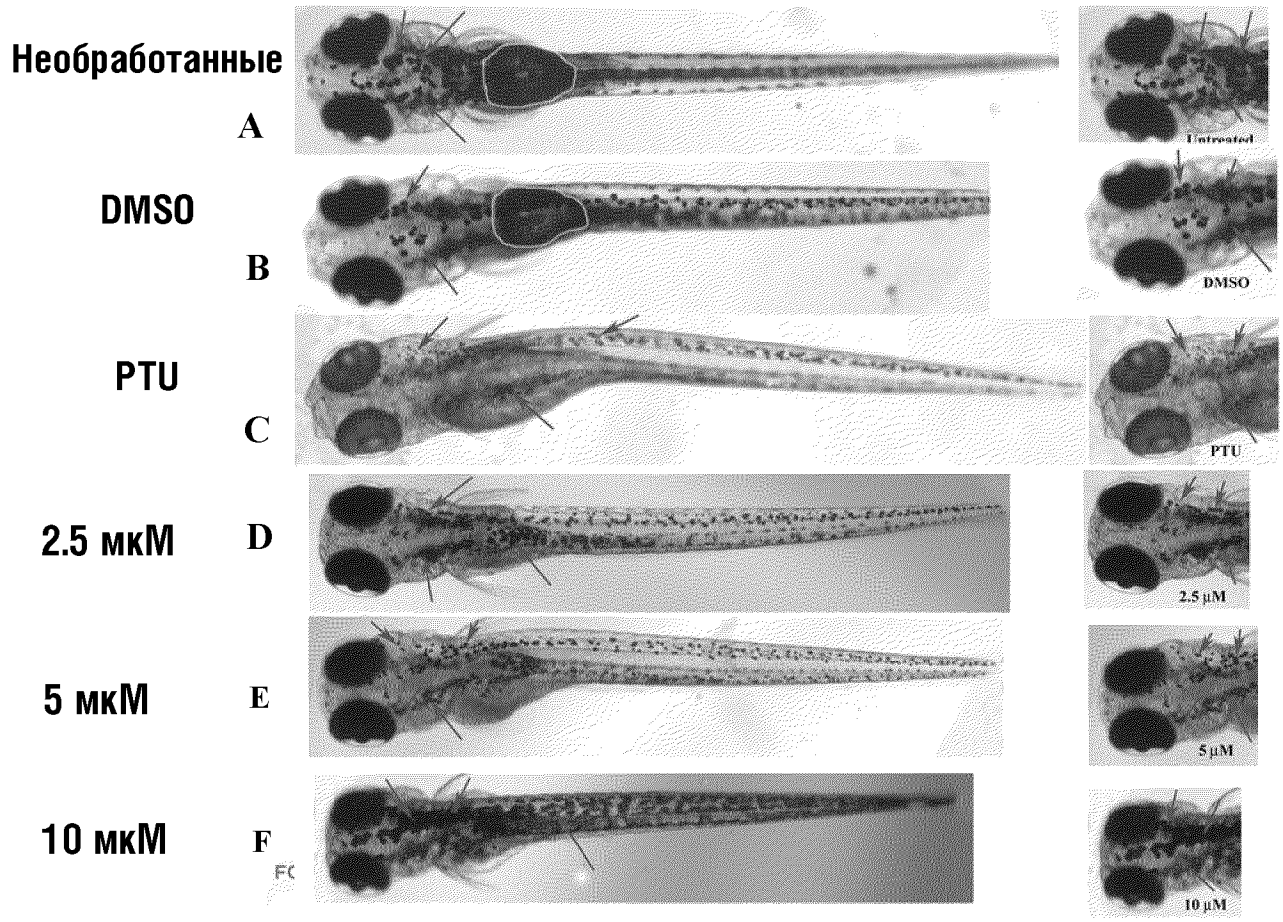
0.05%



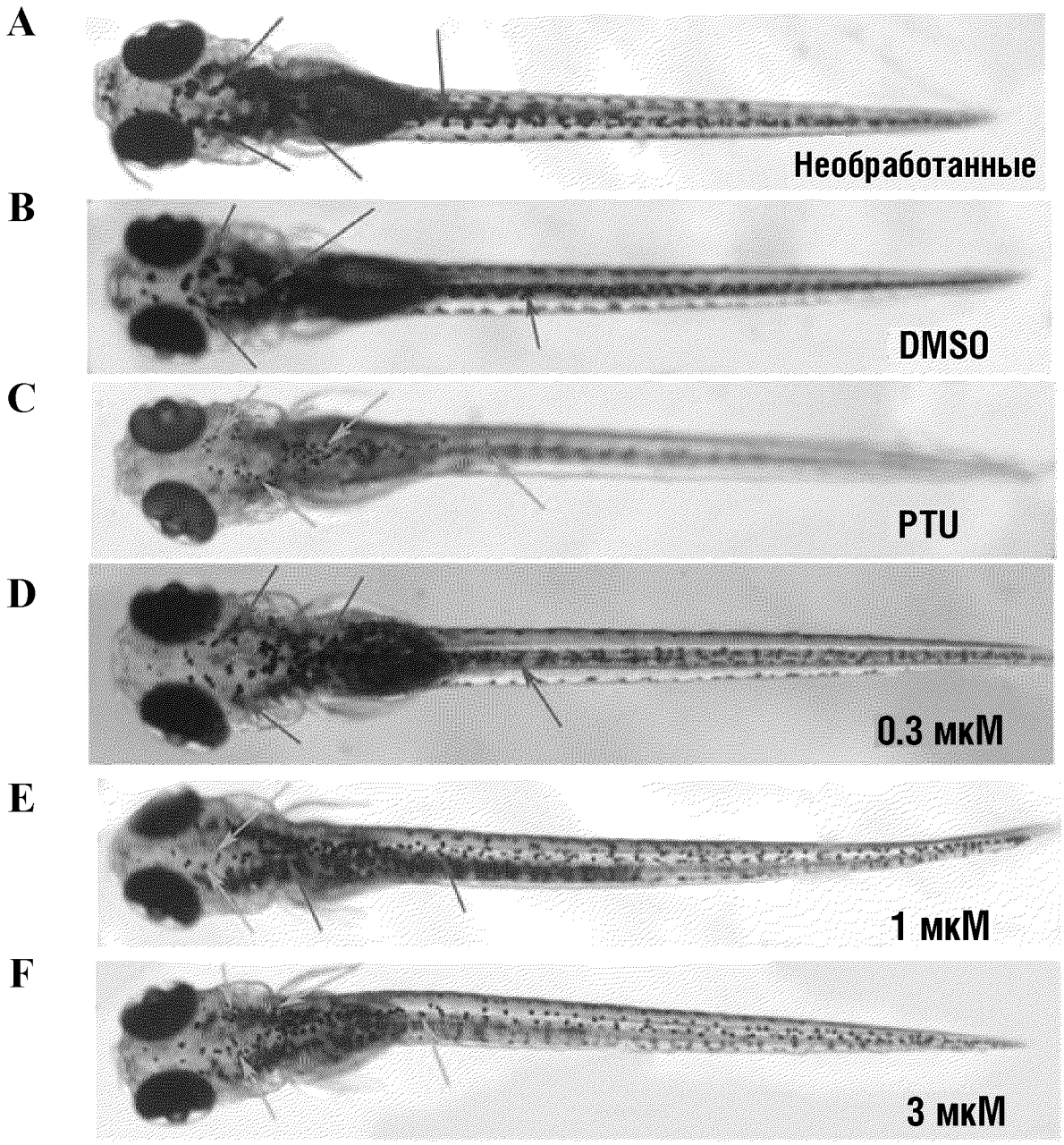
ФИГ.17F-17K


Ткани, обработанные тестируемым образцом
Сутки 7
CV-8684
(200 мкМ)
(50 мкМ)
F
G
CV-8686
(200 мкМ)
(50 мкМ)
H
I
CV-8688
(200 мкМ)
(50 мкМ)
J
K

ФИГ.18A-18F


Необработанные
A
Untreated
DMSO
B
DMSO
PTU
C
PTU
2.5 мкМ
D
2.5 µM
5 мкМ
E
5 µM
10 мкМ
F
10 µM

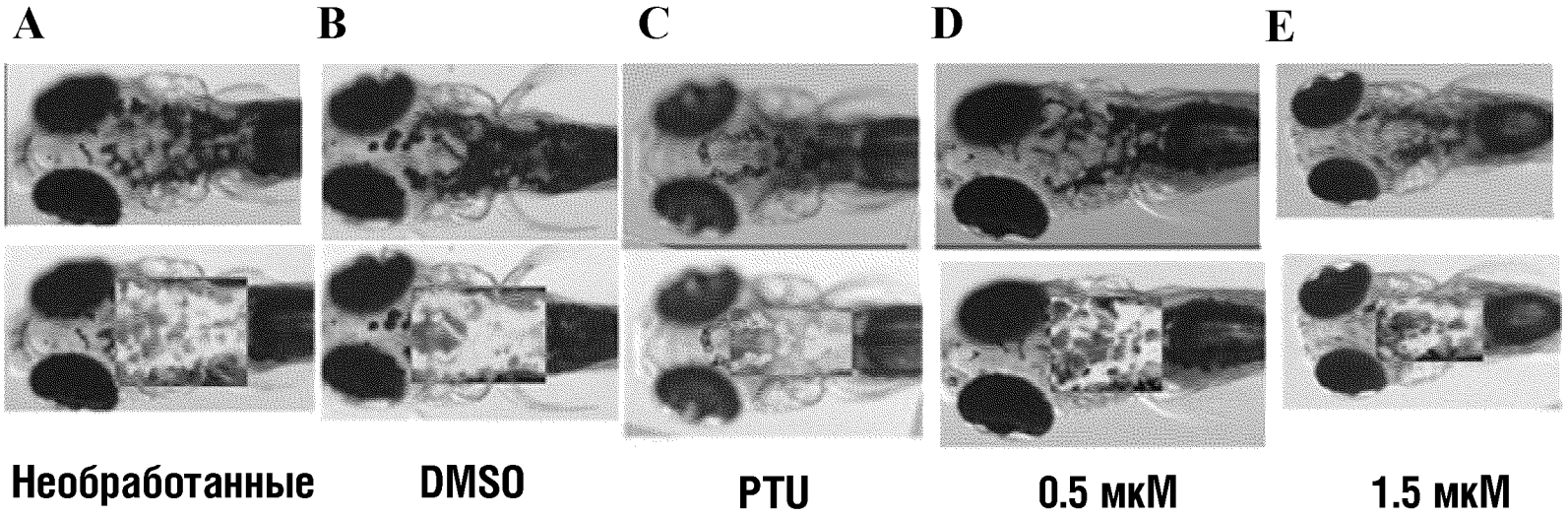
ФИГ.19A-19F



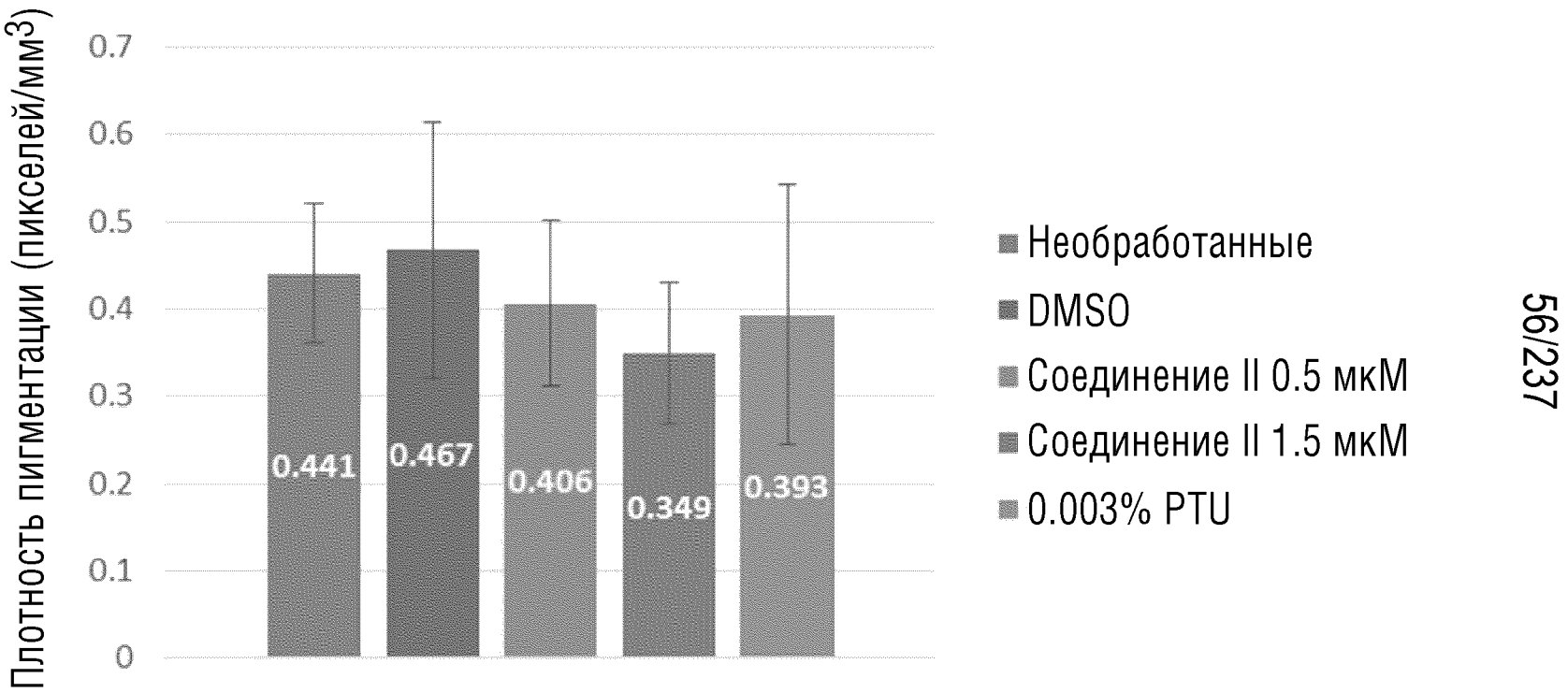
ФИГ.20

	Число данио со сниженной пигментацией кожи				
Условия	Лунка 1	Лунка 2	Лунка 3	Всего	% данио со сниженной пигментацией кожи
Необработ.	1	0	0	1	3.3
DMSO	1	0	0	1	3.3
0.003% PTU	10	10	10	30	100.0
0.3 мкМ	0	3	0	3	10.0
1 мкМ	2	6	7	15	50.0
2.5 мкМ	9	10	10	29	96.7
3 мкМ	9	7	7	23	76.7
5 мкМ*	7	5	8	20	66.7
10 мкМ*	0	0	1	1	3.3

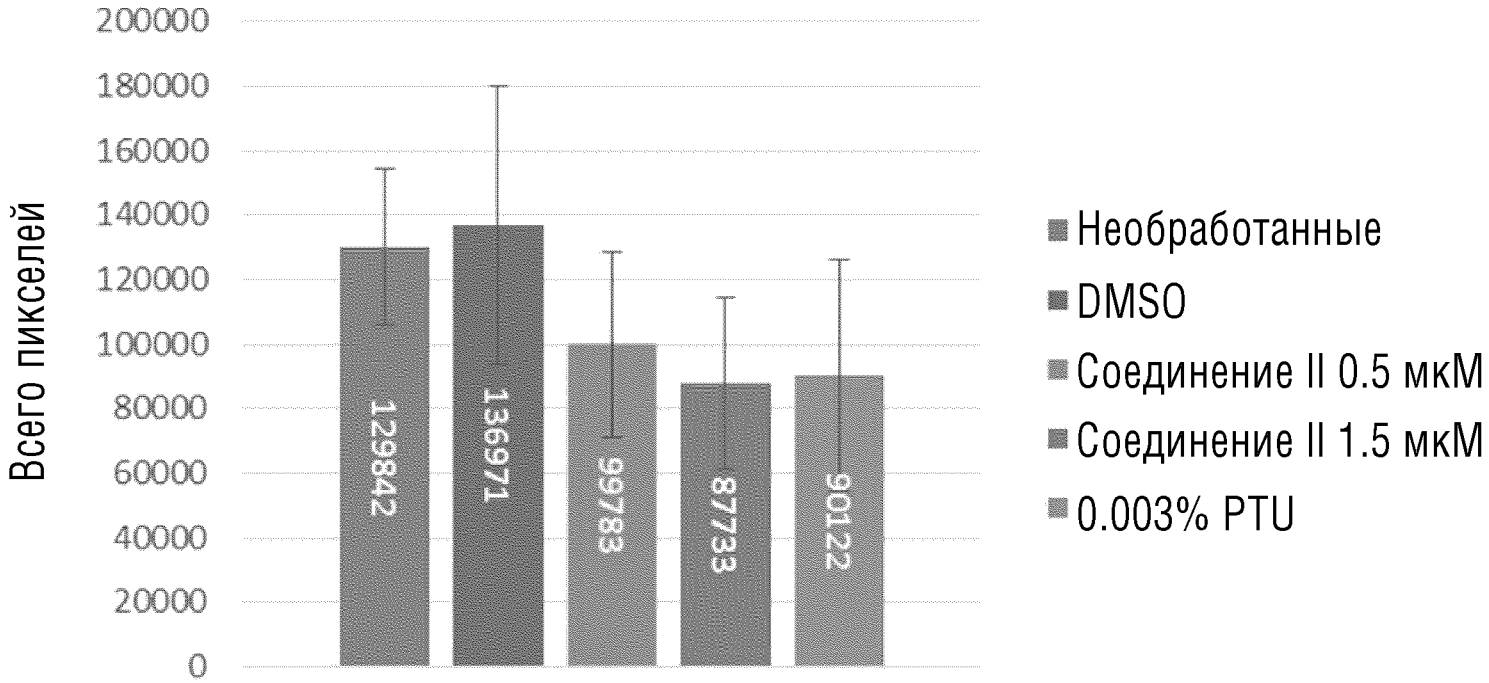
ФИГ.21A-21E



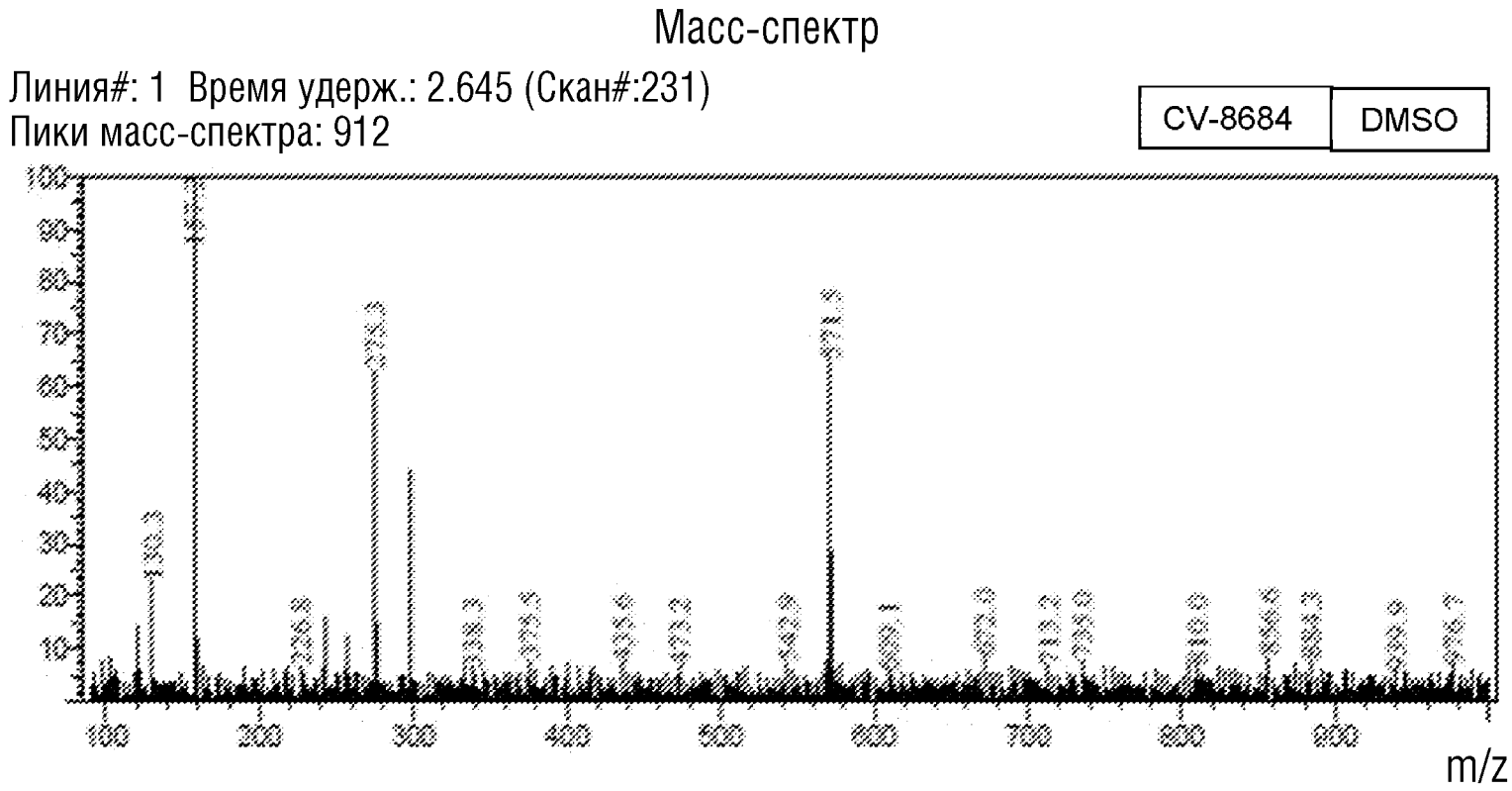
ФИГ.22А


Плотность пигментации (пикселей/мм3)
0.7
0.6
0.5
0.4
0.3
0.2
0.1
0
0.441
0.467
0.406
0.349
0.393
Необработанные
DMSO
Соединение II 0.5 мкМ
Соединение II 1.5 мкМ
0.003% PTU

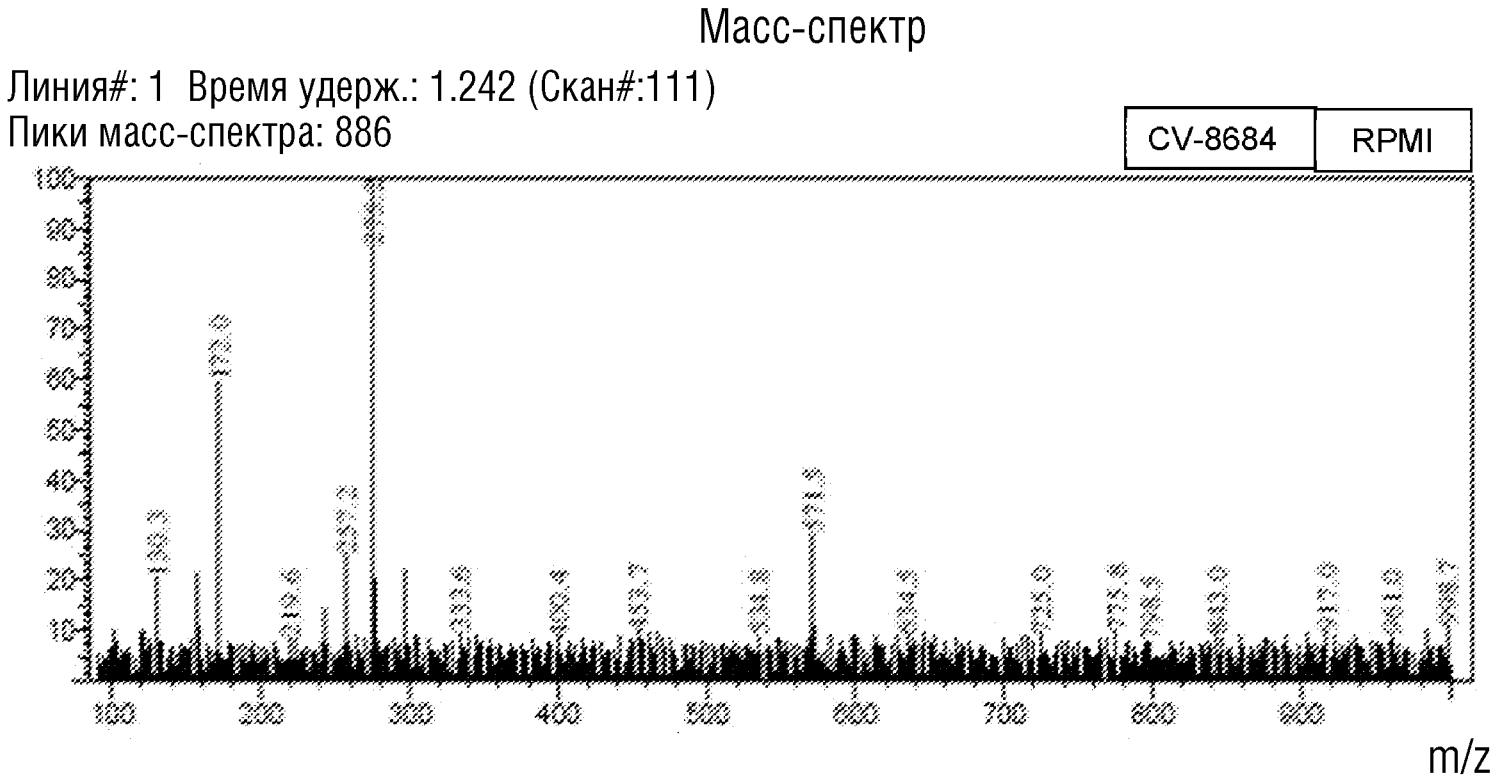
ФИГ.22B


Всего пикселей
200000
180000
160000
140000
120000
100000
80000
60000
40000
20000
0
129842
136971
99783
87733
90122
Необработанные
DMSO
Соединение II 0.5 мкМ
Соединение II 1.5 мкМ
0.003% PTU

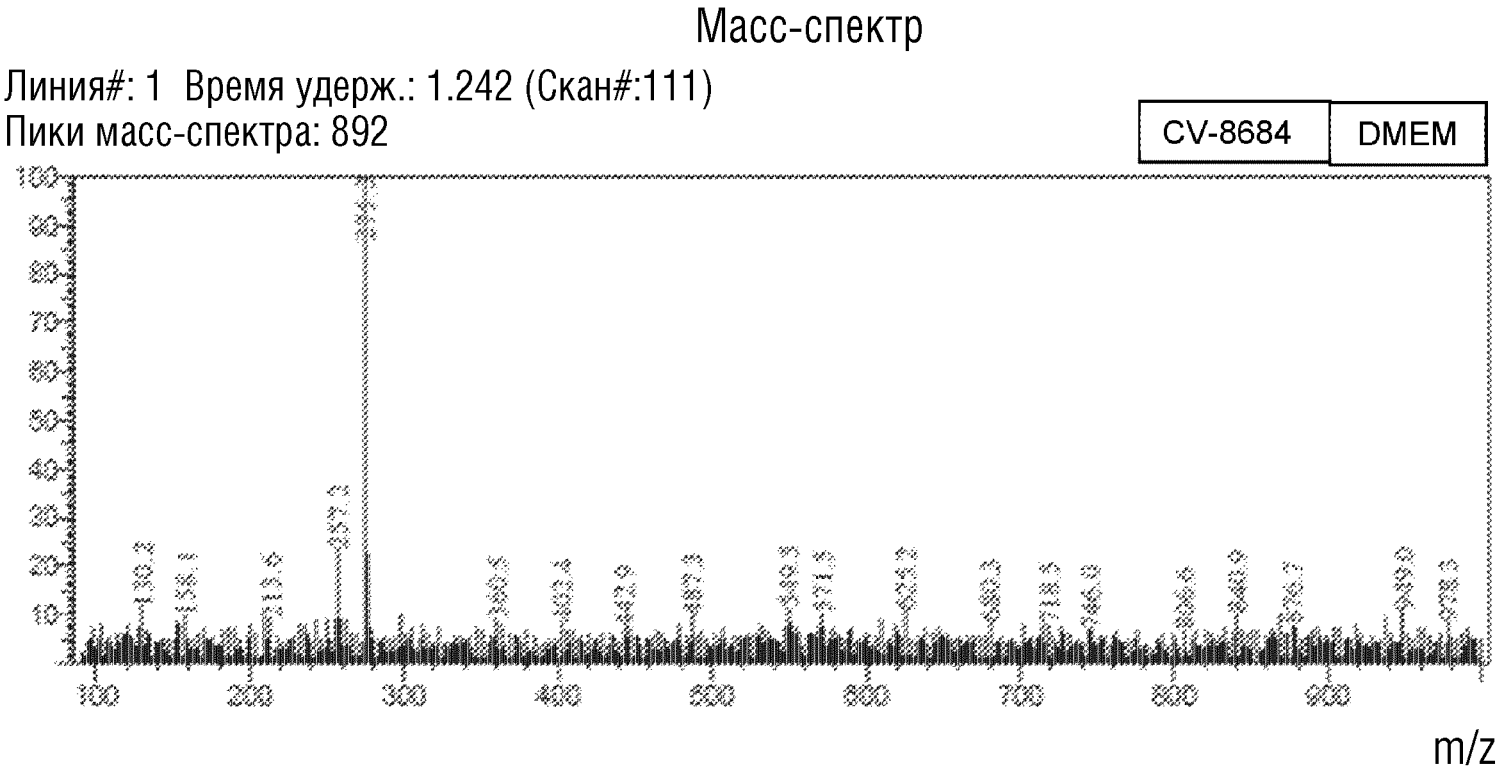
ФИГ.23А


Масс-спектр
Линия#: 1 Время удерж.: 2.645 (Скан#:231)
Пики масс-спектра: 912
CV-8684
DMSO
100
90
80
70
60
50
40
30
20
10
100
200
300
400
500
600
700
800
900
m/z

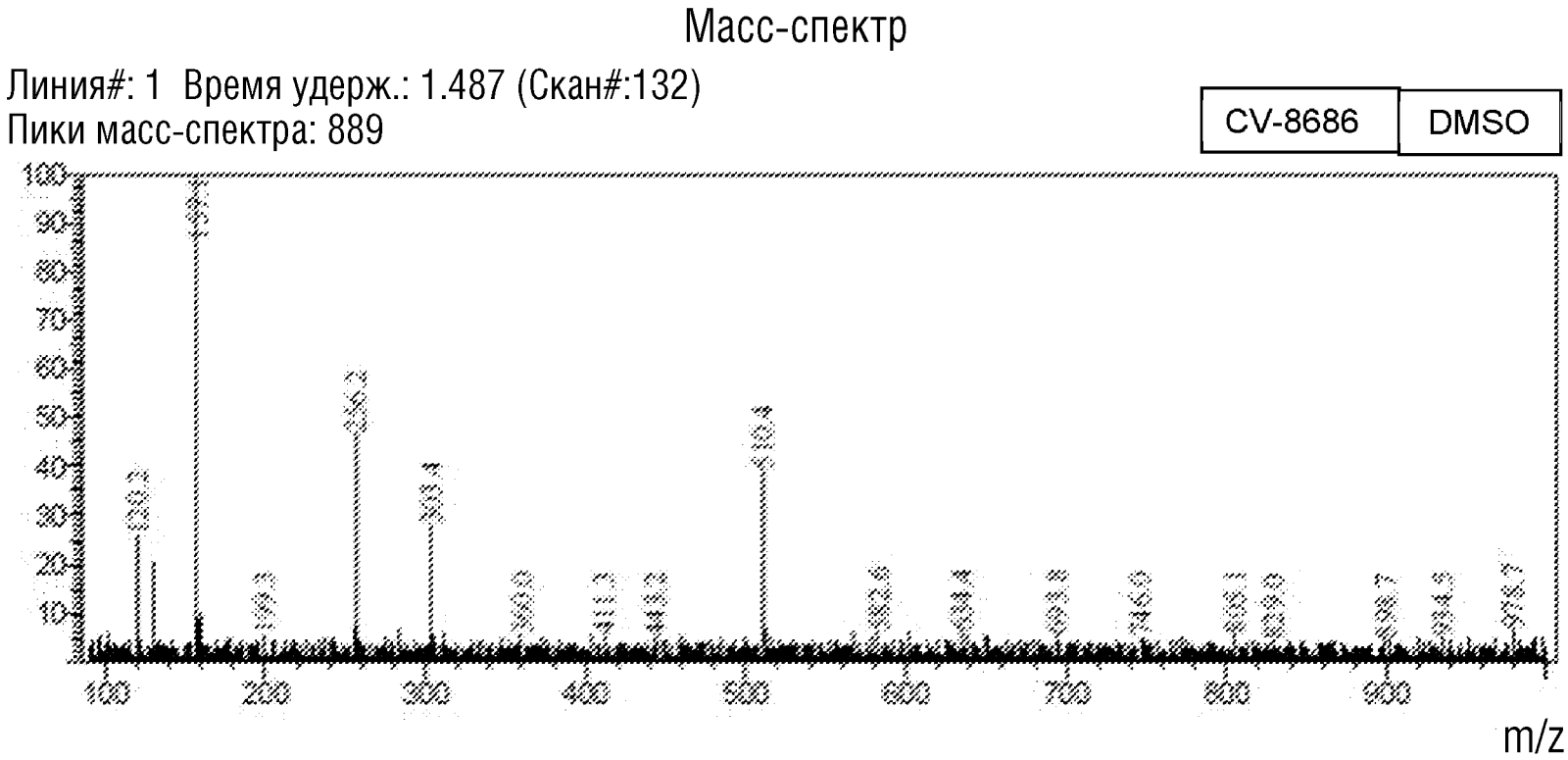
ФИГ.23В


Масс-спектр
Линия#: 1 Время удерж.: 1.242 (Скан#:111)
Пики масс-спектра: 886
CV-8684
RPMI
m/z

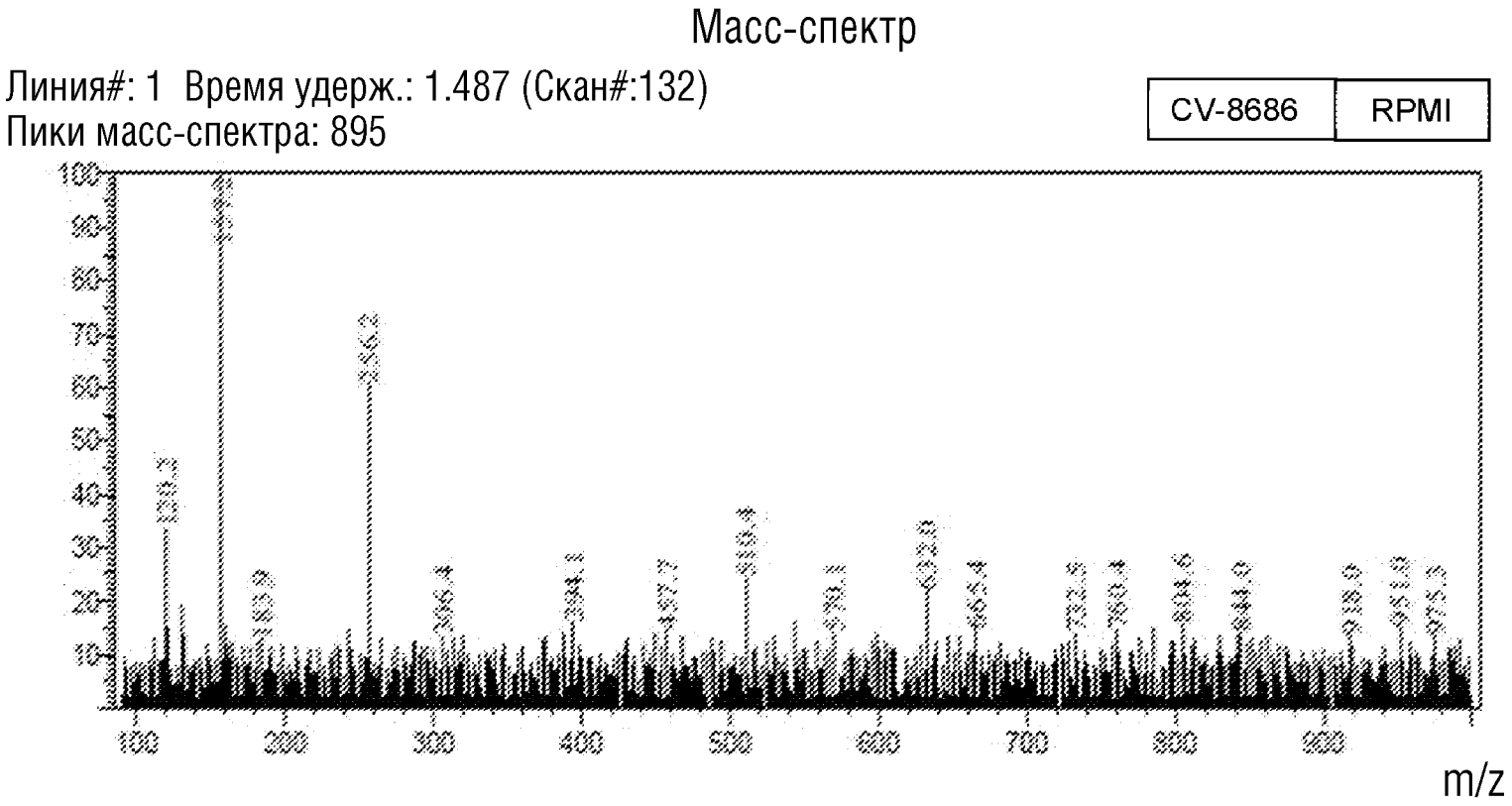
ФИГ.23C


Масс-спектр
Линия#: 1 Время удерж.: 1.242 (Скан#:111)
Пики масс-спектра: 892
CV-8684
DMEM
m/z

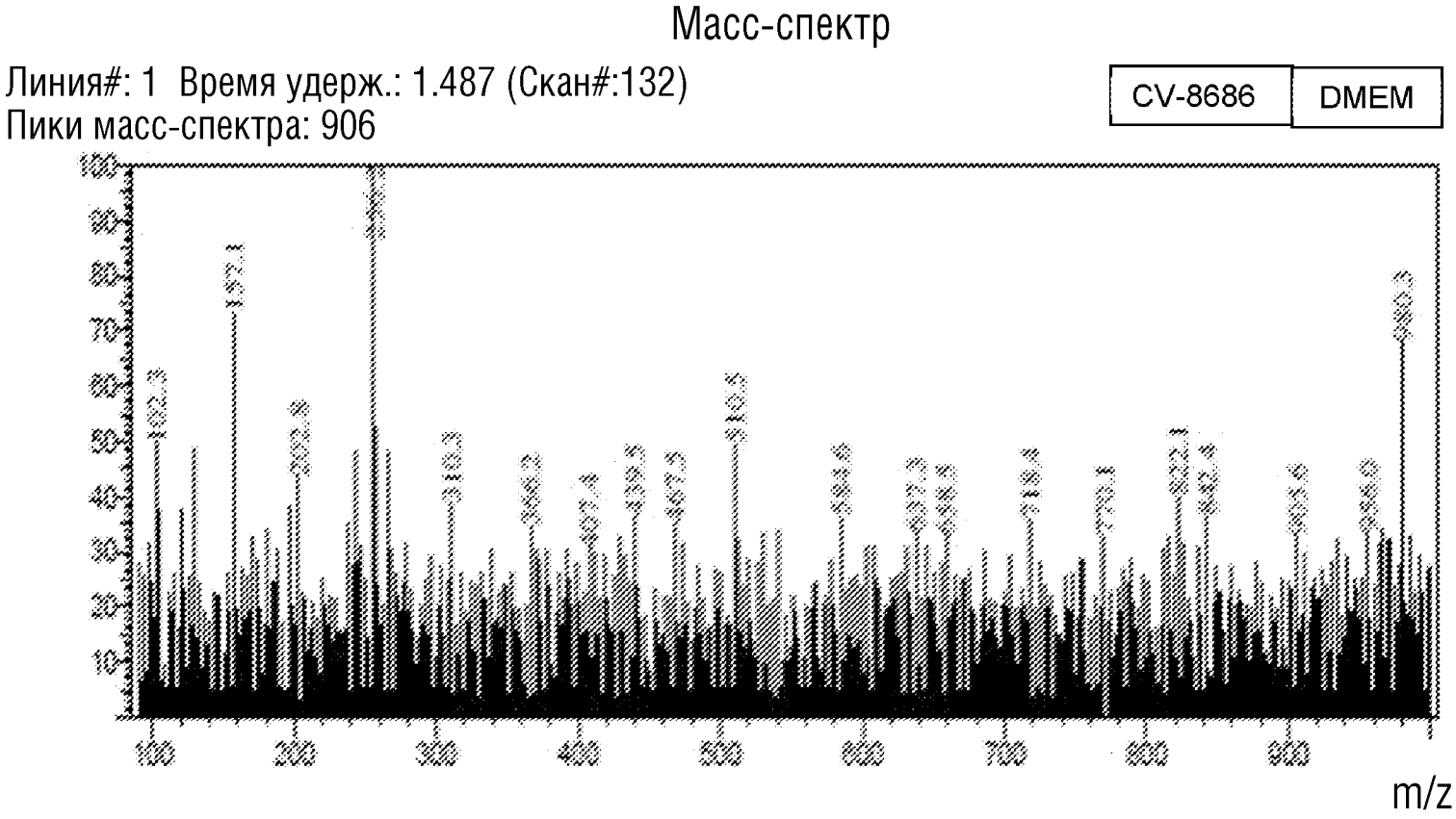
ФИГ.23D


Масс-спектр
Линия#: 1 Время удерж.: 1.487 (Скан#:132)
Пики масс-спектра: 889
CV-8686
DMSO
100
90
80
70
60
50
40
30
20
10
100
200
300
400
500
600
700
800
900
m/z

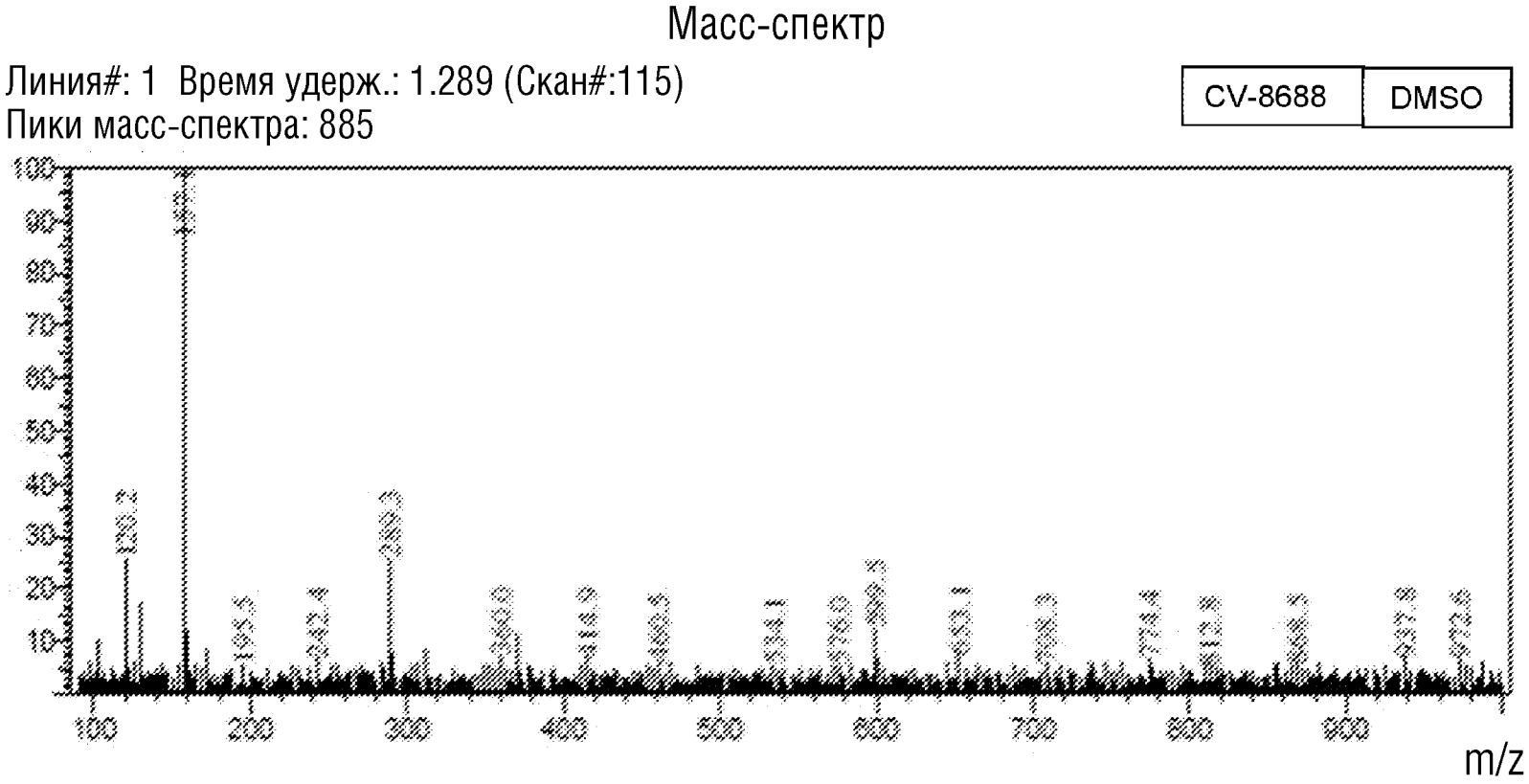
ФИГ.23E


Масс-спектр
Линия#: 1 Время удерж.: 1.487 (Скан#:132)
Пики масс-спектра: 895
CV-8686
RPMI
100
90
80
70
60
50
40
30
20
10
100
200
300
400
500
600
700
800
900
m/z

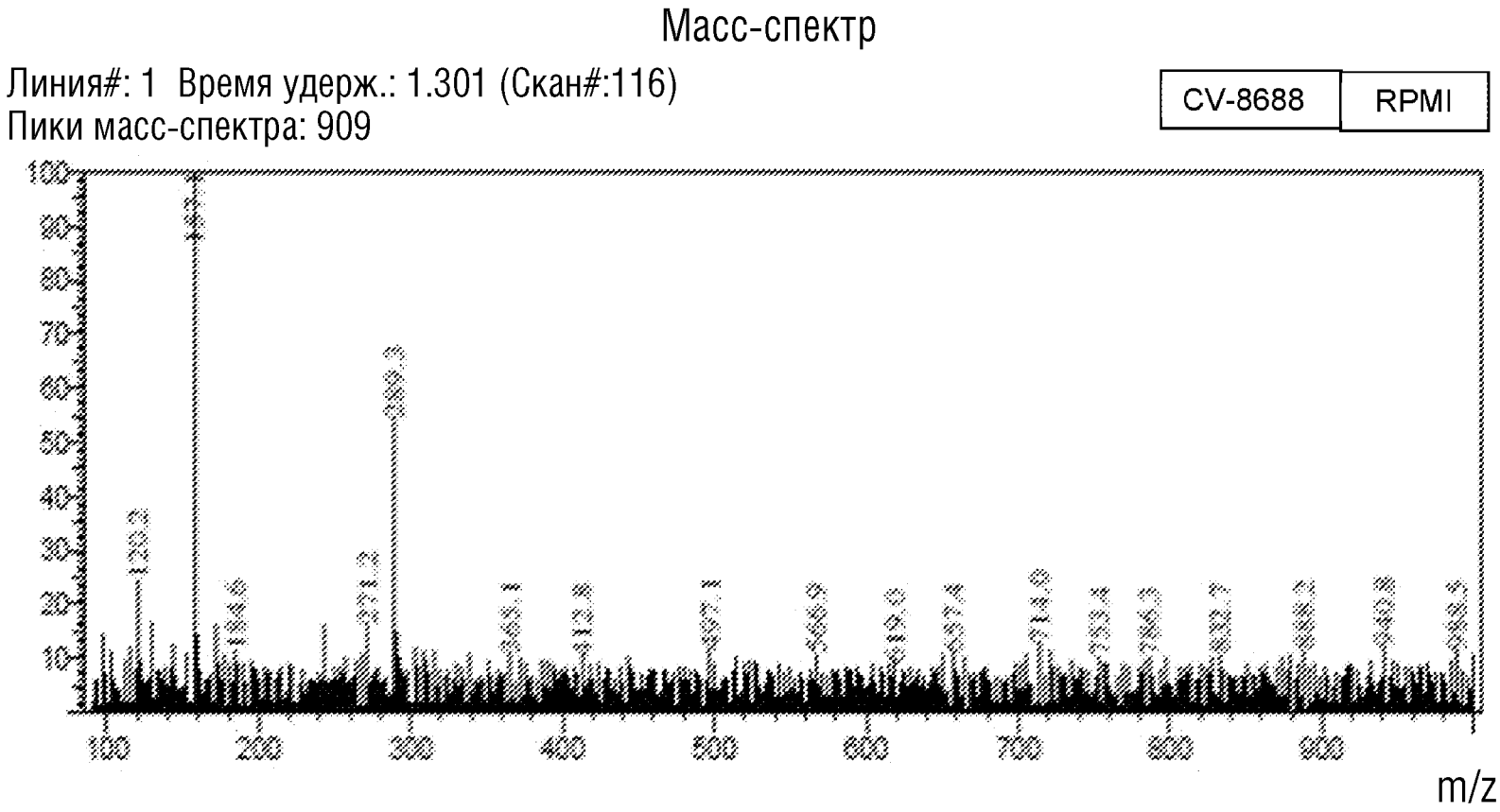
ФИГ.23F


Масс-спектр
Линия#: 1 Время удерж.: 1.487 (Скан#:132)
Пики масс-спектра: 906
CV-8686
DMEM
100
90
80
70
60
50
40
30
20
10
100
200
300
400
500
600
700
800
900
m/z

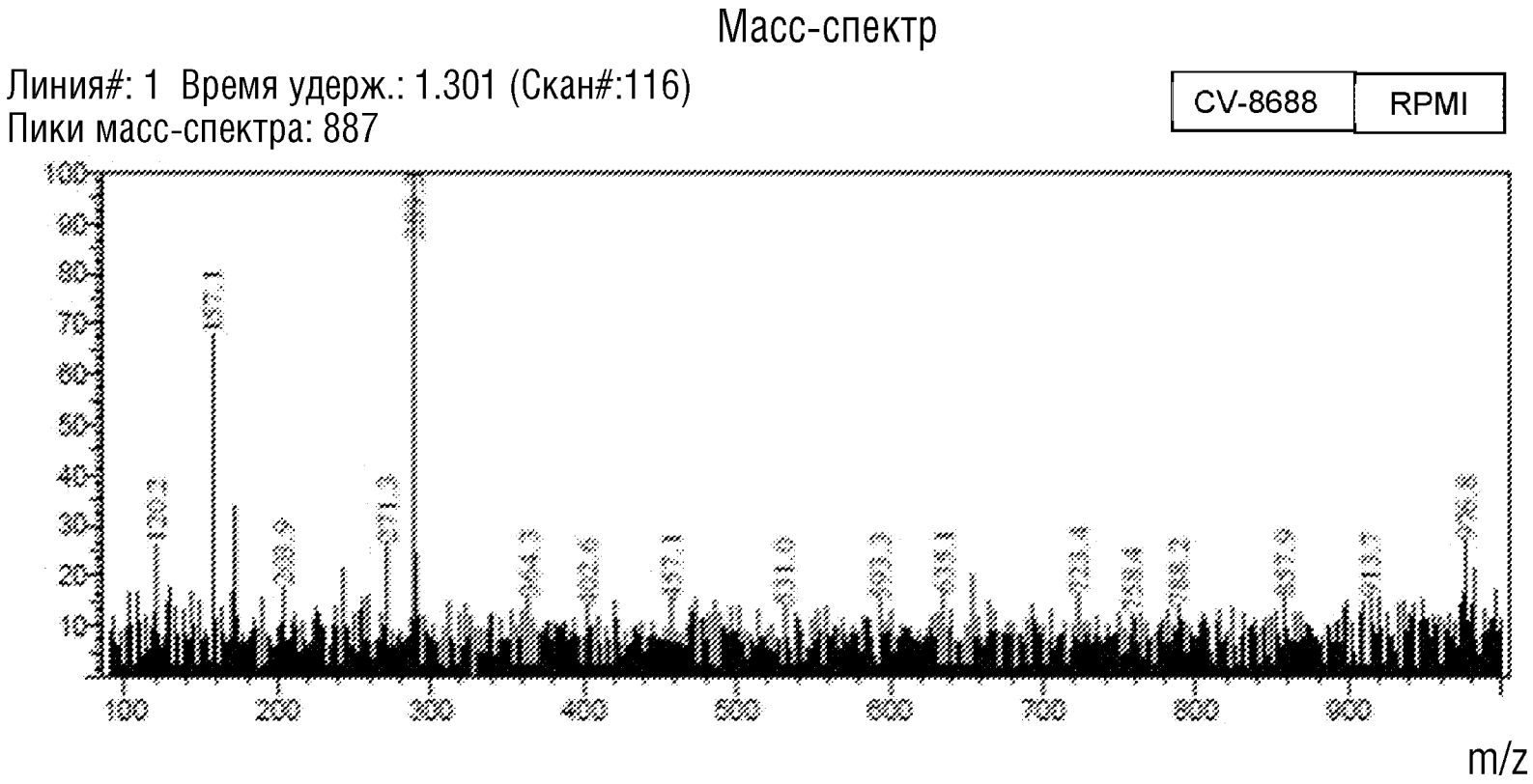
ФИГ.23G


Масс-спектр
Линия#: 1 Время удерж.: 1.289 (Скан#:115)
Пики масс-спектра: 885
CV-8688
DMSO
100
90
80
70
60
50
40
30
20
10
100
200
300
400
500
600
700
800
900
m/z

ФИГ.23H


Масс-спектр
Линия#: 1 Время удерж.: 1.301 (Скан#:116)
Пики масс-спектра: 909
CV-8688
RPMI
100
90
80
70
60
50
40
30
20
10
100
200
300
400
500
600
700
800
900
m/z

ФИГ.23I

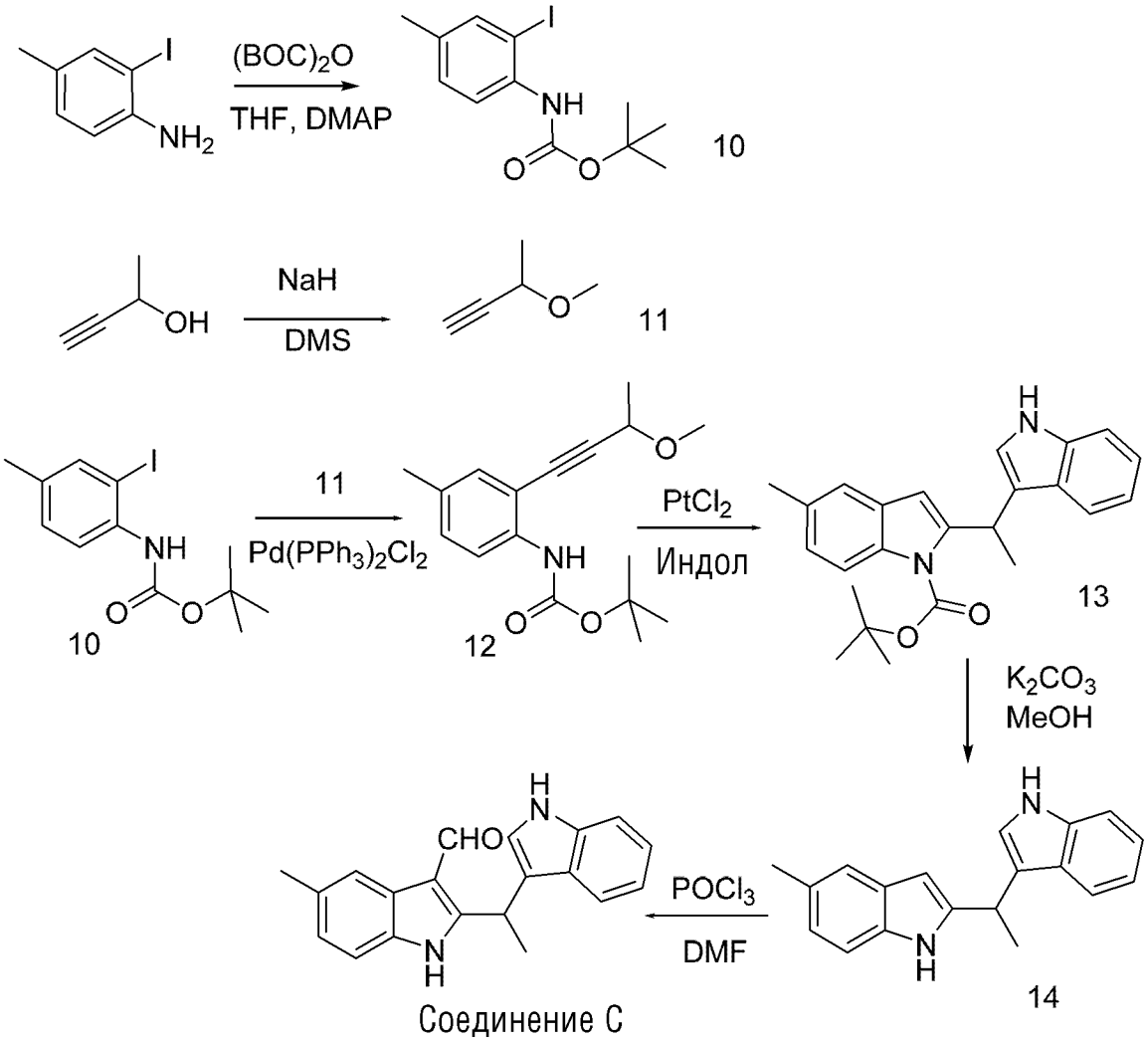

Масс-спектр
Линия#: 1 Время удерж.: 1.301 (Скан#:116)
Пики масс-спектра: 887
CV-8688
RPMI
100
90
80
70
60
50
40
30
20
10
100
200
300
400
500
600
700
800
900
m/z

ФИГ.23J

Соединение	Среда	Конц. (мкМ)	Время инкубации (ч)	ID	Хроматограмма		
					Время удерж.	Площадь	Остаток, %
CV-8684	DMSO	100	2	1	2.65	576025.00	100.00
	RPMI	100	2	2	1.25	538008.00	93.40
	DMEM	100	2	3	1.24	618641.00	107.40
CV-8686	DMSO	100	2	4	1.49	928029.00	100.00
	RPMI	100	2	5	1.49	924480.00	99.62
	DMEM	100	2	6	1.49	898129.00	96.78
CV-8688	DMSO	100	2	7	1.29	313314.00	100.00
	RPMI	100	2	8	1.31	333242.00	106.36
	DMEM	100	2	9	1.30	340709.00	108.74

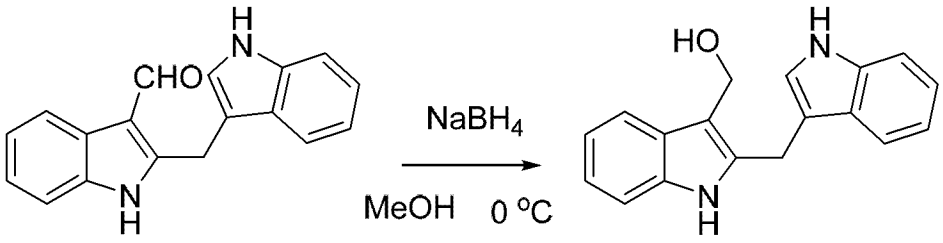
ФИГ.24

A


I
NH2
(BOC)2O
THF, DMAP
NH
O
O
10
OH
NaH
DMS
O
11
I
NH
O
O
10
11
Pd(PPh3)2Cl2
O
NH
O
O
12
PtCl2
Индол
H
N
N
O
O
13
K2CO3
MeOH
H
N
N
H
14
POCl3
DMF
CHO
H
N
N
H
Соединение C

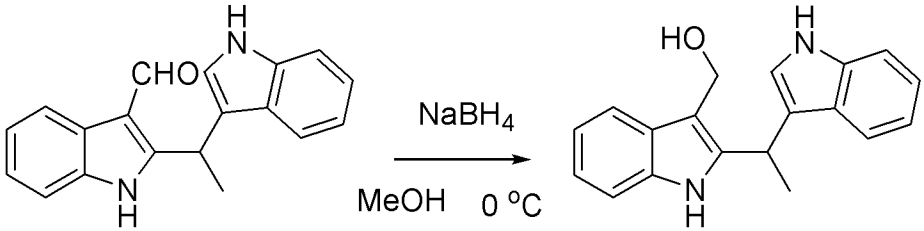
ФИГ.24 (ПРОДОЛЖЕНИЕ)

B



Малассезин Соединение K

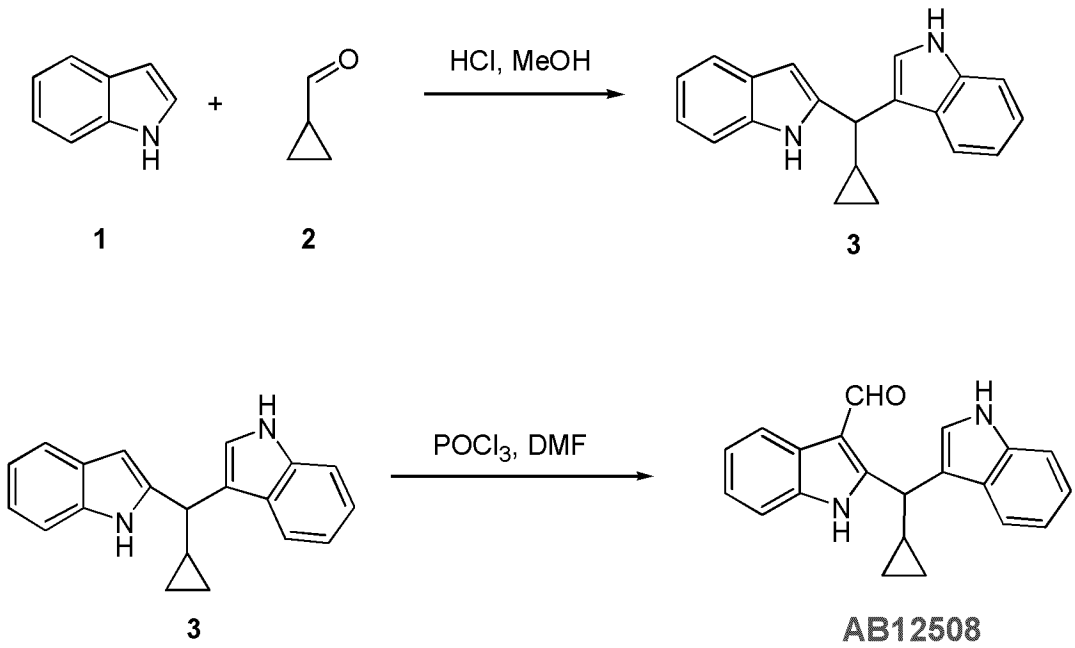
C



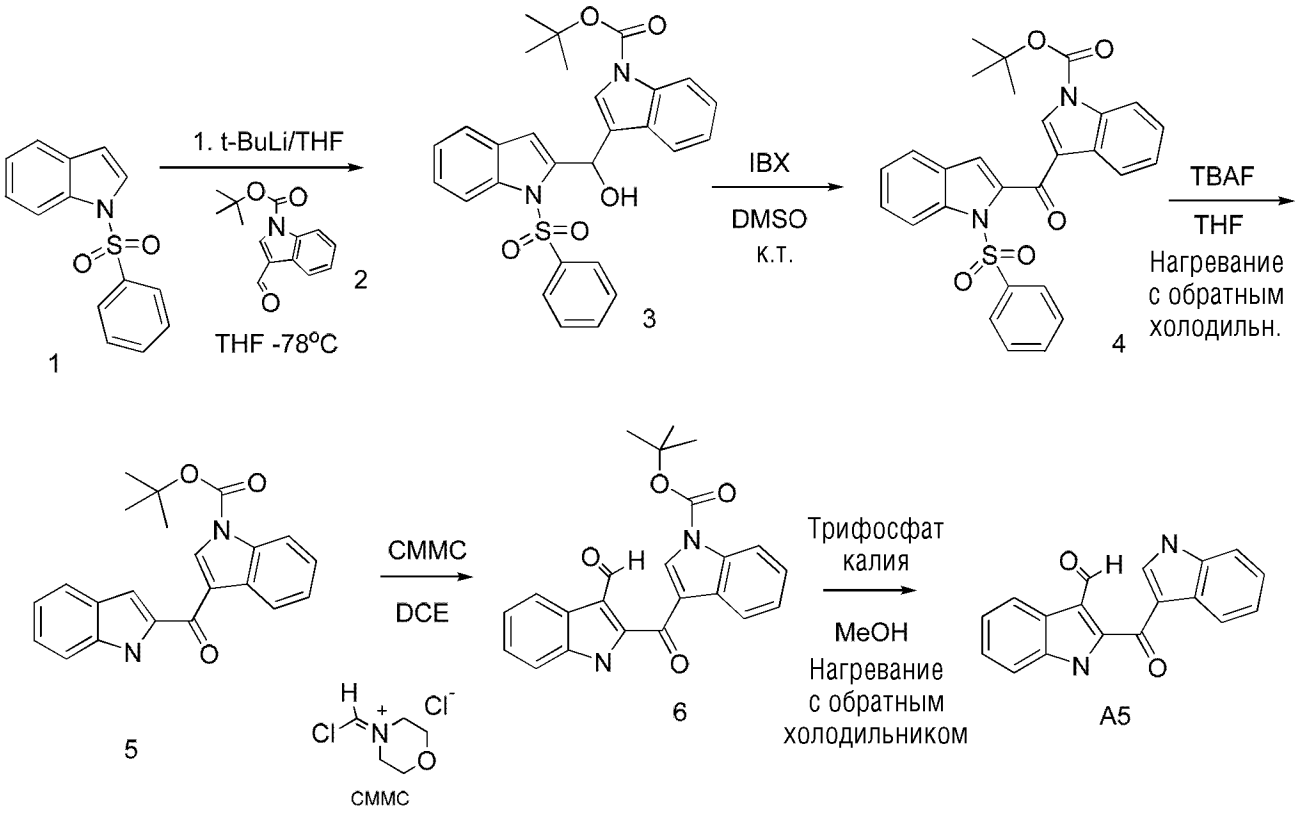
Соединение II Соединение A

ФИГ.24 (ПРОДОЛЖЕНИЕ)

D

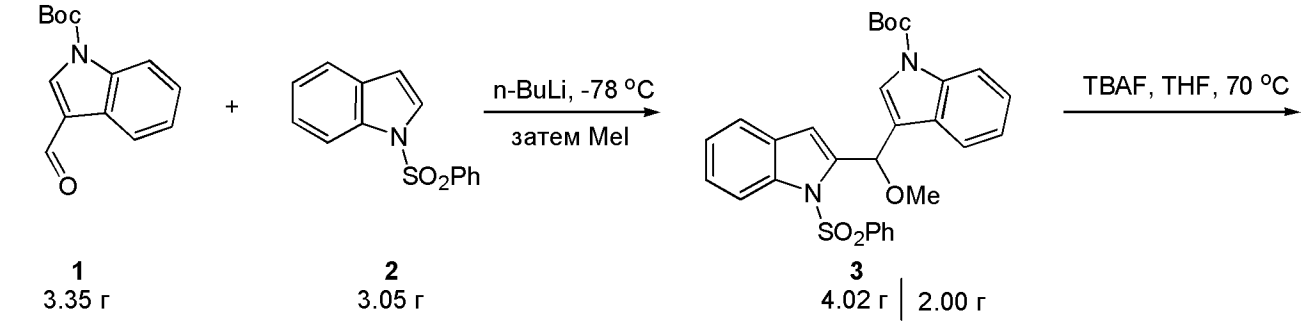


E



ФИГ.24 (ПРОДОЛЖЕНИЕ)

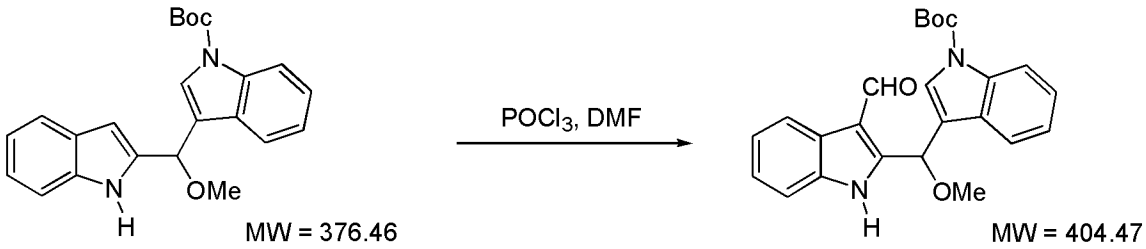
F



1
3.35 г

2
3.05 г

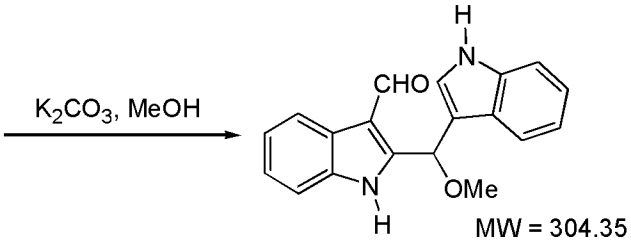
3
4.02 г | 2.00 г



4

2:1 соотношение согласно ЖХМС (4:3), добавили DMF - избегание концентрирования I Использовали неочищенный остаток

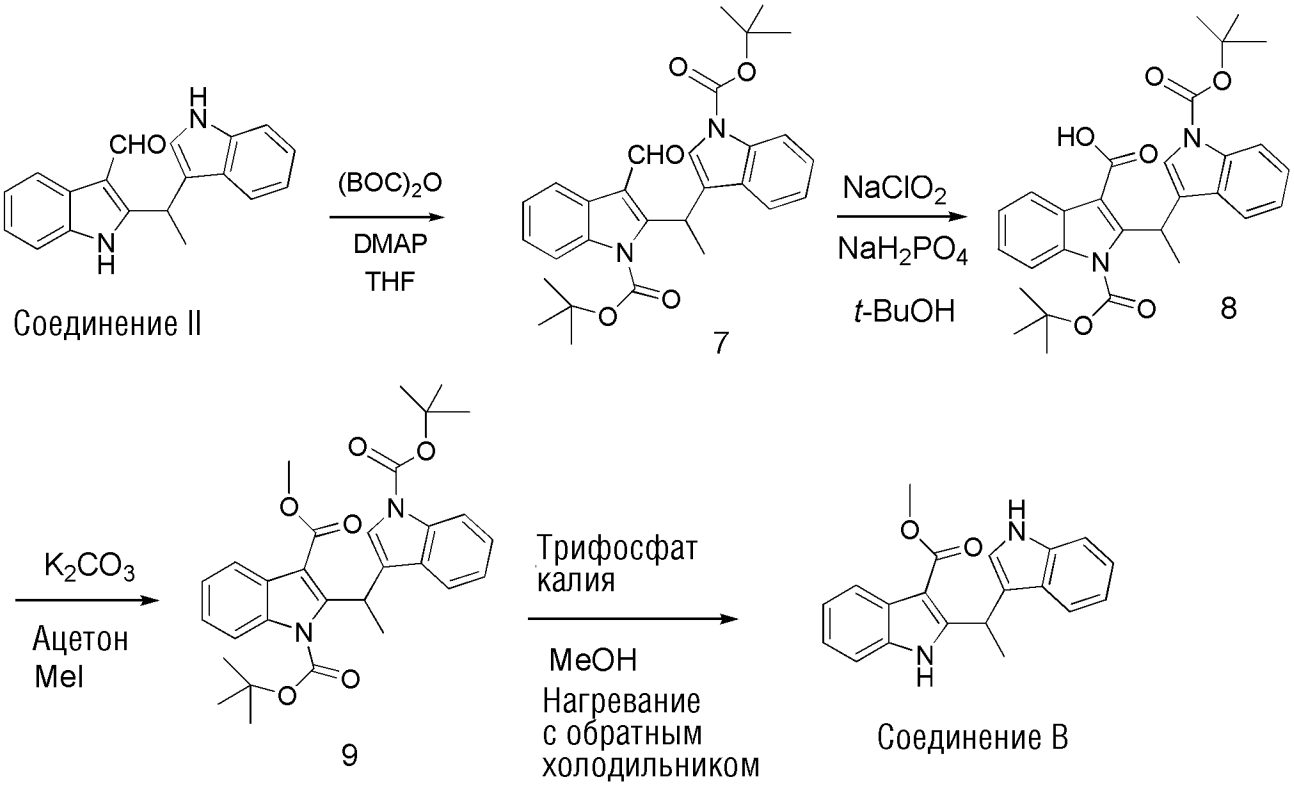
5
FCC: 881 мг | 350 мг



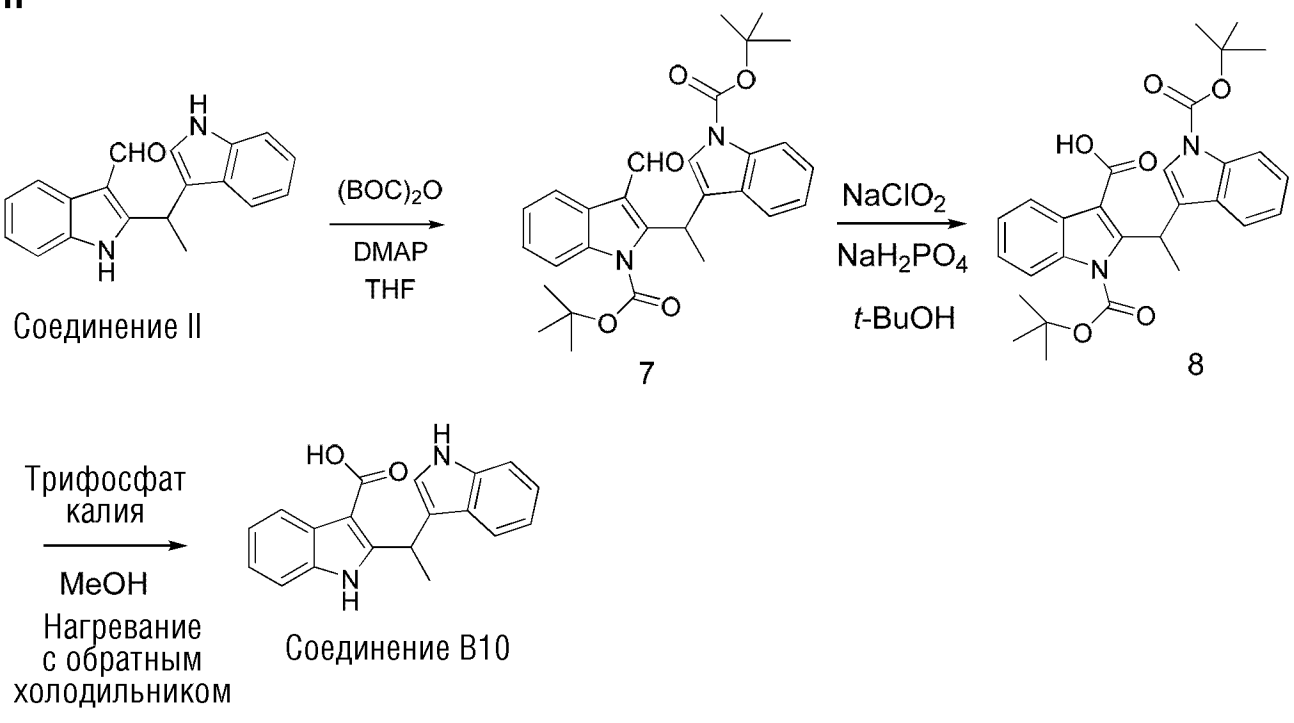
AB12509
Препаративная ВЭЖХ: 134 мг

ФИГ.24 (ПРОДОЛЖЕНИЕ)

G

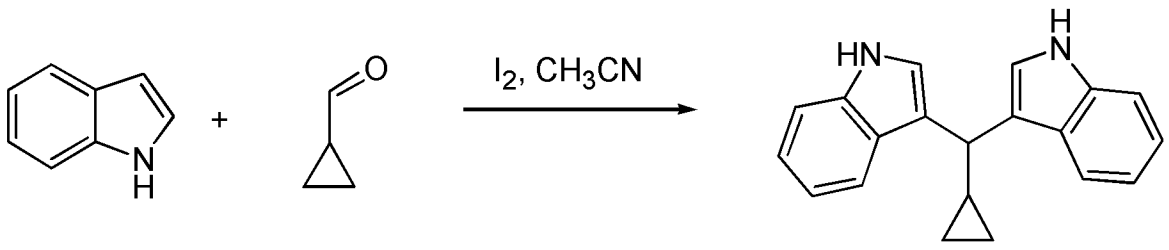


H



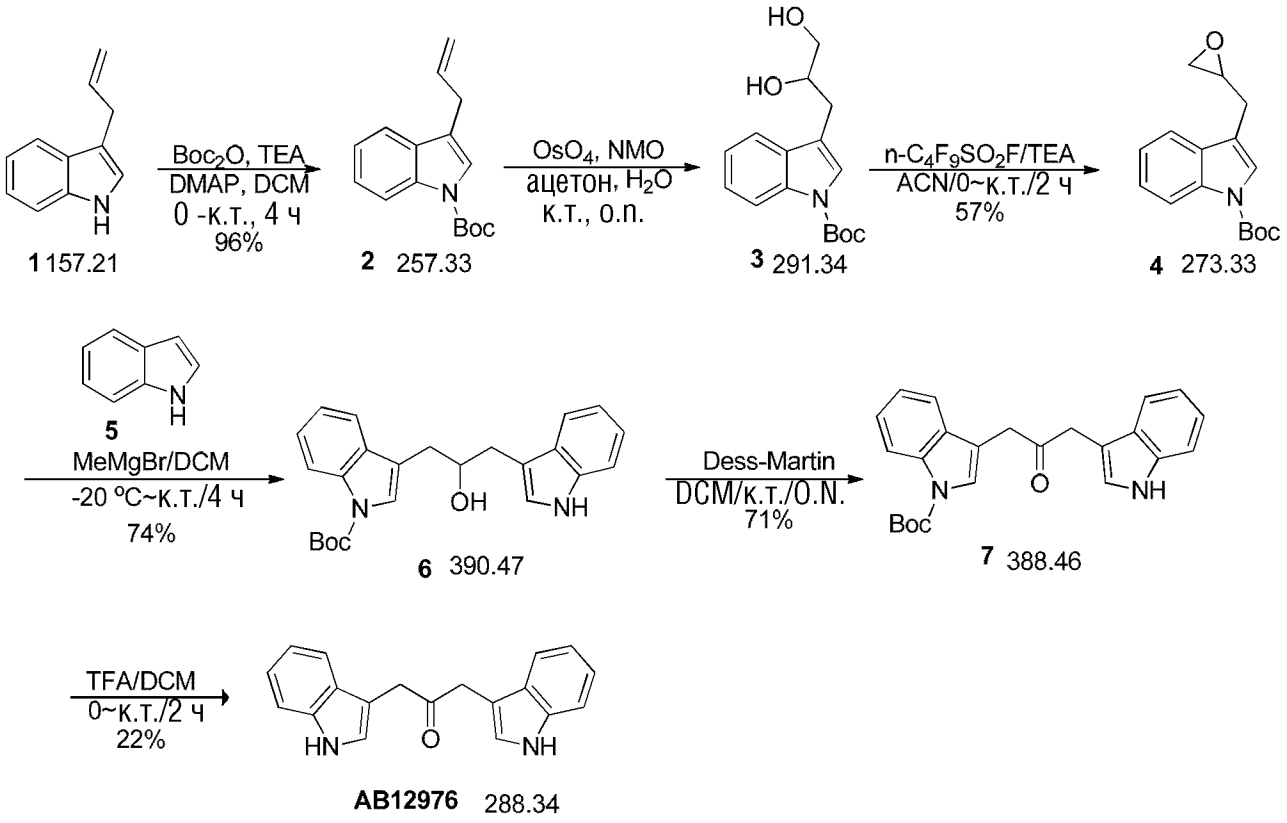
ФИГ.24 (ПРОДОЛЖЕНИЕ)

I



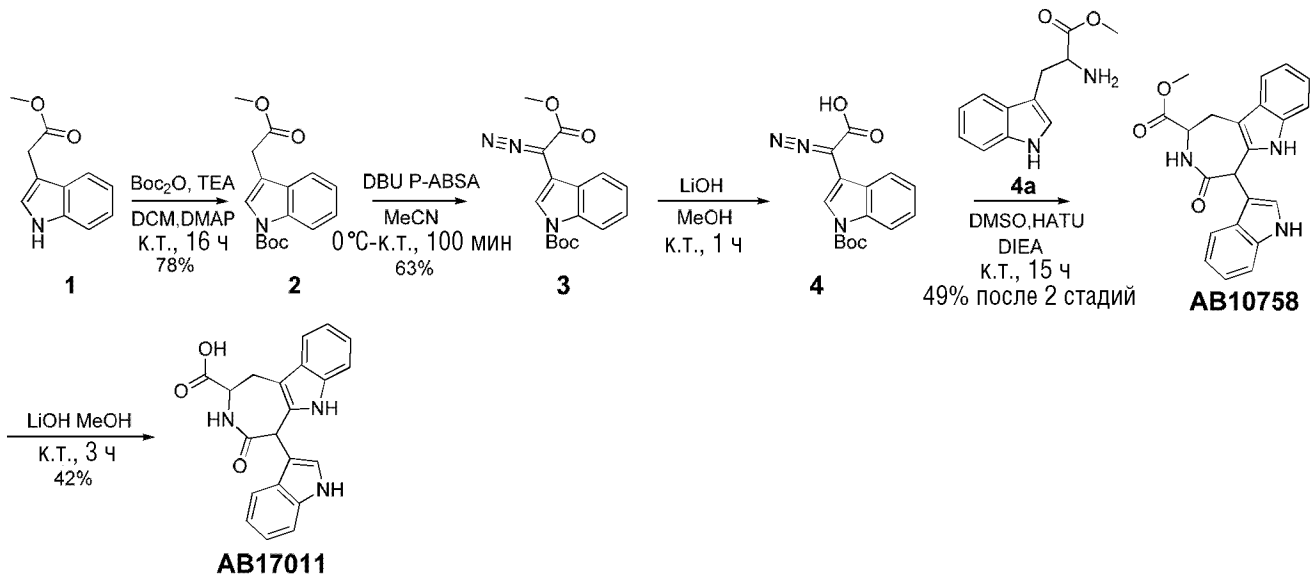
1 2 3

J

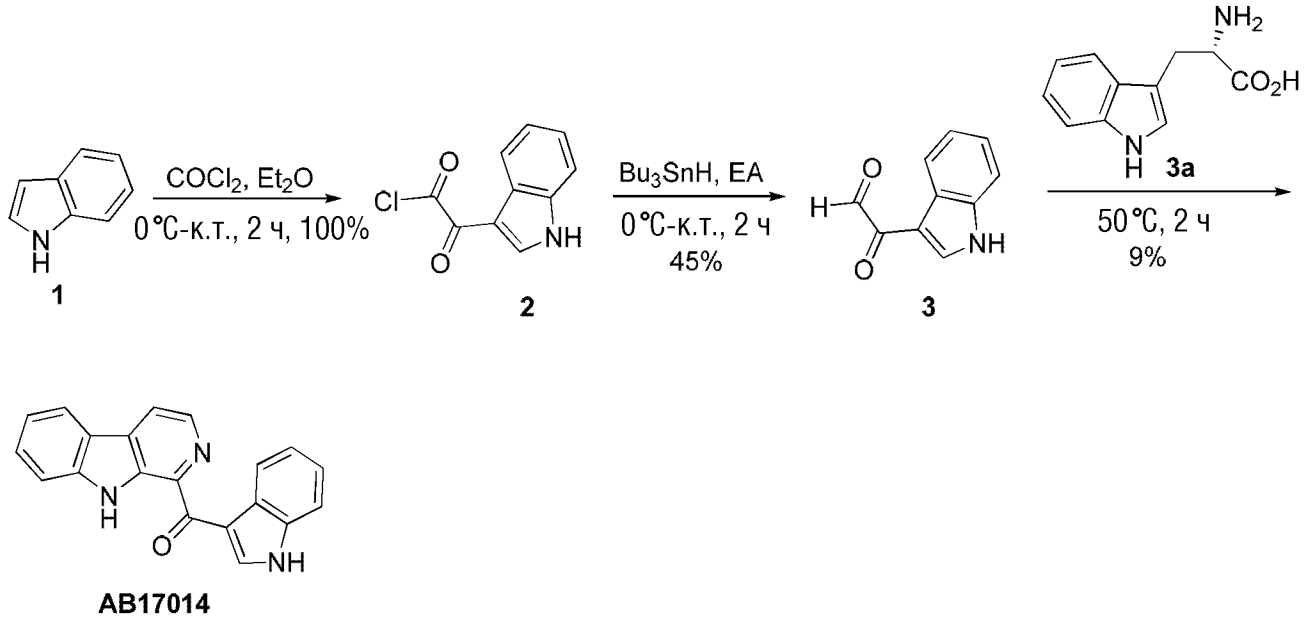


ФИГ.24 (ПРОДОЛЖЕНИЕ)

K

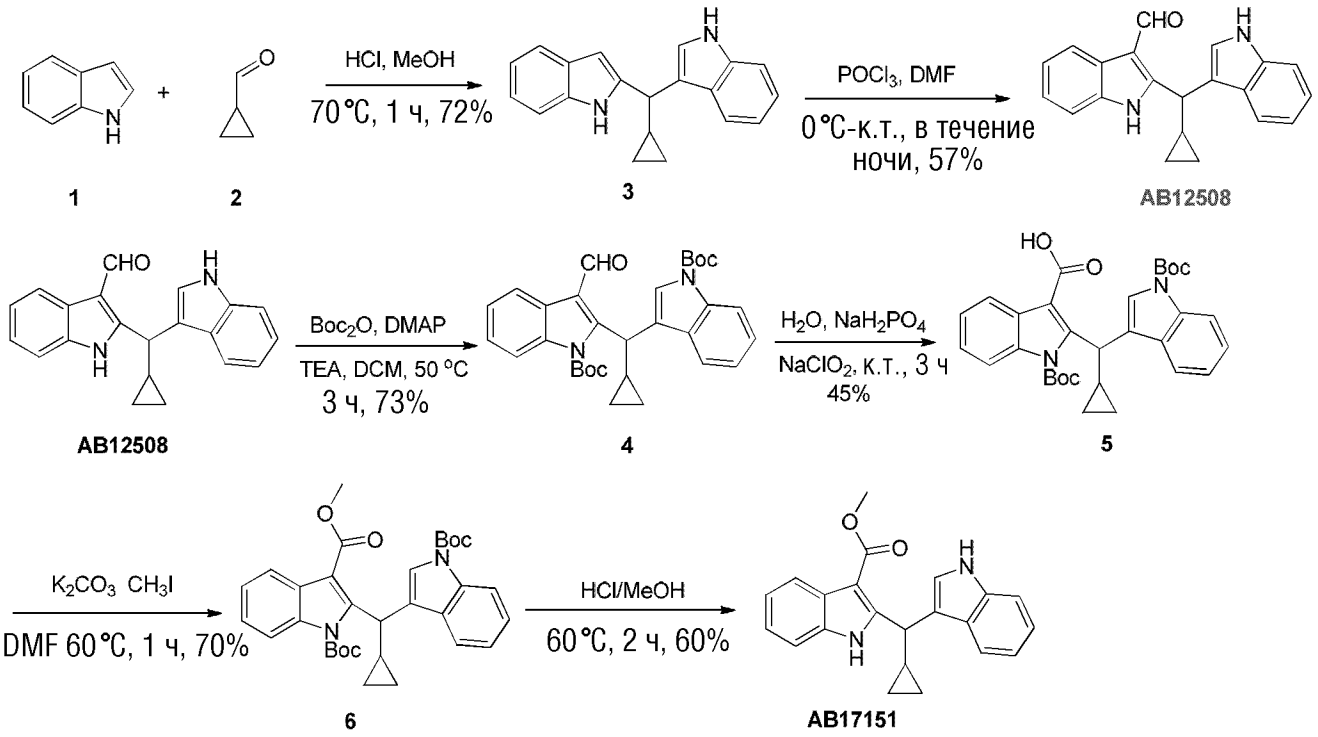


L

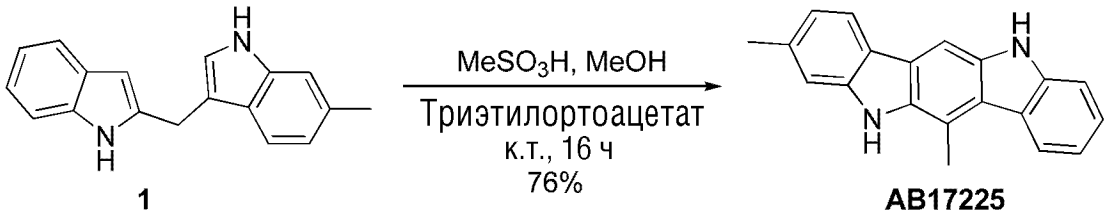


ФИГ.24 (ПРОДОЛЖЕНИЕ)

M

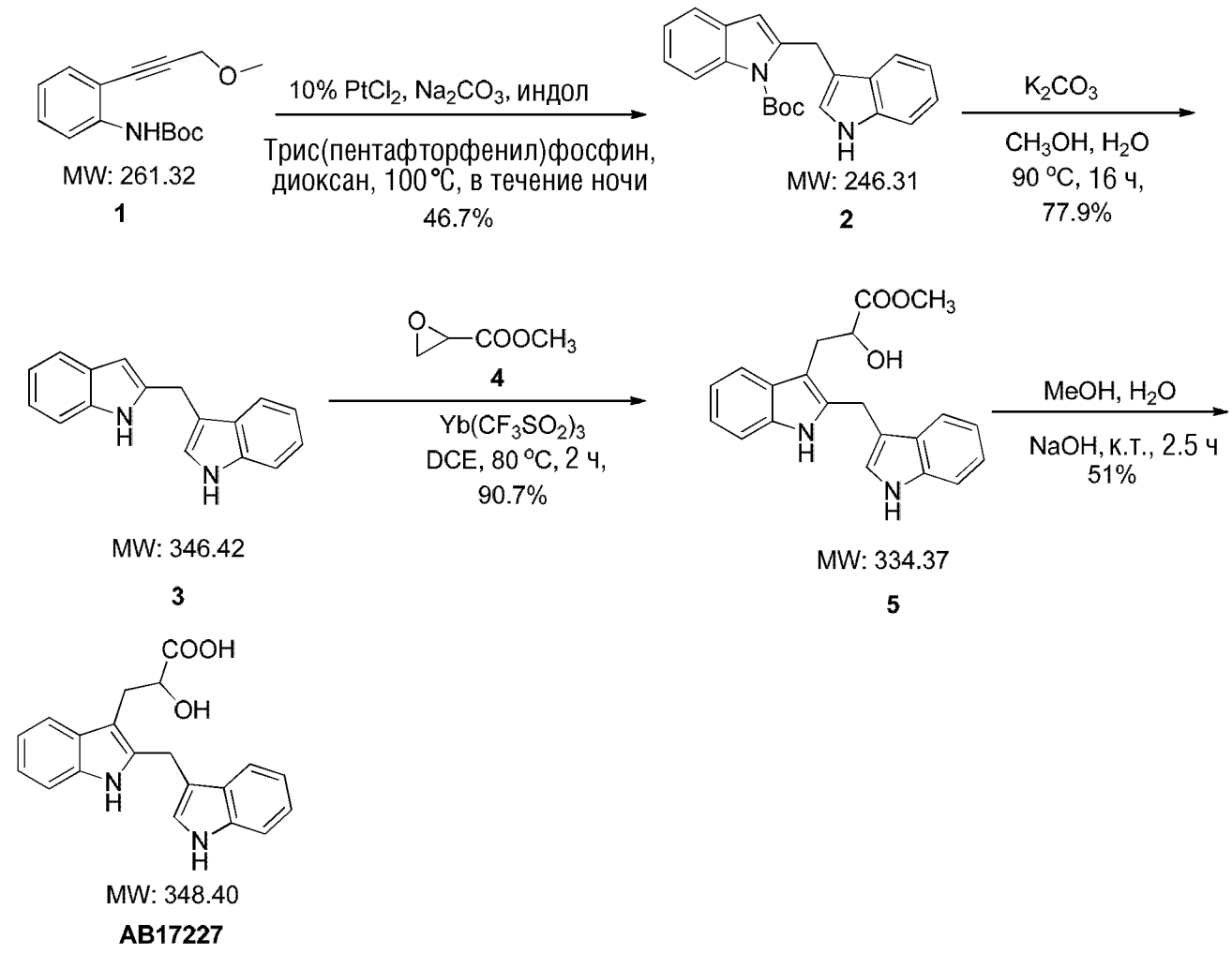


N



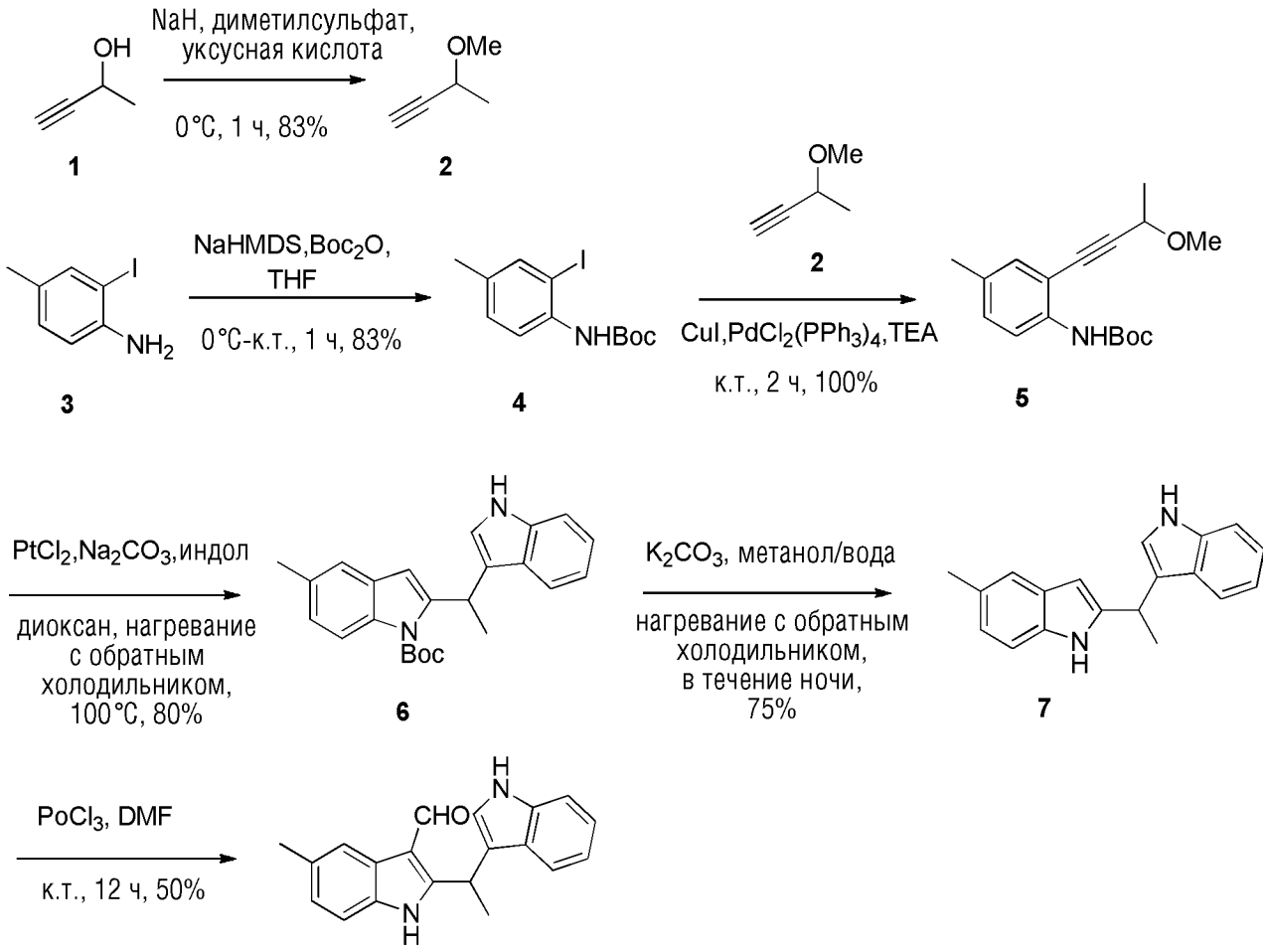
ФИГ.24 (ПРОДОЛЖЕНИЕ)

0



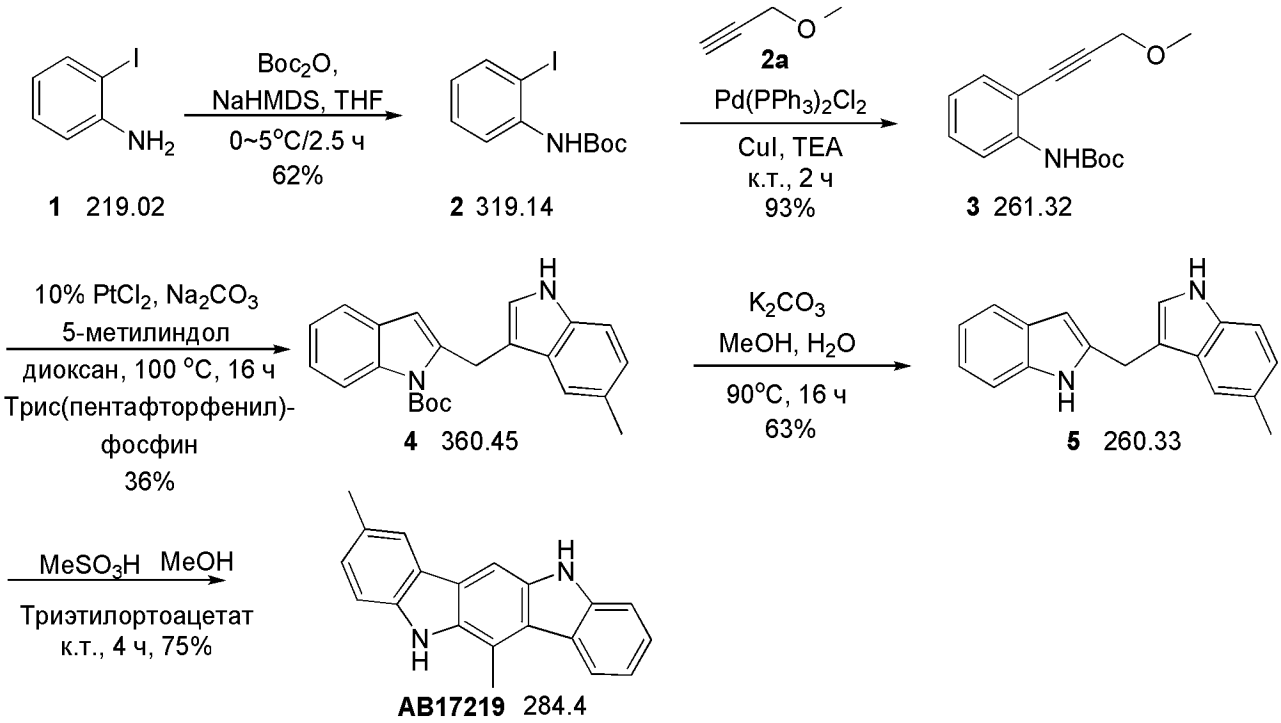
ФИГ.24 (ПРОДОЛЖЕНИЕ)

P

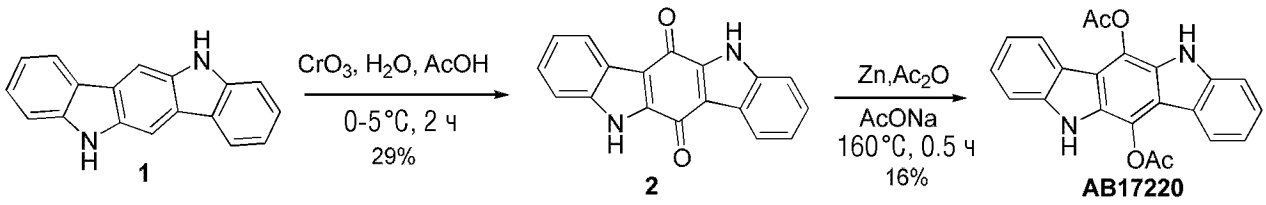


ФИГ.24 (ПРОДОЛЖЕНИЕ)

Q

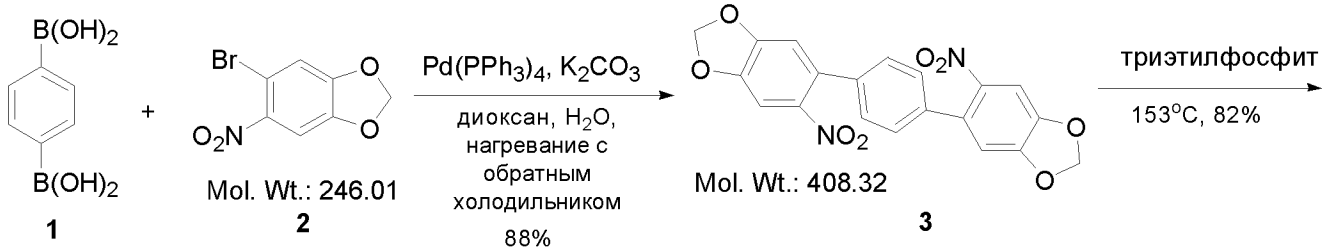


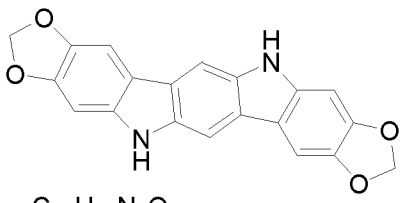
R



ФИГ.24 (ПРОДОЛЖЕНИЕ)

S





$C_{20}H_{12}N_2O_4$
Mol. Wt.: 344.32
9.4 мг

AB17221

ФИГ.25

A

6 часов

клетки WM115	Аннексин V-положительные клетки (%)				
	N=1	N=2	N=3	Среднее	SD
Стауроспорин 3 мкМ	13.10	6.73	10.35	10.06	3.19
Малассезин 100 мкМ	4.67	2.42	2.19	3.09	1.37
Малассезин 10 мкМ	1.65	2.51	2.28	2.15	0.45
Малассезин 1 мкМ	2.14	1.88	2.34	2.12	0.23
DMSO	1.95	1.55	1.57	1.69	0.23

клетки MeWo	Аннексин V-положительные клетки (%)				
	N=1	N=2	N=3	Среднее	SD
Стауроспорин 3 мкМ	54.70	59.40	57.20	57.10	2.35
Малассезин 100 мкМ	14.30	11.20	9.26	11.59	2.54
Малассезин 10 мкМ	4.24	3.76	5.50	4.50	0.90
Малассезин 1 мкМ	4.10	4.23	4.95	4.43	0.46
DMSO	4.89	4.13	4.23	4.42	0.41

клетки B16F1	Аннексин V-положительные клетки (%)				
	N=1	N=2	N=3	Среднее	SD
Стауроспорин 3 мкМ	7.82	7.26	4.72	6.60	1.65
Малассезин 100 мкМ	25.50	17.50	17.70	20.23	4.56
Малассезин 10 мкМ	3.33	6.88	4.41	4.87	1.82
Малассезин 1 мкМ	3.07	3.82	4.24	3.71	0.59
DMSO	3.60	2.41	2.36	2.79	0.70

ФИГ.25 (ПРОДОЛЖЕНИЕ)

B

24 часа

клетки WM115	Аннексин V-положительные клетки (%)				
	N=1	N=2	N=3	Среднее	SD
Стауроспорин 3 мкМ	15.95	22.10	24.50	20.85	4.41
Малассезин 100 мкМ	8.13	7.73	10.10	8.65	1.27
Малассезин 10 мкМ	3.45	4.12	3.46	3.68	0.38
Малассезин 1 мкМ	2.26	3.41	2.88	2.85	0.58
DMSO	3.03	2.82	2.79	2.88	0.13

MeWo клетки	Аннексин V-положительные клетки (%)				
	N=1	N=2	N=3	Среднее	SD
Стауроспорин 3 мкМ	60.90	61.70	46.2*	61.30	0.57
Малассезин 100 мкМ	27.20	16.30	11.50	18.33	8.05
Малассезин 10 мкМ	2.68	4.13	2.70	3.17	0.83
Малассезин 1 мкМ	5.99	2.04	2.50	3.51	2.16
DMSO	3.89	2.63	2.85	3.12	0.67

B16F1 клетки	Аннексин V-положительные клетки (%)				
	N=1	N=2	N=3	Среднее	SD
Стауроспорин 3 мкМ	28.00	21.70	37.90	29.20	8.17
Малассезин 100 мкМ	41.80	52.30	29.00	41.03	11.67
Малассезин 10 мкМ	5.61	5.51	5.60	5.57	0.06
Малассезин 1 мкМ	5.57	5.22	5.48	5.42	0.18
DMSO	5.27	5.52	5.56	5.45	0.16

ФИГ.25 (ПРОДОЛЖЕНИЕ)

C

48 часов

клетки WM115	Аннексин V-положительные клетки (%)				
	N=1	N=2	N=3	Среднее	SD
Стауроспорин 3 мкМ	32.60	41.20	36.70	36.83	4.30
Малассезин 100 мкМ	39.00	36.00	34.30	36.43	2.38
Малассезин 10 мкМ	5.05	4.03	5.70	4.93	0.84
Малассезин 1 мкМ	4.49	3.45	4.10	4.01	0.53
DMSO	3.59	2.83	6.05	4.16	1.68

клетки MeWo	Аннексин V-положительные клетки (%)				
	N=1	N=2	N=3	Среднее	SD
Стауроспорин 3 мкМ	78.80	73.70	67.30	73.27	5.76
Малассезин 100 мкМ	19.30	18.50	22.50	20.10	2.12
Малассезин 10 мкМ	3.04	2.90	6.25	4.06	1.90
Малассезин 1 мкМ	1.76	1.98	1.97	1.90	0.12
DMSO	2.77	2.08	2.48	2.44	0.35

клетки B16F1	Аннексин V-положительные клетки (%)				
	N=1	N=2	N=3	Среднее	SD
Стауроспорин 3 мкМ	31.40	36.40	30.40	32.73	3.21
Малассезин 100 мкМ	44.40	40.90	60.20	48.50	10.28
Малассезин 10 мкМ	4.28	5.77	4.11	4.72	0.91
Малассезин 1 мкМ	4.71	3.38	5.43	4.51	1.04
DMSO	4.58	4.97	4.06	4.54	0.46

ФИГ.25 (ПРОДОЛЖЕНИЕ)

D

72 часа

клетки WM115	Аннексин V-положительные клетки (%)				
	N=1	N=2	N=3	Среднее	SD
Стауроспорин 3 мкМ	47.80	38.90	52.00	46.23	6.69
Малассезин 100 мкМ	34.50	41.20	37.50	37.73	3.36
Малассезин 10 мкМ	3.45	2.65	3.61	3.24	0.51
Малассезин 1 мкМ	2.15	2.25	1.93	2.11	0.16
DMSO	2.21	1.53	3.77	2.50	1.15

клетки MeWo	Аннексин V-положительные клетки (%)				
	N=1	N=2	N=3	Среднее	SD
Стауроспорин 3 мкМ	73.70	72.70	76.00	74.13	1.69
Малассезин 100 мкМ	25.20	25.30	27.00	25.83	1.01
Малассезин 10 мкМ	3.89	4.33	4.68	4.30	0.40
Малассезин 1 мкМ	3.97	2.57	3.91	3.48	0.79
DMSO	3.19	4.47	3.35	3.67	0.70

клетки B16F1	Аннексин V-положительные клетки (%)				
	N=1	N=2	N=3	Среднее	SD
Стауроспорин 3 мкМ	55.20	62.20	60.80	59.40	3.70
Малассезин 100 мкМ	46.50	44.90	63.60	51.67	10.37
Малассезин 10 мкМ	3.12	4.58	2.66	3.45	1.00
Малассезин 1 мкМ	2.52	2.69	3.51	2.91	0.53
DMSO	3.27	2.25	3.26	2.93	0.59

ФИГ.26

A

6 часов

Клетки WM115	Считываемый сигнал			Кратность индукции				
	N=1	N=2	N=3	N=1	N=2	N=3	Ave	SD
Стауроспорин 3 мкМ	2220000	2250000	2330000	16.51	16.73	17.32	16.85	0.42
Малассезин 100 мкМ	181050	182480	223520	1.35	1.36	1.66	1.45	0.18
Малассезин 10 мкМ	163720	124340	146750	1.22	0.92	1.09	1.08	0.15
Малассезин 1 мкМ	182480	124340	150390	1.36	0.92	1.12	1.13	0.22
DMSO	138590	130410		1.03	0.97		1.00	0.04

Клетки MeWo	Считываемый сигнал			Кратность индукции				
	N=1	N=2	N=3	N=1	N=2	N=3	Ave	SD
Стауроспорин 3 мкМ	255760	259760	278780	13.19	13.39	14.37	13.65	0.63
Малассезин 100 мкМ	75380	51250	61410	3.89	2.64	3.17	3.23	0.62
Малассезин 10 мкМ	22660	20440	19440	1.17	1.05	1.00	1.07	0.08
Малассезин 1 мкМ	22190	21050	20450	1.14	1.09	1.05	1.09	0.05
DMSO	20540	18250		1.06	0.94		1.00	0.08

Клетки B16F1	Считываемый сигнал			Кратность индукции				
	N=1	N=2	N=3	N=1	N=2	N=3	Ave	SD
Стауроспорин 3 мкМ	149050	140680	188470	1.64	1.55	2.07	1.75	0.28
Малассезин 100 мкМ	87610	112360	92150	0.96	1.24	1.01	1.07	0.15
Малассезин 10 мкМ	98620	101560	88650	1.09	1.12	0.98	1.06	0.07
Малассезин 1 мкМ	86040	85550	91320	0.95	0.94	1.01	0.96	0.04
DMSO	91610	90050		1.01	0.99		1.00	0.01

ФИГ.26 (ПРОДОЛЖЕНИЕ)

B

24 часа

Клетки WM115	Считываемый сигнал			Кратность индукции				
	N=1	N=2	N=3	N=1	N=2	N=3	Ave	SD
Стауроспорин 3 мкМ	1920000	2110000	1690000	11.34	12.47	9.99	11.27	1.24
Малассезин 100 мкМ	855040	860450	808430	5.05	5.08	4.78	4.97	0.17
Малассезин 10 мкМ	244980	200840	199290	1.45	1.19	1.18	1.27	0.15
Малассезин 1 мкМ	860450	200840	196480	5.08	1.19	1.16	2.48	2.26
DMSO	162860	175640		0.96	1.04		1.00	0.05

Клетки MeWo	Считываемый сигнал			Кратность индукции				
	N=1	N=2	N=3	N=1	N=2	N=3	Ave	SD
Стауроспорин 3 мкМ	111200	115240	127890	3.85	3.99	4.43	4.09	0.30
Малассезин 100 мкМ	71560	71400	72090	2.48	2.47	2.50	2.48	0.01
Малассезин 10 мкМ	35400	32220	28450	1.23	1.12	0.99	1.11	0.12
Малассезин 1 мкМ	29770	31790	33580	1.03	1.10	1.16	1.10	0.07
DMSO	30850	26910		1.07	0.93		1.00	0.10

Клетки B16F1	Считываемый сигнал			Кратность индукции				
	N=1	N=2	N=3	N=1	N=2	N=3	Ave	SD
Стауроспорин 3 мкМ	426060	426770	463460	2.48	2.48	2.69	2.55	0.12
Малассезин 100 мкМ	118170	157630	89620	0.69	0.92	0.52	0.71	0.20
Малассезин 10 мкМ	204350	201350	200050	1.19	1.17	1.16	1.17	0.01
Малассезин 1 мкМ	191490	182800	160280	1.11	1.06	0.93	1.04	0.09
DMSO	171320	172750		1.00	1.00		1.00	0.01

ФИГ.26 (ПРОДОЛЖЕНИЕ)

C

48 часов

Клетки WM115	Считываемый сигнал			Кратность индукции				
	N=1	N=2	N=3	N=1	N=2	N=3	Ave	SD
Стауроспорин 3 мкМ	439420	401650	404690	4.09	3.74	3.77	3.87	0.20
Малассезин 100 мкМ	396740	357900	390540	3.70	3.33	3.64	3.56	0.19
Малассезин 10 мкМ	101050	107400	106450	0.94	1.00	0.99	0.98	0.03
Малассезин 1 мкМ	357900	107400	83700	3.33	1.00	0.78	1.70	1.42
DMSO	101630	113050		0.95	1.05		1.00	0.08

Клетки MeWo	Считываемый сигнал			Кратность индукции				
	N=1	N=2	N=3	N=1	N=2	N=3	Ave	SD
Стауроспорин 3 мкМ	28860	29940	31480	1.27	1.31	1.38	1.32	0.06
Малассезин 100 мкМ	29730	31300	29110	1.30	1.37	1.28	1.32	0.05
Малассезин 10 мкМ	25480	25270	23030	1.12	1.11	1.01	1.08	0.06
Малассезин 1 мкМ	20600	21340	21430	0.90	0.94	0.94	0.93	0.02
DMSO	24370	21240		1.07	0.93		1.00	0.10

Клетки B16F1	Считываемый сигнал			Кратность индукции				
	N=1	N=2	N=3	N=1	N=2	N=3	Ave	SD
Стауроспорин 3 мкМ	87300	89350	97420	0.54	0.55	0.60	0.56	0.03
Малассезин 100 мкМ	93860	117180	77210	0.58	0.72	0.47	0.59	0.12
Малассезин 10 мкМ	180140	162570	151430	1.11	1.00	0.93	1.01	0.09
Малассезин 1 мкМ	166970	159210	158510	1.02	0.98	0.97	0.99	0.03
DMSO	171750	154180		1.05	0.95		1.00	0.08

ФИГ.26 (ПРОДОЛЖЕНИЕ)

D

72 часа

Клетки WM115	Считываемый сигнал			Кратность индукции				
	N=1	N=2	N=3	N=1	N=2	N=3	Ave	SD
Стауроспорин 3 мкМ	224120	237780	212930	2.04	2.16	1.94	2.04	0.11
Малассезин 100 мкМ	218370	189720	233950	1.98	1.72	2.13	1.95	0.20
Малассезин 10 мкМ	160670	128640	136350	1.46	1.17	1.24	1.29	0.15
Малассезин 1 мкМ	189720	128640	155770	1.72	1.17	1.42	1.44	0.28
DMSO	112520	107530		1.02	0.98		1.00	0.03

Клетки MeWo	Считываемый сигнал			Кратность индукции				
	N=1	N=2	N=3	N=1	N=2	N=3	Ave	SD
Стауроспорин 3 мкМ	21290	23360	25360	0.71	0.78	0.84	0.78	0.07
Малассезин 100 мкМ	22980	19750	21920	0.76	0.66	0.73	0.72	0.05
Малассезин 10 мкМ	37530	34530	31040	1.25	1.15	1.03	1.14	0.11
Малассезин 1 мкМ	38000	30330	33710	1.26	1.01	1.12	1.13	0.13
DMSO	32570	27590		1.08	0.92		1.00	0.12

Клетки B16F1	Считываемый сигнал			Кратность индукции				
	N=1	N=2	N=3	N=1	N=2	N=3	Ave	SD
Стауроспорин 3 мкМ	60080	64210	61460	0.29	0.31	0.29	0.29	0.01
Малассезин 100 мкМ	50590	75290	40950	0.24	0.36	0.19	0.26	0.08
Малассезин 10 мкМ	245660	217740	216060	1.17	1.03	1.03	1.08	0.08
Малассезин 1 мкМ	248010	212710	202460	1.18	1.01	0.96	1.05	0.11
DMSO	220950	199920		1.05	0.95		1.00	0.07

ФИГ.27

A

Линия клеток	MeWo	AB12508			
Продолжительность анализа	CTG Доза	Жизнеспособность оставшихся клеток n=1	n=2	Среднее	STD
6 ч	100	82.35	84.16	83.25	1.28
	10	87.56	95.62	91.59	5.70
	1	95.68	91.78	93.73	2.76
24 ч	100	45.77	45.79	45.78	0.02
	10	98.51	92.71	95.61	4.10
	1	87.68	91.92	89.80	3.00
48 ч	100	10.83	10.96	10.89	0.09
	10	91.37	94.48	92.92	2.20
	1	95.01	94.03	94.52	0.70

B

Линия клеток	WM115	AB12508			
Продолжительность анализа	CTG Доза	Жизнеспособность оставшихся клеток n=1	n=2	Среднее	STD
6 ч	100	85.11	87.94	86.52	2.01
	10	93.21	99.29	96.25	4.30
	1	99.70	94.02	96.86	4.01
24 ч	100	100.94	101.83	101.39	0.63
	10	104.95	108.50	106.73	2.52
	1	105.39	101.83	103.61	2.52
48 ч	100	80.71	77.59	79.15	2.21
	10	85.62	93.65	89.63	5.68
	1	89.63	94.98	92.31	3.78

ФИГ.28

A

Линия клеток	MeWo	Неизвестная композиция			
Продолжительность	CTG	Жизнеспособность оставшихся клеток			
анализа	Доза	n=1	n=2	Среднее	STD
6 ч	100	57.18	57.22	57.20	0.02
	10	96.22	98.76	97.49	1.80
	1	97.44	94.97	96.20	1.75
24 ч	100	18.22	14.06	16.14	2.94
	10	91.79	95.46	93.62	2.60
	1	93.44	89.09	91.26	3.08
48 ч	100	1.62	2.44	2.03	0.59
	10	85.59	93.92	89.75	5.89
	1	94.85	95.56	95.20	0.50

B

Линия клеток	WM115	Неизвестная композиция			
Продолжительность	CTG	Жизнеспособность оставшихся клеток			
анализа	Доза	n=1	n=2	Среднее	STD
6 ч	100	79.43	77.41	78.42	1.43
	10	98.07	100.51	99.29	1.72
	1	101.72	102.53	102.13	0.57
24 ч	100	46.69	51.14	48.92	3.14
	10	101.39	96.94	99.17	3.14
	1	103.61	104.95	104.28	0.94
48 ч	100	38.06	19.46	28.76	13.15
	10	100.33	101.23	100.78	0.63
	1	105.24	107.47	106.35	1.58

ФИГ.29

A

Линия клеток	MeWo	CV-8803			
Продолжительность анализа	CTG Доза	Жизнеспособность оставшихся клеток n=1	n=2	Среднее	STD
6 ч	**100**	105.98	100.04	103.01	4.21
	10	96.82	95.44	96.13	0.97
	1	105.87	91.41	98.64	10.23
24 ч	**100**	6.96	6.46	6.71	0.36
	10	87.44	94.71	91.08	5.14
	1	94.98	93.92	94.45	0.75
48 ч	**100**	1.19	0.93	1.06	0.19
	10	80.80	83.68	82.24	2.04
	1	90.51	94.15	92.33	2.58

B

Линия клеток	WM115	CV-8803			
Продолжительность анализа	CTG Доза	Жизнеспособность оставшихся клеток n=1	n=2	Среднее	STD
6 ч	**100**	63.63	63.22	63.42	0.29
	10	96.05	98.48	97.26	1.72
	1	101.32	102.94	102.13	1.15
24 ч	**100**	4.19	4.99	4.59	0.57
	10	95.61	92.50	94.05	2.20
	1	103.61	105.84	104.72	1.57
48 ч	**100**	5.53	5.27	5.40	0.18
	10	94.98	95.88	95.43	0.63
	1	105.24	104.79	105.02	0.32

ФИГ.30

A

Линия клеток	MeWo	CV-8804			
Продолжительность анализа	CTG Доза	Жизнеспособность оставшихся клеток n=1	n=2	Среднее	STD
6 ч	100	99.32	100.53	99.93	0.85
	10	97.68	101.53	99.61	2.72
	1	102.86	96.92	99.89	4.20
24 ч	100	6.81	4.47	5.64	1.66
	10	91.87	99.02	95.44	5.06
	1	103.42	91.64	97.53	8.33
48 ч	100	0.74	0.86	0.80	0.08
	10	81.48	90.26	85.87	6.20
	1	91.51	96.64	94.08	3.62

B

Линия клеток	WM115	CV-8804			
Продолжительность анализа	CTG Доза	Жизнеспособность оставшихся клеток n=1	n=2	Среднее	STD
6 ч	100	77.81	75.38	76.60	1.72
	10	104.15	101.32	102.74	2.01
	1	102.53	102.53	102.53	0.00
24 ч	100	7.90	6.61	7.25	0.91
	10	99.17	96.94	98.05	1.57
	1	105.84	103.61	104.72	1.57
48 ч	100	7.40	6.54	6.97	0.61
	10	98.10	92.75	95.43	3.78
	1	99.44	101.67	100.56	1.58

ФИГ.31

A

Линия клеток	MeWo	CV-8684			
Продолжительность	CTG	Жизнеспособность оставшихся клеток			
анализа	Доза	n=1	n=2	Среднее	STD
6 ч	100	99.56	88.78	94.17	7.63
	10	92.93	92.15	92.54	0.55
	1	94.49	93.63	94.06	0.60
24 ч	100	70.91	64.06	67.48	4.85
	10	99.00	99.52	99.26	0.37
	1	97.41	94.46	95.93	2.09
48 ч	100	57.50	57.06	57.28	0.31
	10	97.52	90.78	94.15	4.77
	1	98.40	95.24	96.82	2.24

B

Линия клеток	WM115	CV-8684			
Продолжительность	CTG	Жизнеспособность оставшихся клеток			
анализа	Доза	n=1	n=2	Среднее	STD
6 ч	100	72.54	68.49	70.52	2.87
	10	95.24	89.97	92.60	3.73
	1	102.94	97.26	100.10	4.01
24 ч	100	74.71	72.48	73.60	1.57
	10	101.83	95.61	98.72	4.40
	1	105.39	98.28	101.83	5.03
48 ч	100	66.00	64.21	65.11	1.26
	10	93.65	96.32	94.98	1.89
	1	100.78	104.35	102.56	2.52

ФИГ.32

A

Линия клеток	MeWo	CV-8685			
Продолжительность анализа	CTG Доза	Жизнеспособность оставшихся клеток n=1	n=2	Среднее	STD
6 ч	100	92.64	96.74	94.69	2.90
	10	92.39	96.06	94.23	2.60
	1	100.10	97.58	98.84	1.78
24 ч	100	95.40	91.52	93.46	2.74
	10	90.87	94.09	92.48	2.27
	1	91.51	92.86	92.18	0.95
48 ч	100	101.31	91.78	96.55	6.74
	10	101.77	97.39	99.58	3.10
	1	97.57	103.69	100.63	4.32

B

Линия клеток	WM115	CV-8685			
Продолжительность анализа	CTG Доза	Жизнеспособность оставшихся клеток n=1	n=2	Среднее	STD
6 ч	100	91.59	98.07	94.83	4.59
	10	94.83	97.67	96.25	2.01
	1	100.10	102.53	101.32	1.72
24 ч	100	104.50	105.50	105.00	0.71
	10	100.00	103.50	101.75	2.47
	1	97.50	100.00	98.75	1.77
48 ч	100	88.66	95.36	92.01	4.74
	10	92.27	102.06	97.16	6.93
	1	97.94	100.52	99.23	1.82

ФИГ.33

A

Линия клеток	MeWo	CV-8686			
Продолжительность анализа	CTG Доза	Жизнеспособность оставшихся клеток n=1	n=2	Среднее	STD
6 ч	100	59.99	56.16	58.08	2.71
	10	105.85	106.86	106.35	0.72
	1	99.73	103.83	101.78	2.90
24 ч	100	43.82	46.19	45.00	1.67
	10	93.80	99.80	96.80	4.25
	1	96.77	92.51	94.64	3.01
48 ч	100	33.50	42.99	38.25	6.71
	10	100.49	100.32	100.41	0.12
	1	94.20	101.42	97.81	5.11

B

Линия клеток	WM115	CV-8686			
Продолжительность анализа	CTG Доза	Жизнеспособность оставшихся клеток n=1	n=2	Среднее	STD
6 ч	100	93.62	96.86	95.24	2.29
	10	101.72	100.91	101.32	0.57
	1	98.07	104.15	101.11	4.30
24 ч	100	96.50	95.16	95.83	0.94
	10	104.06	103.17	103.61	0.63
	1	93.83	94.27	94.05	0.31
48 ч	100	93.65	90.08	91.86	2.52
	10	105.69	106.58	106.13	0.63
	1	104.35	105.69	105.02	0.95

ФИГ.34

A

Линия клеток	MeWo	CV-8688			
Продолжительность анализа	CTG Доза	Жизнеспособность оставшихся клеток n=1	n=2	Среднее	STD
6 ч	100	94.00	98.89	96.44	3.46
	10	100.76	106.63	103.69	4.16
	1	98.85	98.01	98.43	0.60
24 ч	100	59.29	51.95	55.62	5.19
	10	99.49	97.43	98.46	1.46
	1	105.83	95.11	100.47	7.59
48 ч	100	15.01	12.30	13.66	1.92
	10	100.63	98.79	99.71	1.30
	1	97.51	99.38	98.44	1.33

B

Линия клеток	WM115	CV-8688			
Продолжительность анализа	CTG Доза	Жизнеспособность оставшихся клеток n=1	n=2	Среднее	STD
6 ч	100	102.13	102.13	102.13	0.00
	10	102.94	102.53	102.74	0.29
	1	99.29	102.13	100.71	2.01
24 ч	100	91.61	92.50	92.05	0.63
	10	104.50	101.39	102.95	2.20
	1	96.05	98.72	97.39	1.89
48 ч	100	81.16	79.82	80.49	0.95
	10	101.23	100.33	100.78	0.63
	1	106.58	107.02	106.80	0.32

ФИГ.35

A

Линия клеток	MeWo	Стауроспорин			
Продолжительность анализа	CTG Доза	Жизнеспособность оставшихся клеток			
		n=1	n=2	Среднее	STD
6 ч	10	56.38	51.81	54.10	3.23
24 ч	10	1.44	1.64	1.54	0.14
48 ч	10	0.73	1.16	0.95	0.31

B

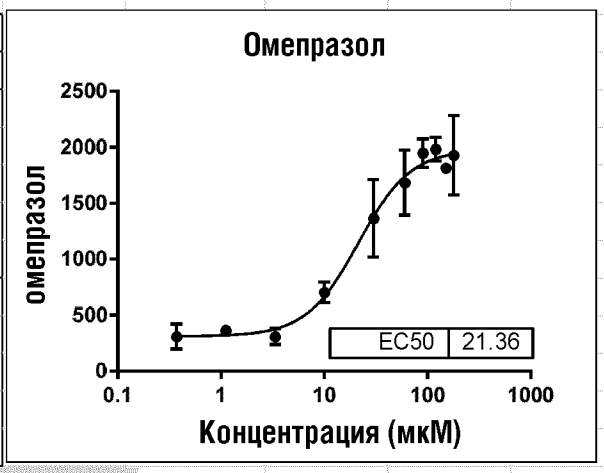
Линия клеток	WM115	Стауроспорин			
Продолжительность анализа	CTG Доза	Жизнеспособность оставшихся клеток			
		n=1	n=2	Среднее	STD
6 ч	10	45.80	43.36	44.58	1.72
24 ч	10	8.18	7.96	8.07	0.15
48 ч	10	4.39	5.38	4.88	0.70

ФИГ.36

A

B

ID Соединения	Омепразол	
	Считываемый сигнал	
Конц. (мкМ)	n=1	n=2
180.00	1680	2180
150.00	1820	1810
120.00	1910	2060
90.00	2040	1860
60.00	1890	1480
30.00	1610	1120
10.00	640	770
3.33	260	360
1.11	380	350
0.37	390	230



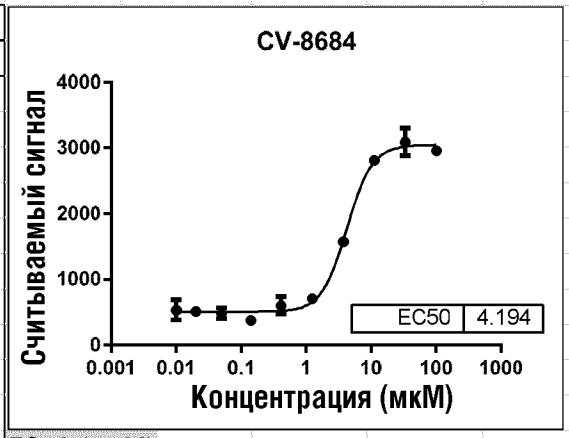
EC50 (мкМ) 21.36

ФИГ.37

A

B

ID Соединения	CV-8684	
	Считываемый сигнал	
Конц. (мкМ)	n=1	n=2
100.00	3000	2920
33.33	2880	3300
11.11	2860	2770
3.70	1560	1590
1.23	710	710
0.41	470	740
0.14	440	320
0.05	570	400
0.02	450	580
0.01	380	690
0.00	570	500



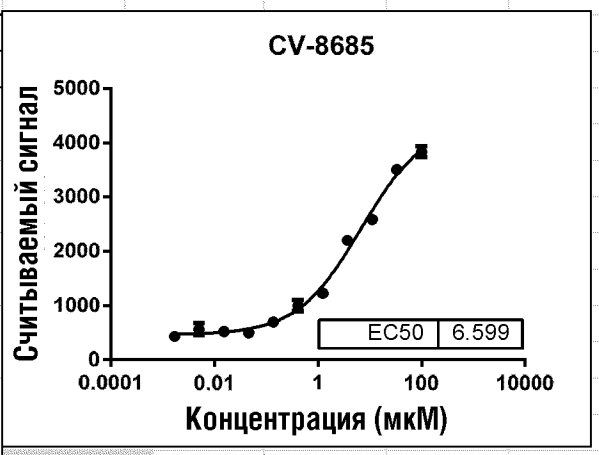
EC50 (мкМ) 4.19

ФИГ.38

A

ID Соединения	CV-8685	
	Считываемый сигнал	
Конц. (мкМ)	n=1	n=2
100.00	3930	3730
33.33	3530	3480
11.11	2680	2490
3.70	2240	2160
1.23	1180	1270
0.41	1100	890
0.14	740	650
0.05	470	530
0.02	620	430
0.01	670	450
0.00	440	420

B



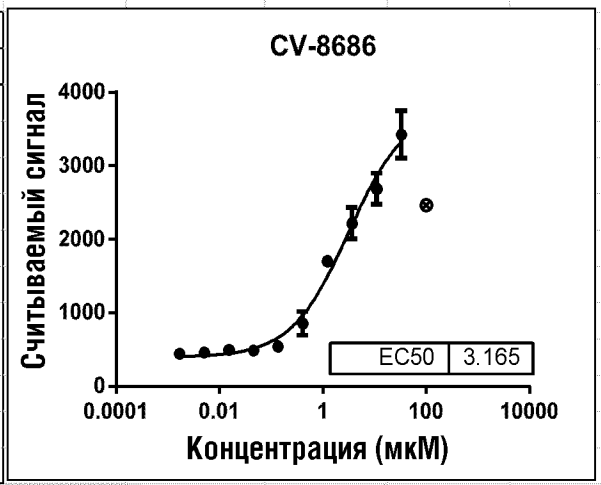
EC50 (мкМ) 6.60

ФИГ.39

A

ID Соединения	CV-8686	
	Считываемый сигнал	
Конц. (мкМ)	n=1	n=2
100.00	2520	2410
33.33	3750	3100
11.11	2470	2900
3.70	2000	2430
1.23	1730	1670
0.41	1010	690
0.14	480	600
0.05	530	440
0.02	470	510
0.01	400	520
0.00	460	420

B



EC50 (мкМ) 3.17

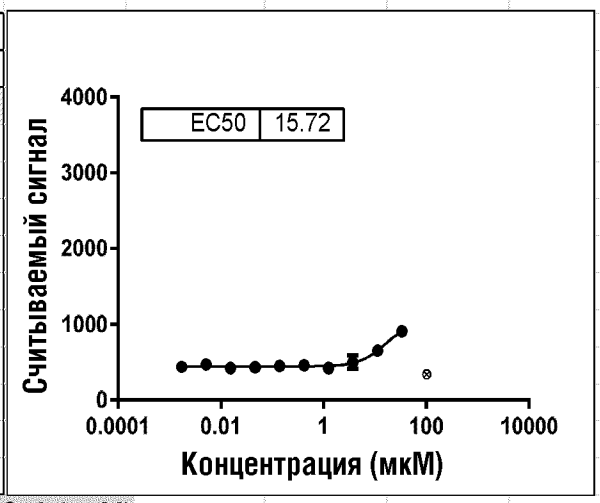
ФИГ.40

A

B

ID Соединения

	Считываемый сигнал	
Конц. (мкМ)	n=1	n=2
100.00	330	360
33.33	920	900
11.11	620	690
3.70	590	410
1.23	430	420
0.41	450	470
0.14	500	400
0.05	460	410
0.02	410	440
0.01	460	490
0.00	380	500



EC50 (мкМ) 15.72

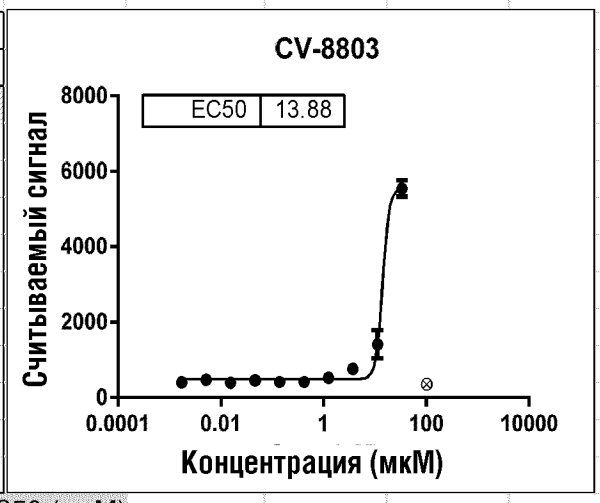
ФИГ.41

A

B

ID Соединения CV-8803

	Считываемый сигнал	
Конц. (мкМ)	n=1	n=2
100.00	350	380
33.33	5760	5320
11.11	1790	1040
3.70	870	670
1.23	550	510
0.41	510	340
0.14	510	340
0.05	530	390
0.02	450	360
0.01	500	460
0.00	340	480



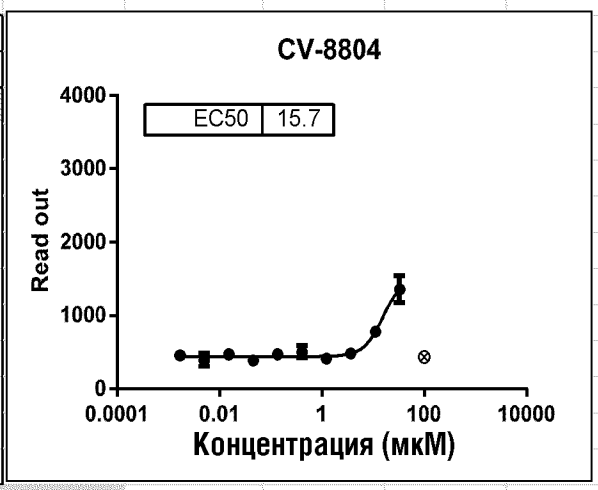
EC50 (мкМ) 13.88

ФИГ.42

A

B

ID Соединения	CV-8804	
	Считываемый сигнал	
Конц. (мкМ)	n=1	n=2
100.00	380	490
33.33	1170	1540
11.11	850	710
3.70	450	520
1.23	490	340
0.41	590	420
0.14	450	490
0.05	390	380
0.02	460	480
0.01	480	300
0.00	530	380



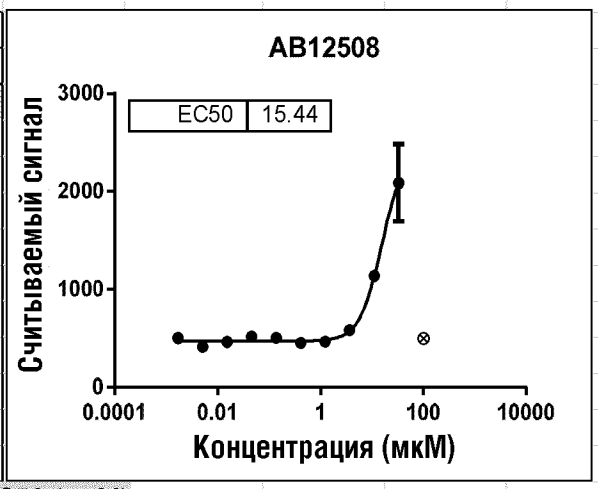
EC50 (мкМ) 15.70

ФИГ.43

A

B

ID Соединения	AB12508	
	Считываемый сигнал	
Конц. (мкМ)	n=1	n=2
100.00	490	500
33.33	2480	1690
11.11	1190	1080
3.70	550	610
1.23	500	430
0.41	500	400
0.14	450	560
0.05	570	460
0.02	470	450
0.01	370	450
0.00	530	470



EC50 (мкМ) 15.44

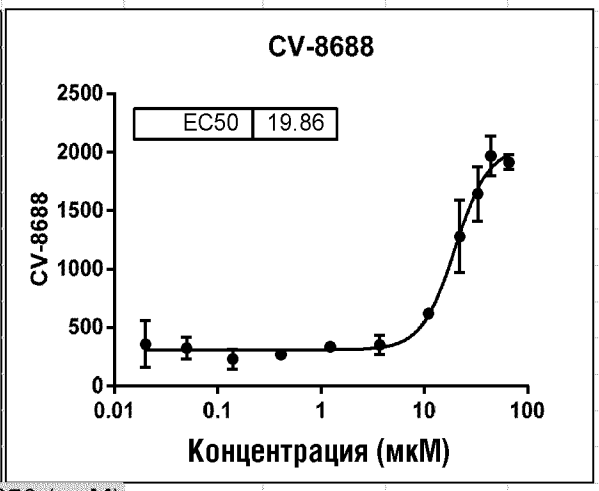
ФИГ.44

A

ID Соединения	CV-8688	
	Считываемый сигнал	
Конц. (мкМ)	n=1	n=2
66	1960	1870
44	2090	1850
33	1810	1480
22	1060	1500
11	630	610
3.70	290	410
1.23	300	370
0.41	300	240
0.14	170	290
0.05	390	260
0.02	500	220

EC50 (мкМ) 19.86

B



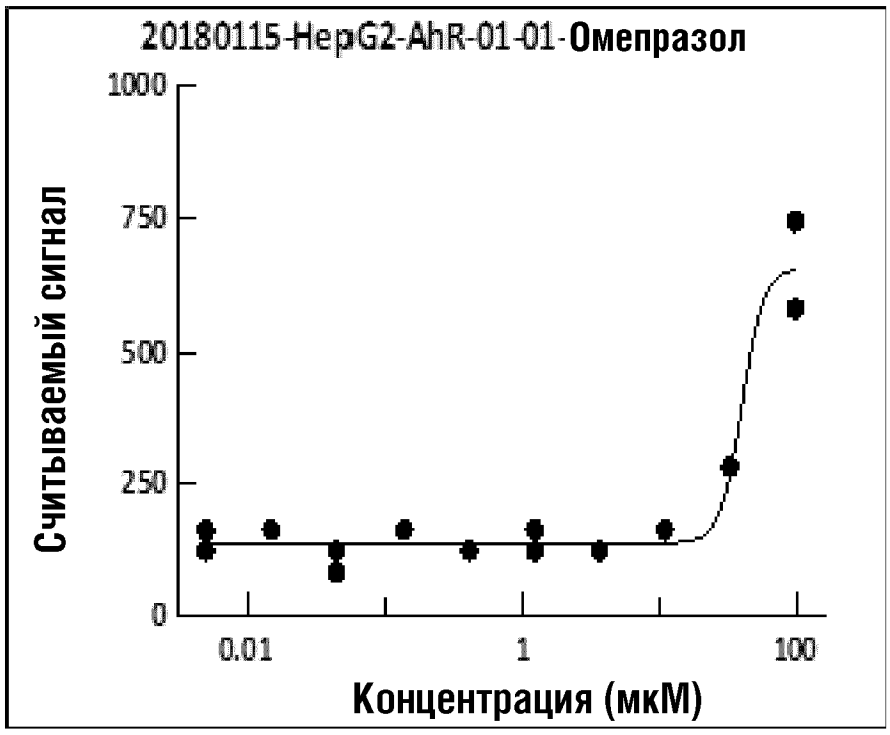
ФИГ.45

A

Дата	Фермент	Последова-тельность	ID Соединения	EC50	НАКЛОН	RSQR	Эксперимент. точки	Наибольш. значение	Наименьш. значение
20180115	HepG2-AhR	01-01	Омепразол	39.77727	5.535902	0.97838	10	660	137.4261

Конц.(мкМ)	N=1	N=2
100.00	580.00	740.00
33.33	280.00	280.00
11.11	160.00	160.00
3.70	120.00	120.00
1.23	160.00	120.00
0.41	120.00	120.00
0.14	160.00	160.00
0.05	120.00	80.00
0.02	160.00	160.00
0.01	120.00	160.00

B



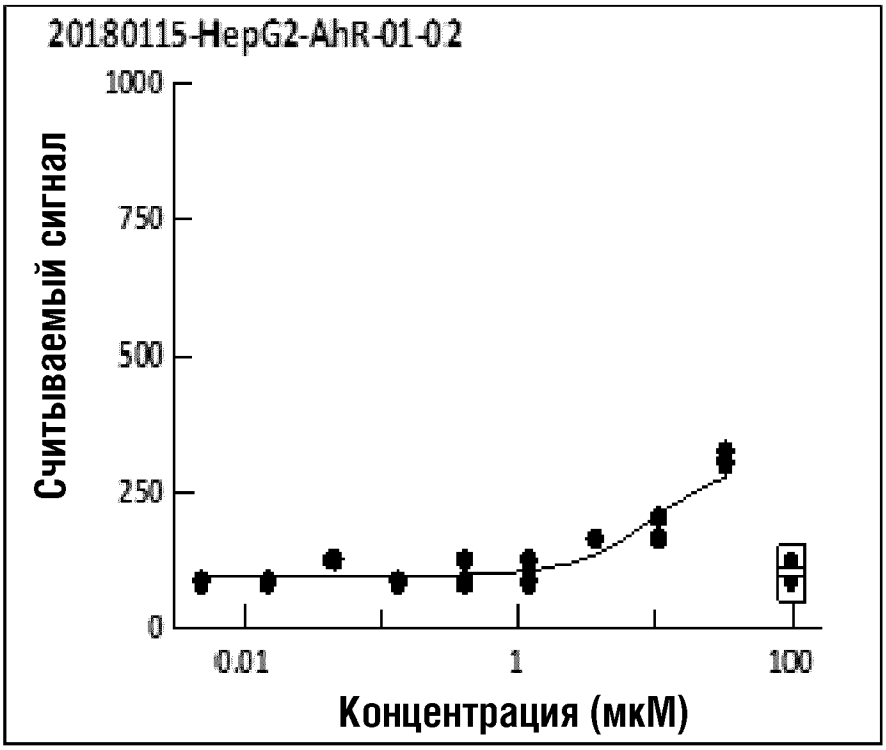
ФИГ.46

A

Дата	Фермент	Последова-тельность	ID Соединения	EC50	НАКЛОН	RSQR	Эксперимент. точки	Наибольш. значение	Наименьш. значение
20180115	HepG2-AhR	01-02	Неизвестная композиция	9.899879	1.475132	0.945235	10	310	93.18785

Конц.(мкМ)	N=1	N=2
100.00	120.00	80.00
33.33	300.00	320.00
11.11	200.00	160.00
3.70	160.00	160.00
1.23	120.00	80.00
0.41	80.00	120.00
0.14	80.00	80.00
0.05	120.00	120.00
0.02	80.00	80.00
0.01	80.00	80.00

B



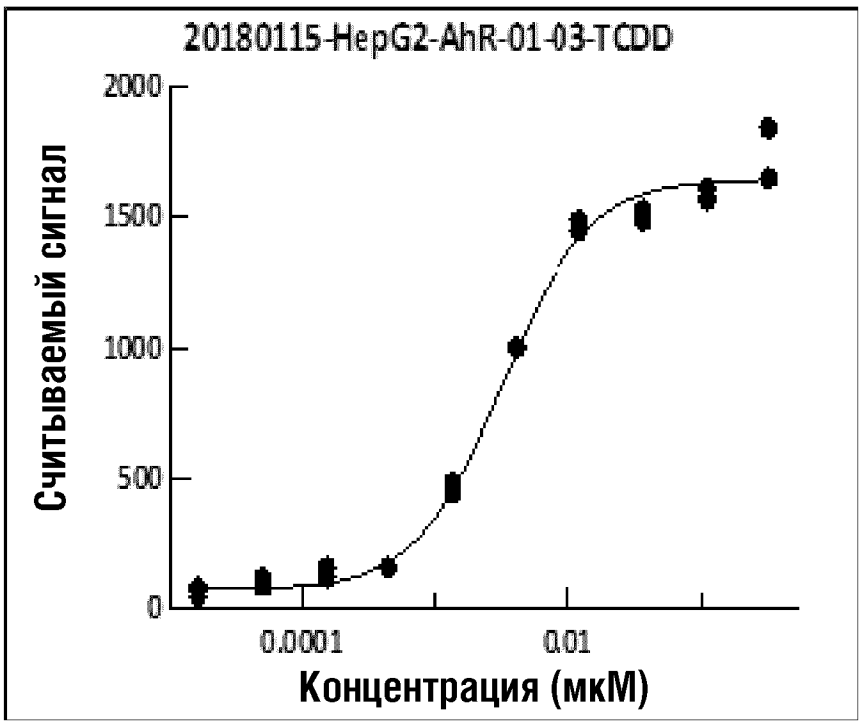
ФИГ.47

A

Дата	Фермент	Последова-тельность	ID Соединения	EC50	НАКЛОН	RSQR	Эксперимент. точки	Наибольш. значение	Наименьш. значение
20180115	HepG2-AhR	01-03	TCDD	0.0033135	1.34754	0.995883	10	1640.967	80.510033

Конц.(мкМ)	N=1	N=2
0.33	1640.00	1840.00
0.11	1560.00	1600.00
0.04	1520.00	1480.00
0.01	1480.00	1440.00
0.00	1000.00	1000.00
0.00	480.00	440.00
0.00	160.00	160.00
0.00	160.00	120.00
0.00	120.00	80.00
0.00	80.00	40.00

B



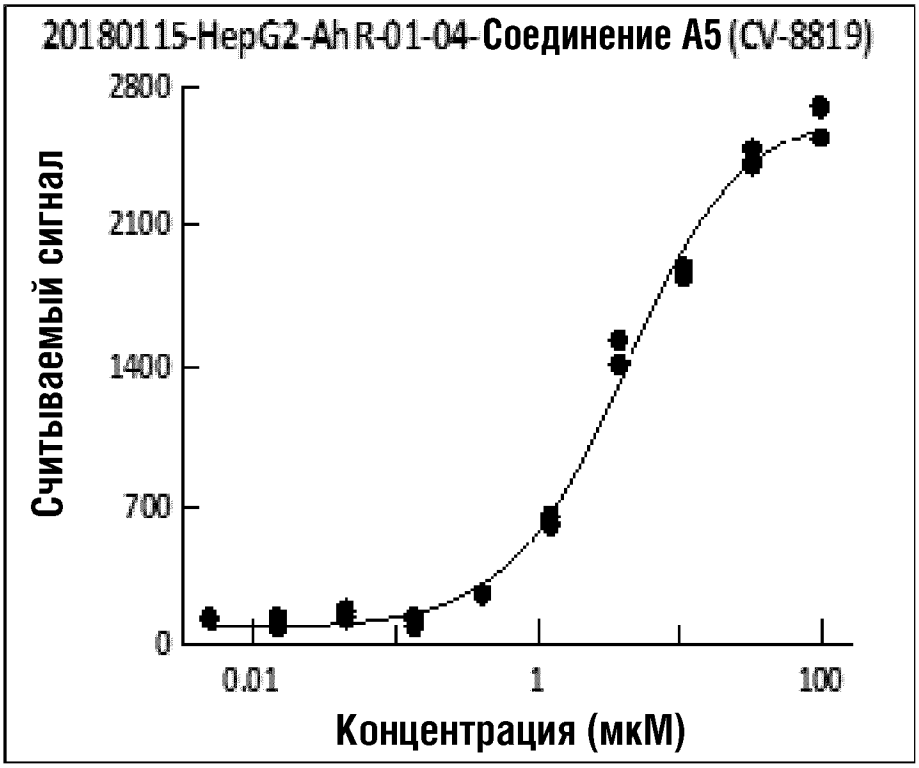
ФИГ.48

A

Дата	Фермент	Последова-тельность	ID Соединения	EC50	НАКЛОН	RSQR	Эксперимент. точки	Наибольш. значение	Наименьш. значение
20180115	HepG2-AhR	01-04	Соединение A5 (CV-8819)	4.109201	1.029146	0.996456	10	2687.557	76.24263

Конц. (мкМ)	N=1	N=2
100.00	2540.00	2700.00
33.33	2400.00	2480.00
11.11	1840.00	1880.00
3.70	1400.00	1520.00
1.23	640.00	600.00
0.41	240.00	240.00
0.14	80.00	120.00
0.05	160.00	120.00
0.02	120.00	80.00
0.01	120.00	120.00

B



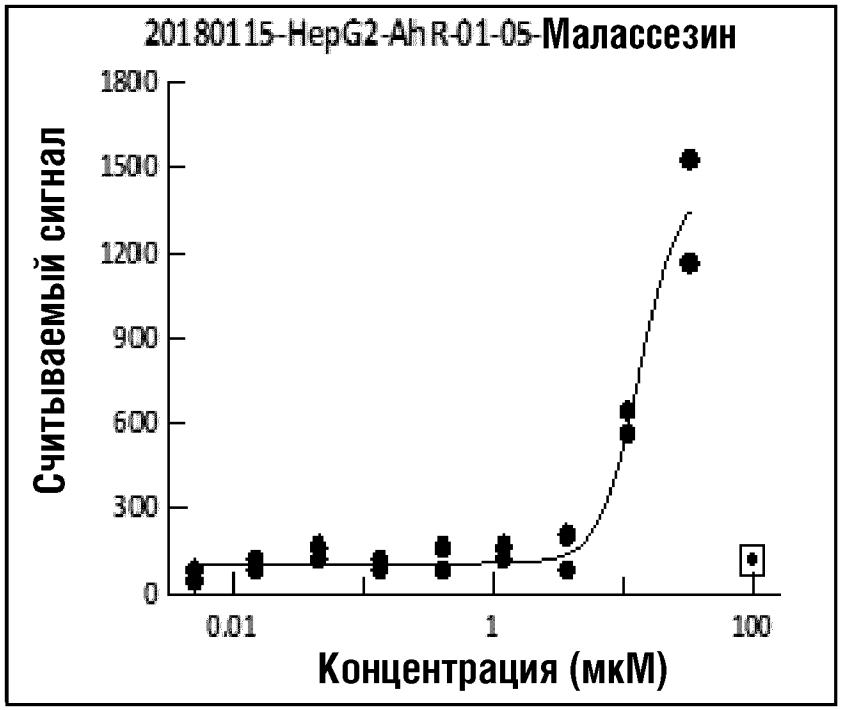
ФИГ.49

A

Дата	Фермент	Последова-тельность	ID Соединения	EC50	НАКЛОН	RSQR	Эксперимент. точки	Наибольш. значение	Наименьш. значение
20180115	HepG2-AhR	01-05	Малассезин	13.38662	2.838889	0.984212	10	1432.357	109.28

Конц.(мкМ)	N=1	N=2
100.00	120.00	120.00
33.33	1520.00	1160.00
11.11	640.00	560.00
3.70	200.00	80.00
1.23	160.00	120.00
0.41	160.00	80.00
0.14	120.00	80.00
0.05	160.00	120.00
0.02	80.00	120.00
0.01	40.00	80.00

B



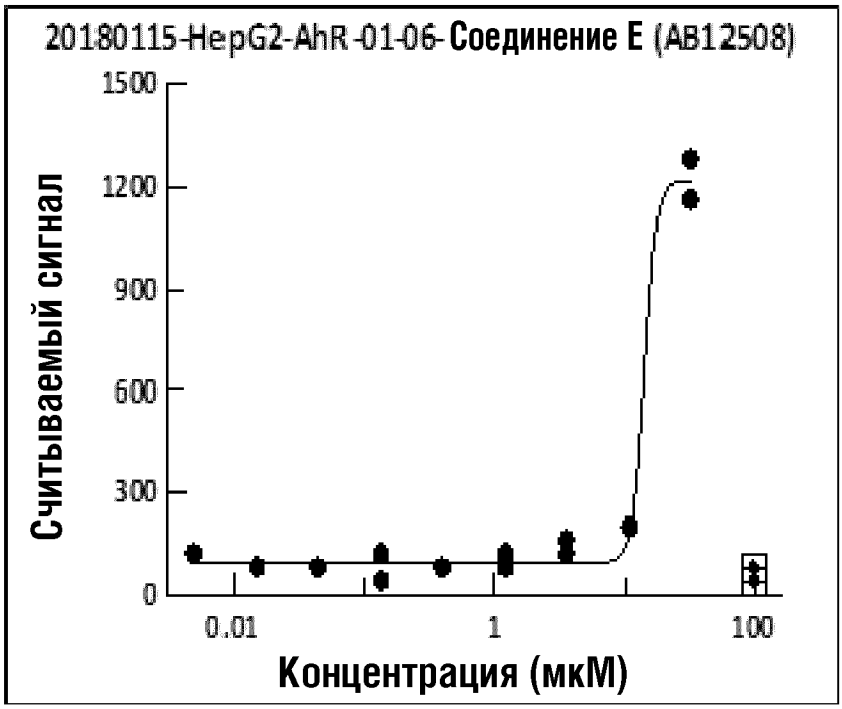
ФИГ.50

A

Дата	Фермент	Последова-тельность	ID Соединения	EC50	НАКЛОН	RSQR	Эксперимент. точки	Наибольш. значение	Наименьш. значение
20180115	HepG2-AhR	01-06	Соединение E (AB12508)	14.24499	9.23337	0.995708	10	1220	97.14167

Конц.(мкМ)	N=1	N=2
100.00	80.00	40.00
33.33	1160.00	1280.00
11.11	200.00	200.00
3.70	120.00	160.00
1.23	120.00	80.00
0.41	80.00	80.00
0.14	40.00	120.00
0.05	80.00	80.00
0.02	80.00	80.00
0.01	120.00	120.00

B



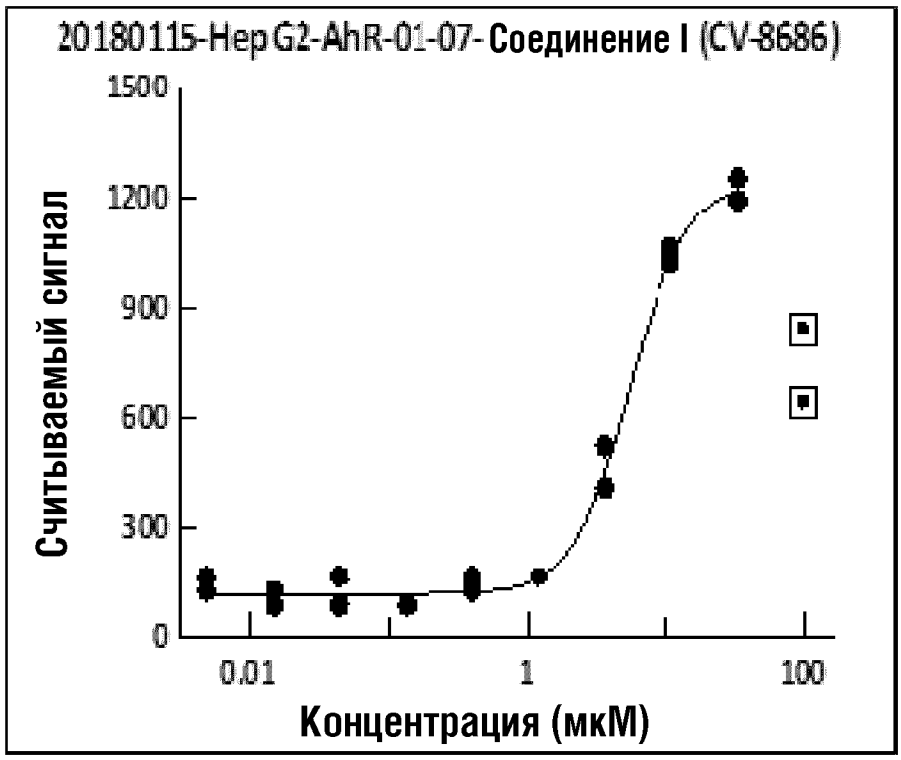
ФИГ.51

A

Дата	Фермент	Последовательность	ID Соединения	EC50	НАКЛОН	RSQR	Эксперимент. точки	Наибольш. значение	Наименьш. значение
20180115	HepG2-AhR	01-07	Соединение I (CV-8686)	5.45201	2.11618	0.9967	10	1244.354	114.6265

Конц.(мкМ)	N=1	N=2
100.00	840.00	640.00
33.33	1190.00	1250.00
11.11	1060.00	1020.00
3.70	400.00	520.00
1.23	160.00	160.00
0.41	120.00	160.00
0.14	80.00	80.00
0.05	160.00	80.00
0.02	80.00	120.00
0.01	120.00	160.00

B



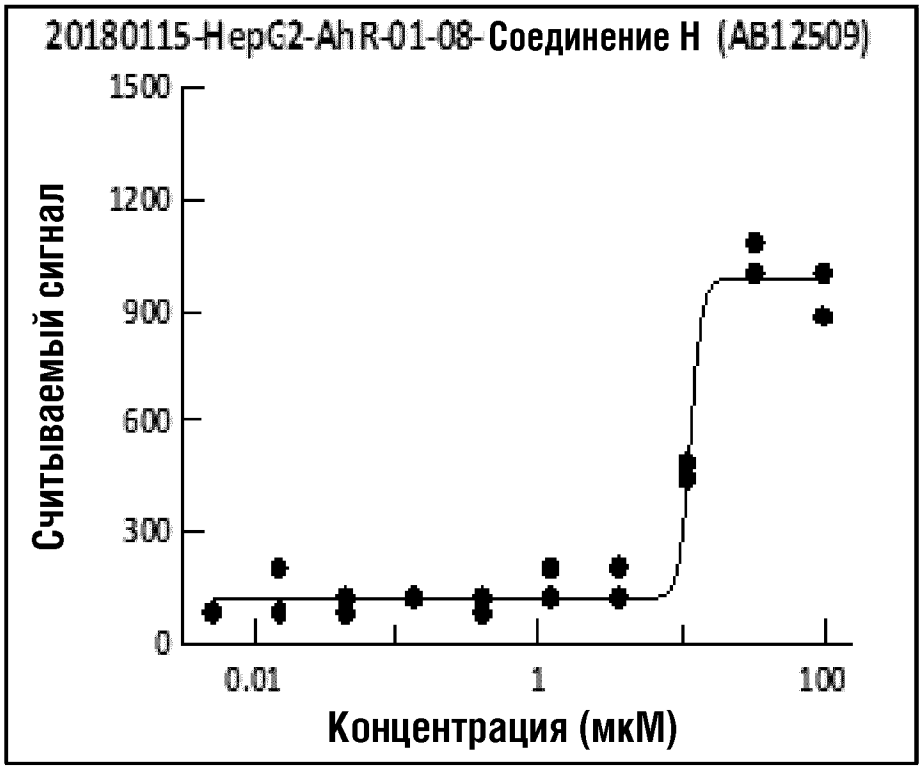
ФИГ.52

A

Дата	Фермент	Последовательность	ID Соединения	EC50	НАКЛОН	RSQR	Эксперимент. точки	Наибольш. значение	Наименьш. значение
20180115	HepG2-AhR	01-08	Соединение H (AB12509)	11.57635	11.02456	0.989995	10	990.0069	122.8584

Конц.(мкМ)	N=1	N=2
100.00	880.00	1000.00
33.33	1000.00	1080.00
11.11	440.00	480.00
3.70	120.00	200.00
1.23	200.00	120.00
0.41	80.00	120.00
0.14	120.00	120.00
0.05	120.00	80.00
0.02	200.00	80.00
0.01	80.00	80.00

B



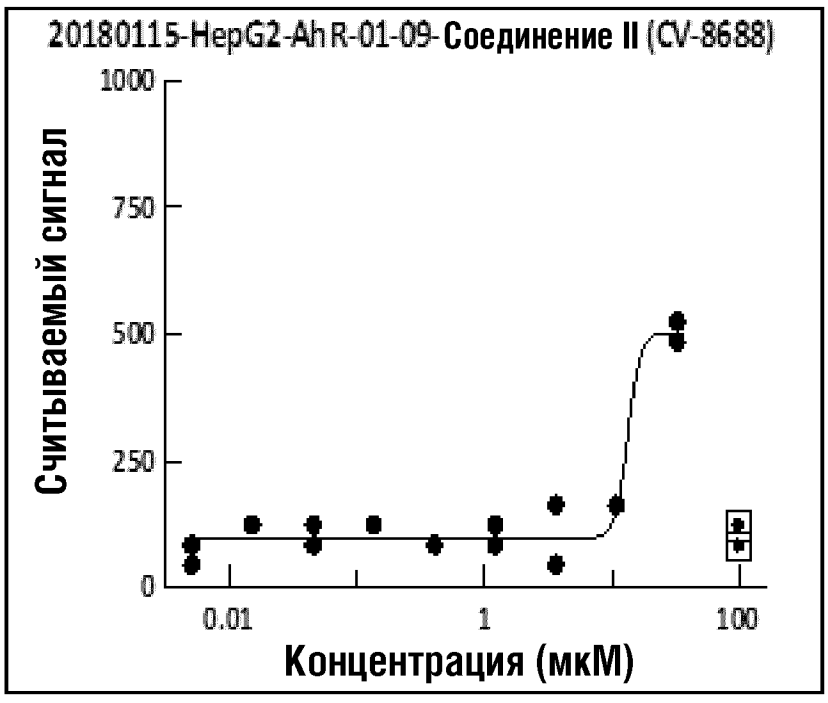
ФИГ.53

A

Дата	Фермент	Последова-тельность	ID Соединения	EC50	НАКЛОН	RSQR	Эксперимент. точки	Наибольш. значение	Наименьш. значение
20180115	HepG2-AhR	01-09	Соединение II (CV-8688)	13.3727	9.111176	0.97318	10	500	97.14233

Конц.(мкМ)	N=1	N=2
100.00	120.00	80.00
33.33	480.00	520.00
11.11	160.00	160.00
3.70	40.00	160.00
1.23	80.00	120.00
0.41	80.00	80.00
0.14	120.00	120.00
0.05	120.00	80.00
0.02	120.00	120.00
0.01	40.00	80.00

B



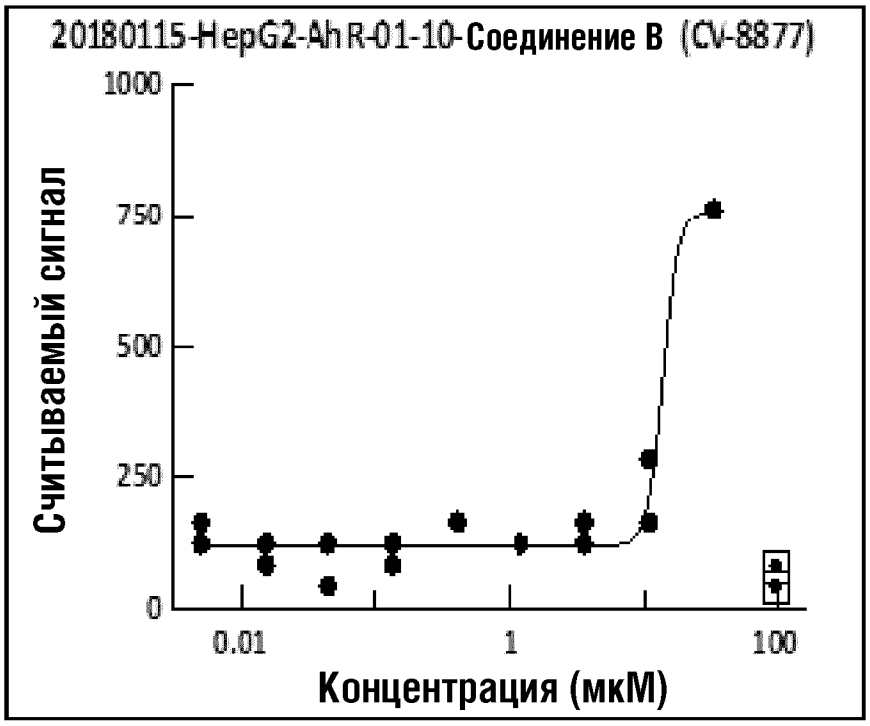
ФИГ.54

A

Дата	Фермент	Последовательность	ID Соединения	EC50	НАКЛОН	RSQR	Эксперимент. точки	Наибольш. значение	Наименьш. значение
20180115	HepG2-AhR	01-10	Соединение B (CV-8877)	13.80928	7.756433	0.984216	10	760	119.9953

Конц.(мкМ)	N=1	N=2
100.00	40.00	80.00
33.33	760.00	760.00
11.11	280.00	160.00
3.70	160.00	120.00
1.23	120.00	120.00
0.41	160.00	160.00
0.14	80.00	120.00
0.05	40.00	120.00
0.02	80.00	120.00
0.01	120.00	160.00

B



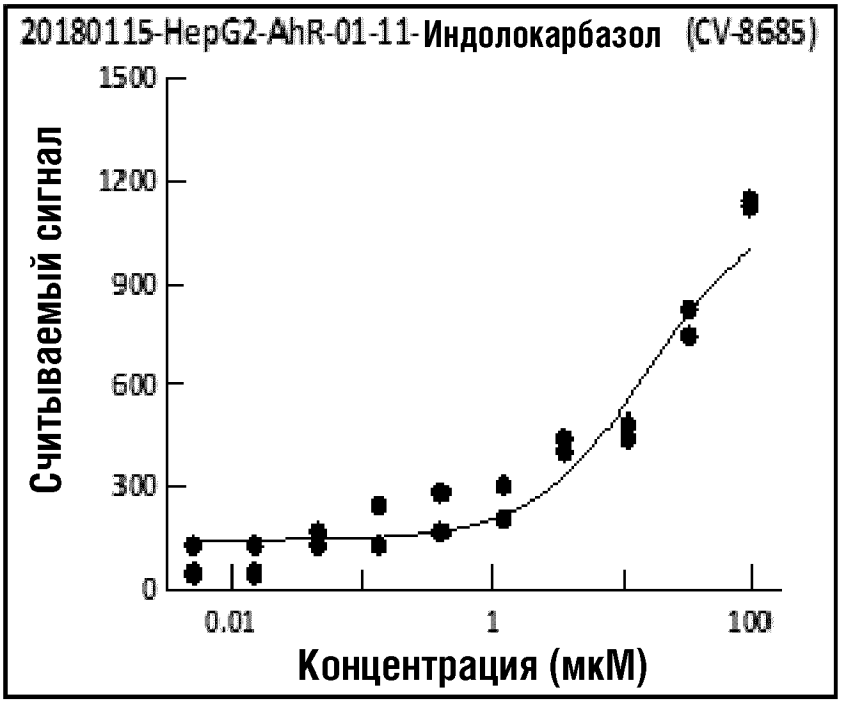
ФИГ.55

A

Дата	Фермент	Последовательность	ID Соединения	EC50	НАКЛОН	RSQR	Эксперимент. точки	Наибольш. значение	Наименьш. значение
20180115	HepG2-AhR	01-11	Индоло-карбазол (CV-8685)	15.17593	0.988082	0.971164	10	1130	140.4539

Конц.(мкМ)	N=1	N=2
100.00	1140.00	1120.00
33.33	740.00	820.00
11.11	440.00	480.00
3.70	400.00	440.00
1.23	300.00	200.00
0.41	160.00	280.00
0.14	240.00	120.00
0.05	160.00	120.00
0.02	40.00	120.00
0.01	40.00	120.00

B



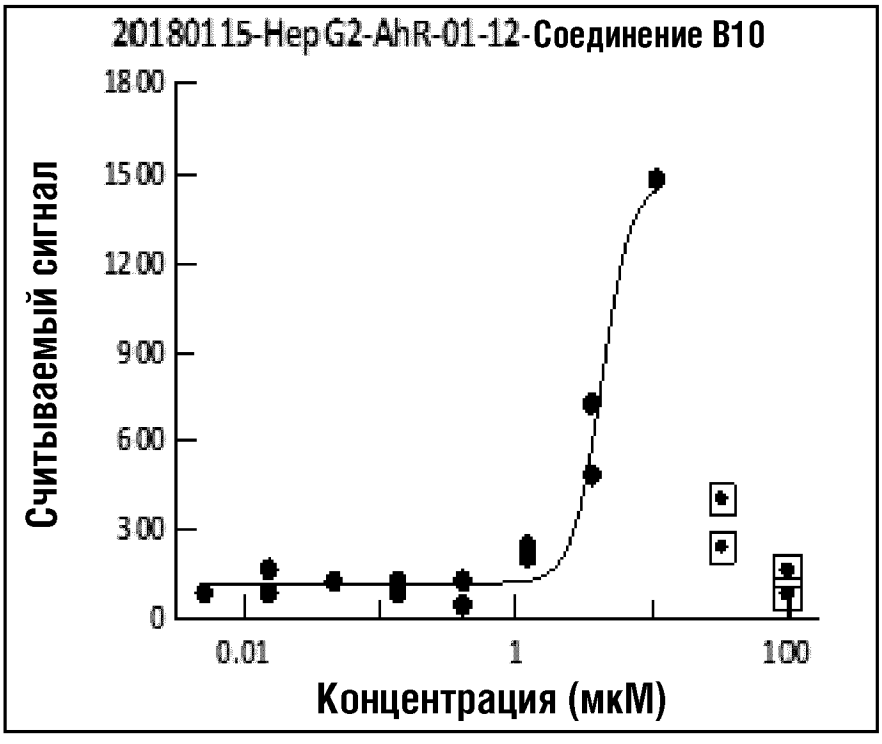
ФИГ.56

A

Дата	Фермент	Последова-тельность	ID Соединения	EC50	НАКЛОН	RSQR	Эксперимент. точки	Наибольш. значение	Наименьш. значение
20180115	HepG2-AhR	01-12	Соединение B10	4.285882	4.001586	0.990953	10	1480	117.8489

Конц.(мкМ)	N=1	N=2
100.00	80.00	160.00
33.33	240.00	400.00
11.11	1480.00	1480.00
3.70	720.00	480.00
1.23	240.00	200.00
0.41	120.00	40.00
0.14	80.00	120.00
0.05	120.00	120.00
0.02	160.00	80.00
0.01	80.00	80.00

B



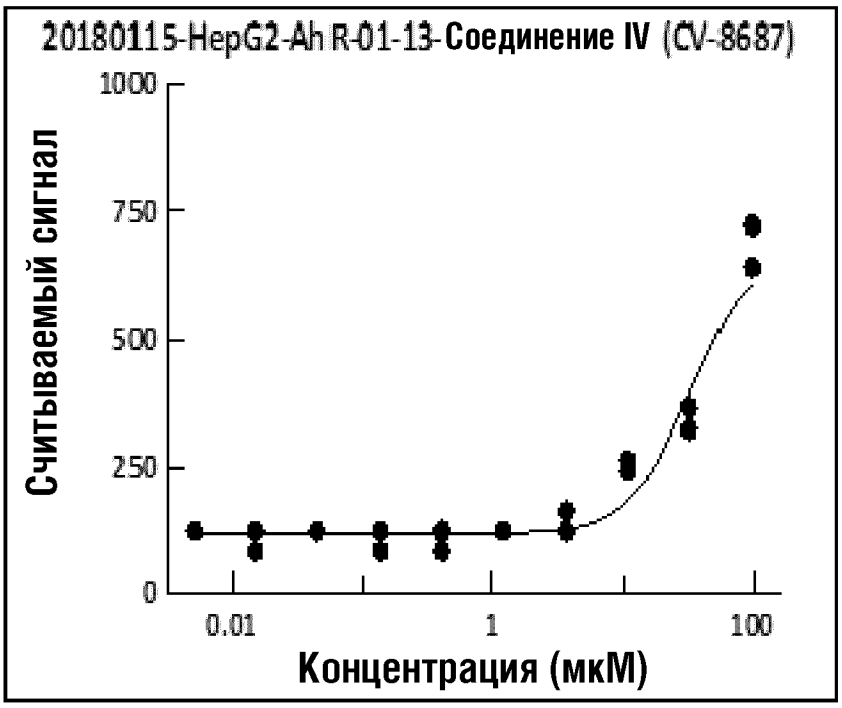
ФИГ.57

A

Дата	Фермент	Последова-тельность	ID Соединения	EC50	НАКЛОН	RSQR	Эксперимент. точки	Наибольш. значение	Наименьш. значение
20180115	HepG2-AhR	01-13	Соединение IV (CV-8687)	33.54525	1.813784	0.974593	10	680	117.8656

Конц.(мкМ)	N=1	N=2
100.00	640.00	720.00
33.33	360.00	320.00
11.11	240.00	260.00
3.70	160.00	120.00
1.23	120.00	120.00
0.41	120.00	80.00
0.14	120.00	80.00
0.05	120.00	120.00
0.02	80.00	120.00
0.01	120.00	120.00

B



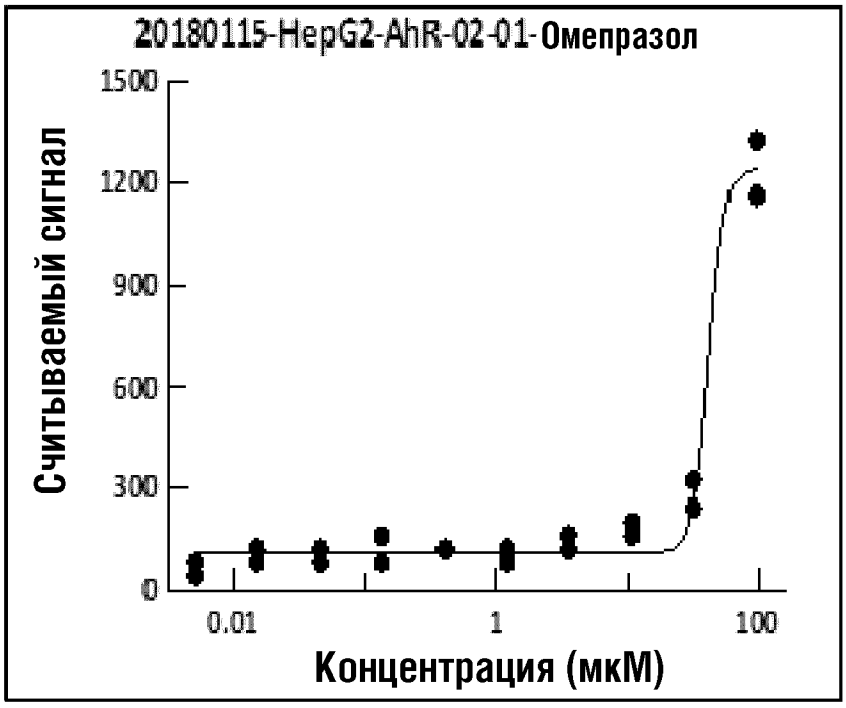
ФИГ.58

A

Дата	Фермент	Последова-тельность	ID Соединения	EC50	НАКЛОН	RSQR	Эксперимент. точки	Наибольш. значение	Наименьш. значение
20180115	HepG2-AhR	02-01	Омепразол	42.29353	7.394514	0.990983	10	1240	114.9869

Конц.(мкМ)	N=1	N=2
100.00	1160.00	1320.00
33.33	240.00	320.00
11.11	200.00	160.00
3.70	120.00	160.00
1.23	80.00	120.00
0.41	120.00	120.00
0.14	80.00	160.00
0.05	80.00	120.00
0.02	80.00	120.00
0.01	80.00	40.00

B



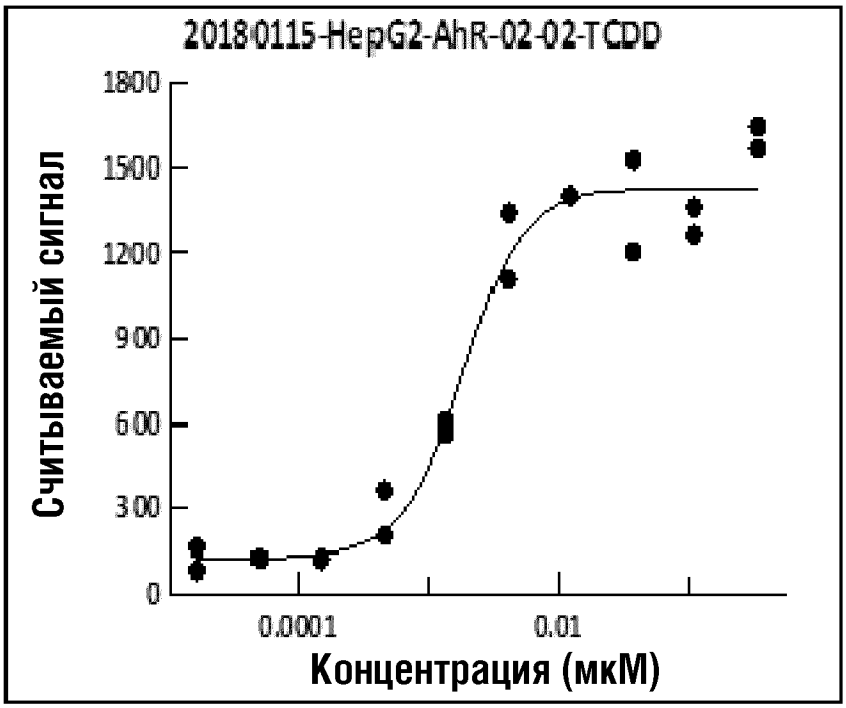
ФИГ.59

A

Дата	Фермент	Последова-тельность	ID Соединения	EC50	НАКЛОН	RSQR	Эксперимент. точки	Наибольш. значение	Наименьш. значение
20180115	HepG2-AhR	02-02	TCDD	0.001807	1.837149	0.984824	10	1431.995	127.4616

Конц.(мкМ)	N=1	N=2
0.33	1560.00	1640.00
0.11	1260.00	1360.00
0.04	1200.00	1520.00
0.01	1400.00	1400.00
0.00	1100.00	1340.00
0.00	600.00	560.00
0.00	200.00	360.00
0.00	120.00	120.00
0.00	120.00	120.00
0.00	160.00	80.00

B



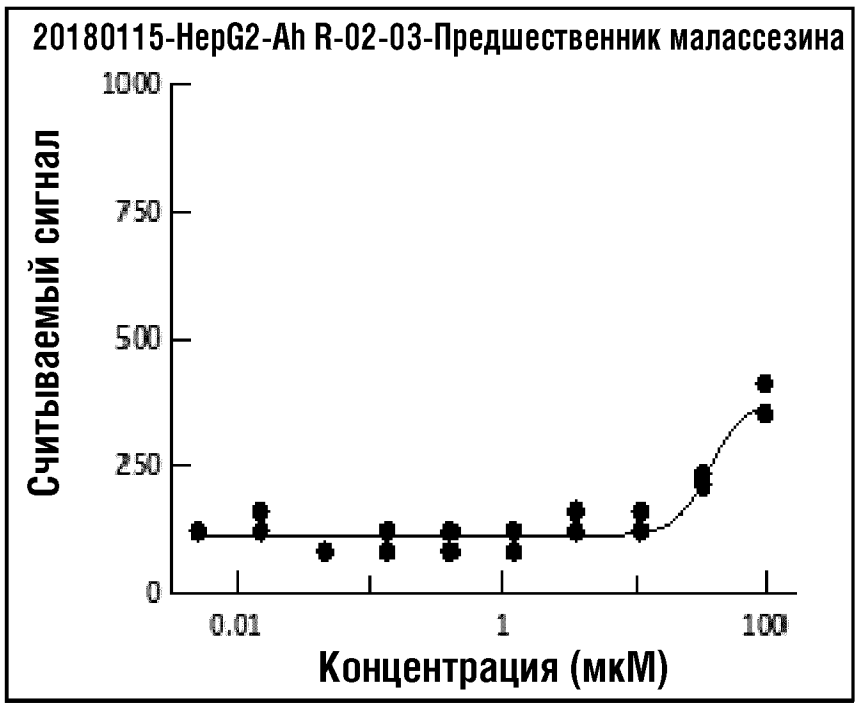
ФИГ.60

A

Дата	Фермент	Последова-тельность	ID Соединения	EC50	НАКЛОН	RSQR	Эксперим. точки	Наибольш. значение	Наименьш. значение
20180115	HepG2-AhR	02-03	Предшественник малассезина	37.27747	3.149843	0.952118	10	380	113.9823

Конц.(мкМ)	N=1	N=2
100.00	350.00	410.00
33.33	210.00	230.00
11.11	160.00	120.00
3.70	160.00	120.00
1.23	120.00	80.00
0.41	120.00	80.00
0.14	120.00	80.00
0.05	80.00	80.00
0.02	160.00	120.00
0.01	120.00	120.00

B



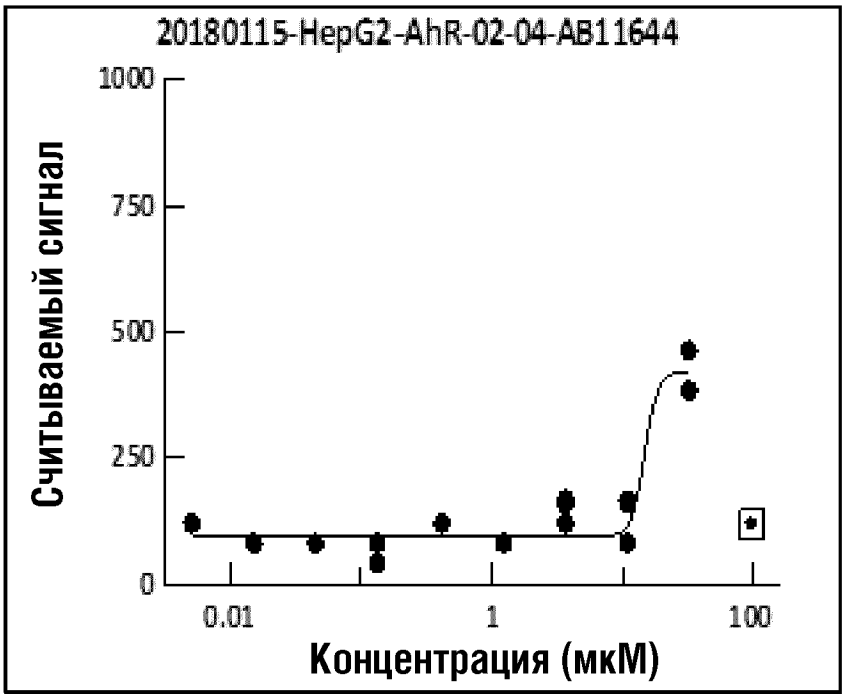
ФИГ.61

A

Дата	Фермент	Последова-тельность	ID Соединения	EC50	НАКЛОН	RSQR	Эксперим. точки	Наибольш. значение	Наименьш. значение
20180115	HepG2-AhR	02-04	AB11644	14.87747	8.812064	0.953487	10	420	97.14158

Конц.(мкМ)	N=1	N=2
100.00	120.00	120.00
33.33	380.00	460.00
11.11	160.00	80.00
3.70	120.00	160.00
1.23	80.00	80.00
0.41	120.00	120.00
0.14	80.00	40.00
0.05	80.00	80.00
0.02	80.00	80.00
0.01	120.00	120.00

B



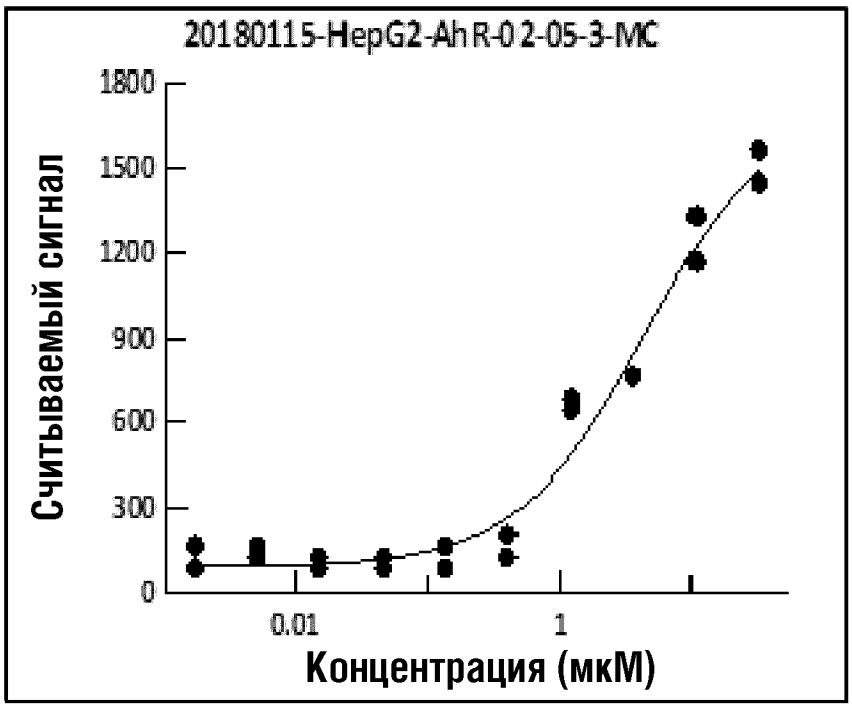
ФИГ.62

A

Дата	Фермент	Последова-тельность	ID Соединения	EC50	НАКЛОН	RSQR	Эксперим. точки	Наибольш. значение	Наименьш. значение
20180115	HepG2-AhR	02-05	3-MC	4.342469	0.886617	0.986061	10	1726.876	90.45299

Конц.(мкМ)	N=1	N=2
33.00	1440.00	1560.00
11.00	1160.00	1320.00
3.67	760.00	760.00
1.22	680.00	640.00
0.41	200.00	120.00
0.14	80.00	160.00
0.05	80.00	120.00
0.02	80.00	120.00
0.01	120.00	160.00
0.00	80.00	160.00

B



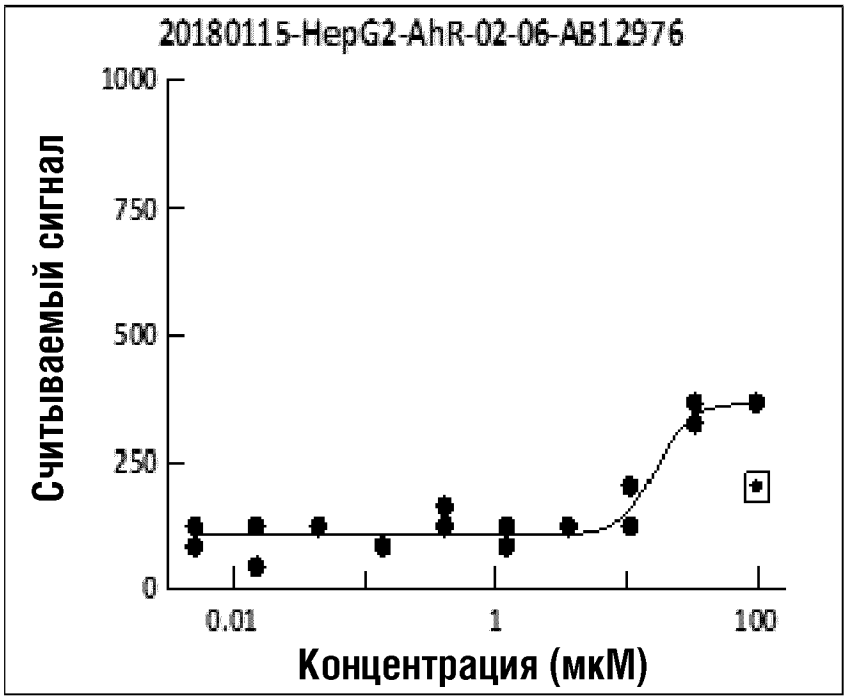
ФИГ.63

A

Дата	Фермент	Последова-тельность	ID Соединения	EC50	НАКЛОН	RSQR	Эксперим. точки	Наибольш. значение	Наименьш. значение
20180115	HepG2-AhR	02-06	AB12976	16.50156	3.242359	0.950347	10	362.6614	105.2891

Конц.(мкМ)	N=1	N=2
100.00	200.00	360.00
33.33	320.00	360.00
11.11	200.00	120.00
3.70	120.00	120.00
1.23	80.00	120.00
0.41	120.00	160.00
0.14	80.00	80.00
0.05	120.00	120.00
0.02	40.00	120.00
0.01	80.00	120.00

B



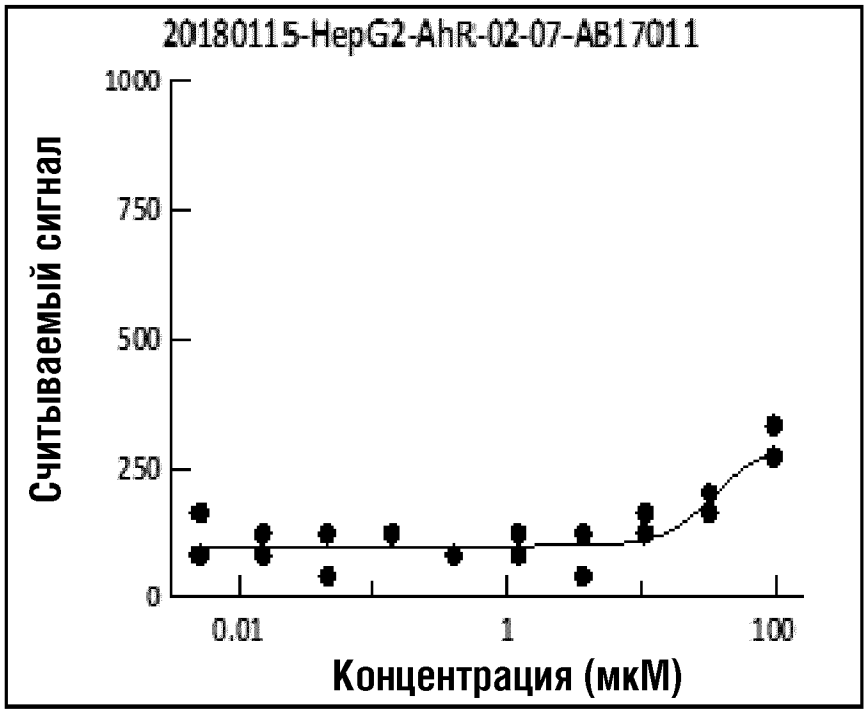
ФИГ.64

A

Дата	Фермент	Последова-тельность	ID Соединения	EC50	НАКЛОН	RSQR	Эксперим. точки	Наибольш. значение	Наименьш. значение
20180115	HepG2-AhR	02-07	AB17011	35.78255	2.274809	0.88606	10	300	99.89457

Конц.(мкМ)	N=1	N=2
100.00	330.00	270.00
33.33	200.00	160.00
11.11	120.00	160.00
3.70	40.00	120.00
1.23	120.00	80.00
0.41	80.00	80.00
0.14	120.00	120.00
0.05	120.00	40.00
0.02	80.00	120.00
0.01	80.00	160.00

B



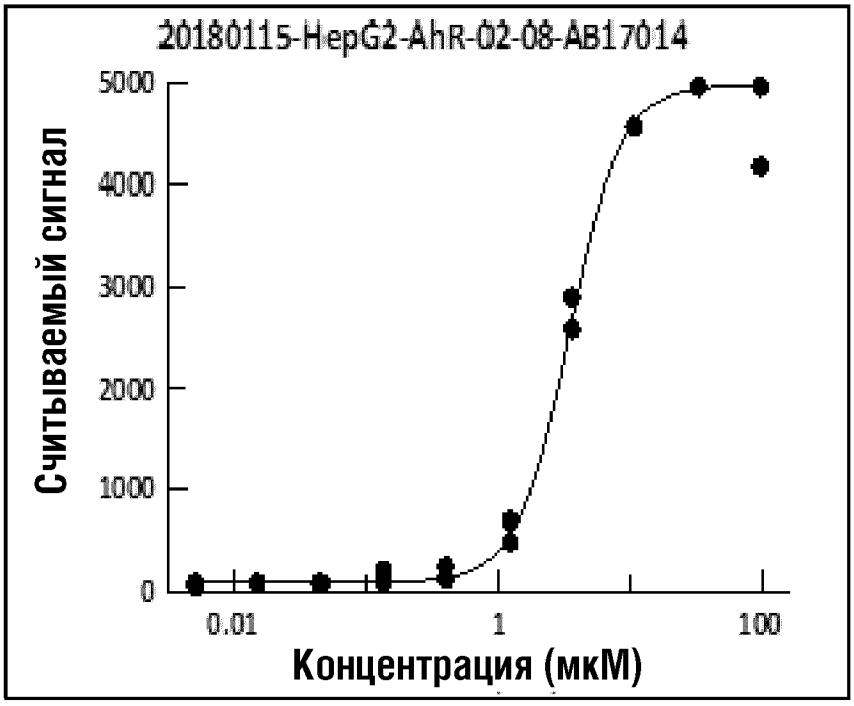
ФИГ.65

A

Дата	Фермент	Последова-тельность	ID Соединения	EC50	НАКЛОН	RSQR	Эксперим. точки	Наибольш. значение	Наименьш. значение
20180115	HepG2-AhR	02-08	AB17014	3.464918	2.17053	0.990505	10	4987.67	99.05077

Конц.(мкМ)	N=1	N=2
100.00	4160.00	4960.00
33.33	4960.00	5920.00
11.11	4560.00	4560.00
3.70	2560.00	2880.00
1.23	480.00	680.00
0.41	240.00	120.00
0.14	80.00	200.00
0.05	80.00	80.00
0.02	80.00	80.00
0.01	80.00	40.00

B



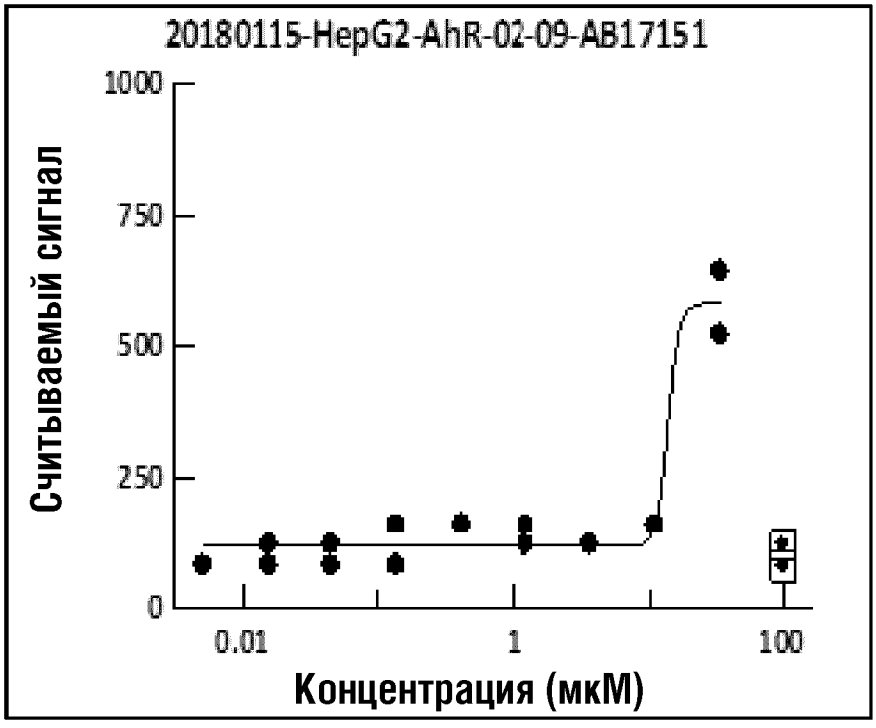
ФИГ.66

A

Дата	Фермент	Последова-тельность	ID Соединения	EC50	НАКЛОН	RSQR	Эксперим. точки	Наибольш. значение	Наименьш. значение
20180115	HepG2-AhR	02-09	AB17151	13.72107	10.81185	0.97255	10	580	117.1428

Конц.(мкМ)	N=1	N=2
100.00	80.00	120.00
33.33	640.00	520.00
11.11	160.00	160.00
3.70	120.00	120.00
1.23	160.00	120.00
0.41	160.00	160.00
0.14	80.00	160.00
0.05	80.00	120.00
0.02	120.00	80.00
0.01	80.00	80.00

B



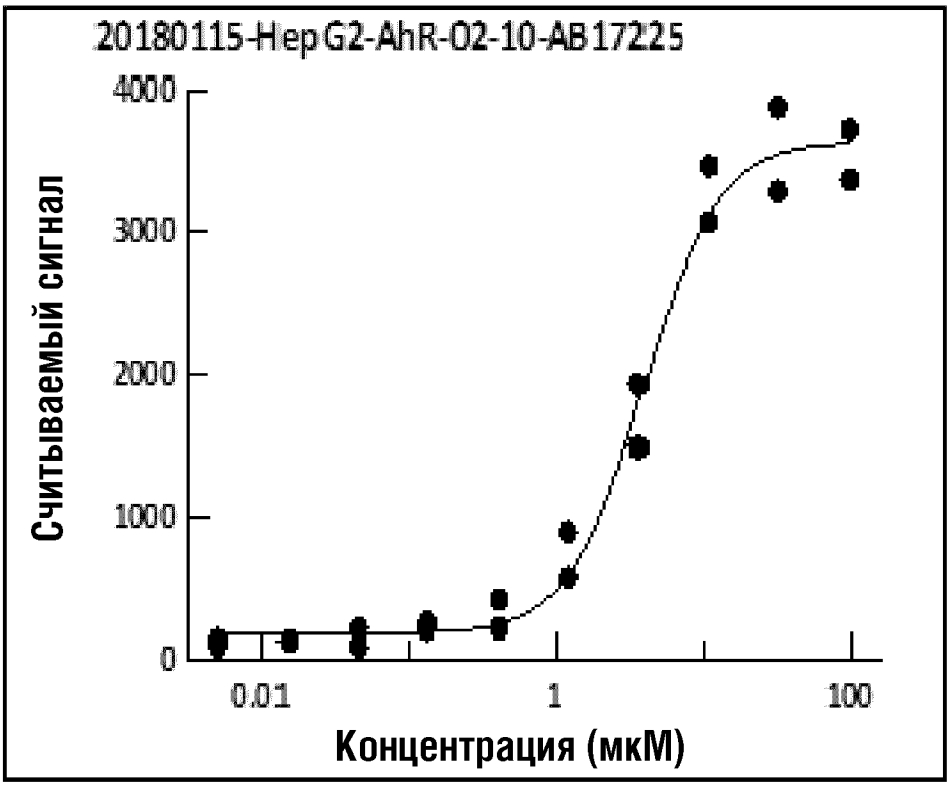
ФИГ.67

A

Дата	Фермент	Последова-тельность	ID Соединения	EC50	НАКЛОН	RSQR	Эксперим. точки	Наибольш. значение	Наименьш. значение
20180115	HepG2-AhR	02-10	AB17225	3.927484	1.69501	0.992449	10	3644.497	170.3592

Конц.(мкМ)	N=1	N=2
100.00	3360.00	3720.00
33.33	3280.00	3880.00
11.11	3060.00	3460.00
3.70	1480.00	1920.00
1.23	560.00	880.00
0.41	400.00	200.00
0.14	200.00	240.00
0.05	80.00	200.00
0.02	120.00	120.00
0.01	120.00	80.00

B



ФИГ.68

Результаты анализа с Melanoderm™ (данные анализа жизнеспособности с MTT)

Дата анализа	IIVS Номер тестируемого образца	Концентрация	Обозначение спонсора	pH (Сутки 0, 2, 4, 6)	Средняя жизнеспособ. тканей (%)[1]	Средняя жизнеспособность тканей (%)[1]		Средняя жизнесп. тканей (%)[1]	
					Анализ в течение 7 суток (обработка через день)	Анализ в течение 7 суток (обработка через день) с послед. анализом в течение 7 суток (без обработки - восстановление)		Анализ в течение 14 суток (обработка через день)	
7 июня 2017 г.	17AA58	200 мкМ	CV-8686	8.5	76.9	35.0	43.9	30.7	38.4
		50 мкМ			95.2	49.6	62.1	42.5	53.2
	17AD49	200 мкМ	AB11644	8.5	93.8	NA	NA	NA	NA
		50 мкМ			106.8	NA	NA	NA	NA
	17AA70	0.2% (V/V)	DMSO	8.0	NA	NA	NA	97.2	NA
	Отрицательный контроль	NA	DIH_2O	NA	100[1]	NA	NA	100[1]	NA
	Положительный контроль	1% (w/v)	Койевая к-та	NA	119.0	NA	NA	48.8	NA
	Необработ. ткани - Сутки 0	NA	NA	NA	100[3]	NA	NA	NA	NA

[1] - Рассчитано относительно соответствующего отрицательного контроля (на обрабатываемую группу)
[2] - Значение отрицательного контроля, принятое за 100% (фоновый уровень)
[3] - Значение Контроля для необработанных тканей (сутки 0), принятое за 100% (фоновый уровень)
NA - нет данных

Синим: значения, скорректированные относительно контроля с несущей средой (0,2% DMSO)

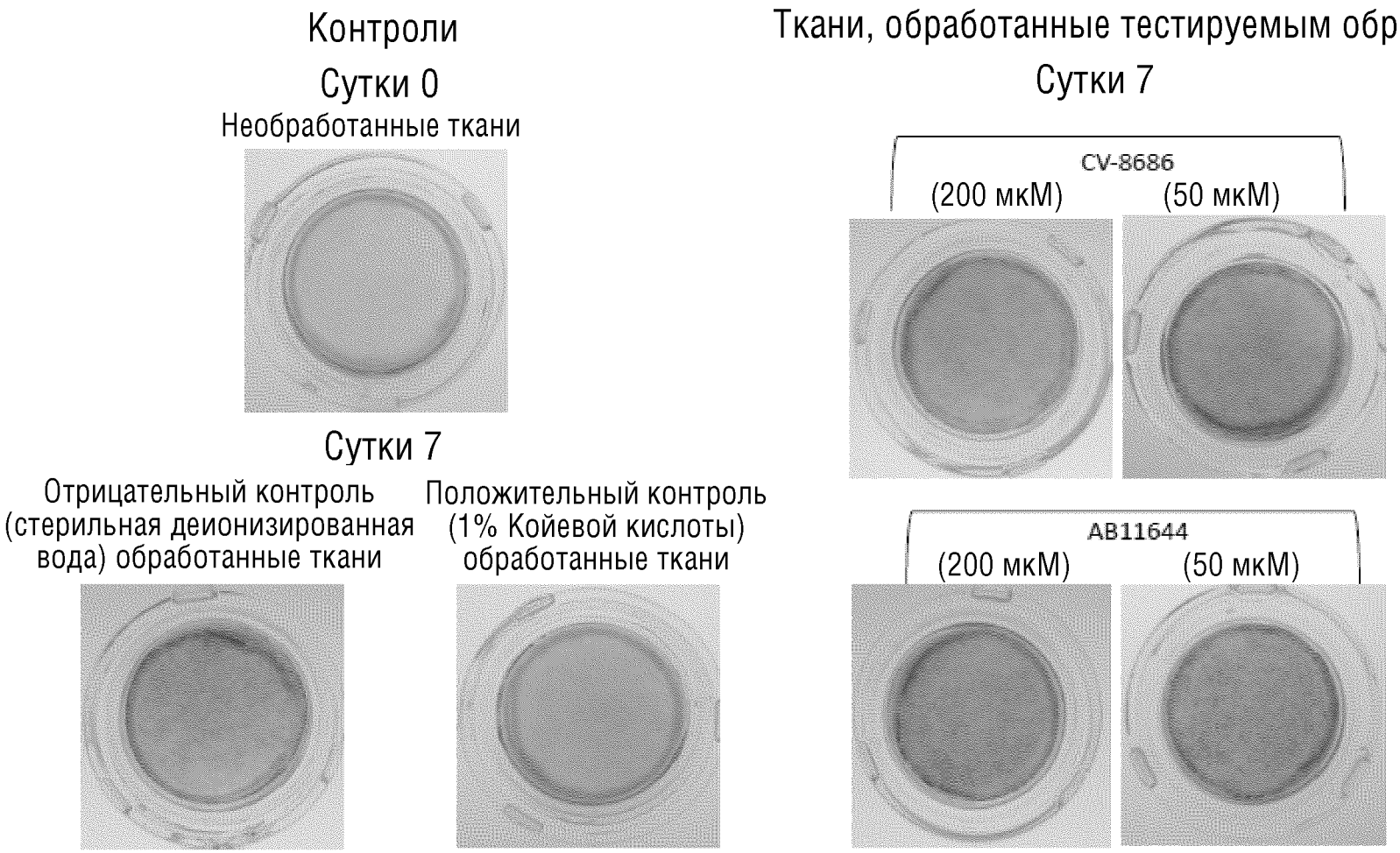
ФИГ.69

Результаты анализа с Melanoderm™ (данные концентрации меланина)

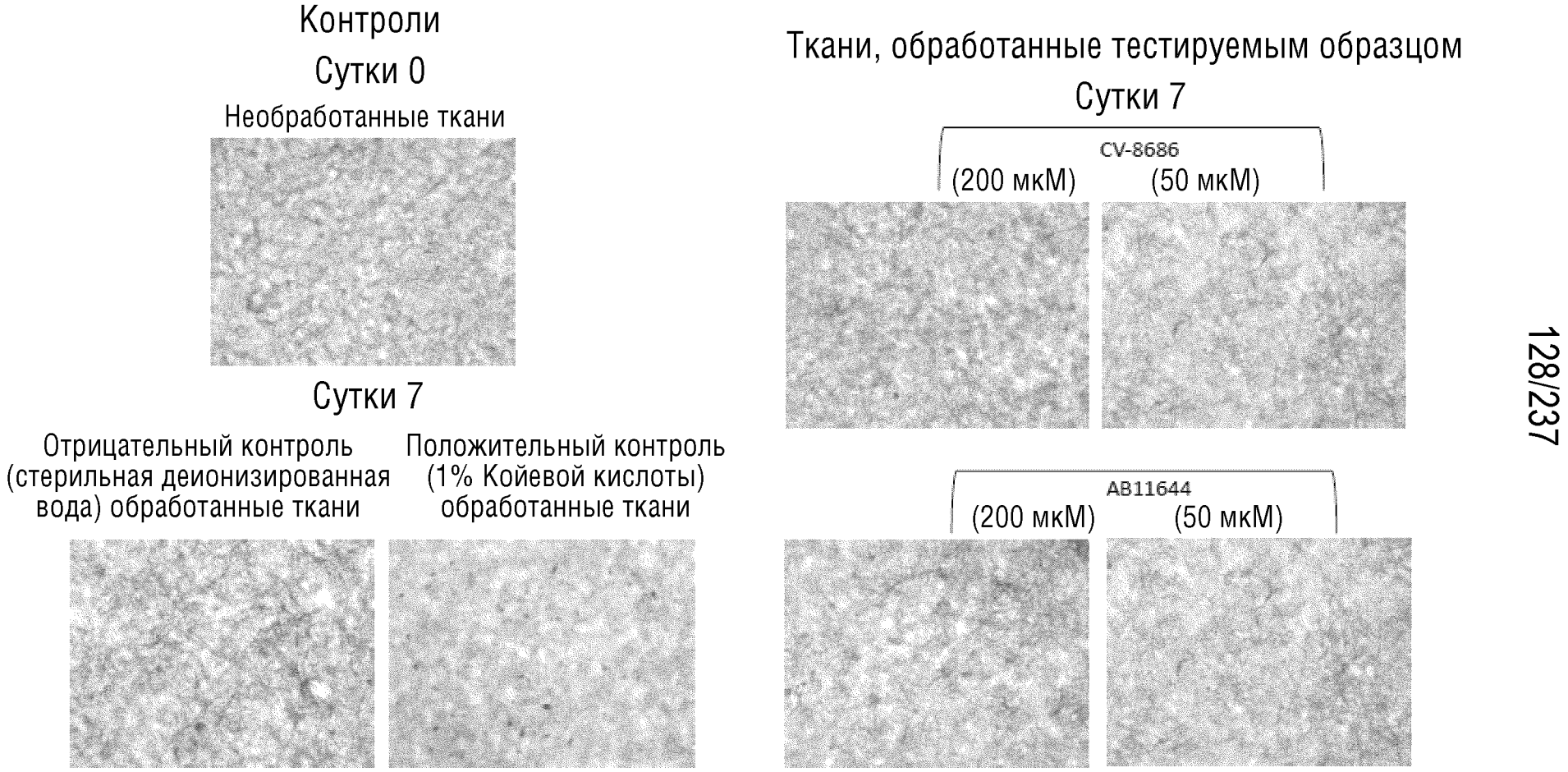
Дата анализа	IIVS Номер тестируемого образца	Концентрация	Обозначение спонсора	pH (Сутки 0, 2, 4, 6)	Средняя концентрация меланина (мкг/мл)		
					Анализ в течение 7 суток (обработка через день)	Анализ в течение 7 суток (обработка через день) с послед. анализом в течение 7 суток (без обработки - восстановление)	Анализ в течение 14 суток (обработка через день)
7 июня 2017 г.	17AA58	200 мкМ	CV-8686	8.5	44.4	59.9	55.0
		50 мкМ			46.3	78.4	69.0
	17AD49	200 мкМ	AB11644	8.5	40.2	NA	NA
		50 мкМ			49.2	NA	NA
	17AA70	0.2% (V/V)	DMSO	8.0	NA	NA	135.8
	Отрицательный контроль	NA	DIH_2O	NA	55.8	NA	174.0
	Положительный контроль	1% (w/v)	Койевая к-та	NA	23.3	NA	29.1
	Необработ. ткани - Сутки 0	NA	NA	NA	23.0	NA	NA

1 - Рассчитано относительно соответствующего отрицательного контроля (на обрабатываемую группу)
2 - Значение отрицательного контроля, принятое за 100% (фоновый уровень)
3 - Значение Контроля для необработанных тканей (сутки 0), принятое за 100% (фоновый уровень)
NA - нет данных

ФИГ.70


Контроли
Сутки 0
Необработанные ткани
Сутки 7
Отрицательный контроль (стерильная деионизированная вода) обработанные ткани
Положительный контроль (1% Койевой кислоты) обработанные ткани
Ткани, обработанные тестируемым образцом
Сутки 7
CV-8686
(200 мкМ)
(50 мкМ)
AB11644
(200 мкМ)
(50 мкМ)

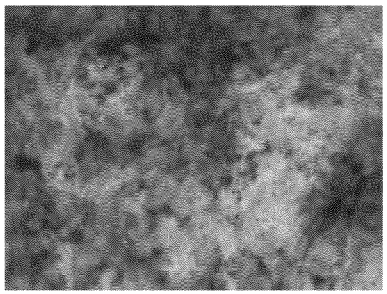
ФИГ.71


Контроли
Сутки 0
Необработанные ткани
Сутки 7
Отрицательный контроль (стерильная деионизированная вода) обработанные ткани
Положительный контроль (1% Койевой кислоты) обработанные ткани
Ткани, обработанные тестируемым образцом
Сутки 7
CV-8686
(200 мкМ)
(50 мкМ)
AB11644
(200 мкМ)
(50 мкМ)

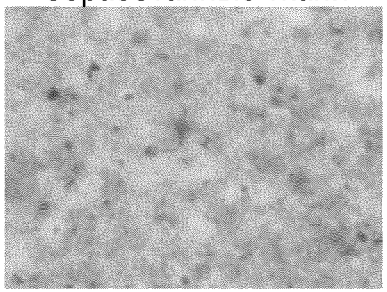
ФИГ.72

Сутки 14

Отрицательный контроль (стерильная деионизированная вода) обработанные ткани



Положительный контроль (1% Койевой кислоты) обработанные ткани

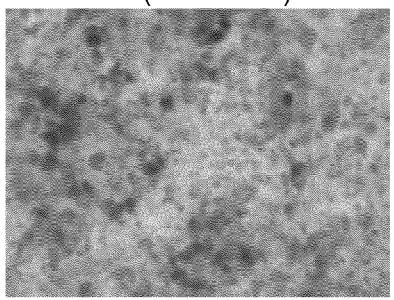


Сутки 14

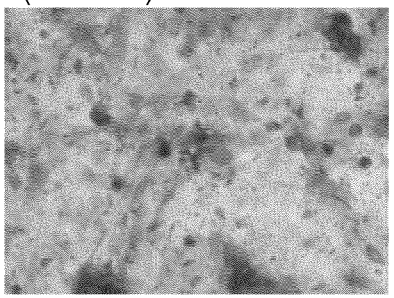
(анализ в течение 14 суток)

CV-8686

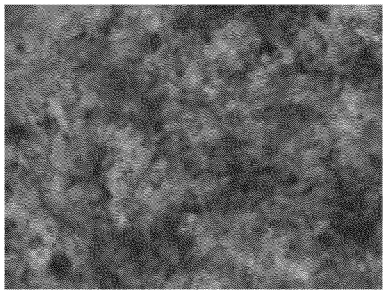
(200 мкМ)



(50 мкМ)



DMSO (0.2%)

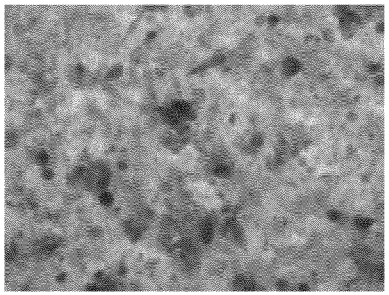


Сутки 14

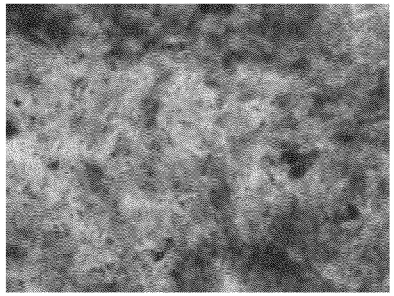
(анализ в течение 7 суток: обработка через день) с последующими 7 сутками без обработки (восстановление)

CV-8686

(200 мкМ)

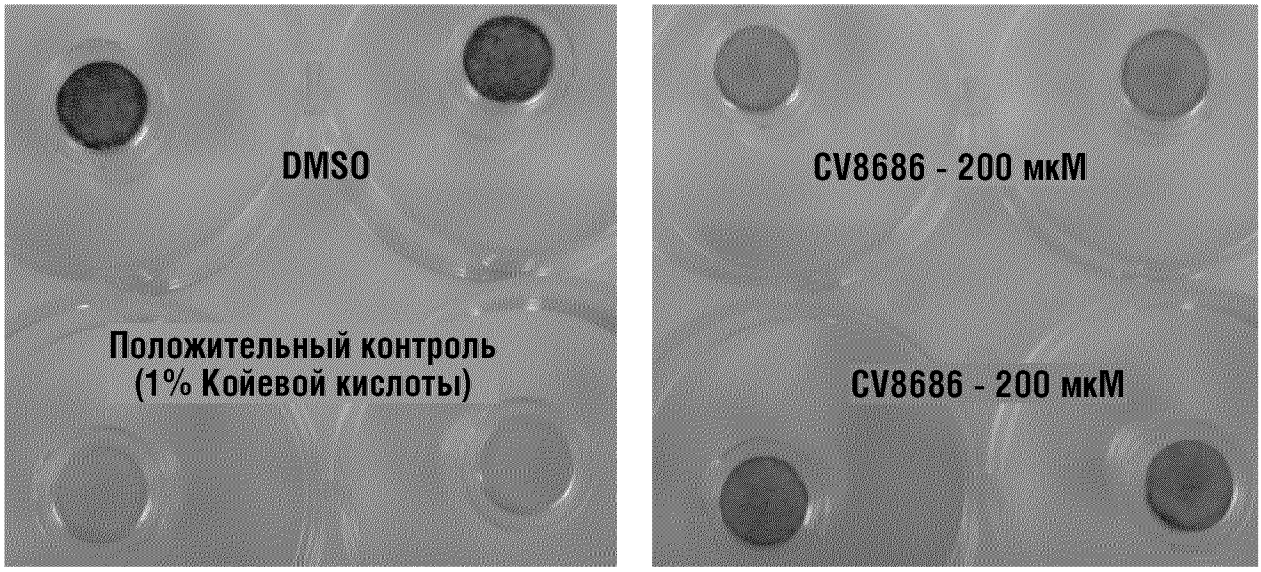


(50 мкМ)

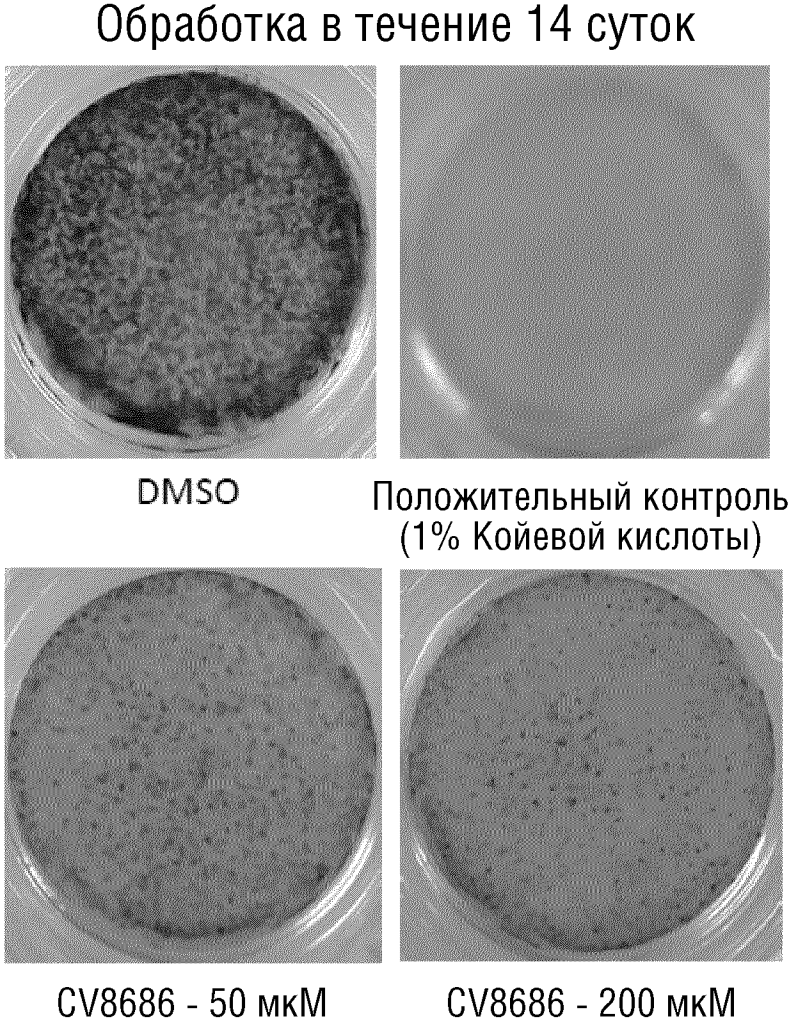


ФИГ.73

Обработка в течение 14 суток



ФИГ.74


Обработка в течение 14 суток
DMSO
Положительный контроль
(1% Койевой кислоты)
CV8686 - 50 мкМ
CV8686 - 200 мкМ

ФИГ.75

Результаты анализа с Melanoderm™ (данные анализа жизнеспособности с MTT и средней концентрации меланина), исследование № 17AA70, AD41, AJ41, AJ43-AJ47, AJ55, AJ64.050102

Дата анализа	IIVS Номер тестир. образца	Концентрация	Обозначение спонсора	pH (Сутки 0, 2, 4, 6)^	Ср. жизнеспособ. тканей (%)[1] Сутки 7	Концентрация меланина (мкг/мл)
16 ноября 2017 г.	17AA70	0.5% (v/v)	DMSO	8.5; 8.0; 8.5; 8.5	100[2]	53.82
	17AD41	500 мкМ	Соединение I (CV-8686)	8.0	69.0	30.69
	17AJ41	500 мкМ	Малассезин (CV-8684)	8.0	70.0	31.41
		200 мкМ			78.9	34.48
	17AJ43	500 мкМ	Соединение B (CV-8877)	8.0	87.7	25.99
		200 мкМ			99.4	39.18
	17AJ44	500 мкМ	Соединение E (AB12508)	8.0	70.4	25.26
		200 мкМ			106.3	31.23
	17AJ45	500 мкМ	Соединение H (AB12509)	8.0	62.0	37.19
		200 мкМ			89.0	36.83
	17AJ46	500 мкМ		8.0	86.5	30.50
		200 мкМ			101.2	34.66
	17AJ47	500 мкМ	Соединение A5 (CV-8819)	8.0	68.7	31.41
		200 мкМ			70.2	29.60
	17AJ55	500 мкМ	052 (AB12976)	8.0	92.8	37.37
		200 мкМ			96.2	43.16
	17AJ64	0.1% (w/w)*	Состав соединения I	NCC	20.9	22.55
	Отр. контроль	100%	Стерил. деиониз. H_2O	NA	NA	38.82#
	Положит. контроль	1% (w/v)	Койевая к-та	4.0	104.0	22.01
	Необраб. ткани	NA	NA	NA	100[3]	21.47

1 - Рассчитано относительно контроля с растворителем
2 - Значение контроля с растворителем, принятое за 100% (фоновый уровень)
3 - Значение контроля для необработанных тканей (сутки 0), принятое за 100% (фоновый уровень)
^ - где указано единственное значение: значение pH было одинаковым для всех 4 суток измерения
* - приготовлены и предоставлены Спонсором в указанной концентрации; наносили на ткани без дальнейшего разбавления

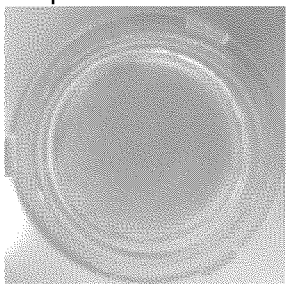
NCC - Изменение цвета на pH-бумаге отсутствует
NA - нет данных
- на основе одной ткани

ФИГ.76

Контроли

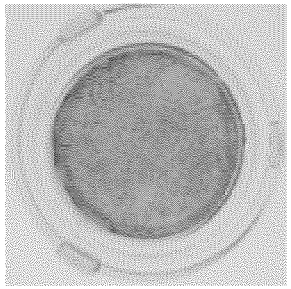
Сутки 0

Необработанные ткани

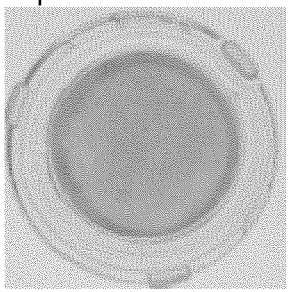


Сутки 7

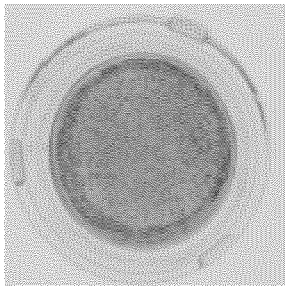
Отрицательный контроль (стерильная деионизированная вода) обработанные ткани



Положительный контроль (1% Койевой кислоты) обработанные ткани

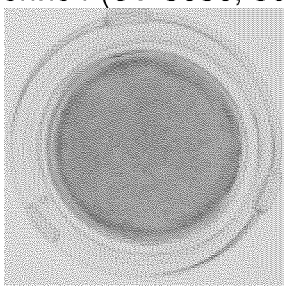


Контроль с растворителем (DMSO)



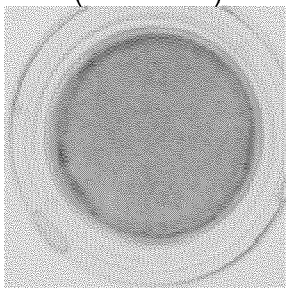
Ткани, обработанные тестируемым образцом - Сутки 7

Соединение I (CV-8686, 500 мкМ)

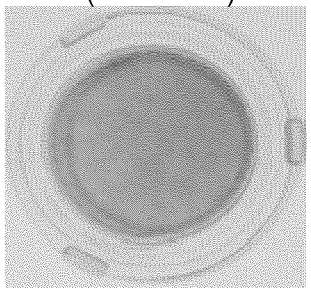


Малассезин (CV-8684)

(200 мкМ)

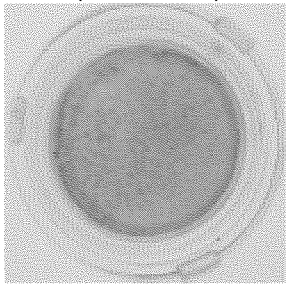


(500 мкМ)

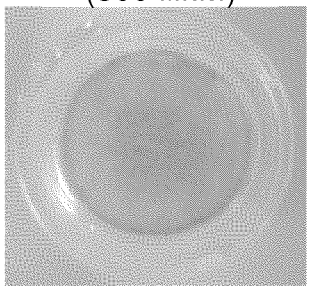


Соединение B (CV-8877)

(200 мкМ)



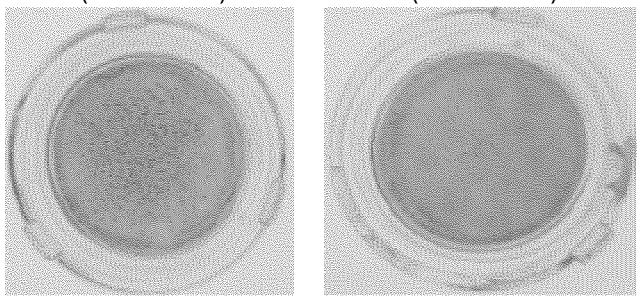
(500 мкМ)



ФИГ.77

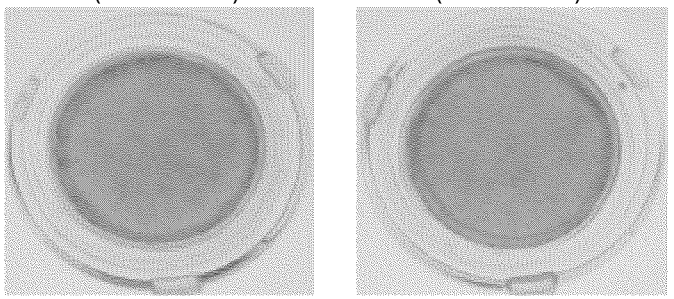
Соединение E (AB12508)

(200 мкМ) (500 мкМ)



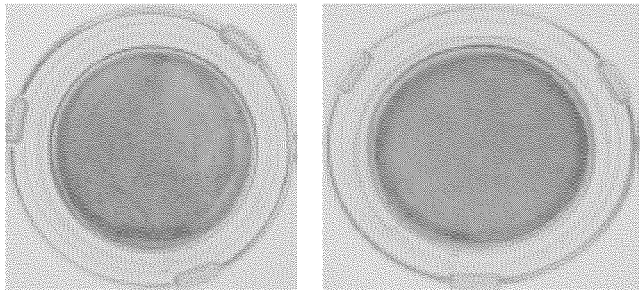
Соединение A5 (CV-8819)

(200 мкМ) (500 мкМ)



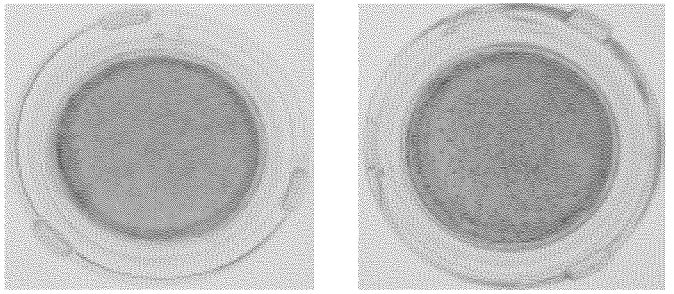
Соединение H (AB12509)

(200 мкМ) (500 мкМ)

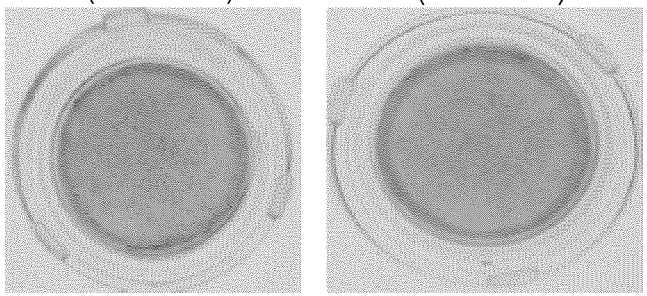


O52 (AB12976)

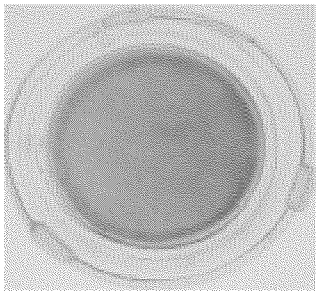
(200 мкМ) (500 мкМ)



(200 мкМ) (500 мкМ)



Состав Соединения I

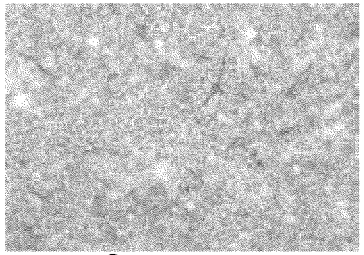


ФИГ.78

Контроли

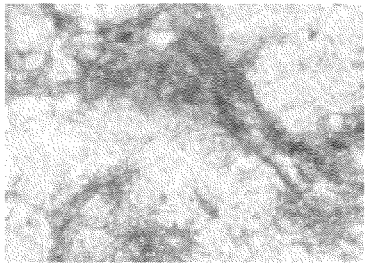
Сутки 0

Необработанные ткани

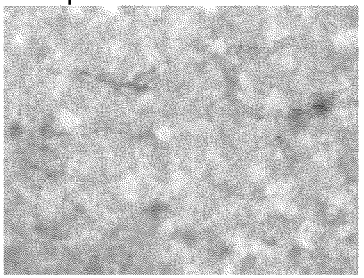


Сутки 7

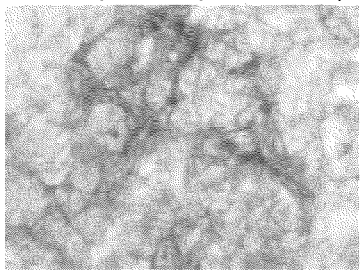
Отрицательный контроль (стерильная деионизированная вода) обработанные ткани



Положительный контроль (1% Койевой кислоты) обработанные ткани

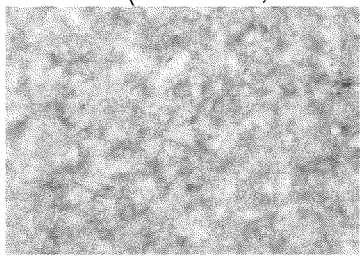


Контроль с растворителем (DMSO)



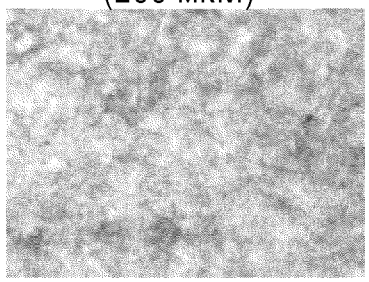
Ткани, обработанные тестируемым образцом - Сутки 7

Соединение I (CV-8686, 500 мкМ)

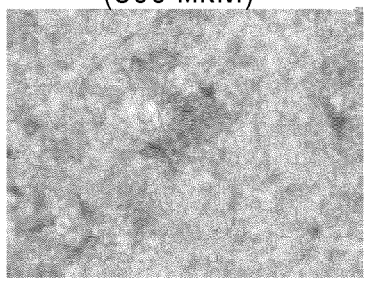


Малассезин (CV-8684)

(200 мкМ)

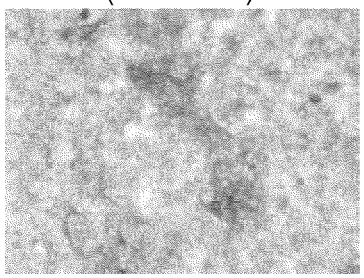


(500 мкМ)

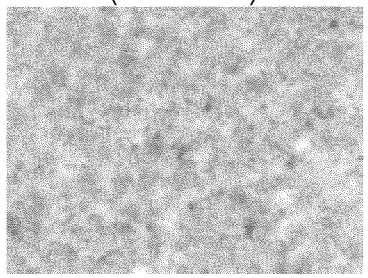


Соединение B (CV-8877)

(200 мкМ)

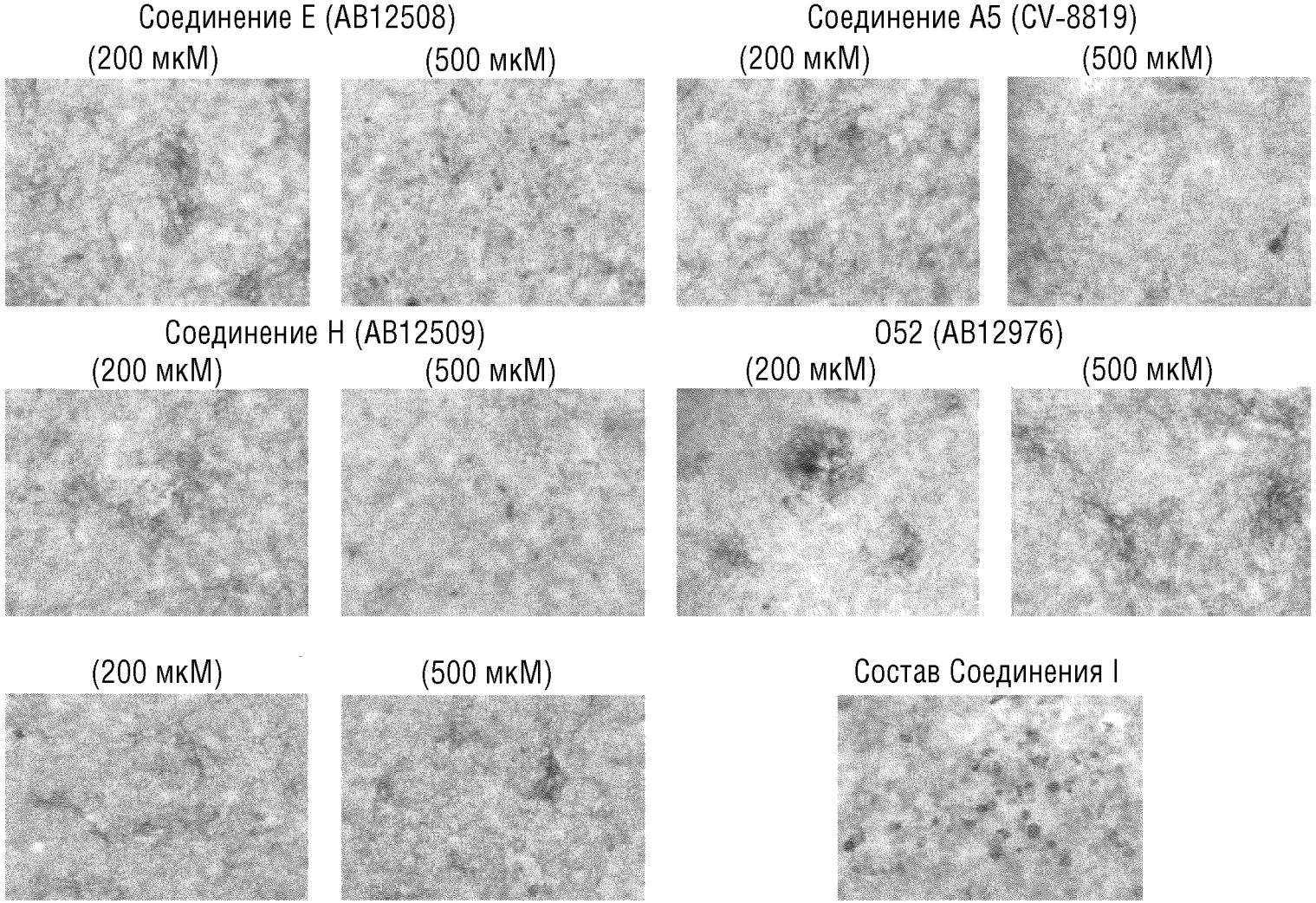


(500 мкМ)

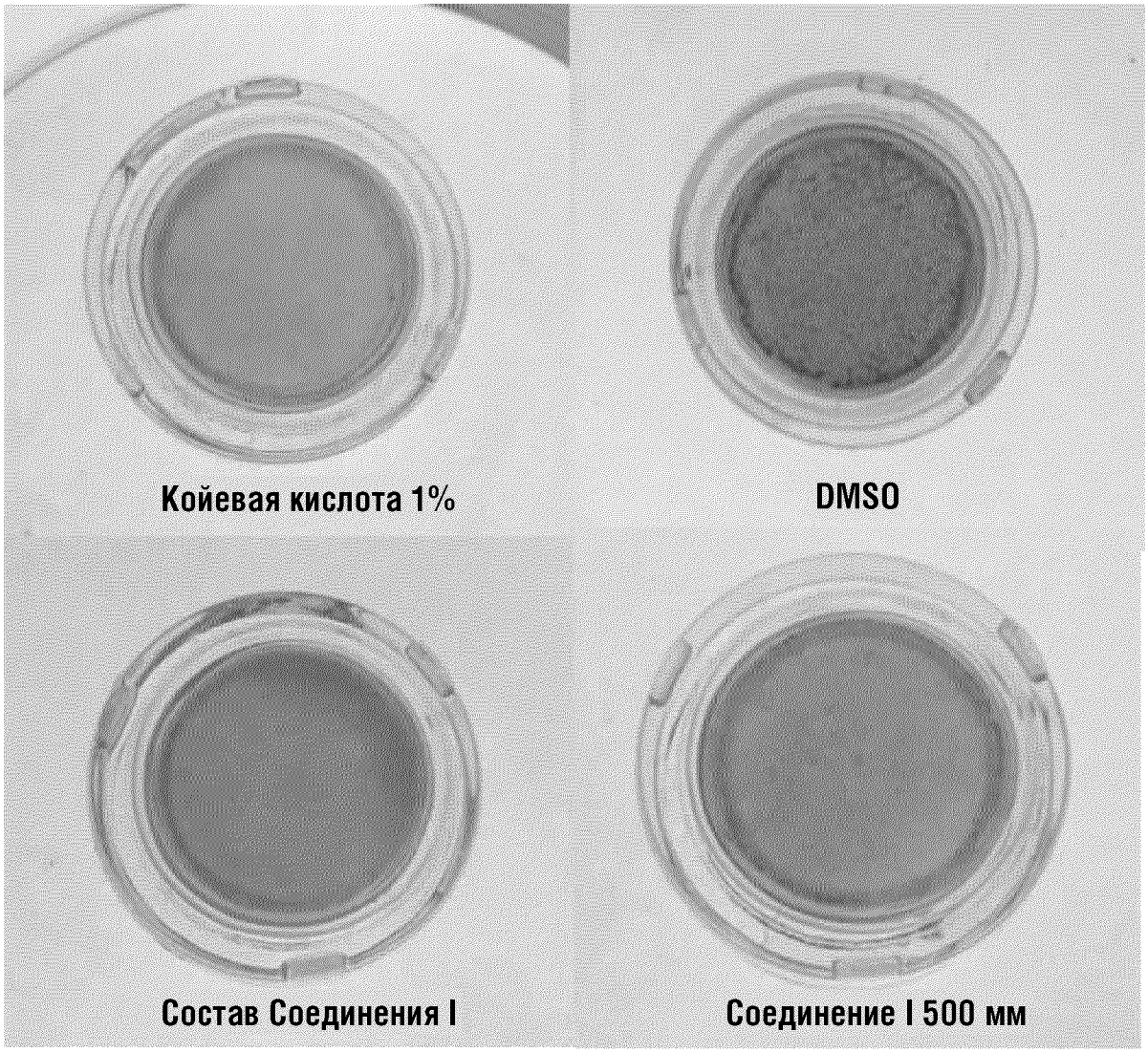


ФИГ.79

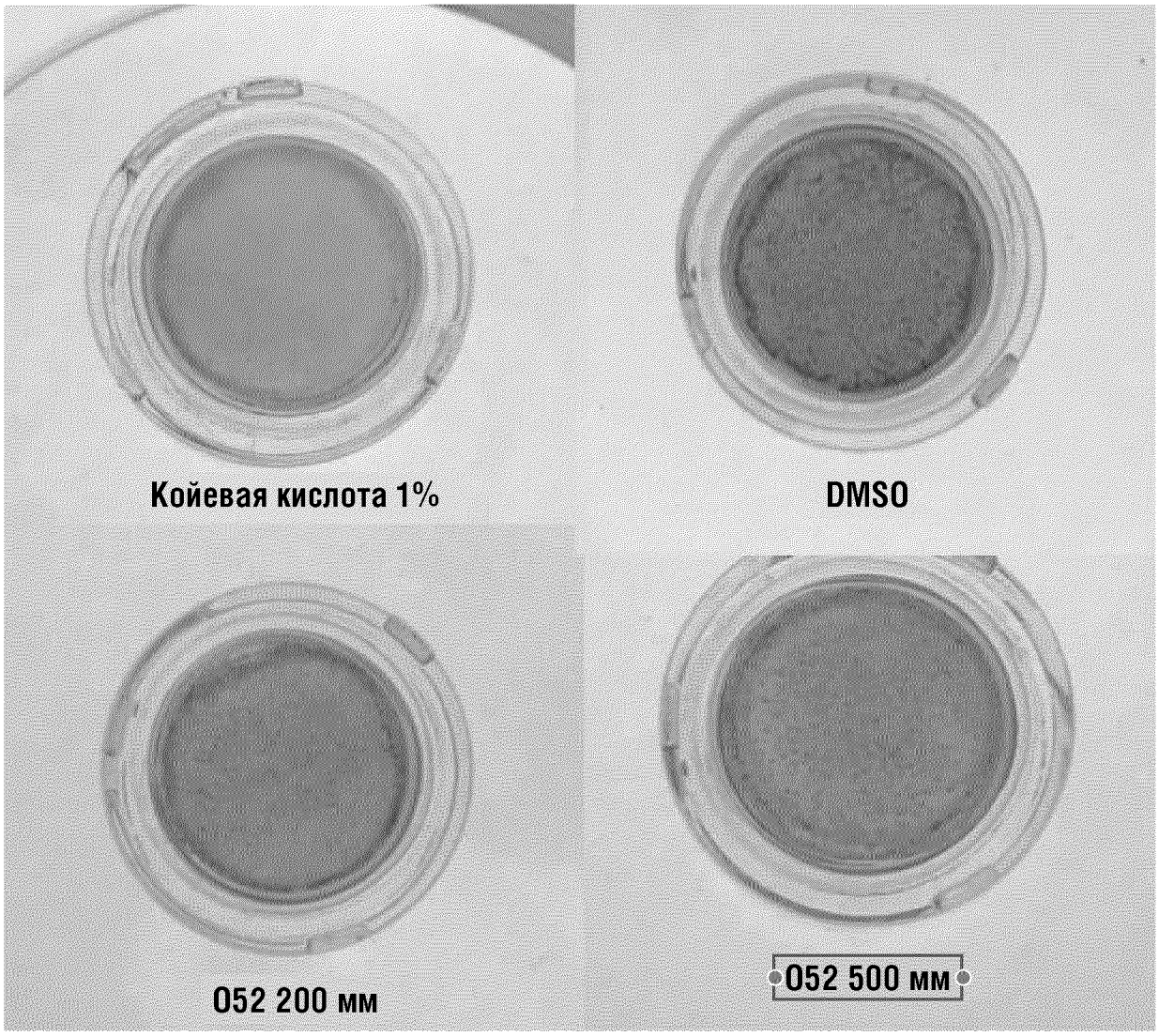
Ткани, обработанные тестируемым образцом - Сутки 7



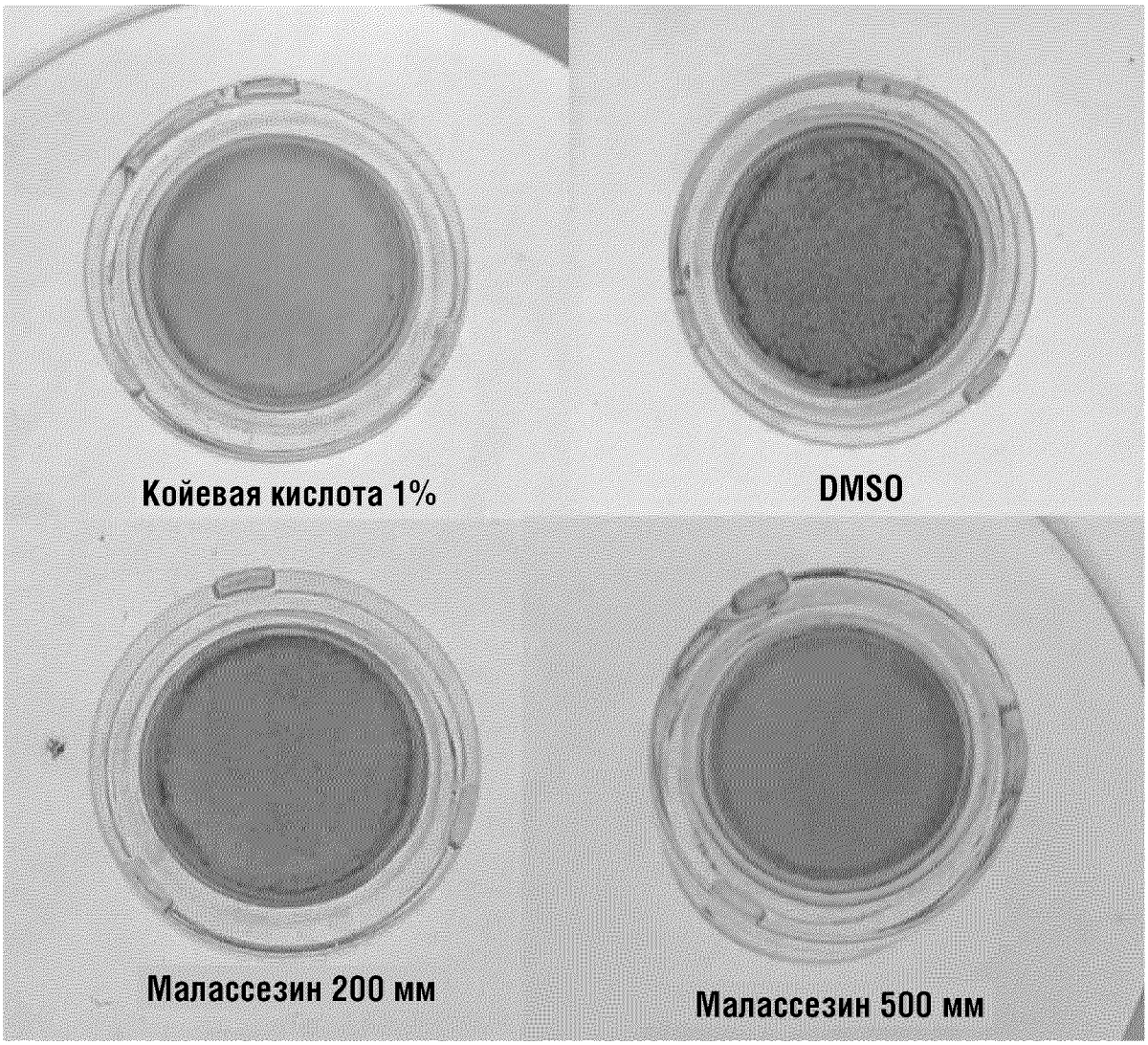
ФИГ.80


Койевая кислота 1%
DMSO
Состав Соединения I
Соединение I 500 мм

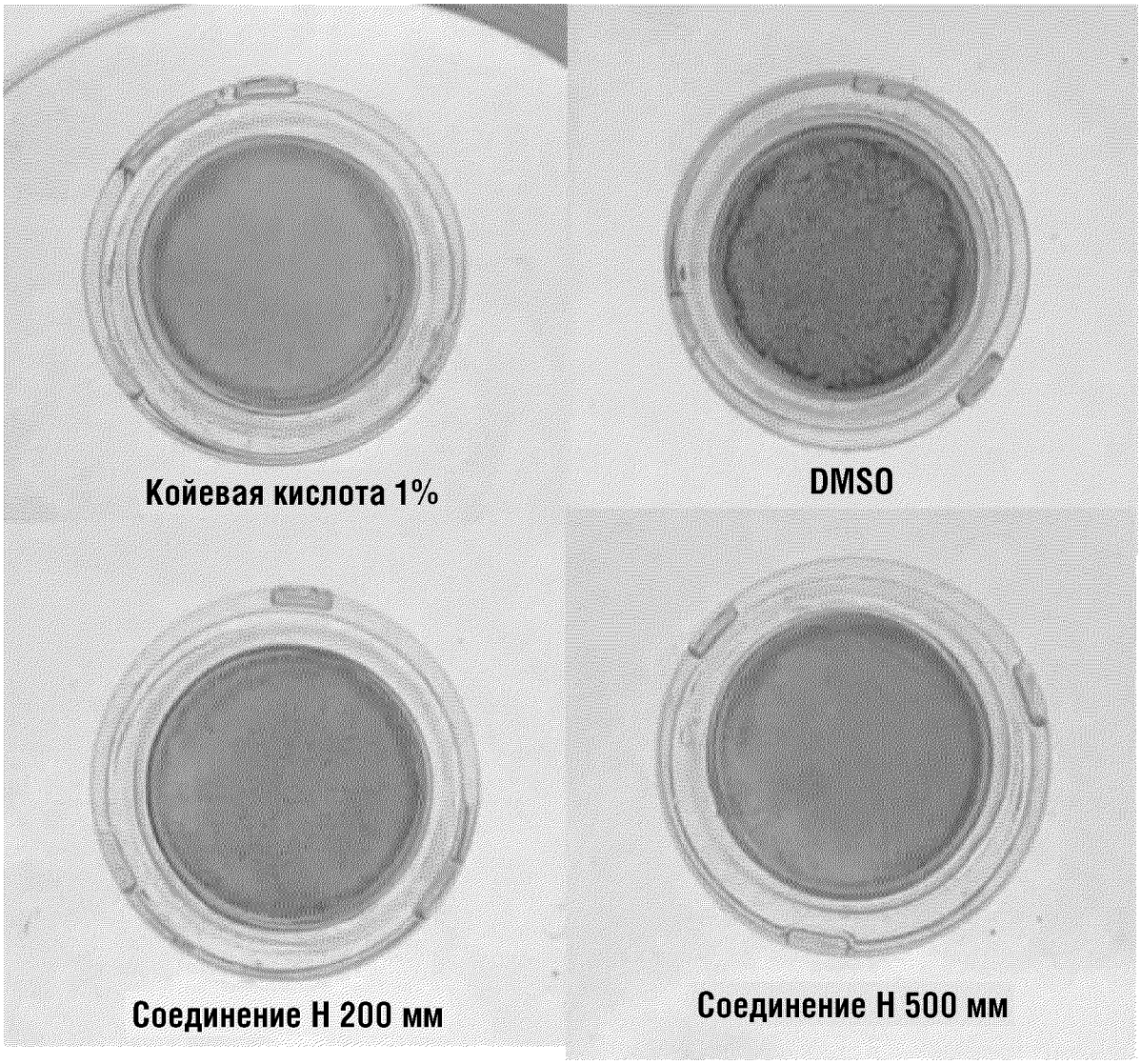
ФИГ.81



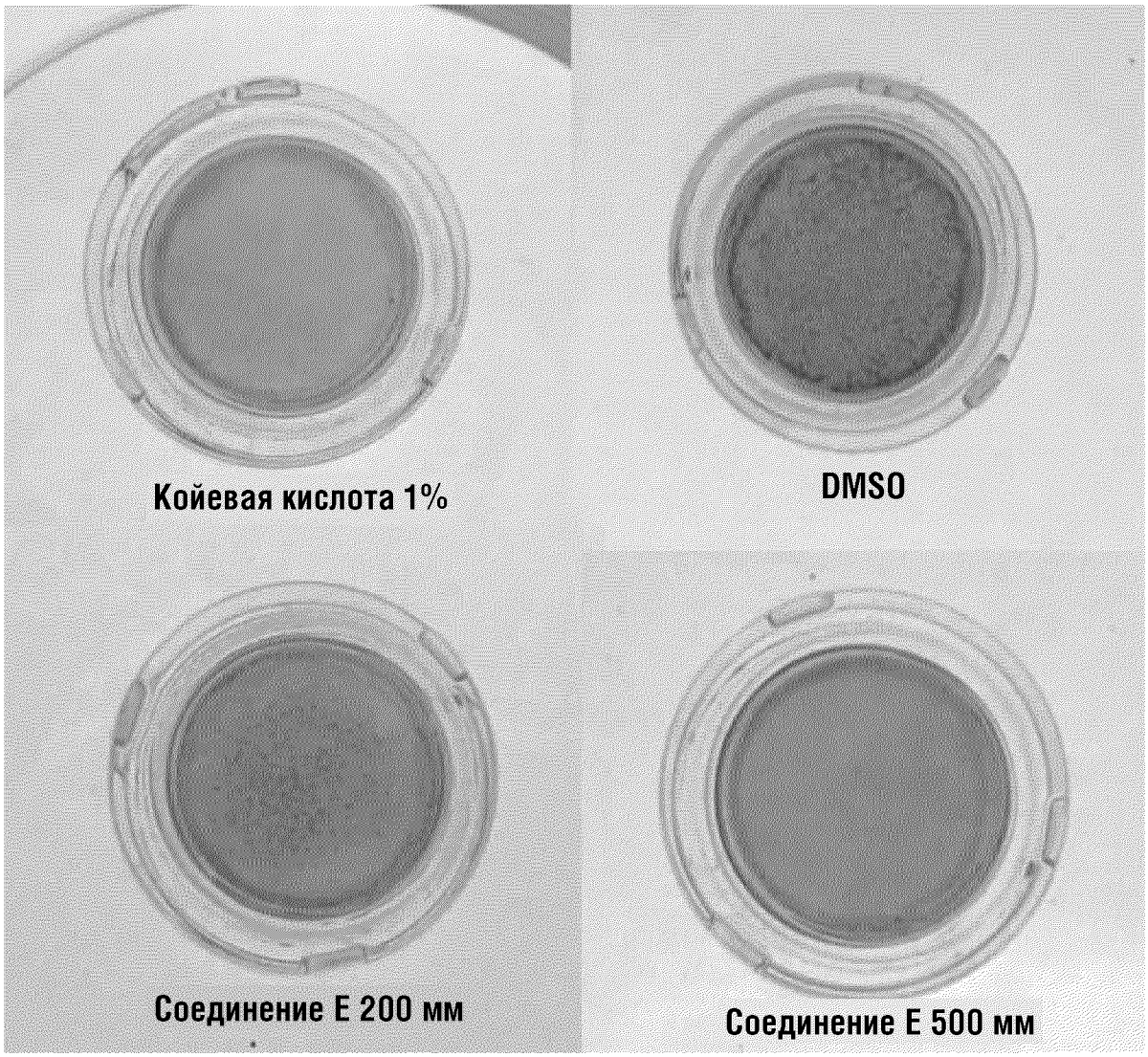
ФИГ.82



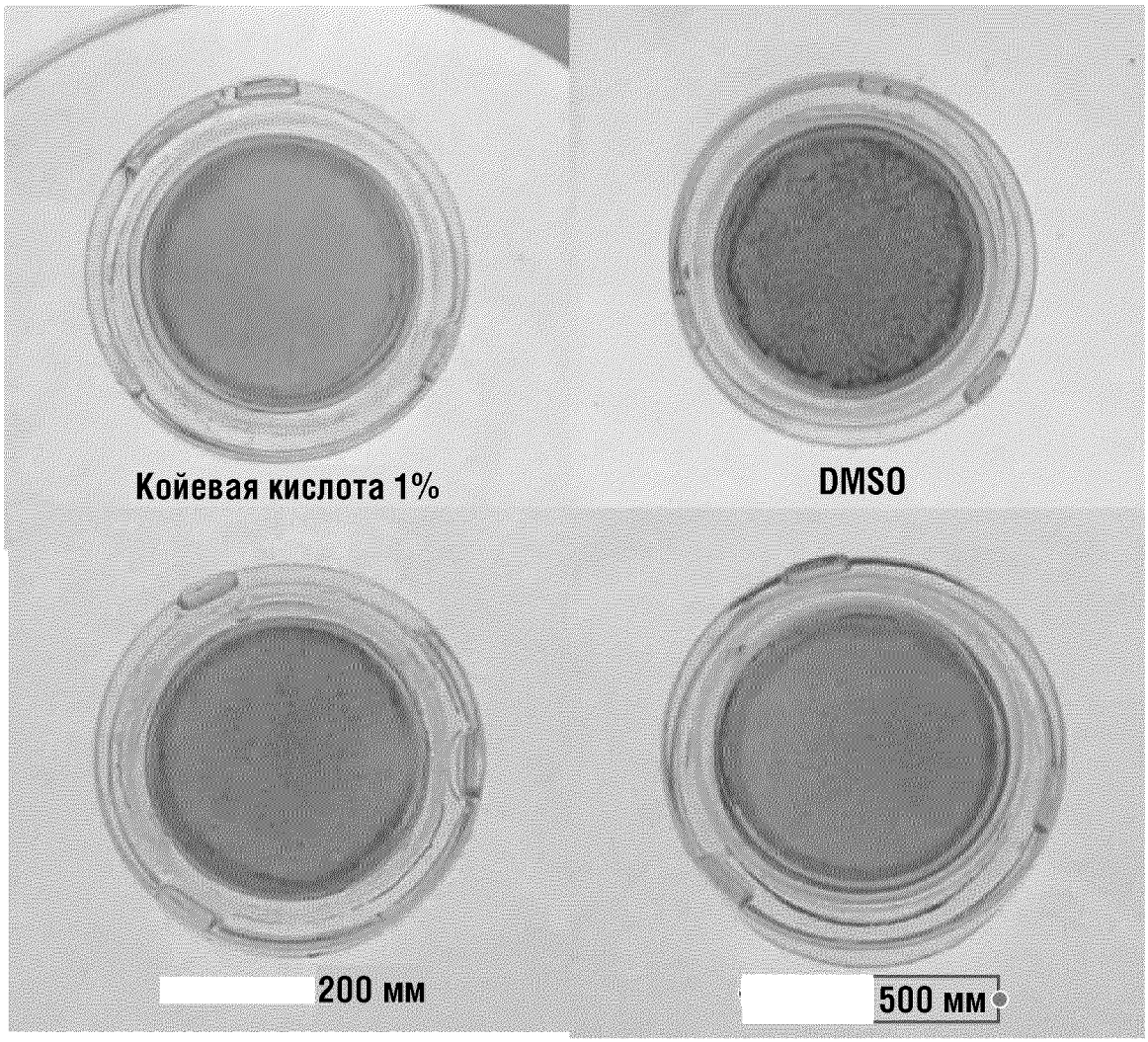
ФИГ.83


Койевая кислота 1%
DMSO
Соединение H 200 мм
Соединение H 500 мм

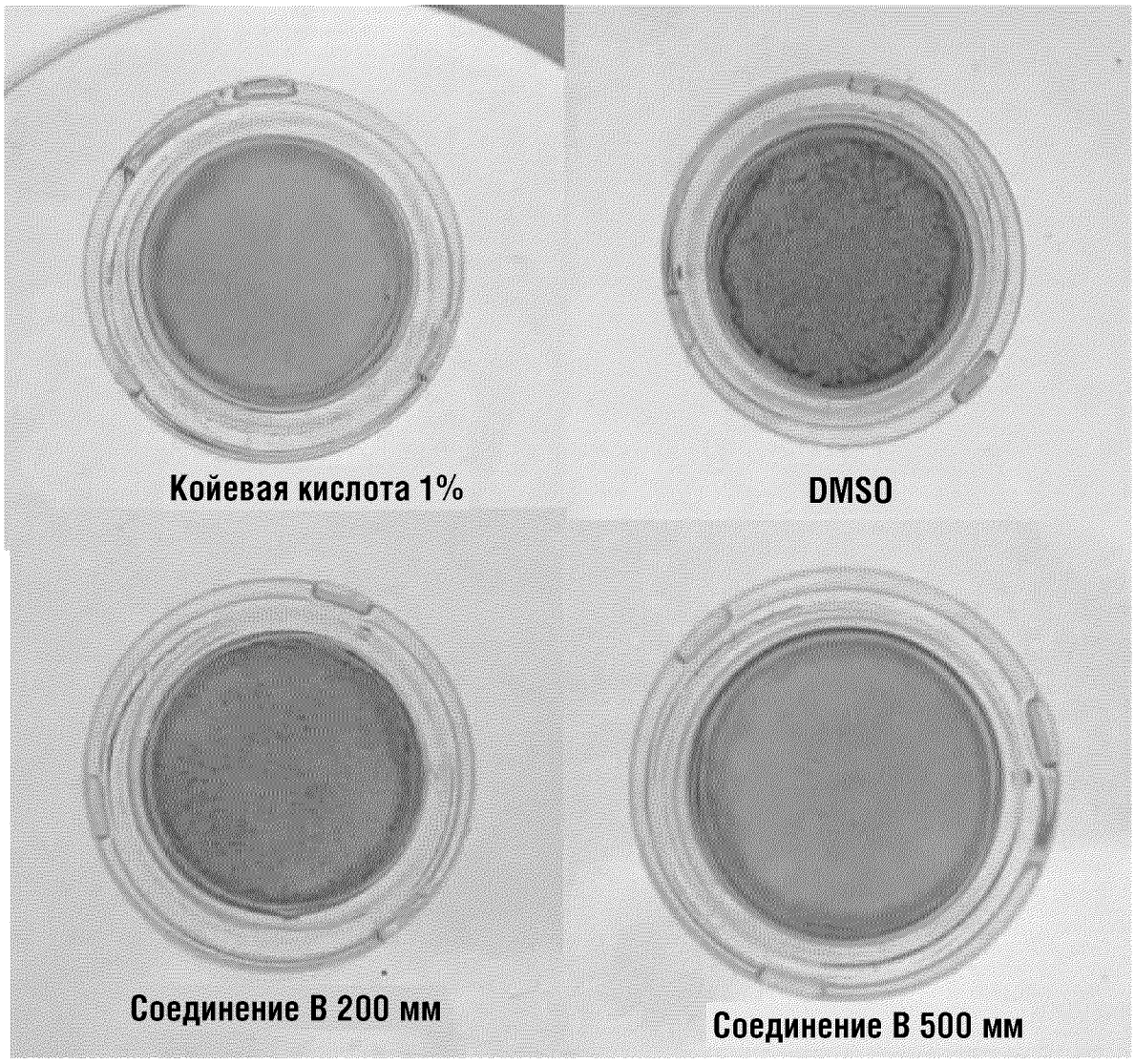
ФИГ.84


Койевая кислота 1%
DMSO
Соединение E 200 мм
Соединение E 500 мм

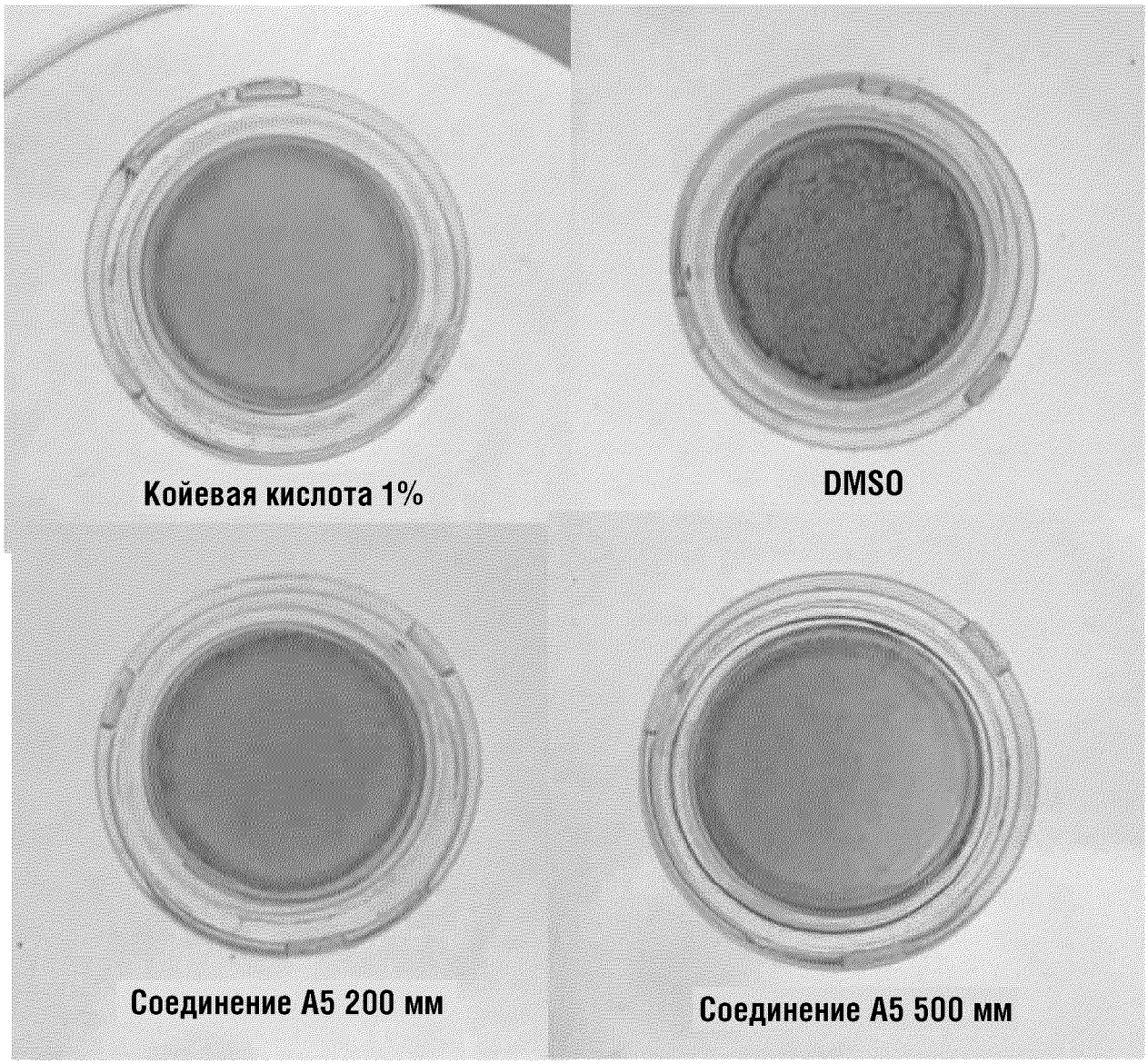
ФИГ.85



ФИГ.86


Койевая кислота 1%
DMSO
Соединение B 200 мм
Соединение B 500 мм

ФИГ.87


Койевая кислота 1%
DMSO
Соединение A5 200 мм
Соединение A5 500 мм

ФИГ.88

Результаты анализа с Melanoderm™ (данные анализа жизнеспособности с MTT и средней концентрации меланина)

IIVS Номер тестируемого образца	Концентрация	Обозначение спонсора	pH (Сутки 0, 2, 4, 6)^	Средняя жизне-способность тканей (%)[1] Day 7	Концентрация меланина (мкг/мл)
18AA14	1000 мкМ	AB17151	8.5; 8.5;8.5; 8.5	13.6	10.323
	500 мкМ		8.0; 8.0;8.0; 8.0	36.5	10.074
	200 мкМ		7.5; 8.0;7.5; 7.5	92.5	15.050
18AA15	500 мкМ	Соединение B10	8.0; 8.0; 8.0; 8.0	85.6	18.782
	200 мкМ		7.5; 8.0; 7.5; 7.5	69.0	20.524
18AA16	500 мкМ	Предшественник малассезина	8.0; 8.5; 8.0; 8.0	91.1	27.324
	200 мкМ		7.5; 8.0; 7.5; 7.5	103.5	24.670
18AA21	500 мкМ	Malassezia Индол A (AB17011)	8.5; 8.5; 8.5; 8.0	91.4	24.173
18AA22	500 мкМ	Питириацитрин (AB17014)	8.5; 8.5; 8.5; 8.0	67.5	17.455
17AA70	0.5% (v/v)	DMSO	8.0; 8.0; 8.0; 8.0	100[2]	28.983
17AJ41	1000 мкМ	Малассезин (CV-8684)	8.5; 8.5; 8.5; 8.5	59.2	19.114
	500 мкМ		8.0; 8.0; 8.0; 8.0	65.9	18.201
	200 мкМ		7.5; 7.5; 7.5; 7.5	90.9	20.026
17AJ44	1000 мкМ	Соединение E (AB12508)	8.5; 8.5; 8.5; 8.5	16.0	9.908
	500 мкМ		8.0; 8.0; 8.0; 8.0	100.5	16.294
	200 мкМ		7.5; 7.5; 7.5; 7.5	108.7	23.509
Положительный контроль	1% (w/v)	Койевая кислота	4.0; 4.0; 4.0; 4.0	120.3	11.484
Необработанные ткани	NA	NA	NA	100[3]	9.825

[1] – Рассчитано относительно контроля с растворителем (17AA70 – DMSO)

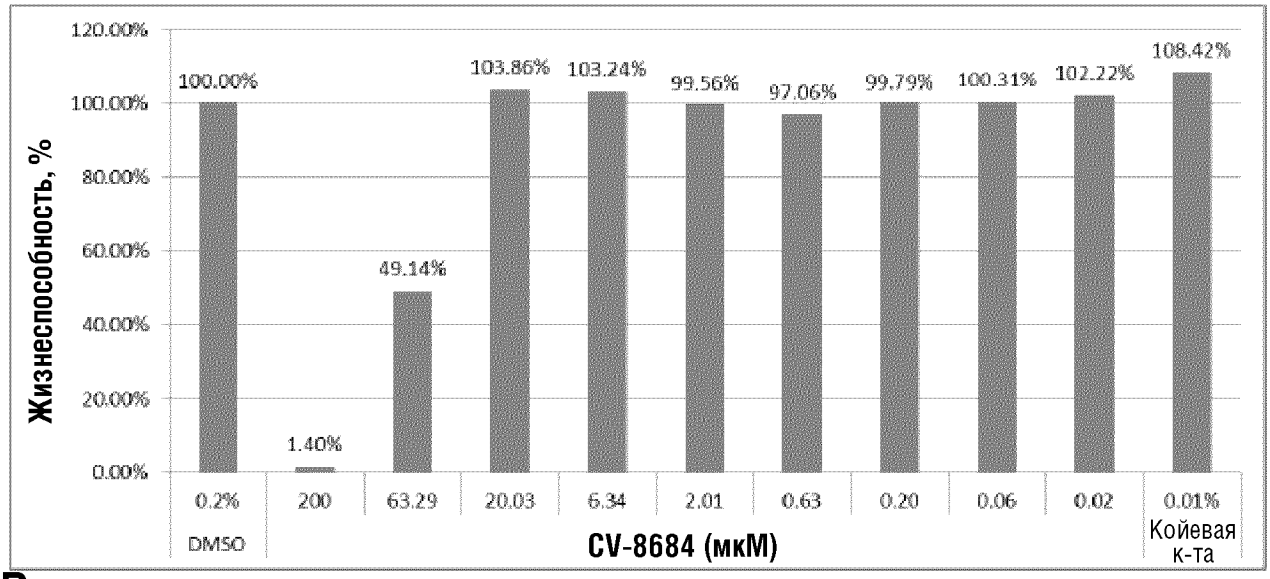
[2] – Значение контроля с растворителем, принятое за 100% (фоновый уровень)

[3] – Значение контроля для необработанных тканей **(сутки 0)**, принятое за 100% (фоновый уровень)

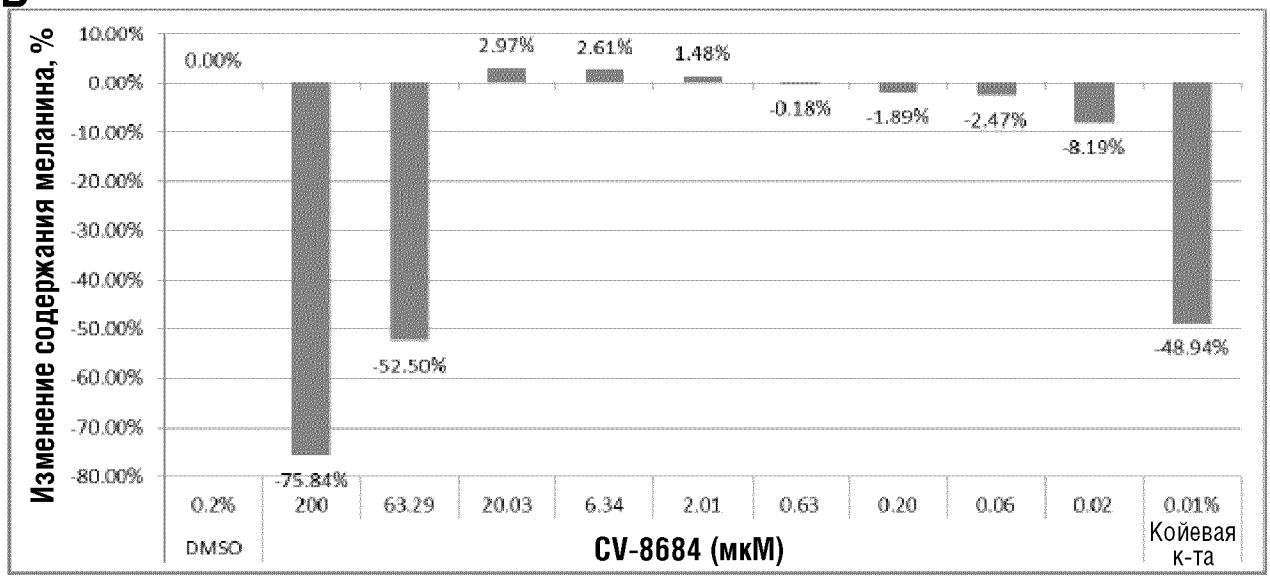
NA – нет данных

ФИГ.89

A

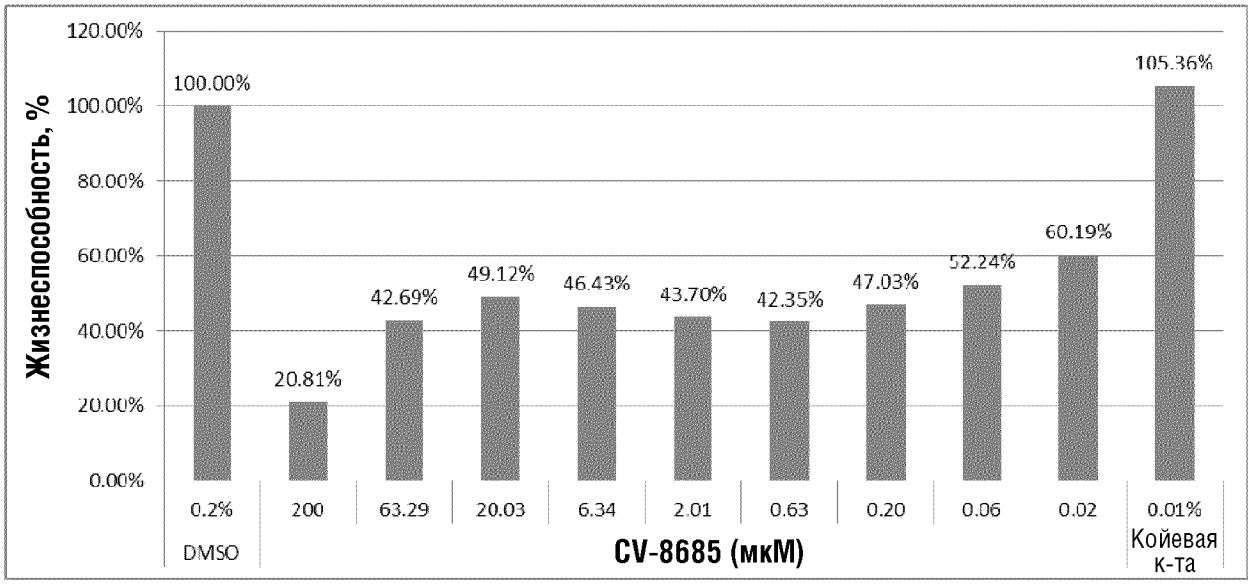

Жизнеспособность, %
120.00%
100.00%
80.00%
60.00%
40.00%
20.00%
0.00%
100.00%
1.40%
49.14%
103.86%
103.24%
99.56%
97.06%
99.79%
100.31%
102.22%
108.42%
0.2%
DMSO
200
63.29
20.03
6.34
2.01
0.63
0.20
0.06
0.02
0.01%
Койевая к-та
CV-8684 (мкМ)

B

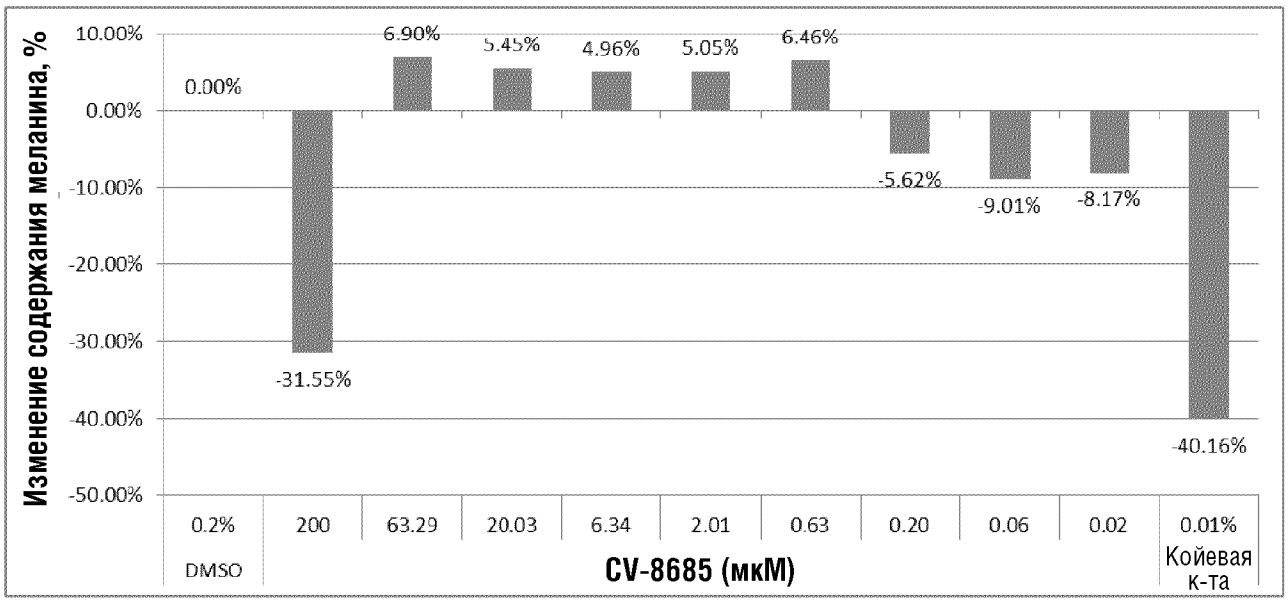

Изменение содержания меланина, %
10.00%
0.00%
-10.00%
-20.00%
-30.00%
-40.00%
-50.00%
-60.00%
-70.00%
-80.00%
0.00%
-75.84%
-52.50%
2.97%
2.61%
1.48%
-0.18%
-1.89%
-2.47%
-8.19%
-48.94%
0.2%
DMSO
200
63.29
20.03
6.34
2.01
0.63
0.20
0.06
0.02
0.01%
Койевая к-та
CV-8684 (мкМ)

ФИГ.89 (продолжение)

C

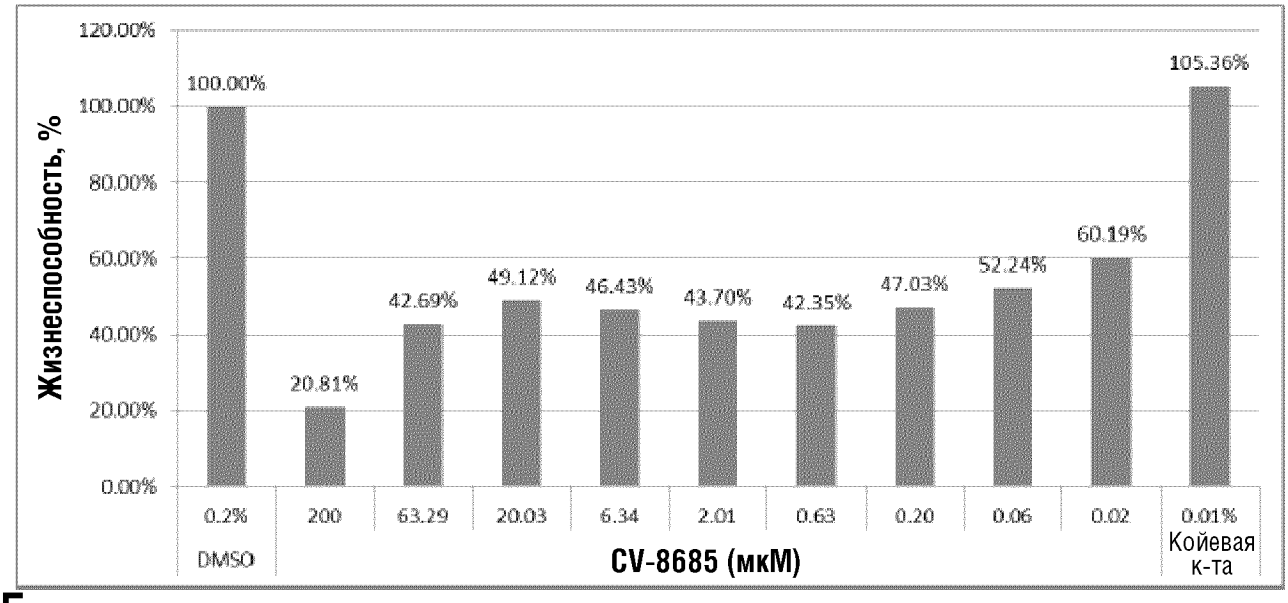


D

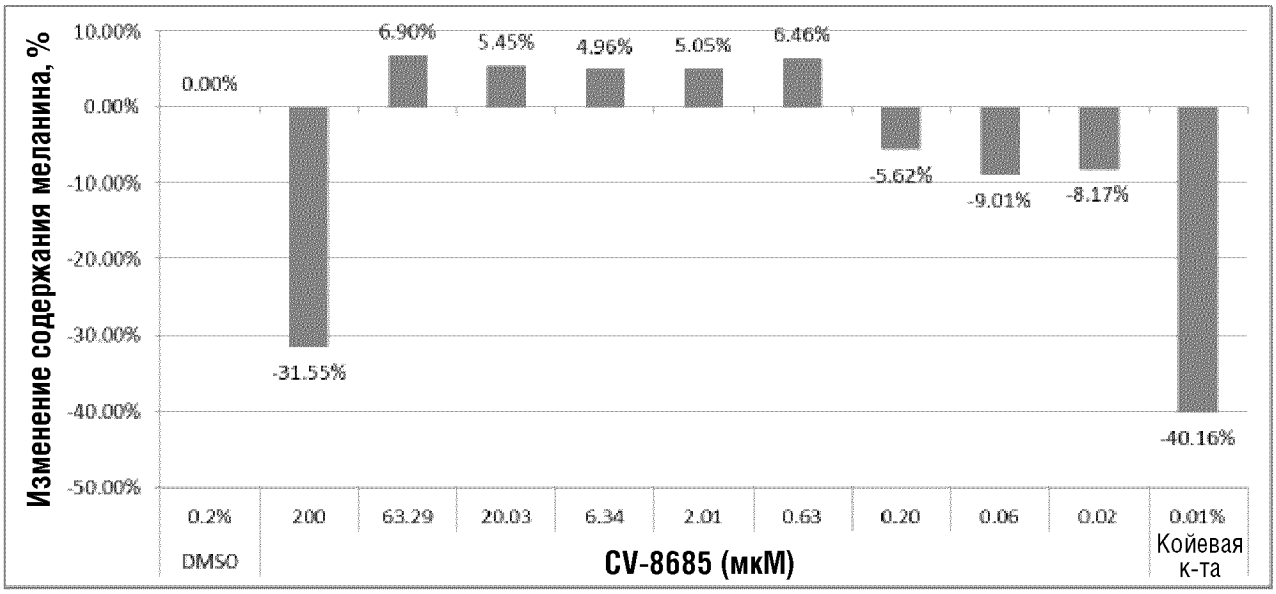


ФИГ.89 (продолжение)

E

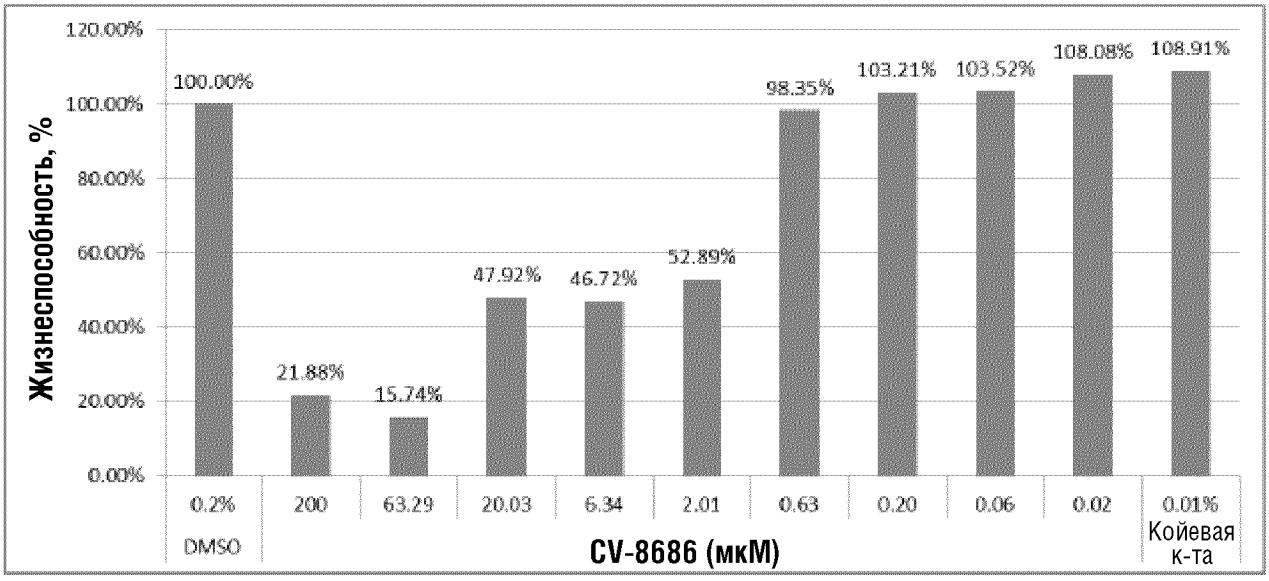


F

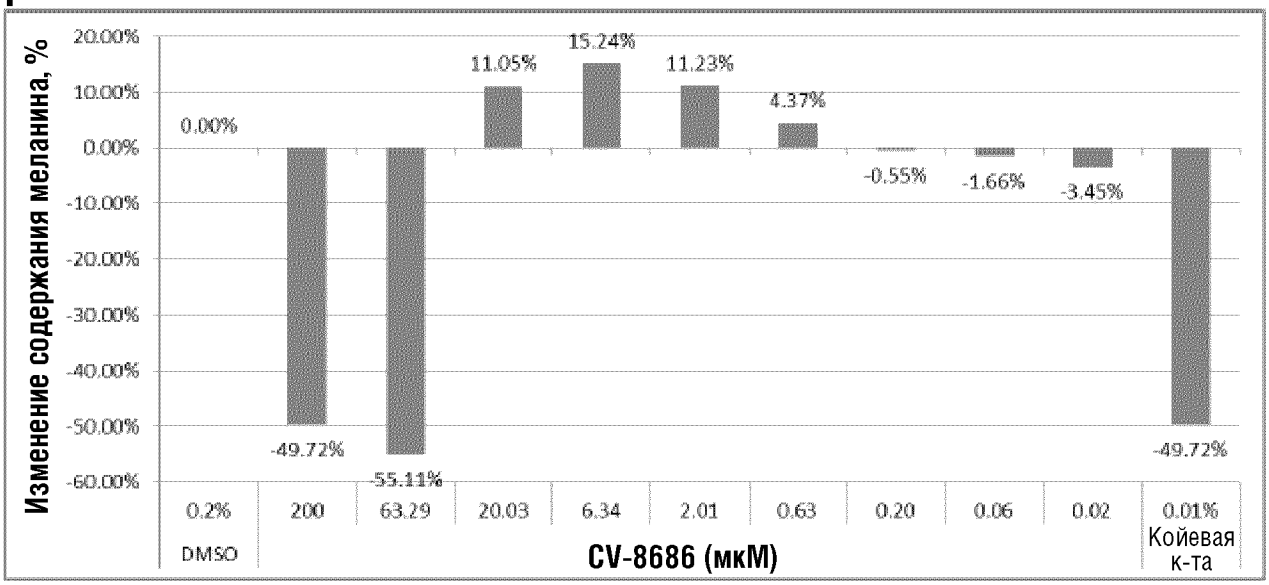


ФИГ.89 (продолжение)

G

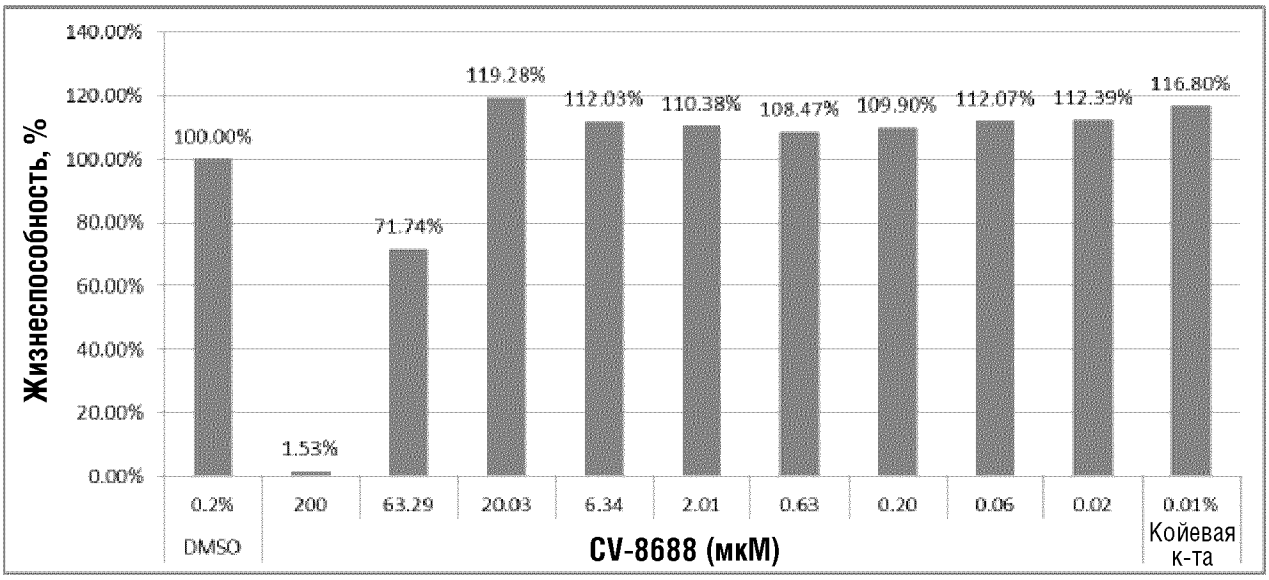


H

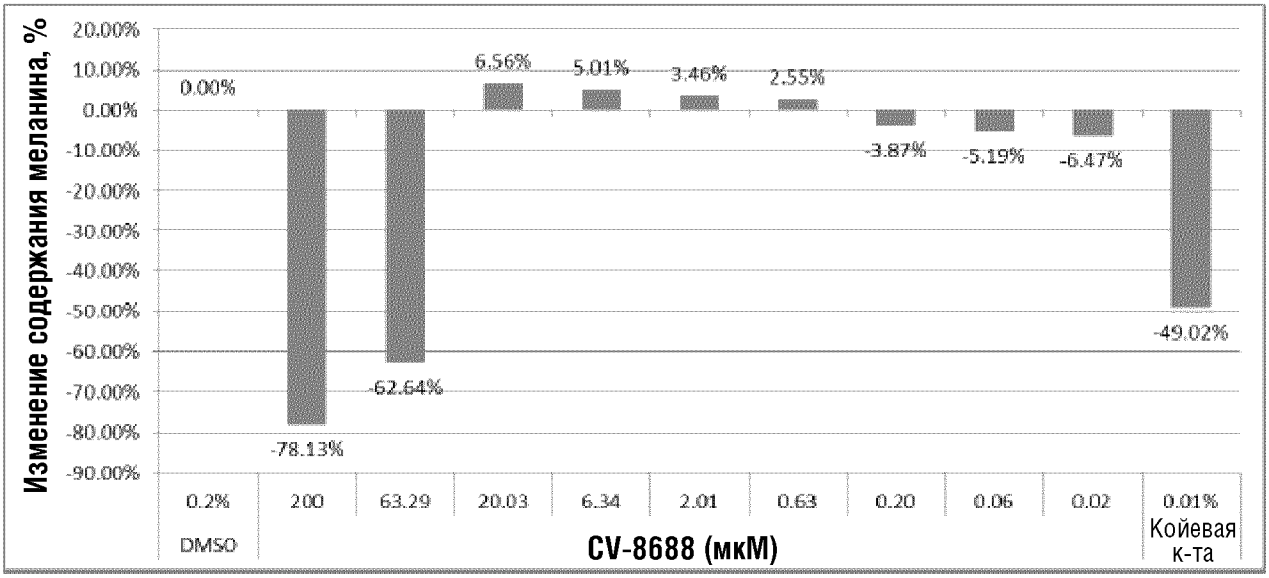


ФИГ.89 (продолжение)

I

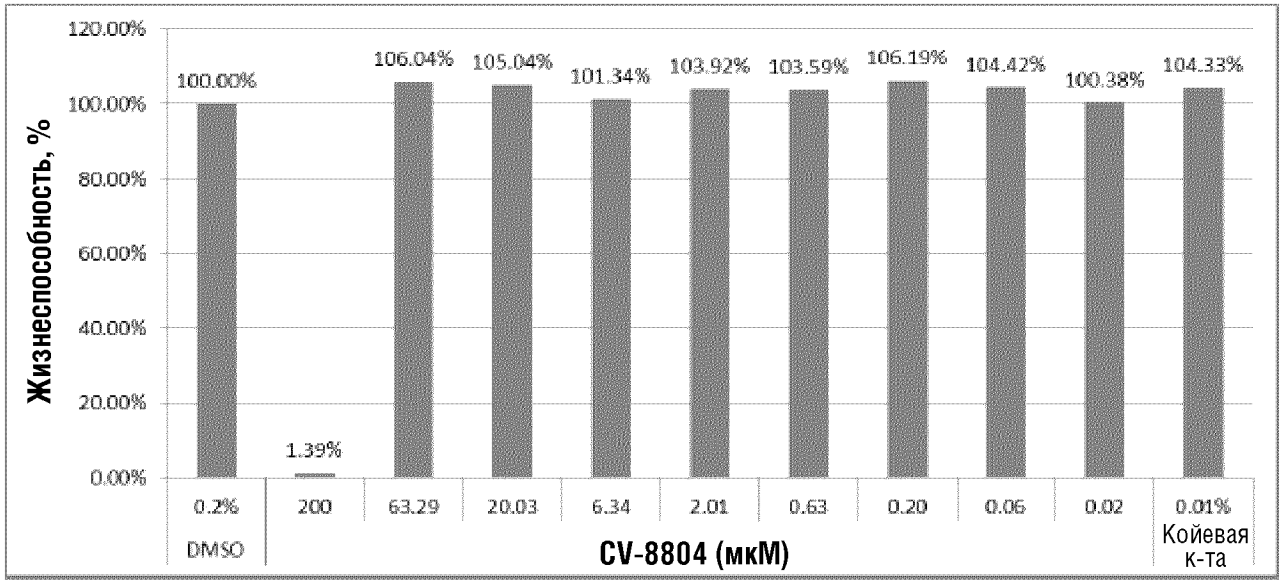


J

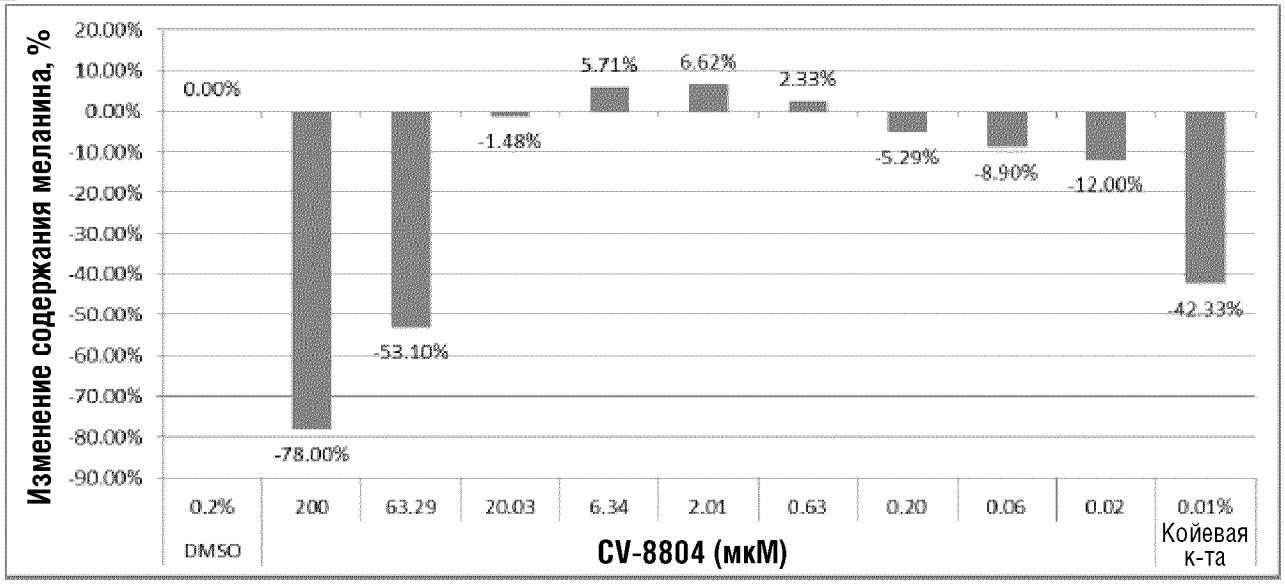


ФИГ.89 (продолжение)

K

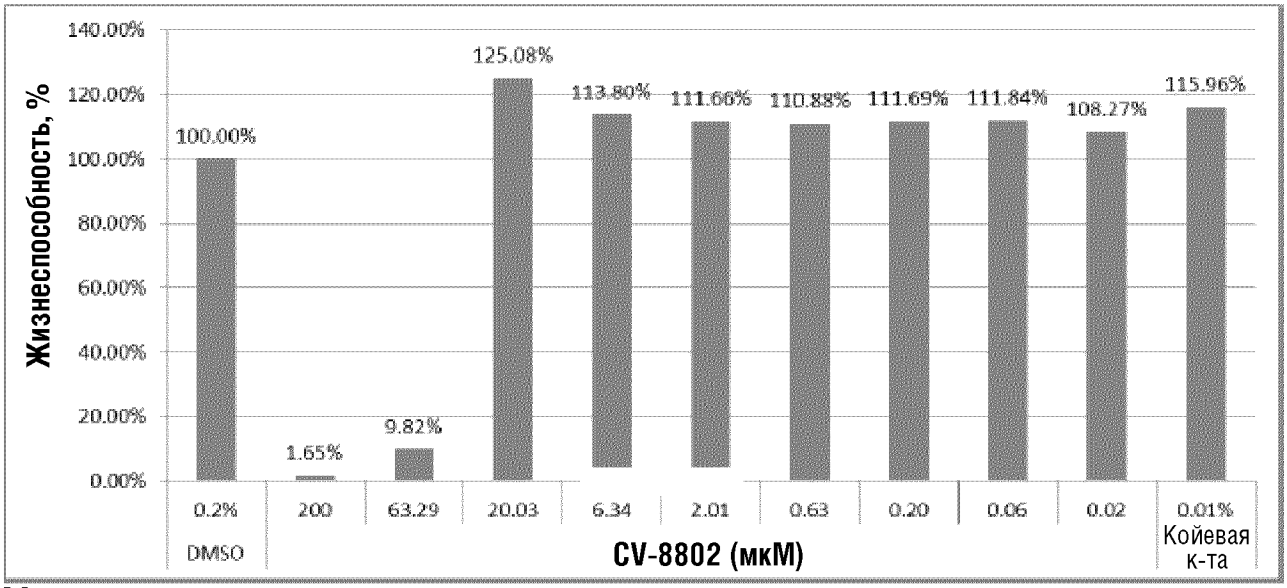


L

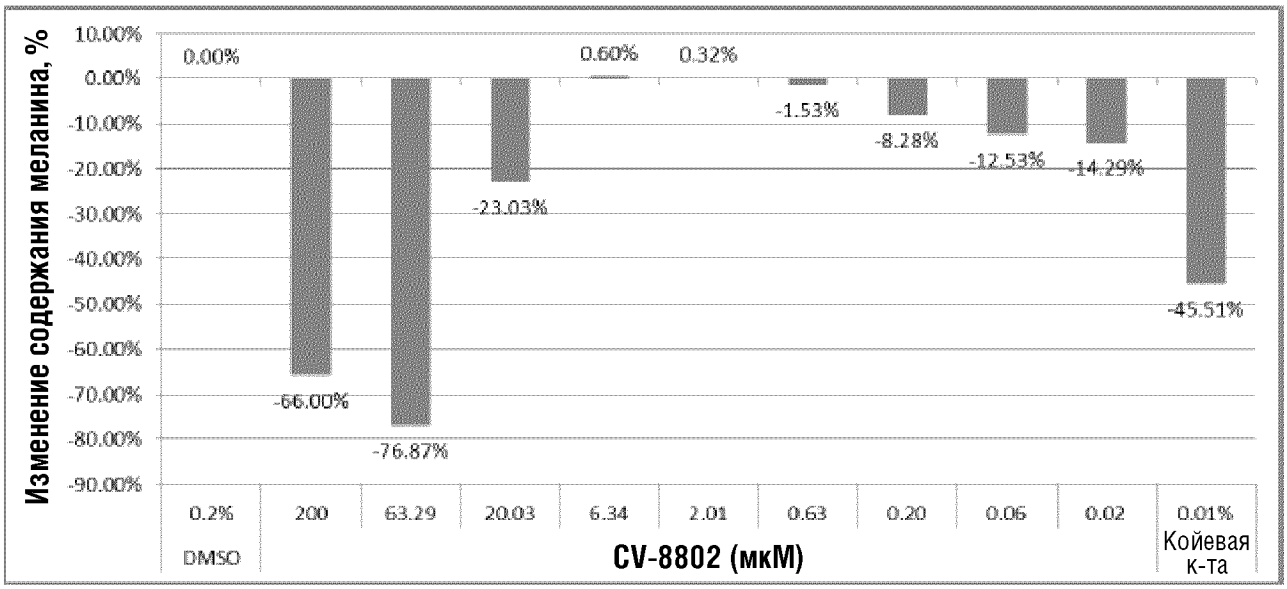


ФИГ.89 (продолжение)

M

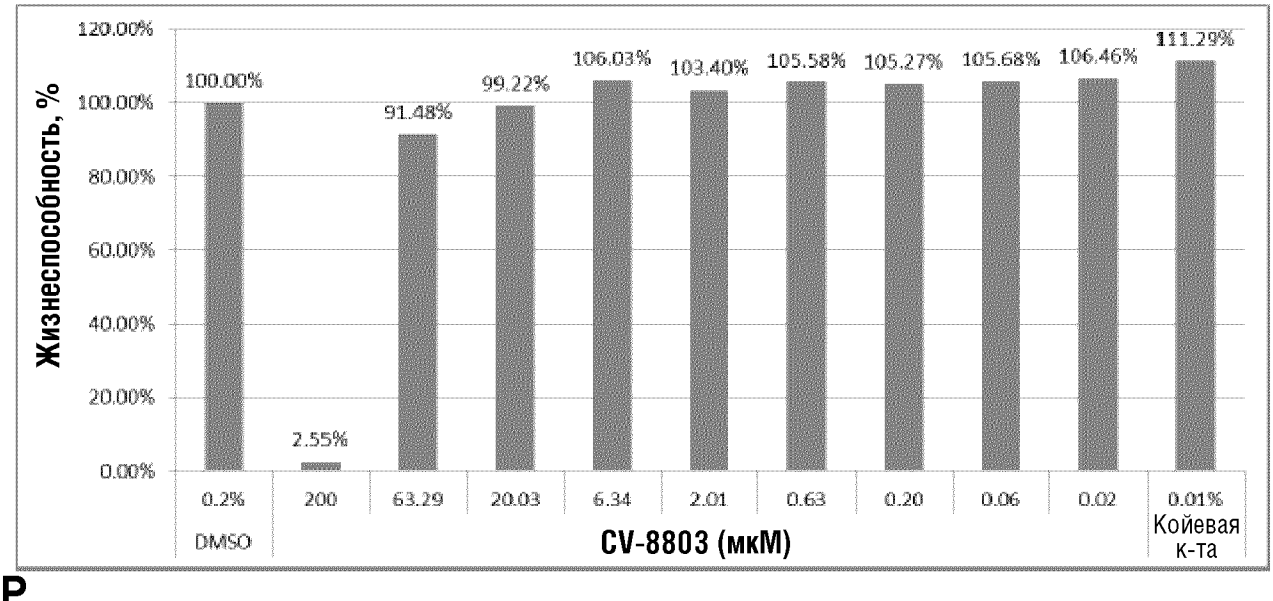


N

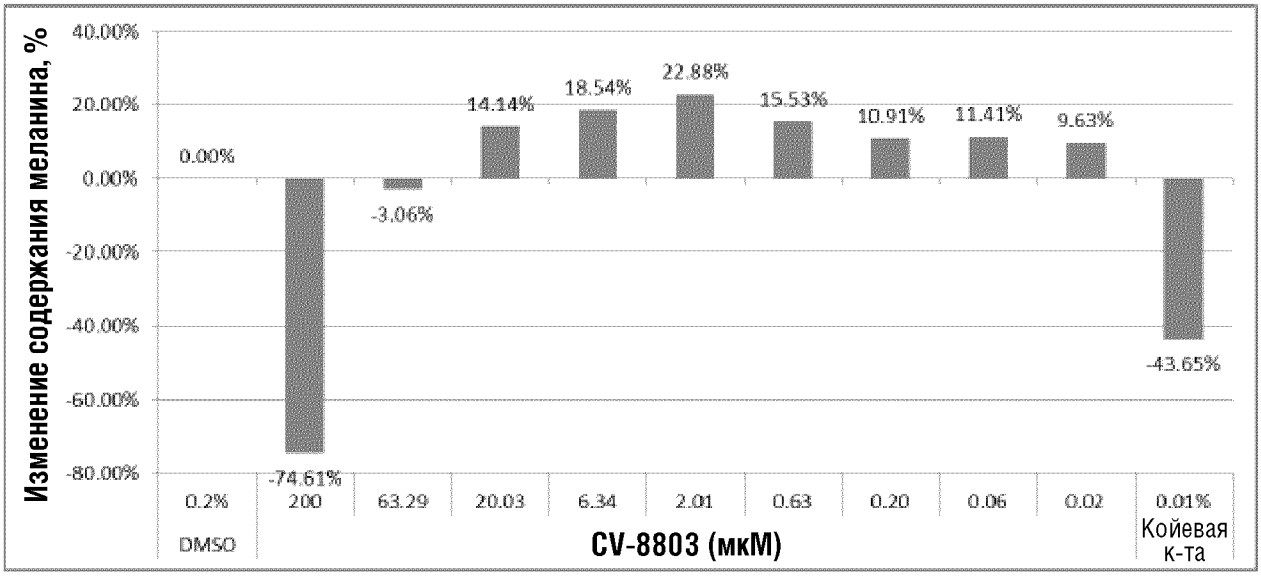


ФИГ.89 (продолжение)

O

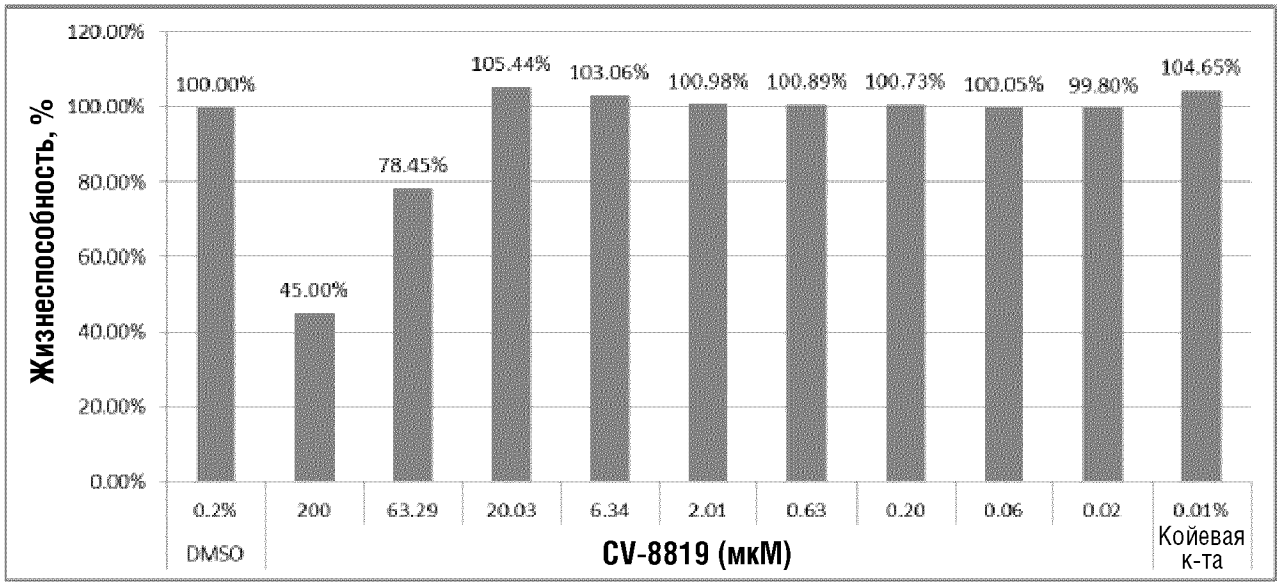


P

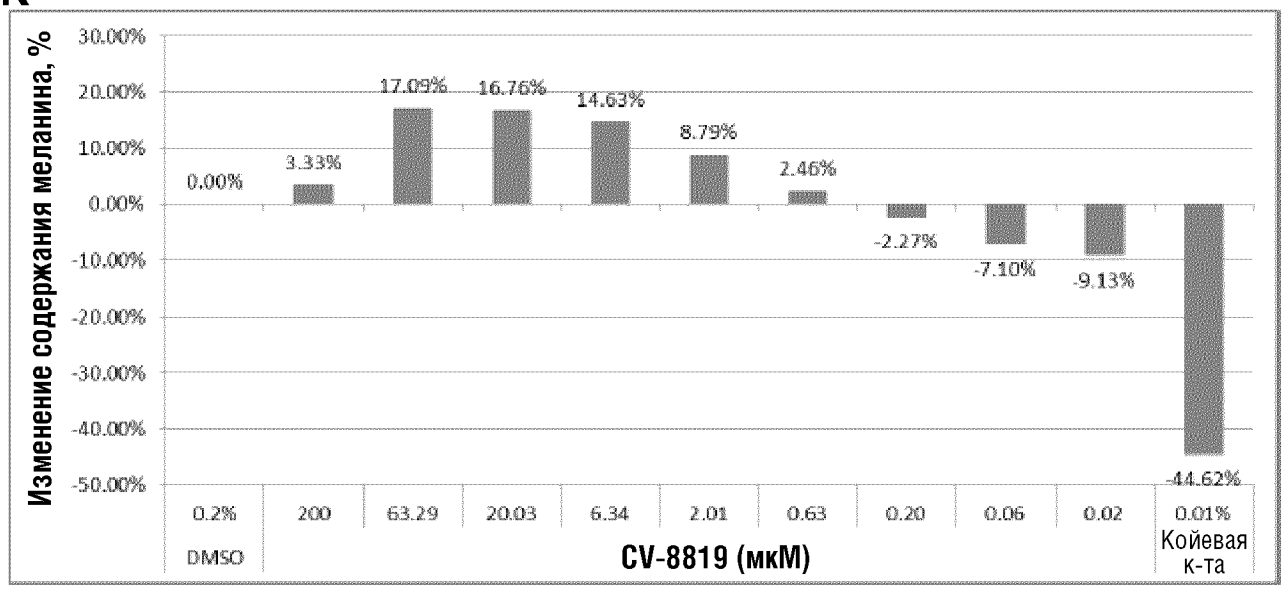


ФИГ.89 (продолжение)

Q

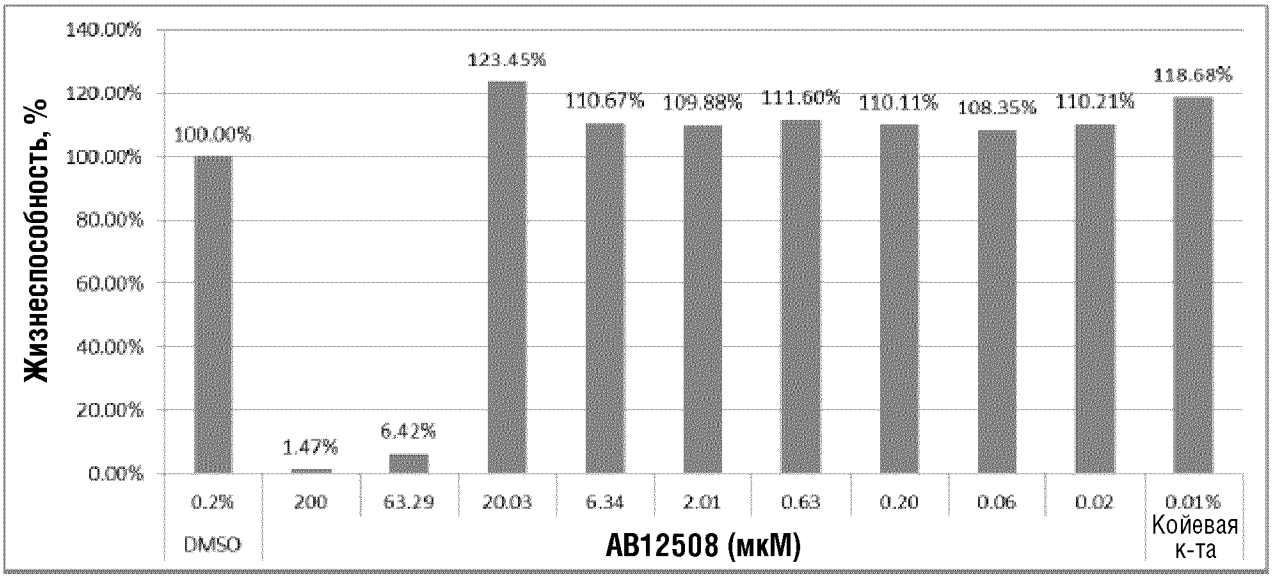


R

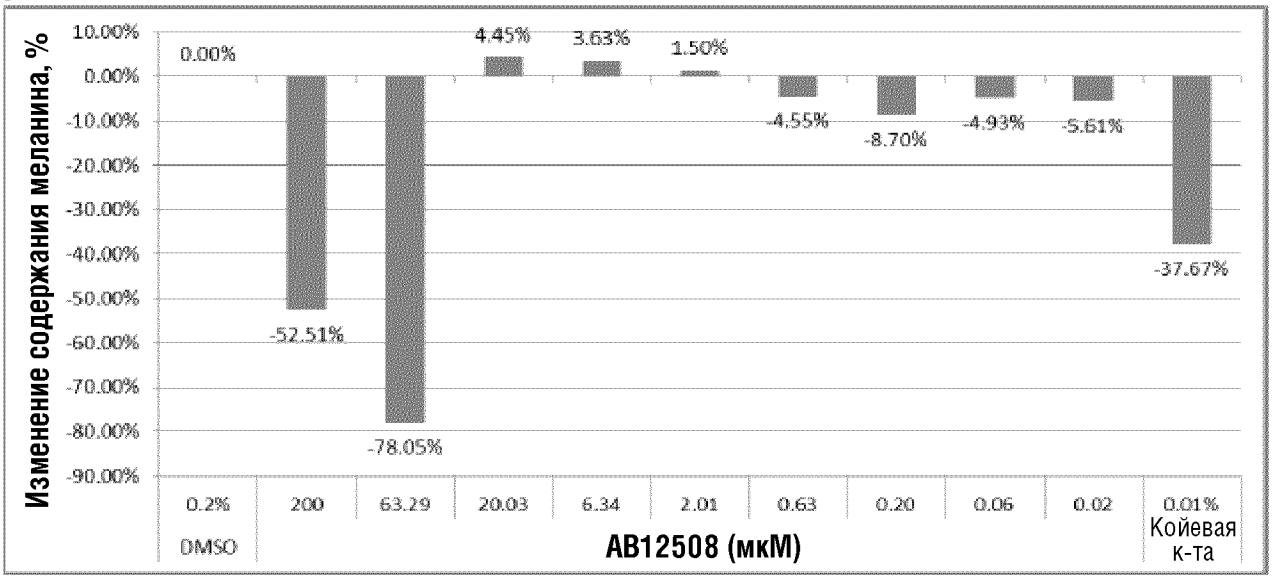


ФИГ.89 (продолжение)

S

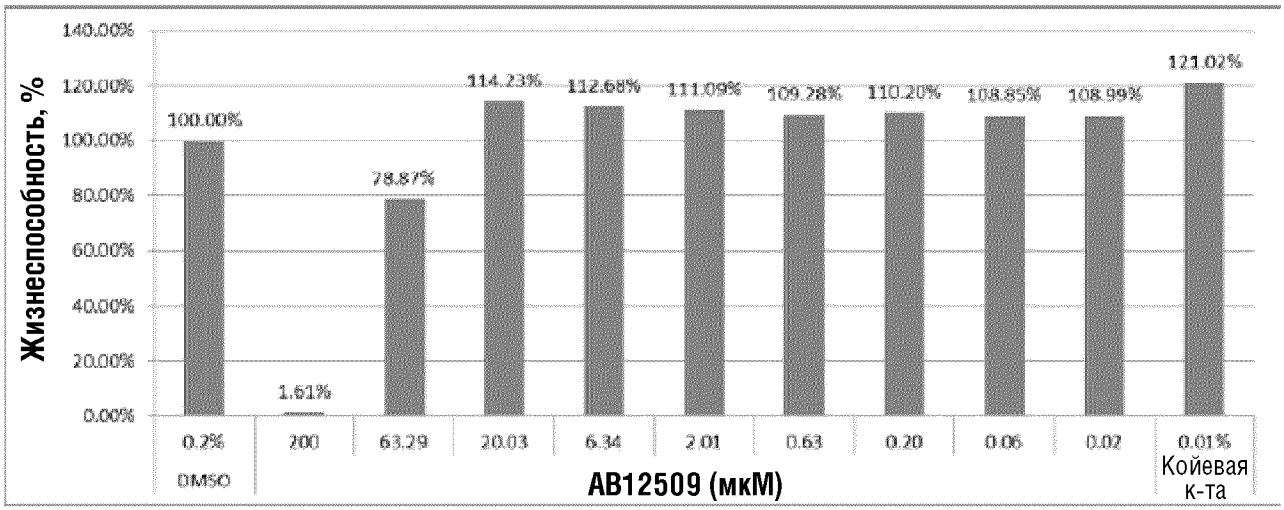


T

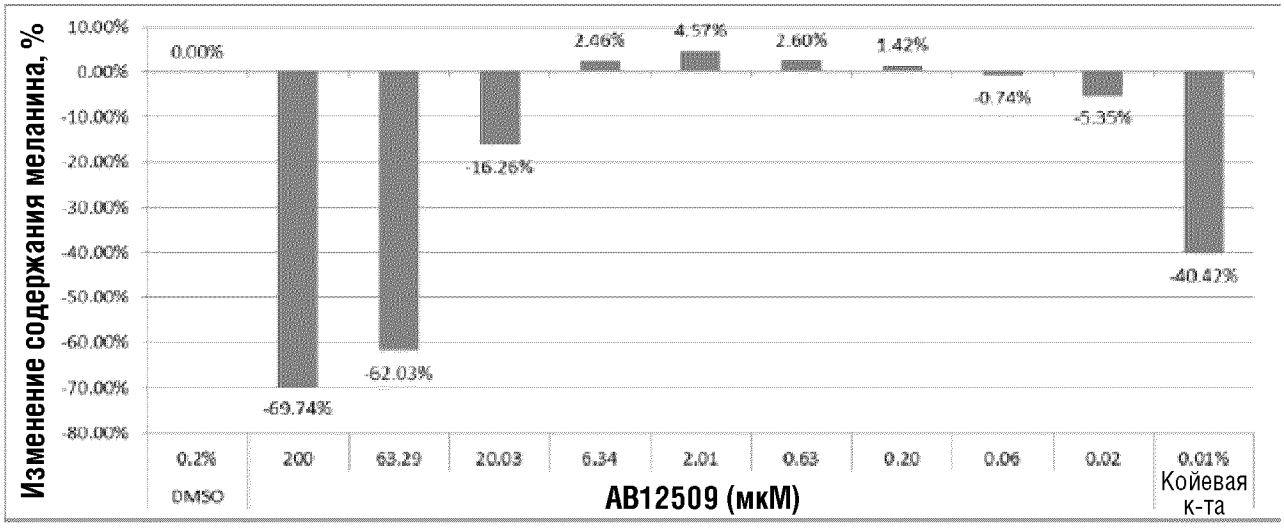


ФИГ.89 (продолжение)

U

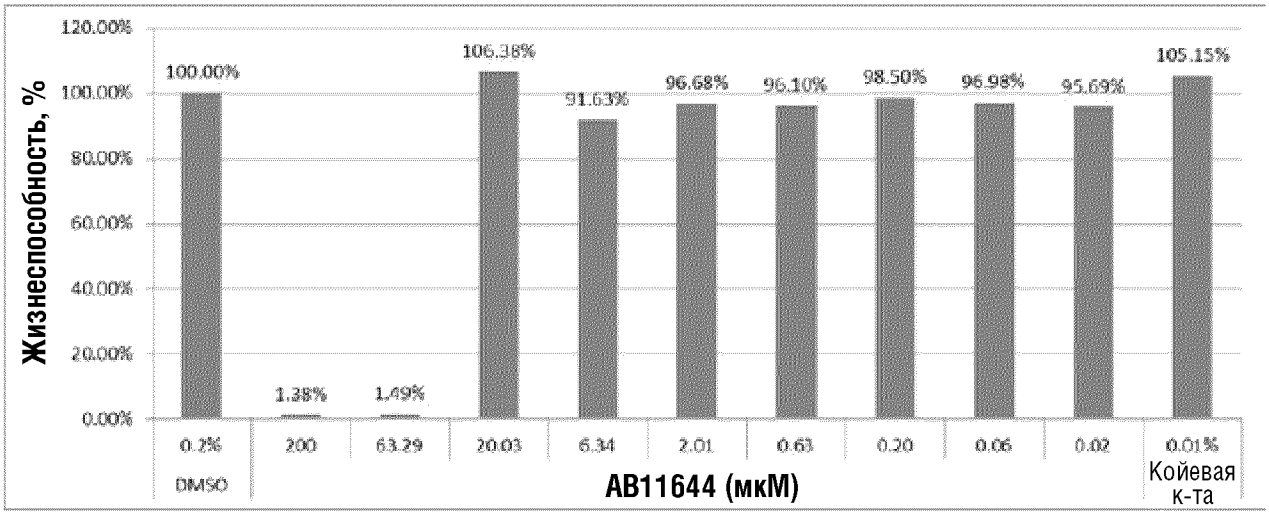


V

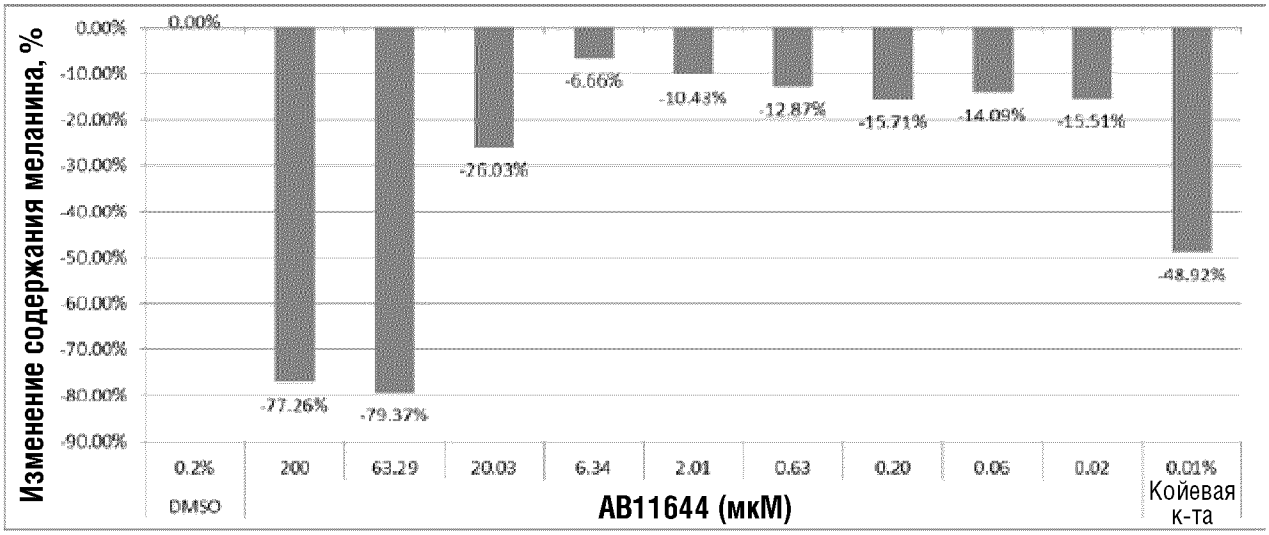


ФИГ.89 (продолжение)

W



X



ФИГ.90

A

Стауроспорин	Положительные, среднее (%)			SD		
	100 мкМ	10 мкМ	1 мкМ	100 мкМ	10 мкМ	1 мкМ
6 ч	5.10	3.62	3.74	3.48	0.39	0.63
24 ч	13.30	11.43	9.07	3.32	0.50	0.12
48 ч	22.97	25.87	21.27	1.10	1.21	1.30
72 ч	16.87	21.47	18.27	2.21	3.68	2.15

B

Стауроспорин	Положительные, среднее (%)			SD		
	100 мкМ	10 мкМ	1 мкМ	100 мкМ	10 мкМ	1 мкМ
6 ч	83.67	7.36	5.97	2.63	0.91	0.19
24 ч	69.43	56.27	8.95	1.99	2.12	0.95
48 ч	3.56	19.70	9.40	0.32	0.69	0.46
72 ч	2.34	16.00	12.63	0.40	1.32	0.84

C

Стауроспорин	Положительные, среднее (%)			SD		
	100 мкМ	10 мкМ	1 мкМ	100 мкМ	10 мкМ	1 мкМ
6 ч	38.73	38.00	28.13	2.66	9.78	2.22
24 ч	35.30	30.60	20.40	1.32	4.68	1.82
48 ч	63.03	72.10	25.87	4.82	4.39	1.07
72 ч	58.57	66.23	28.27	7.21	3.33	1.53

D

Стауроспорин	Положительные, среднее (%)			SD		
	100 мкМ	10 мкМ	1 мкМ	100 мкМ	10 мкМ	1 мкМ
6 ч	61.47	15.23	4.45	5.12	0.51	1.19
24 ч	57.00	50.63	15.13	1.95	2.61	0.64
48 ч	42.83	32.83	9.66	2.40	1.22	0.21
72 ч	38.90	25.83	8.98	7.29	1.82	1.92

ФИГ.90 (продолжение)

E

Стауроспорин	Положительные, среднее (%)			SD		
	100 мкМ	10 мкМ	1 мкМ	100 мкМ	10 мкМ	1 мкМ
6 ч	7.97	8.38	3.66	1.80	2.32	0.75
24 ч	11.34	13.57	6.25	1.86	1.10	0.56
48 ч	30.67	33.37	25.20	1.36	5.51	4.85
72 ч	26.40	46.97	27.00	4.55	7.27	4.45

F

Стауроспорин	Положительные, среднее (%)			SD		
	100 мкМ	10 мкМ	1 мкМ	100 мкМ	10 мкМ	1 мкМ
6 ч	20.17	1.54	0.95	1.27	0.47	0.48
24 ч	82.23	30.47	3.23	2.25	0.61	0.73
48 ч	73.93	48.43	16.47	1.70	2.32	0.81
72 ч	66.63	52.87	33.47	1.94	2.35	3.58

ФИГ.91

A

Соединение H (AB12509)	Положительные, среднее (%)			SD		
	100 мкМ	10 мкМ	1 мкМ	100 мкМ	10 мкМ	1 мкМ
6 ч	1.96	3.93	3.39	0.08	0.31	0.42
24 ч	6.72	4.09	3.88	1.29	0.71	0.90
48 ч	12.86	3.66	3.05	4.11	0.36	0.28
72 ч	12.70	1.28	1.38	2.74	0.12	0.07

B

Соединение H (AB12509)	Положительные, среднее (%)			SD		
	100 мкМ	10 мкМ	1 мкМ	100 мкМ	10 мкМ	1 мкМ
6 ч	4.45	4.54	1.42	0.74	0.51	0.27
24 ч	3.19	2.55	1.21	0.36	0.56	0.20
48 ч	8.24	1.06	1.01	2.61	0.09	0.04
72 ч	13.77	0.74	0.61	2.66	0.23	0.10

C

Соединение H (AB12509)	Положительные, среднее (%)			SD		
	100 мкМ	10 мкМ	1 мкМ	100 мкМ	10 мкМ	1 мкМ
6 ч	6.85	3.61	3.23	2.12	0.69	0.26
24 ч	31.23	2.67	2.59	1.29	0.51	0.10
48 ч	51.10	2.43	2.51	6.17	0.54	0.26
72 ч	34.00	2.24	2.21	4.31	0.31	0.51

D

Соединение H (AB12509)	Положительные, среднее (%)			SD		
	100 мкМ	10 мкМ	1 мкМ	100 мкМ	10 мкМ	1 мкМ
6 ч	2.11	1.77	1.49	0.70	0.20	0.31
24 ч	39.83	1.47	1.00	8.26	0.61	0.31
48 ч	57.17	1.05	0.72	7.92	0.23	0.08
72 ч	37.20	0.87	0.75	6.68	0.06	0.16

ФИГ.91 (продолжение)

E

Соединение H (AB12509)	Положительные, среднее (%)			SD		
	100 мкМ	10 мкМ	1 мкМ	100 мкМ	10 мкМ	1 мкМ
6 ч	3.12	1.43	1.40	0.74	0.46	0.24
24 ч	8.05	1.50	2.22	0.41	0.52	0.93
48 ч	26.03	2.46	2.19	1.18	0.98	0.84
72 ч	31.63	2.01	1.85	2.74	0.74	0.35

F

Соединение H (AB12509)	Положительные, среднее (%)			SD		
	100 мкМ	10 мкМ	1 мкМ	100 мкМ	10 мкМ	1 мкМ
6 ч	1.35	0.53	0.50	0.43	0.20	0.06
24 ч	2.46	0.62	1.05	0.75	0.18	0.51
48 ч	14.87	1.35	0.72	1.56	0.42	0.18
72 ч	27.40	1.28	0.83	4.40	0.46	0.16

ФИГ.92

A

Малассезин	Положительные, среднее (%)			SD		
	100 мкМ	10 мкМ	1 мкМ	100 мкМ	10 мкМ	1 мкМ
6 ч	4.16	3.09	3.03	0.27	0.29	0.52
24 ч	6.78	4.12	3.84	2.23	0.60	0.89
48 ч	13.03	2.91	2.96	0.67	0.31	0.18
72 ч	10.34	0.91	1.27	1.15	0.05	0.13

B

Малассезин	Положительные, среднее (%)			SD		
	100 мкМ	10 мкМ	1 мкМ	100 мкМ	10 мкМ	1 мкМ
6 ч	5.68	4.15	2.36	0.52	0.40	0.72
24 ч	2.53	2.10	1.24	0.86	0.63	0.24
48 ч	5.08	0.94	0.95	0.33	0.03	0.05
72 ч	5.82	0.62	0.73	0.97	0.11	0.11

C

Малассезин	Положительные, среднее (%)			SD		
	100 мкМ	10 мкМ	1 мкМ	100 мкМ	10 мкМ	1 мкМ
6 ч	5.71	3.35	3.68	0.68	0.16	0.47
24 ч	23.17	2.12	2.09	4.04	0.19	0.15
48 ч	55.13	3.00	2.44	8.38	0.55	0.41
72 ч	44.47	2.36	1.87	3.62	0.77	0.15

D

Малассезин	Положительные, среднее (%)			SD		
	100 мкМ	10 мкМ	1 мкМ	100 мкМ	10 мкМ	1 мкМ
6 ч	2.12	1.74	1.35	0.31	0.24	0.14
24 ч	27.50	1.18	1.00	2.14	0.10	0.12
48 ч	64.90	1.24	0.97	1.87	0.02	0.16
72 ч	62.57	0.95	0.71	0.92	0.20	0.18

ФИГ.92 (продолжение)

E

Малассезин	Положительные, среднее (%)			SD		
	100 мкМ	10 мкМ	1 мкМ	100 мкМ	10 мкМ	1 мкМ
6 ч	1.24	1.39	1.68	0.21	0.58	0.40
24 ч	5.24	1.11	1.34	0.61	0.32	0.62
48 ч	33.20	2.26	1.50	8.64	0.88	0.19
72 ч	34.67	2.85	1.51	5.34	0.44	0.27

F

Малассезин	Положительные, среднее (%)			SD		
	100 мкМ	10 мкМ	1 мкМ	100 мкМ	10 мкМ	1 мкМ
6 ч	0.56	0.66	0.60	0.34	0.38	0.13
24 ч	2.55	0.49	0.90	0.28	0.09	0.48
48 ч	43.57	0.97	0.75	1.29	0.36	0.33
72 ч	56.70	1.64	0.84	3.08	0.45	0.09

ФИГ.93

A

Соединение B (CV-8877)	Положительные, среднее (%)			SD		
	100 мкМ	10 мкМ	1 мкМ	100 мкМ	10 мкМ	1 мкМ
6 ч	14.90	3.83	3.59	2.52	0.44	0.08
24 ч	33.47	4.42	5.75	4.52	0.39	0.56
48 ч	39.63	4.94	3.59	4.20	0.08	0.29
72 ч	27.93	1.64	1.64	3.55	0.07	0.35

B

Соединение B (CV-8877)	Положительные, среднее (%)			SD		
	100 мкМ	10 мкМ	1 мкМ	100 мкМ	10 мкМ	1 мкМ
6 ч	80.03	4.69	2.02	1.95	0.21	0.98
24 ч	69.50	1.99	1.21	7.47	0.13	0.33
48 ч	59.47	1.44	0.96	3.06	0.12	0.05
72 ч	55.83	0.74	0.72	7.38	0.09	0.06

C

Соединение B (CV-8877)	Положительные, среднее (%)			SD		
	100 мкМ	10 мкМ	1 мкМ	100 мкМ	10 мкМ	1 мкМ
6 ч	56.00	3.26	3.63	4.64	0.75	0.23
24 ч	36.07	2.13	2.24	4.15	0.51	0.70
48 ч	67.77	1.82	2.70	6.01	0.58	0.66
72 ч	49.43	1.85	1.64	5.44	0.28	0.11

D

Соединение B (CV-8877)	Положительные, среднее (%)			SD		
	100 мкМ	10 мкМ	1 мкМ	100 мкМ	10 мкМ	1 мкМ
6 ч	63.67	1.44	1.41	7.44	0.24	0.19
24 ч	75.20	1.06	0.89	4.26	0.31	0.03
48 ч	67.20	0.62	0.79	5.80	0.05	0.22
72 ч	62.80	0.62	0.72	5.28	0.05	0.10

ФИГ.93 (продолжение)

E

Соединение B (CV-8877)	Положительные, среднее (%)			SD		
	100 мкМ	10 мкМ	1 мкМ	100 мкМ	10 мкМ	1 мкМ
6 ч	14.03	1.15	1.66	2.66	0.19	0.57
24 ч	36.27	1.37	1.65	1.15	0.25	0.44
48 ч	44.00	0.90	1.91	1.95	0.10	0.45
72 ч	35.60	2.11	1.63	2.02	0.67	0.54

F

Соединение B (CV-8877)	Положительные, среднее (%)			SD		
	100 мкМ	10 мкМ	1 мкМ	100 мкМ	10 мкМ	1 мкМ
6 ч	12.08	0.42	0.53	5.49	0.04	0.06
24 ч	36.30	0.75	0.60	2.17	0.13	0.13
48 ч	73.17	0.63	0.70	2.95	0.20	0.17
72 ч	49.13	1.41	0.86	2.10	0.52	0.24

ФИГ.94

A

Соединение I (CV-8686)	Положительные, среднее (%)			SD		
	100 мкМ	10 мкМ	1 мкМ	100 мкМ	10 мкМ	1 мкМ
6 ч	6.73	3.26	3.19	0.07	0.10	0.73
24 ч	13.67	2.87	2.89	3.06	0.79	1.33
48 ч	13.90	2.36	2.77	2.39	0.68	0.25
72 ч	11.57	0.76	1.01	0.29	0.05	0.10

B

Соединение I (CV-8686)	Положительные, среднее (%)			SD		
	100 мкМ	10 мкМ	1 мкМ	100 мкМ	10 мкМ	1 мкМ
6 ч	13.03	4.06	1.23	3.23	0.21	0.46
24 ч	12.65	1.66	1.25	3.76	0.38	0.48
48 ч	3.98	0.71	0.75	1.11	0.17	0.06
72 ч	4.19	0.41	0.60	0.45	0.06	0.05

C

Соединение I (CV-8686)	Положительные, среднее (%)			SD		
	100 мкМ	10 мкМ	1 мкМ	100 мкМ	10 мкМ	1 мкМ
6 ч	10.94	3.14	3.35	4.93	0.60	0.15
24 ч	24.30	2.46	2.14	2.82	0.69	0.61
48 ч	29.20	2.72	2.29	2.89	0.36	0.57
72 ч	24.03	2.40	1.88	5.47	0.19	0.02

D

Соединение I (CV-8686)	Положительные, среднее (%)			SD		
	100 мкМ	10 мкМ	1 мкМ	100 мкМ	10 мкМ	1 мкМ
6 ч	6.15	1.13	1.26	3.96	0.16	0.12
24 ч	27.30	1.15	1.36	5.37	0.31	0.44
48 ч	19.83	1.15	0.89	4.75	0.19	0.08
72 ч	15.77	0.93	0.65	5.54	0.08	0.28

ФИГ.94 (продолжение)

E

Соединение I (CV-8686)	Положительные, среднее (%)			SD		
	100 мкМ	10 мкМ	1 мкМ	100 мкМ	10 мкМ	1 мкМ
6 ч	1.61	1.18	1.17	0.76	0.38	0.44
24 ч	4.46	1.11	1.24	0.90	0.30	0.13
48 ч	27.50	2.11	1.40	2.46	0.41	0.39
72 ч	28.90	2.05	1.54	2.49	0.38	0.47

F

Соединение I (CV-8686)	Положительные, среднее (%)			SD		
	100 мкМ	10 мкМ	1 мкМ	100 мкМ	10 мкМ	1 мкМ
6 ч	0.49	0.33	0.52	0.11	0.21	0.25
24 ч	1.71	0.59	0.72	0.19	0.24	0.15
48 ч	21.53	1.21	0.71	0.46	0.23	0.29
72 ч	26.50	1.31	1.15	3.87	0.12	0.42

ФИГ.95

A

Соединение B10	Положительные, среднее (%)			SD		
	100 мкМ	10 мкМ	1 мкМ	100 мкМ	10 мкМ	1 мкМ
6 ч	2.95	3.24	3.58	1.27	0.50	0.26
24 ч	24.20	3.10	3.42	8.03	0.88	0.90
48 ч	30.27	3.80	2.86	3.17	0.13	0.43
72 ч	28.13	1.91	1.50	5.29	0.23	0.09

B

Соединение B10	Положительные, среднее (%)			SD		
	100 мкМ	10 мкМ	1 мкМ	100 мкМ	10 мкМ	1 мкМ
6 ч	32.50	4.16	1.64	4.95	0.03	0.27
24 ч	68.20	1.77	1.10	2.29	0.19	0.19
48 ч	66.13	1.07	1.02	3.43	0.11	0.13
72 ч	56.13	1.09	0.72	8.00	0.14	0.04

C

Соединение B10	Положительные, среднее (%)			SD		
	100 мкМ	10 мкМ	1 мкМ	100 мкМ	10 мкМ	1 мкМ
6 ч	38.70	3.34	2.95	3.56	0.23	0.37
24 ч	24.60	2.08	2.45	8.86	0.15	0.40
48 ч	56.63	2.31	2.44	2.45	0.12	0.33
72 ч	44.03	2.33	1.77	1.15	0.32	0.44

D

Соединение B10	Положительные, среднее (%)			SD		
	100 мкМ	10 мкМ	1 мкМ	100 мкМ	10 мкМ	1 мкМ
6 ч	61.37	1.31	1.49	2.44	0.20	0.13
24 ч	54.73	0.99	1.00	1.26	0.11	0.21
48 ч	56.33	0.74	0.83	3.65	0.07	0.16
72 ч	40.63	0.74	0.77	1.27	0.15	0.17

ФИГ.95 (продолжение)

E

Соединение B10	Положительные, среднее (%)			SD		
	100 мкМ	10 мкМ	1 мкМ	100 мкМ	10 мкМ	1 мкМ
6 ч	11.11	1.50	1.60	1.73	0.43	0.47
24 ч	30.73	1.03	1.88	2.99	0.33	0.35
48 ч	52.13	1.80	1.51	4.13	0.31	0.10
72 ч	47.20	2.42	2.14	2.00	0.61	0.55

F

Соединение B10	Положительные, среднее (%)			SD		
	100 мкМ	10 мкМ	1 мкМ	100 мкМ	10 мкМ	1 мкМ
6 ч	4.42	0.66	0.63	1.68	0.15	0.07
24 ч	74.10	0.62	0.95	4.68	0.21	0.28
48 ч	80.37	1.06	0.78	1.37	0.17	0.07
72 ч	51.10	1.40	1.10	15.37	0.39	0.43

ФИГ.96

A

Соединение II (CV-8688)	Положительные, среднее (%)			SD		
	100 мкМ	10 мкМ	1 мкМ	100 мкМ	10 мкМ	1 мкМ
6 ч	4.31	2.42	2.13	0.34	0.71	0.40
24 ч	9.58	3.35	2.95	1.48	0.39	1.75
48 ч	23.80	3.12	2.72	3.27	0.32	0.27
72 ч	27.00	1.42	1.07	0.66	0.02	0.36

B

Соединение II (CV-8688)	Положительные, среднее (%)			SD		
	100 мкМ	10 мкМ	1 мкМ	100 мкМ	10 мкМ	1 мкМ
6 ч	5.48	3.32	2.28	0.68	0.64	1.02
24 ч	4.06	2.02	1.10	0.41	0.25	0.20
48 ч	21.93	1.14	0.83	0.90	0.24	0.06
72 ч	39.37	0.93	0.65	6.12	0.07	0.16

C

Соединение II (CV-8688)	Положительные, среднее (%)			SD		
	100 мкМ	10 мкМ	1 мкМ	100 мкМ	10 мкМ	1 мкМ
6 ч	6.56	2.95	3.52	0.48	0.49	0.38
24 ч	36.87	2.26	1.93	6.67	0.47	0.31
48 ч	50.97	2.18	2.30	4.01	0.42	0.34
72 ч	51.10	2.27	2.03	2.96	0.65	0.43

D

Соединение II (CV-8688)	Положительные, среднее (%)			SD		
	100 мкМ	10 мкМ	1 мкМ	100 мкМ	10 мкМ	1 мкМ
6 ч	2.59	1.21	1.11	0.06	0.34	0.04
24 ч	51.07	1.43	1.06	8.35	0.31	0.22
48 ч	68.83	1.03	0.89	3.73	0.24	0.09
72 ч	64.43	0.95	0.69	3.40	0.23	0.08

ФИГ.96 (продолжение)

E

Соединение II (CV-8688)	Положительные, среднее (%)			SD		
	100 мкМ	10 мкМ	1 мкМ	100 мкМ	10 мкМ	1 мкМ
6 ч	1.43	1.20	1.11	0.41	0.75	0.33
24 ч	14.63	1.20	0.84	3.26	0.40	0.05
48 ч	34.90	1.51	1.11	3.27	0.15	0.26
72 ч	28.60	2.31	1.34	4.07	0.50	0.17

F

Соединение II (CV-8688)	Положительные, среднее (%)			SD		
	100 мкМ	10 мкМ	1 мкМ	100 мкМ	10 мкМ	1 мкМ
6 ч	0.46	0.47	0.39	0.21	0.16	0.14
24 ч	9.28	0.59	0.43	2.07	0.23	0.11
48 ч	61.43	0.76	0.66	1.10	0.10	0.24
72 ч	68.87	1.59	0.89	2.90	0.42	0.33

ФИГ.97

A

Предшественник малассезина	Положительные, среднее (%)			SD		
	100 мкМ	10 мкМ	1 мкМ	100 мкМ	10 мкМ	1 мкМ
6 ч	2.88	2.87	3.29	0.78	0.18	0.77
24 ч	3.89	3.78	4.35	0.45	0.64	0.75
48 ч	2.88	3.33	3.52	0.35	0.12	0.10
72 ч	1.34	1.51	1.55	0.35	0.17	0.21

B

Предшественник малассезина	Положительные, среднее (%)			SD		
	100 мкМ	10 мкМ	1 мкМ	100 мкМ	10 мкМ	1 мкМ
6 ч	3.34	3.66	1.92	0.45	0.55	0.17
24 ч	1.80	1.64	1.17	0.47	0.04	0.40
48 ч	0.90	0.99	0.94	0.14	0.26	0.03
72 ч	0.93	0.88	0.69	0.04	0.30	0.05

C

Предшественник малассезина	Положительные, среднее (%)			SD		
	100 мкМ	10 мкМ	1 мкМ	100 мкМ	10 мкМ	1 мкМ
6 ч	3.28	3.07	3.33	0.42	0.15	0.42
24 ч	2.37	2.23	2.03	0.23	0.27	0.35
48 ч	2.76	1.85	1.66	0.37	0.22	0.23
72 ч	1.82	1.73	1.73	0.20	0.26	0.36

D

Предшественник малассезина	Положительные, среднее (%)			SD		
	100 мкМ	10 мкМ	1 мкМ	100 мкМ	10 мкМ	1 мкМ
6 ч	0.89	1.19	1.56	0.26	0.07	0.11
24 ч	1.11	1.23	1.09	0.04	0.18	0.33
48 ч	1.12	0.76	0.69	0.10	0.10	0.18
72 ч	0.60	0.73	0.75	0.04	0.00	0.13

ФИГ.97 (продолжение)

E

Предшественник малассезина	Положительные, среднее (%)			SD		
	100 мкМ	10 мкМ	1 мкМ	100 мкМ	10 мкМ	1 мкМ
6 ч	1.57	1.27	1.46	0.49	0.31	0.58
24 ч	1.55	1.23	1.72	0.71	0.33	0.76
48 ч	1.37	1.13	1.07	0.12	0.10	0.31
72 ч	1.85	1.72	1.60	0.54	0.37	0.56

F

Предшественник малассезина	Положительные, среднее (%)			SD		
	100 мкМ	10 мкМ	1 мкМ	100 мкМ	10 мкМ	1 мкМ
6 ч	0.65	0.51	0.49	0.39	0.17	0.31
24 ч	0.76	0.69	0.95	0.47	0.20	0.45
48 ч	0.80	0.69	0.55	0.05	0.15	0.04
72 ч	1.36	1.21	0.91	0.35	0.23	0.37

ФИГ.98

A

Индолокарбазол (CV-8685)	Положительные, среднее (%)			SD		
	100 мкМ	10 мкМ	1 мкМ	100 мкМ	10 мкМ	1 мкМ
6 ч	2.43	2.64	2.53	0.28	0.28	0.27
24 ч	1.02	2.08	2.61	0.97	0.44	0.09
48 ч	2.23	2.16	2.72	0.14	0.20	0.51
72 ч	1.06	1.04	1.34	0.26	0.39	0.13

B

Индолокарбазол (CV-8685)	Положительные, среднее (%)			SD		
	100 мкМ	10 мкМ	1 мкМ	100 мкМ	10 мкМ	1 мкМ
6 ч	1.42	1.58	1.34	0.20	0.27	0.23
24 ч	1.17	1.78	1.38	0.34	0.27	0.43
48 ч	0.89	0.80	0.98	0.24	0.16	0.09
72 ч	0.78	0.67	0.87	0.20	0.17	0.03

C

Индолокарбазол (CV-8685)	Положительные, среднее (%)			SD		
	100 мкМ	10 мкМ	1 мкМ	100 мкМ	10 мкМ	1 мкМ
6 ч	1.41	3.35	2.96	0.35	0.20	0.43
24 ч	0.86	2.73	2.40	0.16	0.87	0.67
48 ч	0.80	2.06	2.39	0.14	0.32	0.08
72 ч	0.87	1.84	1.78	0.15	0.20	0.06

D

Индолокарбазол (CV-8685)	Положительные, среднее (%)			SD		
	100 мкМ	10 мкМ	1 мкМ	100 мкМ	10 мкМ	1 мкМ
6 ч	0.85	1.39	1.28	0.14	0.32	0.16
24 ч	0.51	1.35	0.98	0.21	0.13	0.22
48 ч	0.34	0.82	1.09	0.05	0.17	0.07
72 ч	0.40	0.88	0.64	0.11	0.25	0.27

ФИГ.98 (продолжение)

E

Индолокарбазол (CV-8685)	Положительные, среднее (%)			SD		
	100 мкМ	10 мкМ	1 мкМ	100 мкМ	10 мкМ	1 мкМ
6 ч	0.73	1.56	1.15	0.25	0.67	0.36
24 ч	0.98	0.69	1.23	0.03	0.22	0.60
48 ч	2.52	1.83	1.13	1.19	0.74	0.38
72 ч	3.25	2.53	1.30	1.79	1.15	0.30

F

Индолокарбазол (CV-8685)	Положительные, среднее (%)			SD		
	100 мкМ	10 мкМ	1 мкМ	100 мкМ	10 мкМ	1 мкМ
6 ч	0.23	0.71	0.38	0.09	0.48	0.18
24 ч	0.39	0.32	0.63	0.11	0.05	0.38
48 ч	1.30	0.92	0.63	0.73	0.38	0.19
72 ч	2.11	1.83	0.90	1.46	1.35	0.33

ФИГ.99

A

AB17151	Положительные, среднее (%)			SD		
	100 мкМ	10 мкМ	1 мкМ	100 мкМ	10 мкМ	1 мкМ
6 ч	35.13	2.92	2.97	2.06	0.18	0.18
24 ч	37.63	3.75	3.50	1.71	0.77	0.47
48 ч	45.97	3.10	2.68	0.72	0.42	0.08
72 ч	29.20	1.49	1.58	3.20	0.23	0.06

B

AB17151	Положительные, среднее (%)			SD		
	100 мкМ	10 мкМ	1 мкМ	100 мкМ	10 мкМ	1 мкМ
6 ч	72.23	4.14	3.13	3.37	0.46	0.46
24 ч	63.77	1.94	1.10	7.85	0.35	0.35
48 ч	36.47	1.20	0.94	1.60	0.27	0.12
72 ч	28.17	0.82	0.77	2.80	0.22	0.06

C

AB17151	Положительные, среднее (%)			SD		
	100 мкМ	10 мкМ	1 мкМ	100 мкМ	10 мкМ	1 мкМ
6 ч	51.80	2.95	2.47	0.72	0.28	0.16
24 ч	39.27	2.40	2.15	2.00	0.26	0.20
48 ч	75.63	2.12	2.25	2.47	0.37	0.40
72 ч	60.07	1.70	1.94	9.45	0.30	0.27

D

AB17151	Положительные, среднее (%)			SD		
	100 мкМ	10 мкМ	1 мкМ	100 мкМ	10 мкМ	1 мкМ
6 ч	57.10	1.34	1.36	11.96	0.20	0.11
24 ч	72.17	1.36	1.14	7.60	0.18	0.12
48 ч	70.43	0.86	0.75	8.09	0.25	0.13
72 ч	42.00	0.71	0.74	2.78	0.09	0.22

ФИГ.99 (продолжение)

E

AB17151	Положительные, среднее (%)			SD		
	100 мкМ	10 мкМ	1 мкМ	100 мкМ	10 мкМ	1 мкМ
6 ч	21.70	1.25	2.18	0.66	0.36	0.16
24 ч	31.77	1.87	1.90	6.35	0.51	0.40
48 ч	52.63	1.70	1.09	2.63	0.27	0.19
72 ч	40.77	2.34	2.32	3.06	0.92	0.59

F

AB17151	Положительные, среднее (%)			SD		
	100 мкМ	10 мкМ	1 мкМ	100 мкМ	10 мкМ	1 мкМ
6 ч	19.63	0.57	0.78	4.06	0.16	0.27
24 ч	60.77	1.01	1.01	5.71	0.28	0.26
48 ч	49.63	0.82	0.62	8.83	0.24	0.24
72 ч	25.43	1.66	1.60	9.83	1.08	0.57

ФИГ.100

A

Соединение IV (CV-8687)	Положительные, среднее (%)			SD		
	100 мкМ	10 мкМ	1 мкМ	100 мкМ	10 мкМ	1 мкМ
6 ч	2.73	2.58	2.92	0.56	1.47	0.47
24 ч	0.95	3.00	2.87	0.46	0.64	1.08
48 ч	2.94	2.69	2.70	0.41	0.68	0.29
72 ч	1.30	1.27	1.16	0.30	0.22	0.15

B

Соединение IV (CV-8687)	Положительные, среднее (%)			SD		
	100 мкМ	10 мкМ	1 мкМ	100 мкМ	10 мкМ	1 мкМ
6 ч	1.88	2.09	1.64	0.17	0.15	0.48
24 ч	1.32	1.91	1.41	0.06	0.25	0.38
48 ч	0.79	1.18	0.99	0.14	0.39	0.16
72 ч	0.78	0.77	0.76	0.20	0.06	0.12

C

Соединение IV (CV-8687)	Положительные, среднее (%)			SD		
	100 мкМ	10 мкМ	1 мкМ	100 мкМ	10 мкМ	1 мкМ
6 ч	1.10	3.39	3.11	0.10	0.38	0.28
24 ч	0.80	2.15	2.31	0.13	0.33	0.34
48 ч	0.66	2.07	2.77	0.08	0.34	0.46
72 ч	0.74	2.14	2.25	0.08	0.79	0.24

D

Соединение IV (CV-8687)	Положительные, среднее (%)			SD		
	100 мкМ	10 мкМ	1 мкМ	100 мкМ	10 мкМ	1 мкМ
6 ч	0.49	0.99	1.26	0.06	0.31	0.27
24 ч	0.37	1.17	1.23	0.10	0.21	0.10
48 ч	0.22	0.84	1.43	0.08	0.13	0.30
72 ч	0.26	0.76	0.76	0.01	0.20	0.07

ФИГ.100 (продолжение)

E

Соединение IV (CV-8687)	Положительные, среднее (%)			SD		
	100 мкМ	10 мкМ	1 мкМ	100 мкМ	10 мкМ	1 мкМ
6 ч	0.65	0.91	0.91	0.05	0.22	0.27
24 ч	1.19	1.03	1.00	0.29	0.48	0.27
48 ч	0.78	1.37	1.05	0.08	0.58	0.30
72 ч	1.15	1.41	1.06	0.28	0.26	0.10

F

Соединение IV (CV-8687)	Положительные, среднее (%)			SD		
	100 мкМ	10 мкМ	1 мкМ	100 мкМ	10 мкМ	1 мкМ
6 ч	0.18	0.28	0.30	0.07	0.19	0.12
24 ч	0.36	0.56	0.56	0.04	0.24	0.16
48 ч	0.33	0.69	0.59	0.07	0.15	0.18
72 ч	0.55	0.85	0.55	0.08	0.36	0.05

ФИГ.101

A

AB17011	Положительные, среднее (%)			SD		
	100 мкМ	10 мкМ	1 мкМ	100 мкМ	10 мкМ	1 мкМ
6 ч	2.83	3.05	3.14	0.32	0.66	0.76
24 ч	3.18	3.41	4.40	0.37	1.31	0.50
48 ч	2.93	3.43	3.34	0.60	0.21	0.35
72 ч	1.46	1.72	2.28	0.26	0.55	0.19

B

AB17011	Положительные, среднее (%)			SD		
	100 мкМ	10 мкМ	1 мкМ	100 мкМ	10 мкМ	1 мкМ
6 ч	4.34	4.03	1.87	0.81	0.59	0.61
24 ч	2.10	1.87	1.13	0.30	0.15	0.29
48 ч	0.81	1.18	0.81	0.31	0.10	0.12
72 ч	1.03	0.91	0.74	0.34	0.14	0.05

C

AB17011	Положительные, среднее (%)			SD		
	100 мкМ	10 мкМ	1 мкМ	100 мкМ	10 мкМ	1 мкМ
6 ч	3.42	3.03	3.37	0.69	0.12	0.26
24 ч	3.23	2.25	2.39	1.00	0.50	0.19
48 ч	2.91	1.80	2.18	0.52	0.23	0.40
72 ч	2.24	1.55	1.89	0.51	0.34	0.45

D

AB17011	Положительные, среднее (%)			SD		
	100 мкМ	10 мкМ	1 мкМ	100 мкМ	10 мкМ	1 мкМ
6 ч	1.23	1.19	1.46	0.43	0.16	0.23
24 ч	1.49	1.33	1.36	0.29	0.34	0.09
48 ч	1.17	0.89	0.90	0.37	0.17	0.25
72 ч	0.53	0.64	0.72	0.06	0.04	0.15

ФИГ.101 (продолжение)

E

AB17011	Положительные, среднее (%)			SD		
	100 мкМ	10 мкМ	1 мкМ	100 мкМ	10 мкМ	1 мкМ
6 ч	1.52	1.38	1.75	0.46	0.15	0.95
24 ч	0.92	1.85	1.46	0.12	1.02	0.46
48 ч	1.75	1.29	1.59	0.47	0.32	0.41
72 ч	1.80	1.70	1.50	0.55	0.40	0.58

F

AB17011	Положительные, среднее (%)			SD		
	100 мкМ	10 мкМ	1 мкМ	100 мкМ	10 мкМ	1 мкМ
6 ч	0.55	0.66	0.84	0.23	0.07	0.60
24 ч	0.46	0.94	0.73	0.05	0.53	0.28
48 ч	1.11	0.79	0.99	0.55	0.40	0.46
72 ч	1.21	1.22	1.21	0.48	0.67	0.45

ФИГ.102

A

AB11644	Положительные, среднее (%)			SD		
	100 мкМ	10 мкМ	1 мкМ	100 мкМ	10 мкМ	1 мкМ
6 ч	5.25	2.25	2.13	2.46	0.89	0.27
24 ч	15.37	2.07	2.53	2.78	0.41	0.76
48 ч	29.57	2.82	2.51	3.35	0.20	0.08
72 ч	31.03	1.78	1.74	3.71	0.01	0.12

B

AB11644	Положительные, среднее (%)			SD		
	100 мкМ	10 мкМ	1 мкМ	100 мкМ	10 мкМ	1 мкМ
6 ч	56.80	4.16	2.29	4.64	0.54	0.88
24 ч	60.67	1.25	1.28	13.22	0.38	0.53
48 ч	32.47	1.19	0.70	3.20	0.31	0.21
72 ч	26.97	0.70	0.64	3.96	0.06	0.10

C

AB11644	Положительные, среднее (%)			SD		
	100 мкМ	10 мкМ	1 мкМ	100 мкМ	10 мкМ	1 мкМ
6 ч	40.07	3.02	3.35	7.17	0.43	0.40
24 ч	37.40	2.04	2.92	1.20	0.13	0.99
48 ч	49.90	2.01	2.53	5.93	0.67	0.25
72 ч	30.53	1.56	1.73	2.85	0.36	0.15

D

AB11644	Положительные, среднее (%)			SD		
	100 мкМ	10 мкМ	1 мкМ	100 мкМ	10 мкМ	1 мкМ
6 ч	65.17	0.95	1.45	9.81	0.51	0.27
24 ч	68.20	1.15	1.47	0.61	0.11	0.34
48 ч	55.37	0.87	1.12	2.48	0.37	0.33
72 ч	58.03	0.84	0.75	5.21	0.22	0.16

ФИГ.102 (продолжение)

E

AB11644	Положительные, среднее (%)			SD		
	100 мкМ	10 мкМ	1 мкМ	100 мкМ	10 мкМ	1 мкМ
6 ч	3.20	0.89	1.18	1.60	0.25	0.20
24 ч	19.07	0.59	0.77	2.02	0.11	0.03
48 ч	44.50	1.12	1.08	1.73	0.35	0.09
72 ч	40.83	1.18	1.25	2.67	0.20	0.23

F

AB11644	Положительные, среднее (%)			SD		
	100 мкМ	10 мкМ	1 мкМ	100 мкМ	10 мкМ	1 мкМ
6 ч	2.74	0.42	0.44	2.29	0.27	0.08
24 ч	17.33	0.31	0.33	2.64	0.05	0.05
48 ч	51.43	0.74	0.62	4.26	0.06	0.03
72 ч	57.17	0.85	0.84	5.13	0.21	0.20

ФИГ.103

A

AB17014	Положительные, среднее (%)			SD		
	100 мкМ	10 мкМ	1 мкМ	100 мкМ	10 мкМ	1 мкМ
6 ч	8.56	2.72	4.22	0.78	0.03	0.32
24 ч	4.24	3.34	2.92	1.31	0.42	0.17
48 ч	11.22	2.38	2.20	2.65	1.32	1.23
72 ч	9.49	1.75	2.02	1.84	0.20	0.20

B

AB17014	Положительные, среднее (%)			SD		
	100 мкМ	10 мкМ	1 мкМ	100 мкМ	10 мкМ	1 мкМ
6 ч	15.03	4.97	2.91	1.00	0.35	0.48
24 ч	6.86	1.86	0.96	3.07	0.47	0.21
48 ч	5.74	1.30	1.13	0.37	0.56	0.39
72 ч	3.46	0.74	0.82	0.45	0.17	0.28

C

AB17014	Положительные, среднее (%)			SD		
	100 мкМ	10 мкМ	1 мкМ	100 мкМ	10 мкМ	1 мкМ
6 ч	25.10	3.18	2.59	6.37	0.41	0.54
24 ч	39.50	2.72	2.50	3.18	0.23	0.26
48 ч	49.40	2.23	1.86	4.33	0.11	0.31
72 ч	52.60	1.95	2.12	3.75	0.29	0.24

D

AB17014	Положительные, среднее (%)			SD		
	100 мкМ	10 мкМ	1 мкМ	100 мкМ	10 мкМ	1 мкМ
6 ч	17.67	1.64	1.60	2.34	0.38	0.27
24 ч	36.57	1.40	1.04	0.75	0.18	0.14
48 ч	36.73	1.14	0.96	3.51	0.20	0.11
72 ч	28.00	0.84	0.81	3.65	0.19	0.20

ФИГ.103 (продолжение)

E

AB17014	Положительные, среднее (%)			SD		
	100 мкМ	10 мкМ	1 мкМ	100 мкМ	10 мкМ	1 мкМ
6 ч	8.06	1.72	1.95	1.09	0.79	0.49
24 ч	20.83	1.02	2.03	0.92	0.21	0.91
48 ч	36.57	1.68	1.16	1.86	0.70	0.25
72 ч	34.77	1.96	1.51	3.53	0.37	0.36

F

AB17014	Положительные, среднее (%)			SD		
	100 мкМ	10 мкМ	1 мкМ	100 мкМ	10 мкМ	1 мкМ
6 ч	3.41	0.88	0.94	0.74	0.46	0.26
24 ч	22.17	0.52	1.10	4.00	0.11	0.49
48 ч	34.77	0.94	0.61	1.85	0.67	0.21
72 ч	32.77	1.33	0.95	5.74	0.26	0.14

ФИГ.104

A

Неизвестная композиция	Положительные, среднее (%)			SD		
	100 мкМ	10 мкМ	1 мкМ	100 мкМ	10 мкМ	1 мкМ
6 ч	5.42	2.48	2.77	1.06	1.24	0.63
24 ч	14.53	2.83	3.10	1.05	0.74	0.22
48 ч	38.67	3.79	2.94	6.27	0.84	0.60
72 ч	37.97	1.98	1.80	6.05	0.49	0.17

B

Неизвестная композиция	Положительные, среднее (%)			SD		
	100 мкМ	10 мкМ	1 мкМ	100 мкМ	10 мкМ	1 мкМ
6 ч	9.82	3.64	2.55	1.01	1.08	0.72
24 ч	28.00	2.08	1.17	2.26	0.31	0.25
48 ч	54.40	1.79	1.45	1.82	0.67	0.18
72 ч	52.93	1.00	0.72	2.10	0.39	0.14

C

Неизвестная композиция	Положительные, среднее (%)			SD		
	100 мкМ	10 мкМ	1 мкМ	100 мкМ	10 мкМ	1 мкМ
6 ч	26.63	3.27	2.87	7.05	0.39	0.34
24 ч	29.13	2.11	2.28	2.86	0.22	0.34
48 ч	57.27	2.44	2.27	7.40	0.28	0.45
72 ч	47.30	1.99	2.12	4.74	0.36	0.33

D

Неизвестная композиция	Положительные, среднее (%)			SD		
	100 мкМ	10 мкМ	1 мкМ	100 мкМ	10 мкМ	1 мкМ
6 ч	20.97	1.22	1.26	9.37	0.27	0.41
24 ч	52.87	1.09	1.35	1.25	0.13	0.30
48 ч	58.80	1.12	1.03	1.91	0.14	0.15
72 ч	57.50	0.81	0.91	0.40	0.13	0.30

ФИГ.104 (продолжение)

E

Неизвестная композиция	Положительные, среднее (%)			SD		
	100 мкМ	10 мкМ	1 мкМ	100 мкМ	10 мкМ	1 мкМ
6 ч	1.84	0.90	0.86	0.67	0.08	0.24
24 ч	17.07	0.75	1.07	1.46	0.18	0.27
48 ч	45.93	1.15	1.05	4.27	0.23	0.56
72 ч	36.10	1.65	0.85	3.03	0.63	0.34

F

Неизвестная композиция	Положительные, среднее (%)			SD		
	100 мкМ	10 мкМ	1 мкМ	100 мкМ	10 мкМ	1 мкМ
6 ч	0.72	0.33	0.31	0.34	0.11	0.08
24 ч	21.50	0.44	0.51	5.90	0.04	0.08
48 ч	74.53	0.69	0.65	0.99	0.21	0.49
72 ч	61.83	1.17	0.54	0.68	0.49	0.21

ФИГ.105

A

AB17225	Положительные, среднее (%)			SD		
	100 мкМ	10 мкМ	1 мкМ	100 мкМ	10 мкМ	1 мкМ
6 ч	2.35	1.96	3.20	1.15	0.31	0.31
24 ч	2.70	4.23	5.61	0.69	0.98	0.19
48 ч	4.87	3.93	4.44	0.76	0.25	0.71
72 ч	4.90	2.77	2.60	0.15	0.50	0.13

B

AB17225	Положительные, среднее (%)			SD		
	100 мкМ	10 мкМ	1 мкМ	100 мкМ	10 мкМ	1 мкМ
6 ч	2.09	1.85	1.05	0.17	0.19	0.33
24 ч	1.97	1.98	1.25	0.15	0.17	0.22
48 ч	1.60	1.67	1.39	0.51	0.22	0.18
72 ч	1.62	1.00	0.87	0.45	0.08	0.06

C

AB17225	Положительные, среднее (%)			SD		
	100 мкМ	10 мкМ	1 мкМ	100 мкМ	10 мкМ	1 мкМ
6 ч	1.52	3.22	3.27	0.34	0.19	0.39
24 ч	1.58	2.96	2.17	0.30	0.76	0.15
48 ч	0.87	2.10	2.05	0.11	0.09	0.34
72 ч	1.49	1.84	1.69	0.09	0.54	0.36

D

AB17225	Положительные, среднее (%)			SD		
	100 мкМ	10 мкМ	1 мкМ	100 мкМ	10 мкМ	1 мкМ
6 ч	0.37	1.26	1.35	0.14	0.11	0.32
24 ч	0.47	0.89	0.88	0.10	0.14	0.09
48 ч	0.25	0.72	0.68	0.06	0.14	0.35
72 ч	0.35	0.57	0.72	0.14	0.18	0.16

ФИГ.105 (продолжение)

E

AB17225	Положительные, среднее (%)			SD		
	100 мкМ	10 мкМ	1 мкМ	100 мкМ	10 мкМ	1 мкМ
6 ч	2.28	1.56	1.36	0.38	0.54	0.93
24 ч	6.79	1.80	1.34	2.72	0.64	0.61
48 ч	5.26	1.21	0.94	0.89	0.23	0.25
72 ч	6.10	1.54	1.79	1.51	0.60	0.76

F

AB17225	Положительные, среднее (%)			SD		
	100 мкМ	10 мкМ	1 мкМ	100 мкМ	10 мкМ	1 мкМ
6 ч	0.32	0.46	0.54	0.13	0.09	0.39
24 ч	1.96	0.70	0.64	0.91	0.17	0.42
48 ч	2.20	0.48	0.51	0.38	0.06	0.17
72 ч	3.10	0.75	1.19	0.54	0.26	0.49

ФИГ.106

A

Соединение A5 (CV-8819)	Положительные, среднее (%)			SD		
	100 мкМ	10 мкМ	1 мкМ	100 мкМ	10 мкМ	1 мкМ
6 ч	1.77	2.88	2.57	0.18	0.41	0.33
24 ч	2.34	3.05	3.03	1.47	1.39	0.25
48 ч	3.36	2.19	2.51	0.29	0.46	0.23
72 ч	1.65	0.90	1.48	0.25	0.04	0.13

B

Соединение A5 (CV-8819)	Положительные, среднее (%)			SD		
	100 мкМ	10 мкМ	1 мкМ	100 мкМ	10 мкМ	1 мкМ
6 ч	3.89	4.46	1.79	0.23	0.71	0.52
24 ч	1.74	2.12	1.43	0.53	0.29	0.11
48 ч	1.45	0.95	0.88	0.20	0.36	0.28
72 ч	0.87	0.46	0.75	0.05	0.14	0.24

C

Соединение A5 (CV-8819)	Положительные, среднее (%)			SD		
	100 мкМ	10 мкМ	1 мкМ	100 мкМ	10 мкМ	1 мкМ
6 ч	3.10	3.10	3.38	0.56	0.58	0.16
24 ч	3.11	2.43	2.56	0.45	0.41	0.62
48 ч	5.04	2.13	2.79	0.89	0.30	0.46
72 ч	4.87	2.42	2.58	0.49	0.61	0.48

D

Соединение A5 (CV-8819)	Положительные, среднее (%)			SD		
	100 мкМ	10 мкМ	1 мкМ	100 мкМ	10 мкМ	1 мкМ
6 ч	2.18	1.32	1.44	0.48	0.31	0.07
24 ч	1.99	1.25	1.51	0.42	0.07	0.52
48 ч	2.48	1.17	1.24	0.55	0.17	0.16
72 ч	2.27	0.99	0.89	0.18	0.13	0.37

ФИГ.106 (продолжение)

E

Соединение A5 (CV-8819)	Положительные, среднее (%)			SD		
	100 мкМ	10 мкМ	1 мкМ	100 мкМ	10 мкМ	1 мкМ
6 ч	0.98	0.96	0.74	0.19	0.34	0.25
24 ч	1.94	1.32	0.83	0.34	0.07	0.14
48 ч	6.97	2.18	1.20	0.32	1.00	0.46
72 ч	10.56	3.26	1.94	1.61	0.44	1.35

F

Соединение A5 (CV-8819)	Положительные, среднее (%)			SD		
	100 мкМ	10 мкМ	1 мкМ	100 мкМ	10 мкМ	1 мкМ
6 ч	0.49	0.49	0.26	0.10	0.15	0.12
24 ч	0.89	0.50	0.39	0.23	0.12	0.20
48 ч	3.79	1.25	0.61	0.27	0.61	0.24
72 ч	6.50	1.64	1.02	0.84	0.74	0.42

ФИГ.107

A

AB12976	Положительные, среднее (%)			SD		
	100 мкМ	10 мкМ	1 мкМ	100 мкМ	10 мкМ	1 мкМ
6 ч	2.54	3.34	3.42	0.40	0.66	0.80
24 ч	6.38	4.34	3.34	1.27	0.19	0.77
48 ч	8.41	3.10	2.72	0.95	0.16	0.57
72 ч	8.18	1.98	2.14	1.48	0.19	0.27

B

AB12976	Положительные, среднее (%)			SD		
	100 мкМ	10 мкМ	1 мкМ	100 мкМ	10 мкМ	1 мкМ
6 ч	4.87	4.71	2.30	0.23	0.60	0.52
24 ч	2.55	2.29	1.30	0.24	0.15	0.49
48 ч	2.05	0.95	0.83	0.15	0.22	0.03
72 ч	1.84	0.76	0.83	0.60	0.20	0.25

C

AB12976	Положительные, среднее (%)			SD		
	100 мкМ	10 мкМ	1 мкМ	100 мкМ	10 мкМ	1 мкМ
6 ч	4.17	3.53	3.17	0.53	0.45	0.31
24 ч	15.67	3.10	2.41	1.11	0.20	0.31
48 ч	27.23	3.06	2.50	6.55	0.53	0.58
72 ч	26.97	2.11	2.46	2.19	0.47	0.38

D

AB12976	Положительные, среднее (%)			SD		
	100 мкМ	10 мкМ	1 мкМ	100 мкМ	10 мкМ	1 мкМ
6 ч	1.75	1.14	1.44	0.31	0.48	0.27
24 ч	4.01	1.43	1.32	0.70	0.17	0.30
48 ч	15.50	1.21	0.86	0.75	0.30	0.33
72 ч	7.11	0.71	0.86	0.94	0.11	0.06

ФИГ.107 (продолжение)

E

AB12976	Положительные, среднее (%)			SD		
	100 мкМ	10 мкМ	1 мкМ	100 мкМ	10 мкМ	1 мкМ
6 ч	1.16	1.77	1.66	0.36	0.47	0.64
24 ч	3.97	1.59	0.90	0.28	0.15	0.28
48 ч	11.00	1.80	1.43	0.50	0.87	0.31
72 ч	18.30	1.67	1.44	2.78	0.45	0.39

F

AB12976	Положительные, среднее (%)			SD		
	100 мкМ	10 мкМ	1 мкМ	100 мкМ	10 мкМ	1 мкМ
6 ч	0.47	0.76	0.72	0.16	0.19	0.20
24 ч	1.17	0.85	0.45	0.11	0.10	0.15
48 ч	5.70	0.99	0.80	0.25	0.53	0.31
72 ч	7.60	1.26	0.92	2.46	0.30	0.26

ФИГ.108

A

Соединение E (AB12508)	Положительные, среднее (%)			SD		
	100 мкМ	10 мкМ	1 мкМ	100 мкМ	10 мкМ	1 мкМ
6 ч	6.11	3.65	2.36	0.73	1.22	0.61
24 ч	22.90	3.22	3.63	3.74	0.87	0.21
48 ч	33.23	3.35	2.64	5.71	0.74	0.46
72 ч	42.03	2.47	1.98	2.15	0.20	0.34

B

Соединение E (AB12508)	Положительные, среднее (%)			SD		
	100 мкМ	10 мкМ	1 мкМ	100 мкМ	10 мкМ	1 мкМ
6 ч	11.33	4.87	2.21	2.34	1.45	0.55
24 ч	58.80	1.63	1.43	1.71	0.23	0.20
48 ч	66.13	1.26	0.77	1.53	0.12	0.35
72 ч	58.20	0.96	0.88	0.98	0.08	0.21

C

Соединение E (AB12508)	Положительные, среднее (%)			SD		
	100 мкМ	10 мкМ	1 мкМ	100 мкМ	10 мкМ	1 мкМ
6 ч	36.83	3.46	4.05	3.09	0.50	1.43
24 ч	29.60	2.62	3.42	2.99	0.11	0.38
48 ч	69.77	2.53	2.68	0.64	0.67	0.51
72 ч	59.47	2.10	2.49	2.80	0.18	0.29

D

Соединение E (AB12508)	Положительные, среднее (%)			SD		
	100 мкМ	10 мкМ	1 мкМ	100 мкМ	10 мкМ	1 мкМ
6 ч	25.90	1.35	1.29	2.76	0.28	0.70
24 ч	57.60	1.44	1.60	2.70	0.18	0.32
48 ч	54.43	0.94	1.21	2.55	0.27	0.16
72 ч	55.90	0.77	0.74	2.03	0.04	0.06

ФИГ.108 (продолжение)

E

Соединение E (AB12508)	Положительные, среднее (%)			SD		
	100 мкМ	10 мкМ	1 мкМ	100 мкМ	10 мкМ	1 мкМ
6 ч	1.82	1.24	1.59	0.35	0.62	0.90
24 ч	15.97	0.82	1.02	1.56	0.07	0.24
48 ч	39.73	1.31	1.58	2.84	0.26	0.38
72 ч	31.43	1.61	1.59	3.67	0.62	0.34

F

Соединение E (AB12508)	Положительные, среднее (%)			SD		
	100 мкМ	10 мкМ	1 мкМ	100 мкМ	10 мкМ	1 мкМ
6 ч	0.66	0.50	0.78	0.35	0.25	0.57
24 ч	15.53	0.42	0.40	1.90	0.03	0.05
48 ч	70.33	0.69	1.05	1.27	0.24	0.35
72 ч	63.90	1.01	0.97	2.10	0.35	0.11

ФИГ.109

A

Стауроспорин	Среднее			SD		
	100 мкМ	10 мкМ	1 мкМ	100 мкМ	10 мкМ	1 мкМ
6 ч	252.66	288.58	205.17	32.59	18.92	8.33
24 ч	43.73	233.84	122.30	2.74	2.38	4.77
48 ч	12.71	49.62	63.67	0.38	1.35	0.57
72 ч	8.06	30.53	44.74	0.19	1.21	3.06

B

Стауроспорин	Среднее			SD		
	100 мкМ	10 мкМ	1 мкМ	100 мкМ	10 мкМ	1 мкМ
6 ч	1640.60	1793.52	861.27	23.55	173.30	67.18
24 ч	542.74	714.33	260.20	18.87	36.02	7.93
48 ч	225.87	300.78	137.96	5.84	4.56	5.04
72 ч	146.22	187.20	107.95	4.98	12.93	6.55

C

Стауроспорин	Среднее			SD		
	100 мкМ	10 мкМ	1 мкМ	100 мкМ	10 мкМ	1 мкМ
6 ч	2557.92	2254.35	376.37	93.23	269.97	19.88
24 ч	877.32	1369.69	574.22	100.95	83.00	41.02
48 ч	657.98	806.41	497.07	33.08	4.42	12.79
72 ч	495.53	466.72	275.95	4.57	28.07	5.44

ФИГ.110

A

Малассезин	Среднее			SD		
	100 мкМ	10 мкМ	1 мкМ	100 мкМ	10 мкМ	1 мкМ
6 ч	82.23	111.00	108.22	5.94	7.78	9.59
24 ч	63.95	114.80	101.36	6.36	10.70	4.94
48 ч	38.35	84.86	97.57	4.02	7.17	8.28
72 ч	16.70	92.24	98.65	0.93	1.60	3.18

B

Малассезин	Среднее			SD		
	100 мкМ	10 мкМ	1 мкМ	100 мкМ	10 мкМ	1 мкМ
6 ч	242.36	110.34	110.33	9.61	6.10	3.58
24 ч	336.31	97.99	100.53	16.48	13.31	9.61
48 ч	257.67	113.80	96.52	21.85	6.85	13.86
72 ч	176.88	127.07	96.64	8.65	15.57	10.04

C

Малассезин	Среднее			SD		
	100 мкМ	10 мкМ	1 мкМ	100 мкМ	10 мкМ	1 мкМ
6 ч	134.18	110.28	110.10	18.33	16.69	5.07
24 ч	581.89	120.29	95.01	54.30	9.46	11.22
48 ч	742.01	131.31	102.41	35.68	11.82	9.88
72 ч	451.77	145.38	114.07	5.41	14.12	8.57

ФИГ.111

A

Соединение I (CV-8686)	Среднее			SD		
	100 мкМ	10 мкМ	1 мкМ	100 мкМ	10 мкМ	1 мкМ
6 ч	84.18	98.34	102.95	9.84	3.06	6.15
24 ч	51.36	102.94	102.74	7.25	11.79	11.07
48 ч	22.86	94.71	95.01	1.55	4.24	8.86
72 ч	17.90	94.42	106.39	2.22	3.37	7.85

B

Соединение I (CV-8686)	Среднее			SD		
	100 мкМ	10 мкМ	1 мкМ	100 мкМ	10 мкМ	1 мкМ
6 ч	132.19	102.28	101.03	19.56	9.13	7.48
24 ч	139.11	119.78	111.28	12.10	17.20	14.41
48 ч	95.28	112.70	99.39	9.10	2.95	7.67
72 ч	85.18	116.99	102.49	5.64	7.89	4.11

C

Соединение I (CV-8686)	Среднее			SD		
	100 мкМ	10 мкМ	1 мкМ	100 мкМ	10 мкМ	1 мкМ
6 ч	123.90	106.52	117.43	12.72	14.48	9.08
24 ч	378.52	107.06	100.56	17.88	4.35	15.37
48 ч	453.06	136.07	121.27	47.51	5.93	5.03
72 ч	296.88	119.77	118.22	38.11	4.44	5.18

ФИГ.112

A

Соединение II (CV-8688)	Среднее			SD		
	100 мкМ	10 мкМ	1 мкМ	100 мкМ	10 мкМ	1 мкМ
6 ч	94.08	106.91	105.81	6.39	10.93	8.61
24 ч	91.22	116.50	113.68	0.50	8.00	6.03
48 ч	92.04	101.71	104.65	6.80	13.85	4.46
72 ч	46.56	101.58	102.52	2.23	6.53	9.03

B

Соединение II (CV-8688)	Среднее			SD		
	100 мкМ	10 мкМ	1 мкМ	100 мкМ	10 мкМ	1 мкМ
6 ч	295.69	96.44	97.69	10.17	14.53	14.23
24 ч	488.09	121.95	112.68	13.16	9.74	12.52
48 ч	226.04	114.86	106.01	32.52	11.58	7.82
72 ч	155.68	112.80	88.49	8.40	7.40	2.53

C

Соединение II (CV-8688)	Среднее			SD		
	100 мкМ	10 мкМ	1 мкМ	100 мкМ	10 мкМ	1 мкМ
6 ч	151.43	105.97	104.95	18.11	5.33	11.23
24 ч	1221.34	105.29	100.25	46.41	10.51	15.59
48 ч	829.38	137.47	113.78	57.97	14.65	19.61
72 ч	609.51	111.34	111.32	9.90	9.13	6.82

ФИГ.113

A

Индолокарбазол (CV-8685)	Среднее			SD		
	100 мкМ	10 мкМ	1 мкМ	100 мкМ	10 мкМ	1 мкМ
6 ч	93.22	99.82	96.58	3.56	1.49	11.22
24 ч	106.71	93.63	102.40	9.39	7.90	12.26
48 ч	94.52	96.01	99.02	15.03	5.73	8.67
72 ч	96.76	99.07	100.68	7.83	7.69	3.98

B

Индолокарбазол (CV-8685)	Среднее			SD		
	100 мкМ	10 мкМ	1 мкМ	100 мкМ	10 мкМ	1 мкМ
6 ч	91.09	102.51	102.29	8.55	3.06	7.53
24 ч	98.03	103.99	97.30	5.91	15.72	7.18
48 ч	102.39	105.47	101.43	8.99	5.50	5.25
72 ч	105.89	98.18	99.03	6.66	2.97	14.80

C

Индолокарбазол (CV-8685)	Среднее			SD		
	100 мкМ	10 мкМ	1 мкМ	100 мкМ	10 мкМ	1 мкМ
6 ч	95.44	105.89	107.26	11.96	13.21	5.84
24 ч	93.92	97.11	101.06	18.71	5.88	6.21
48 ч	119.33	120.92	109.88	19.93	23.27	1.25
72 ч	108.75	113.34	98.09	7.07	13.45	9.06

ФИГ.114

A

Соединение IV (CV-8687)	Среднее			SD		
	100 мкМ	10 мкМ	1 мкМ	100 мкМ	10 мкМ	1 мкМ
6 ч	97.25	106.41	105.78	4.65	6.01	6.30
24 ч	108.13	95.28	95.59	11.58	3.85	3.66
48 ч	94.00	97.10	113.75	11.83	5.25	6.48
72 ч	98.41	106.67	107.05	13.36	9.55	9.61

B

Соединение IV (CV-8687)	Среднее			SD		
	100 мкМ	10 мкМ	1 мкМ	100 мкМ	10 мкМ	1 мкМ
6 ч	101.34	106.73	102.23	4.65	8.25	6.07
24 ч	104.05	110.50	107.58	2.60	2.69	9.78
48 ч	100.45	104.30	95.78	3.00	2.80	9.24
72 ч	92.93	98.23	97.45	8.66	4.85	8.57

C

Соединение IV (CV-8687)	Среднее			SD		
	100 мкМ	10 мкМ	1 мкМ	100 мкМ	10 мкМ	1 мкМ
6 ч	112.34	106.90	92.02	10.47	12.90	5.52
24 ч	117.82	97.92	97.08	19.61	9.30	3.11
48 ч	106.44	114.45	117.04	6.87	3.71	17.43
72 ч	104.25	109.76	106.65	11.07	9.21	4.70

ФИГ.115

A

AB11644	Среднее			SD		
	100 мкМ	10 мкМ	1 мкМ	100 мкМ	10 мкМ	1 мкМ
6 ч	543.44	98.41	100.71	47.46	3.65	5.68
24 ч	173.35	93.76	94.24	16.69	4.77	10.00
48 ч	45.39	93.00	107.98	4.81	10.10	6.17
72 ч	22.60	102.71	110.87	1.08	4.74	5.82

B

AB11644	Среднее			SD		
	100 мкМ	10 мкМ	1 мкМ	100 мкМ	10 мкМ	1 мкМ
6 ч	711.88	99.64	97.77	115.47	7.14	18.30
24 ч	223.51	114.96	103.72	22.54	7.99	12.33
48 ч	79.15	98.61	92.59	13.38	11.43	18.13
72 ч	70.81	99.25	97.44	26.36	6.92	4.13

C

AB11644	Среднее			SD		
	100 мкМ	10 мкМ	1 мкМ	100 мкМ	10 мкМ	1 мкМ
6 ч	319.07	97.69	98.29	185.81	6.49	10.57
24 ч	498.77	86.57	96.43	79.84	25.88	4.46
48 ч	402.70	109.09	130.02	15.65	4.73	11.57
72 ч	288.29	97.00	101.89	15.83	13.39	4.81

ФИГ.116

A

Неизвестная композиция	Среднее			SD		
	100 мкМ	10 мкМ	1 мкМ	100 мкМ	10 мкМ	1 мкМ
6 ч	121.44	101.66	102.43	5.57	8.74	5.00
24 ч	272.77	104.65	99.80	28.62	12.34	15.01
48 ч	63.24	92.04	91.93	2.47	5.08	5.07
72 ч	30.40	107.58	112.13	1.81	2.12	7.07

B

Неизвестная композиция	Среднее			SD		
	100 мкМ	10 мкМ	1 мкМ	100 мкМ	10 мкМ	1 мкМ
6 ч	766.35	91.67	91.91	84.08	14.96	27.33
24 ч	326.51	111.68	105.76	3.75	17.07	8.96
48 ч	143.34	112.33	92.62	7.01	10.53	5.46
72 ч	103.82	110.26	98.68	2.73	6.15	5.80

C

Неизвестная композиция	Среднее			SD		
	100 мкМ	10 мкМ	1 мкМ	100 мкМ	10 мкМ	1 мкМ
6 ч	342.01	100.28	92.15	175.64	2.02	12.88
24 ч	735.36	87.88	94.65	122.37	13.58	5.61
48 ч	542.64	116.20	116.63	12.39	14.43	11.88
72 ч	373.58	106.11	109.29	16.75	13.14	12.91

ФИГ.117

A

Соединение A5 (CV-8819)	Среднее			SD		
	100 мкМ	10 мкМ	1 мкМ	100 мкМ	10 мкМ	1 мкМ
6 ч	94.07	96.84	103.86	8.65	7.26	5.94
24 ч	85.08	100.31	106.09	1.35	4.15	2.76
48 ч	47.69	70.72	88.90	1.23	11.62	15.97
72 ч	43.64	68.86	99.79	3.90	7.05	8.67

B

Соединение A5 (CV-8819)	Среднее			SD		
	100 мкМ	10 мкМ	1 мкМ	100 мкМ	10 мкМ	1 мкМ
6 ч	102.38	102.47	97.50	4.30	6.55	5.15
24 ч	97.65	100.97	109.93	9.69	15.67	27.84
48 ч	112.40	110.47	94.22	4.86	12.65	3.27
72 ч	119.68	132.40	115.93	3.18	4.47	10.98

C

Соединение A5 (CV-8819)	Среднее			SD		
	100 мкМ	10 мкМ	1 мкМ	100 мкМ	10 мкМ	1 мкМ
6 ч	111.85	94.90	96.92	18.80	14.19	3.65
24 ч	114.60	105.47	99.99	11.21	16.14	2.31
48 ч	177.61	173.08	131.36	21.00	22.77	4.20
72 ч	217.84	197.03	112.51	25.75	17.05	14.02

ФИГ.118

A

Соединение E (AB12508)	Среднее			SD		
	100 мкМ	10 мкМ	1 мкМ	100 мкМ	10 мкМ	1 мкМ
6 ч	195.89	102.44	92.17	49.14	11.42	2.30
24 ч	314.25	101.20	104.55	15.37	11.93	11.73
48 ч	60.81	92.71	98.13	1.74	4.03	6.11
72 ч	28.76	97.21	98.60	1.48	1.18	3.46

B

Соединение E (AB12508)	Среднее			SD		
	100 мкМ	10 мкМ	1 мкМ	100 мкМ	10 мкМ	1 мкМ
6 ч	1146.53	98.67	102.47	45.78	6.36	10.28
24 ч	497.44	94.97	113.88	42.07	10.36	24.98
48 ч	210.71	99.65	90.89	17.79	8.33	4.47
72 ч	147.68	99.53	100.41	2.95	5.11	3.40

C

Соединение E (AB12508)	Среднее			SD		
	100 мкМ	10 мкМ	1 мкМ	100 мкМ	10 мкМ	1 мкМ
6 ч	400.57	94.71	96.91	162.22	6.65	3.50
24 ч	757.10	106.16	94.73	97.16	6.11	6.88
48 ч	710.00	115.55	102.98	47.08	9.40	3.72
72 ч	446.78	105.58	99.23	5.97	9.07	2.67

ФИГ.119

A

Соединение H (AB12509)	Среднее			SD		
	100 мкМ	10 мкМ	1 мкМ	100 мкМ	10 мкМ	1 мкМ
6 ч	82.55	110.03	106.27	15.06	7.02	10.33
24 ч	102.16	98.53	96.46	14.10	10.40	3.82
48 ч	46.81	97.94	93.22	4.90	4.12	6.25
72 ч	24.17	99.39	91.57	5.27	12.98	7.55

B

Соединение H (AB12509)	Среднее			SD		
	100 мкМ	10 мкМ	1 мкМ	100 мкМ	10 мкМ	1 мкМ
6 ч	334.59	105.53	102.59	11.76	10.12	7.32
24 ч	358.91	114.27	113.13	12.15	7.94	8.84
48 ч	106.76	92.30	88.07	5.94	2.66	9.48
72 ч	68.08	94.39	91.34	2.94	7.48	6.96

C

Соединение H (AB12509)	Среднее			SD		
	100 мкМ	10 мкМ	1 мкМ	100 мкМ	10 мкМ	1 мкМ
6 ч	157.28	109.23	113.96	1.84	3.93	4.70
24 ч	295.40	105.72	88.47	19.74	7.20	10.68
48 ч	605.32	119.48	108.20	31.67	9.92	9.21
72 ч	351.27	114.18	85.85	18.35	11.30	9.78

ФИГ.120

A

Соединение B (CV-8877)	Среднее			SD		
	100 мкМ	10 мкМ	1 мкМ	100 мкМ	10 мкМ	1 мкМ
6 ч	504.38	105.44	108.04	75.56	3.78	4.37
24 ч	151.33	111.46	102.92	29.43	3.80	8.39
48 ч	39.13	106.54	86.80	1.00	2.94	15.76
72 ч	21.02	101.44	98.14	0.40	3.77	4.02

B

Соединение B (CV-8877)	Среднее			SD		
	100 мкМ	10 мкМ	1 мкМ	100 мкМ	10 мкМ	1 мкМ
6 ч	281.60	100.26	105.27	38.35	11.04	6.37
24 ч	110.82	103.02	102.76	7.53	7.86	5.73
48 ч	40.63	92.51	89.46	7.28	10.32	2.42
72 ч	31.59	107.55	89.85	8.08	4.65	15.54

C

Соединение B (CV-8877)	Среднее			SD		
	100 мкМ	10 мкМ	1 мкМ	100 мкМ	10 мкМ	1 мкМ
6 ч	963.78	96.09	95.78	121.12	13.36	19.24
24 ч	451.45	100.41	85.94	25.55	3.96	9.16
48 ч	245.94	101.75	100.53	27.95	18.46	11.30
72 ч	197.05	113.00	91.64	7.37	7.63	14.12

ФИГ.121

A

Соединение B10	Среднее			SD		
	100 мкМ	10 мкМ	1 мкМ	100 мкМ	10 мкМ	1 мкМ
6 ч	130.92	99.64	106.71	34.47	2.48	11.50
24 ч	182.20	84.50	98.82	10.23	2.81	9.42
48 ч	44.43	88.48	98.23	3.15	4.10	10.16
72 ч	21.48	86.99	88.53	0.26	3.71	4.64

B

Соединение B10	Среднее			SD		
	100 мкМ	10 мкМ	1 мкМ	100 мкМ	10 мкМ	1 мкМ
6 ч	578.99	98.25	103.24	11.25	6.79	2.77
24 ч	188.14	94.14	102.28	4.31	18.19	6.75
48 ч	80.58	98.11	95.82	5.89	2.54	8.94
72 ч	57.69	102.56	89.76	7.77	8.32	7.12

C

Соединение B10	Среднее			SD		
	100 мкМ	10 мкМ	1 мкМ	100 мкМ	10 мкМ	1 мкМ
6 ч	1212.61	98.30	111.92	35.31	5.26	5.02
24 ч	398.09	100.15	98.60	35.22	4.93	10.69
48 ч	196.09	118.27	109.06	13.75	7.26	1.81
72 ч	147.93	91.37	92.41	14.29	10.11	1.87

ФИГ.122

A

Предшественник малассезина	Среднее			SD		
	100 мкМ	10 мкМ	1 мкМ	100 мкМ	10 мкМ	1 мкМ
6 ч	108.53	116.28	112.21	15.33	7.69	7.02
24 ч	112.05	115.23	112.91	6.65	3.82	5.65
48 ч	105.40	102.63	111.65	22.09	3.64	2.02
72 ч	101.97	100.20	103.05	3.69	7.36	3.56

B

Предшественник малассезина	Среднее			SD		
	100 мкМ	10 мкМ	1 мкМ	100 мкМ	10 мкМ	1 мкМ
6 ч	110.09	101.55	108.23	7.38	12.20	6.85
24 ч	111.21	97.51	96.23	4.93	6.48	2.41
48 ч	95.08	100.40	103.33	8.67	9.37	13.29
72 ч	105.67	101.24	96.55	1.88	4.37	12.53

C

Предшественник малассезина	Среднее			SD		
	100 мкМ	10 мкМ	1 мкМ	100 мкМ	10 мкМ	1 мкМ
6 ч	117.85	105.17	103.97	12.02	15.80	9.15
24 ч	105.91	89.29	78.35	11.87	9.94	14.81
48 ч	112.25	113.50	103.68	14.34	8.22	19.14
72 ч	103.89	103.68	98.85	8.09	19.46	11.59

ФИГ.123

A

AB17151	Среднее			SD		
	100 мкМ	10 мкМ	1 мкМ	100 мкМ	10 мкМ	1 мкМ
6 ч	792.23	94.35	103.30	47.43	12.17	5.02
24 ч	232.22	109.52	103.23	42.76	15.33	10.23
48 ч	60.26	96.54	106.36	3.75	10.40	15.05
72 ч	31.32	98.86	104.00	3.21	5.87	12.88

B

AB17151	Среднее			SD		
	100 мкМ	10 мкМ	1 мкМ	100 мкМ	10 мкМ	1 мкМ
6 ч	185.76	102.39	103.35	26.84	10.63	4.33
24 ч	77.28	87.73	100.56	2.33	13.20	19.80
48 ч	37.24	103.58	97.08	1.16	7.38	10.94
72 ч	27.94	103.77	108.99	0.14	7.26	6.63

C

AB17151	Среднее			SD		
	100 мкМ	10 мкМ	1 мкМ	100 мкМ	10 мкМ	1 мкМ
6 ч	1915.95	100.56	107.82	96.88	4.21	0.95
24 ч	702.11	100.07	96.67	63.39	8.38	12.42
48 ч	418.69	102.86	114.75	125.67	5.29	8.19
72 ч	306.08	96.26	103.82	21.18	22.03	11.31

ФИГ.124

A

AB17011	Среднее			SD		
	100 мкМ	10 мкМ	1 мкМ	100 мкМ	10 мкМ	1 мкМ
6 ч	102.52	113.23	103.64	4.85	7.63	8.83
24 ч	88.84	95.91	103.23	2.74	0.61	5.71
48 ч	94.93	114.23	108.20	6.33	9.88	10.63
72 ч	109.04	105.42	103.05	8.80	4.68	7.49

B

AB17011	Среднее			SD		
	100 мкМ	10 мкМ	1 мкМ	100 мкМ	10 мкМ	1 мкМ
6 ч	89.77	106.86	108.92	11.31	4.12	3.95
24 ч	104.55	107.70	110.82	20.06	12.25	14.70
48 ч	97.24	97.70	95.57	4.42	9.05	3.35
72 ч	88.00	93.30	95.80	7.72	8.99	3.51

C

AB17011	Среднее			SD		
	100 мкМ	10 мкМ	1 мкМ	100 мкМ	10 мкМ	1 мкМ
6 ч	97.09	112.06	106.80	11.85	17.99	15.17
24 ч	89.80	93.03	111.47	3.75	2.19	17.23
48 ч	115.14	92.80	100.47	19.97	21.02	5.51
72 ч	100.34	95.18	98.02	9.64	9.59	13.50

ФИГ.125

A

AB17014	Среднее			SD		
	100 мкМ	10 мкМ	1 мкМ	100 мкМ	10 мкМ	1 мкМ
6 ч	107.26	112.73	106.37	12.91	11.93	2.62
24 ч	63.27	97.48	103.20	8.27	3.37	16.46
48 ч	29.50	82.78	107.35	3.37	10.88	10.95
72 ч	28.83	90.27	93.69	2.37	3.21	7.91

B

AB17014	Среднее			SD		
	100 мкМ	10 мкМ	1 мкМ	100 мкМ	10 мкМ	1 мкМ
6 ч	94.27	98.11	99.34	4.86	14.15	15.48
24 ч	116.67	114.65	115.75	14.69	5.45	15.74
48 ч	58.87	89.16	95.85	3.09	14.09	8.92
72 ч	44.46	91.12	99.15	1.94	9.51	6.75

C

AB17014	Среднее			SD		
	100 мкМ	10 мкМ	1 мкМ	100 мкМ	10 мкМ	1 мкМ
6 ч	266.58	93.25	108.01	51.24	4.33	8.67
24 ч	532.02	105.56	108.62	52.37	10.75	12.94
48 ч	521.61	123.83	111.07	124.57	5.05	1.72
72 ч	249.47	117.49	101.35	31.78	11.98	0.91

ФИГ.126

A

AB17225	Среднее			SD		
	100 мкМ	10 мкМ	1 мкМ	100 мкМ	10 мкМ	1 мкМ
6 ч	110.94	107.07	102.56	15.09	11.23	14.14
24 ч	100.53	106.88	98.19	11.91	3.87	11.10
48 ч	103.15	89.60	93.59	5.30	15.42	4.72
72 ч	105.32	110.43	92.38	5.85	3.16	13.17

B

AB17225	Среднее			SD		
	100 мкМ	10 мкМ	1 мкМ	100 мкМ	10 мкМ	1 мкМ
6 ч	96.37	82.94	94.68	6.95	13.90	16.19
24 ч	94.61	114.37	112.03	10.52	3.29	14.31
48 ч	95.85	94.54	101.78	2.48	5.59	10.65
72 ч	98.49	108.42	101.84	4.73	10.55	4.69

C

AB17225	Среднее			SD		
	100 мкМ	10 мкМ	1 мкМ	100 мкМ	10 мкМ	1 мкМ
6 ч	113.58	95.29	103.91	10.20	17.69	10.94
24 ч	160.52	96.87	90.79	37.31	13.18	1.68
48 ч	194.49	123.05	109.78	49.42	7.38	12.96
72 ч	199.83	110.60	91.09	18.88	21.37	6.95

ФИГ.127

A

AB12976	Среднее			SD		
	100 мкМ	10 мкМ	1 мкМ	100 мкМ	10 мкМ	1 мкМ
6 ч	88.59	103.91	106.27	5.50	3.65	7.48
24 ч	51.82	103.84	103.00	0.98	16.52	4.25
48 ч	27.25	93.64	104.99	3.83	16.41	12.48
72 ч	14.10	99.41	95.60	0.11	1.28	5.61

B

AB12976	Среднее			SD		
	100 мкМ	10 мкМ	1 мкМ	100 мкМ	10 мкМ	1 мкМ
6 ч	100.45	107.65	106.75	2.35	14.44	7.81
24 ч	80.48	94.77	102.29	4.90	13.29	25.53
48 ч	75.74	102.31	103.22	5.31	3.92	4.45
72 ч	76.27	106.88	100.89	2.97	11.57	6.38

C

AB12976	Среднее			SD		
	100 мкМ	10 мкМ	1 мкМ	100 мкМ	10 мкМ	1 мкМ
6 ч	95.60	98.80	115.34	11.19	12.86	16.94
24 ч	215.38	95.91	97.24	4.73	24.75	8.22
48 ч	359.83	90.15	104.05	40.01	4.49	22.80
72 ч	472.05	100.07	90.63	32.14	9.41	17.60

ФИГ.128

IIVS Номер тестируемого образца	Концентрация	Обозначение спонсора	pH (Сутки 0, 2, 4, 6)^	Средняя жизнеспособность тканей (%)[1]	Концентрация меланина (мкг/мл) – *из линейной кривой*
				Сутки 7	
18AB74	В чистом виде	2767-09 84-030118E w/ AB17011 @ 200 м.д.	5.0; 5.0; 5.0; 5.0	35.6	31.929
18AB75	В чистом виде	2767-07 84-030118C w/ AB17219 @ 200 м.д.	5.0; NCC; 5.0; 5.0	54.9	31.319
18AB76	В чистом виде	2767-11 84-030118G w/ CV-8685 @ 200 м.д.	5.0; 4.5; 4.5; 4.5	30.8	33.761
18AB77	В чистом виде	2767-12 84-030118H w/ CV-8687 @ 200 м.д.	5.0; 4.5; 4.5; 4.5	67.8	36.050
18AB78	В чистом виде	2767-08 84-030118D w/ AB17225 @ 200 м.д.	5.0; 5.0; 5.0; 5.0	27.8	26.740
18AB79	В чистом виде	2767-10 84-03011D w/ AB17220 @ 200 м.д.	5.0; 5.0; 5.0; 5.0	19.1	26.587
18AB80	В чистом виде	2767-06 84-030118A w/ BASE @ 200 м.д.	5.0; NCC; 5.0; 5.0	71.9	37.882
18AD25	В чистом виде	4% Гидрохинон	3.0; 3.0; 3.0; 4.0	34.8	408.476
18AD41	В чистом виде	ОБРАБОТКА ДЛЯ ОСВЕТЛЕНИЯ	5.0; 5.0; 5.0; 5.0	47.0	33.761
18AD42	500 мкМ	Индирубин	8.5; 8.5; 8.5; 8.5	65.2	34.219
17AA70	0.5% (v/v)	DMSO	8.5; 8.5; 8.0; 8.5	100.0[4]	59.556
17AJ41	500 мкМ	Малассезин (CV-8684)	8.5; 9.0; 8.0; 8.0	73.2	42.003
17AD43	500 мкМ	CV-8804	8.5; 8.5; 8.0; 8.5	86.6	35.898
17AD45	500 мкМ	CV-8803	8.5; 8.5; 8.0; 8.5	81.6	34.829
17AJ44/18AD36	200 мкМ/20% (v/v)	Соединение E (AB12508)/ Линолевая кислота	7.5; 8.0; 7.5; 8.0	70.2	38.493
17AJ44/18AA22/18AD42 + УФ	200 мкМ	Соединение E (AB12508)/ Питириацитрин (AB17014)/ Индирубин	8.0; 8.5; 8.5; 8.0	67.1	34.371
17AJ44/18AA22/18AD42 Темнота	200 мкМ	Соединение E (AB12508)/ Питириацитрин (AB17014)/ Индирубин	8.0; 8.5; 8.5; 8.0	64.6	33.914
17AJ44/18AA22 + УФ	200 мкМ	Соединение E (AB12508)/ Питириацитрин (AB17014)	8.0; 8.0; 8.0; 7.5	58.8	33.150
17AJ44/18AA22 Темнота	200 мкМ	Соединение E (AB12508)/ Питириацитрин (AB17014)	8.0; 8.0; 8.0; 7.5	77.7	29.945
17AJ41/17AJ47	200 мкМ	Малассезин (CV-8684)/ Соединение A5 (CV-8819)	8.0; 8.0; 8.0; 7.5	62.3	35.287

ФИГ.128 (ПРОДОЛЖЕНИЕ)

17AJ41/18AB74	200 мкМ/ В чистом виде	Малассезин (CV-8684)/ 2767-09 84-030118E w/ AB17011 @ 200 м.д.	8.0/5.0; 7.0/5.0; 7.5/5.0; 7.0/5.0	70.8	33.456
17AJ44/18AA14	200 мкМ	Соединение E (AB12508)/ (AB17151)	8.5; 7.5; 8.0; 7.5	30.5	24.908
Положительный контроль	1% (w/v)	Койевая кислота	4.0; 4.5; 4.0; 4.5	105.5	25.977
Необработанные ткани	NA	NA	NA	1003	21.398

1 – Рассчитано относительно контроля с растворителем (17AA70 – DMSO)

2 – Значение контроля с растворителем, принятое за 100% (фоновый уровень)

3 – Значение контроля для необработанных тканей (сутки 0), принятое за 100% (фоновый уровень)

4 – Значение жизнеспособности для контроля с растворителем (сутки 7), принятое за 100% (фоновый уровень)

NA – нет данных

NCC – Изменение цвета отсутствует (для pH-бумаги)

ФИГ.129

IIVS Номер тестируемого образца	**Концентрация**	**Обозначение спонсора**	**pH (Сутки 0, 2, 4, 6)^**	**Средняя жизнеспособность тканей(%)[1]**	**Концентрация меланина (мкг/мл)– *из линейной кривой***
				Сутки 7	
17AA70	0.5% (v/v)	DMSO	8.0; 8.5; 8.5; 8.5	100[2]	67.20
17AD43	750 мкМ	Соединение A	8.5; 8.5; 8.5; 8.5	87.4	53.79
17AJ41	500 мкМ	Малассезин (CV-8684)	8.5; 8.5; 8.5; 8.5	72.4	48.07
18AE73	750 мкМ	Соединение II	8.5; 8.5; 8.5; 8.5	92.9	50.71
18AD42	500 мкМ	Индирубин	8.5; 8.5; 8.5; 8.5	62.5	44.77
17AD45	650 мкМ	CV-8803	8.5; 8.5; 8.5; 8.5	87.6	50.93
	750 мкМ		8.5; 8.5; 8.5; 8.5	81.9	51.37
17AJ43	650 мкМ	Соединение B (CV-8877)	8.5; 8.5; 8.5; 8.5	63.0	36.19
	750 мкМ		8.5; 8.5; 8.5; 8.5	25.9	32.89
17AJ44	600 мкМ	Соединение E (AB12508)	8.5; 8.5; 8.5; 8.5	77.4	37.95
	700 мкМ		8.5; 8.5; 8.5 8.5	56.9	33.11
	800 мкМ		8.5; 8.5; 8.5; 8.5	40.0	43.01
18AA14	225 мкМ	AB17151	8.0; 8.0; Сутки 4*; 8.0	107.5	37.73
	300 мкМ		8.0; 8.0; 8.5; 8.0	78.8	32.01
	375 мкМ		8.0; 8.0; 8.5; 8.5	53.4	32.89
	450 мкМ		8.0; 8.5; 8.5; 8.5	36.5	35.53
18AE71	650 мкМ	Неизвестная композиция	8.5; 8.5; 8.5; 8.5	87.0	35.09
	750 мкМ		9.0; 8.5; 8.5; 8.5	83.0	38.39
17AJ41/18AD42	250 мкМ	Малассезин (CV-8684)/ Индирубин	8.0; 9.0; 8.5; 8.0	61.8	36.63
18AD42/18AA14	250 мкМ	Индирубин/AB17151	8.5; 8.0; 8.5; 8.5	34.3	34.43
17AJ44/17AJ43	100 мкМ	Соединение E (AB12508)/ Соединение B (CV-8877)	8.0; 8.5; 8.0; 8.0	105.9	47.19
17AJ43/18AA14	100 мкМ	Соединение B (CV-8877)/ AB17151	8.0; 8.0; 8.0; 8.0	108.4	42.35
17AJ44/18AA14	100 мкМ	Соединение E (AB12508)/ AB17151	8.0; 8.0; 8.0 ; 8.5	92.2	39.93
Необработанные ткани	NA	NA	NA	100[3]	31.57

[1] – Рассчитано относительно контроля с растворителем (17AA70 – DMSO)

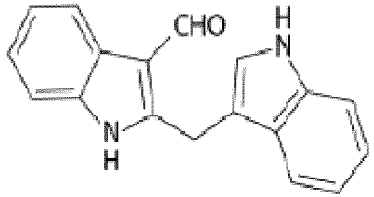
[2] – Значение жизнеспособности для контроля с растворителем (сутки 7), принятое за 100% (фоновый уровень)

ФИГ.129 (ПРОДОЛЖЕНИЕ)

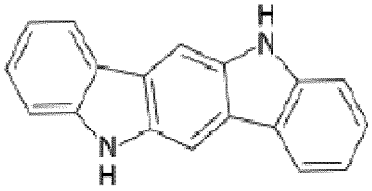
[3] – Значение контроля для необработанных тканей **(сутки 0)**, принятое за 100% (фоновый уровень)

NA – нет данных

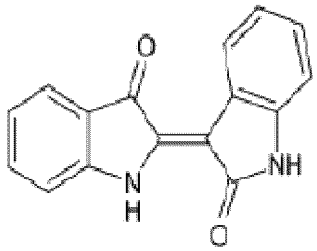
ФИГ.130



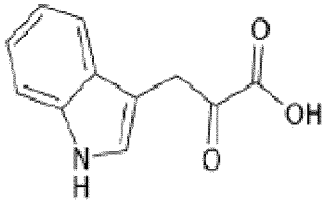
1. Малассезин (336)



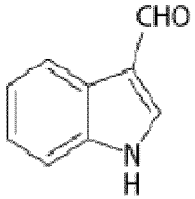
2. Индоло[3,2-b]карбазол (108)



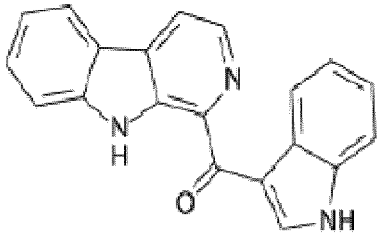
3. Индирубин (120)



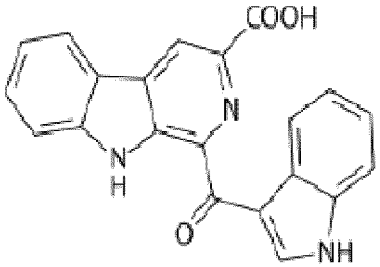
4. (Индол-3-ил) пировиноградная кислота



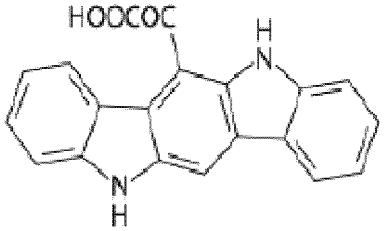
5. Индол-3-карбальдегид



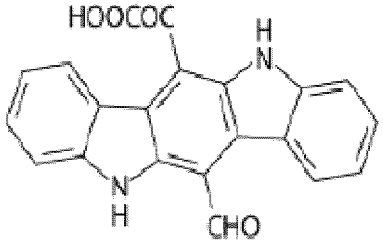
6. Питириацитрин (215)



7. Питириацитрин B (157)

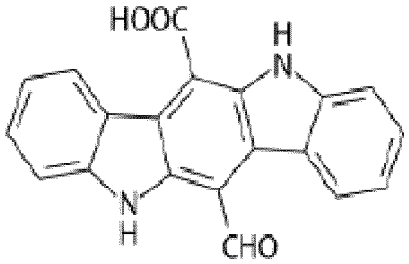


8. Малассезизол A (158)

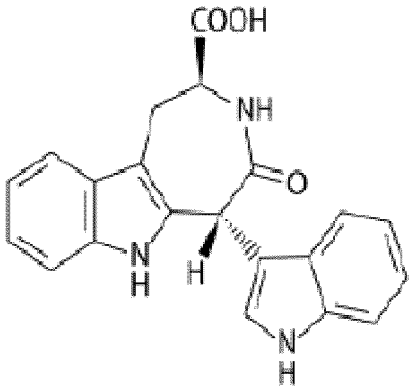


9. Малассезизол B (158)

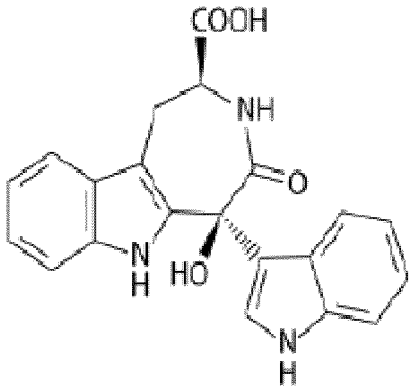
ФИГ.130 (ПРОДОЛЖЕНИЕ)



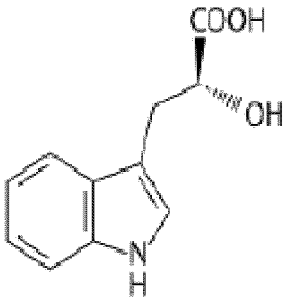
10. Малассезизол C (158)



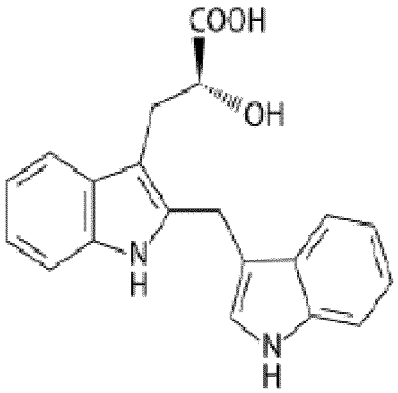
11. Малассезизол A (157)



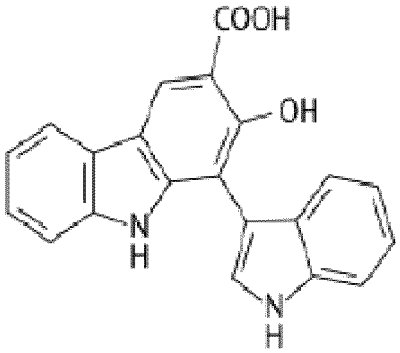
12. Малассезизол B (157)



13. D-индол-3-молочная кислота

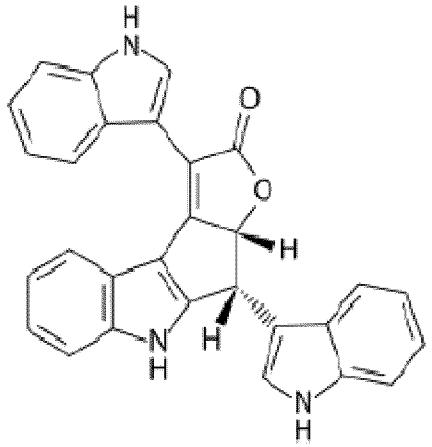


14. Malassezia-молочная кислота (157)

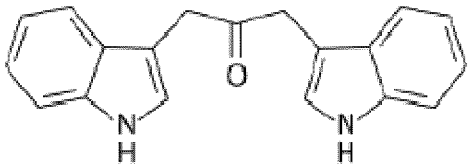


15. Питириацитрин (157)

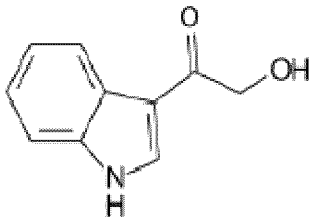
ФИГ.130 (ПРОДОЛЖЕНИЕ)



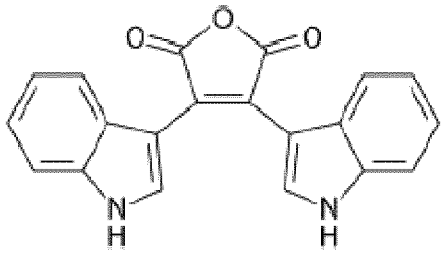
16. Малассезиацитрин (157)



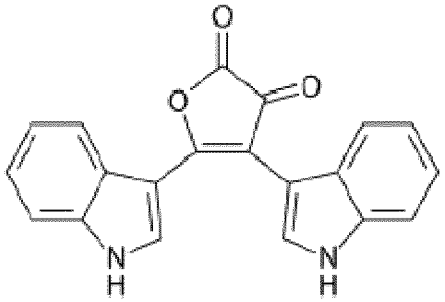
17. Малассезиацитрин (157)



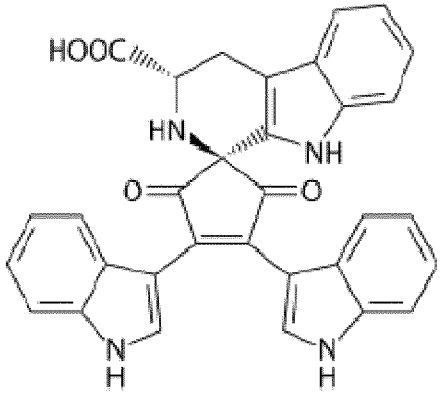
18. 2-гидрокси-1-(1H-индол-3-ил)этанон (157)



19. Питириангидрид (157)

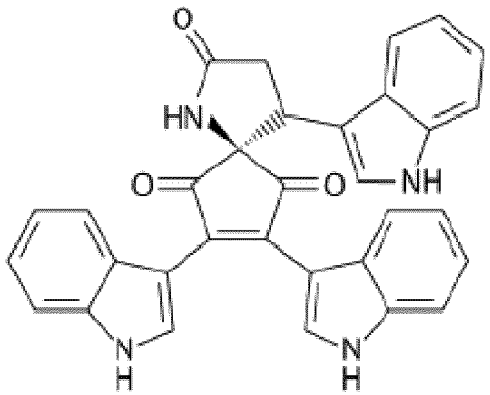


20. Питириалактон (216)

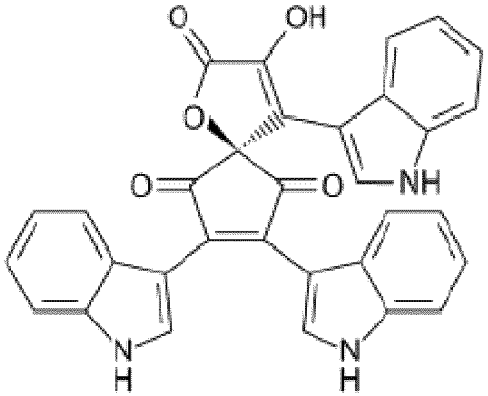


21. Питириарубин А (158)

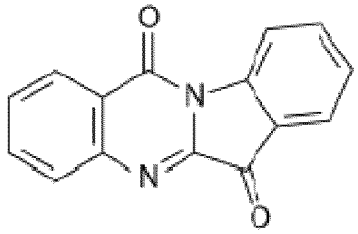
ФИГ.130 (ПРОДОЛЖЕНИЕ)



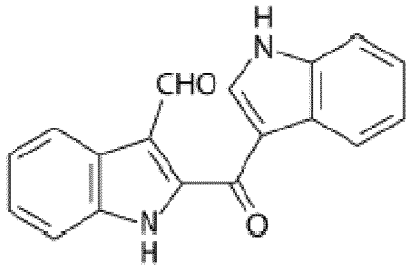
22. Питириарубин (158)



23. Питириарубин С (158)



24. Триптантрин



25. Кетомалассезин (71)

ФИГ.131

IIVS Номер тестируемого образца	**Концентрация**	**Обозначение спонсора**	**pH**	**Средняя жизне-способность тканей(%)[1]** **Сутки 7**	**Концентрация меланина (мкг/мл) – *из линейной кривой***
18AH47	0.5% (v/v)	DMSO (***Контроль с растворителем)***	8.0	100[2]	66.52
17AJ41	500 мкМ	Малассезин (CV-8684) (***Положительный контроль***)	8.0	78.2	42.97
17AJ55	650 мкМ	O52 (AB129761)	8.5	94.7	49.91
18AA21	650 мкМ	Malassezia Индол A (AB17011)	8.5	100.1	55.59
18AF50	300 мкМ	Соединение AB17151	8.0	57.5	30.99
18AH15	300 мкМ	Соединение AB17590	8.0	28.6	34.98
18AH21	650 мкМ	AB11644	8.5	95.2	66.52
18AH38	500 мкМ	Индол-3-карбальдегид	8.5	101.9	53.90
18AH39	500 мкМ	D-индол-3-молочная кислота	8.5	98.8	64.21
17AD42/17AJ41/ 17AJ47/17AJ55/ 18AA21/18AA22/ 18AA24/18AD42/ 18AH16/18AH20/ 18AH24/18AH38/ 18AH39/18AH44	См. Таблицу 3	Композиция #1	8.5	61.7	32.67
	См. Таблицу 4	Композиция #2	8.5	75.6	33.72
Необработанные ткани	NA	NA	NA	100[3]	20.89

[1] – Рассчитано относительно контроля с растворителем (18AH47 – DMSO)

[2] – Значение жизнеспособности для контроля с растворителем (сутки 7), принятое за 100% (фоновый уровень)

[3] – Значение контроля для необработанных тканей (сутки 0), принятое за 100% (фоновый уровень)

NA – нет данных

ФИГ.132

IIVS Номер тестируемого образца	**Концентрация**	**Обозначение спонсора**	**pH**	**Средняя жизне-способность тканей(%)[1]** **Сутки 7**	**Концентрация меланина (мкг/мл) – *из линейной кривой***
18AH47	0.5% (v/v)	DMSO (***Контроль с растворителем)***	8.0	100[2]	53.69
17AD42/17AJ41/17AD46/ 17AJ55/18AA21/18AA22/ 18AA24/18AD42/18AH16/ 18AH20/ 18AH24/18AH38/18AH39/ 18AH44	См. Таблицу 4	Композиция #2 (***Положительный контроль***)	7.5	64.8	30.59
17AJ41/17AD46/17AJ55/ 18AA21/18AD42/18AH20/ 18AH24/18AH38/18AH39/ 18AH44	См. Таблицу 5	Композиция #3	8.0	65.2	25.93
17AD42/17AJ41/17AD46/ 17AJ55/18AA21/18AA24/ 18AD42/18AH20/18AH24/ 18AH38/18AH39/ 18AH44	См. Таблицу 6	Композиция #4	7.5	63.0	31.70
17AD42/17AJ41/18AA22/ 18AA24/18AD42/18AH16/ 18AH24/18AH39/18AH44	См. Таблицу 7	Композиция #5	8.0	63.9	34.15
Необработанные ткани	NA	NA	NA	100[3]	16.60

[1] – Рассчитано относительно контроля с растворителем (18AH47 – DMSO)

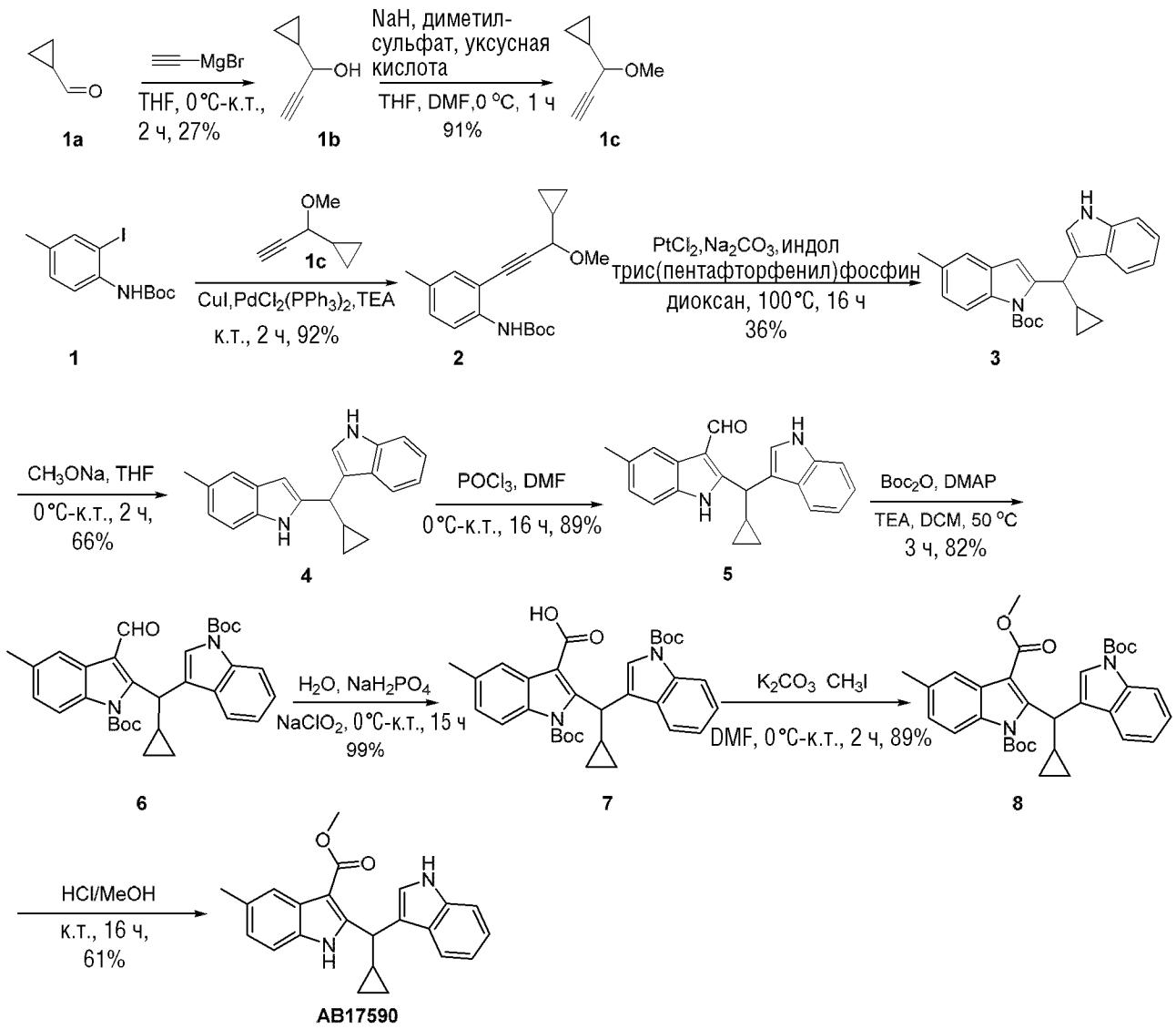
[2] – Значение жизнеспособности для контроля с растворителем (сутки 7), принятое за 100% (фоновый уровень)

[3] – Значение контроля для необработанных тканей (сутки 0), принятое за 100% (фоновый уровень)

NA – нет данных

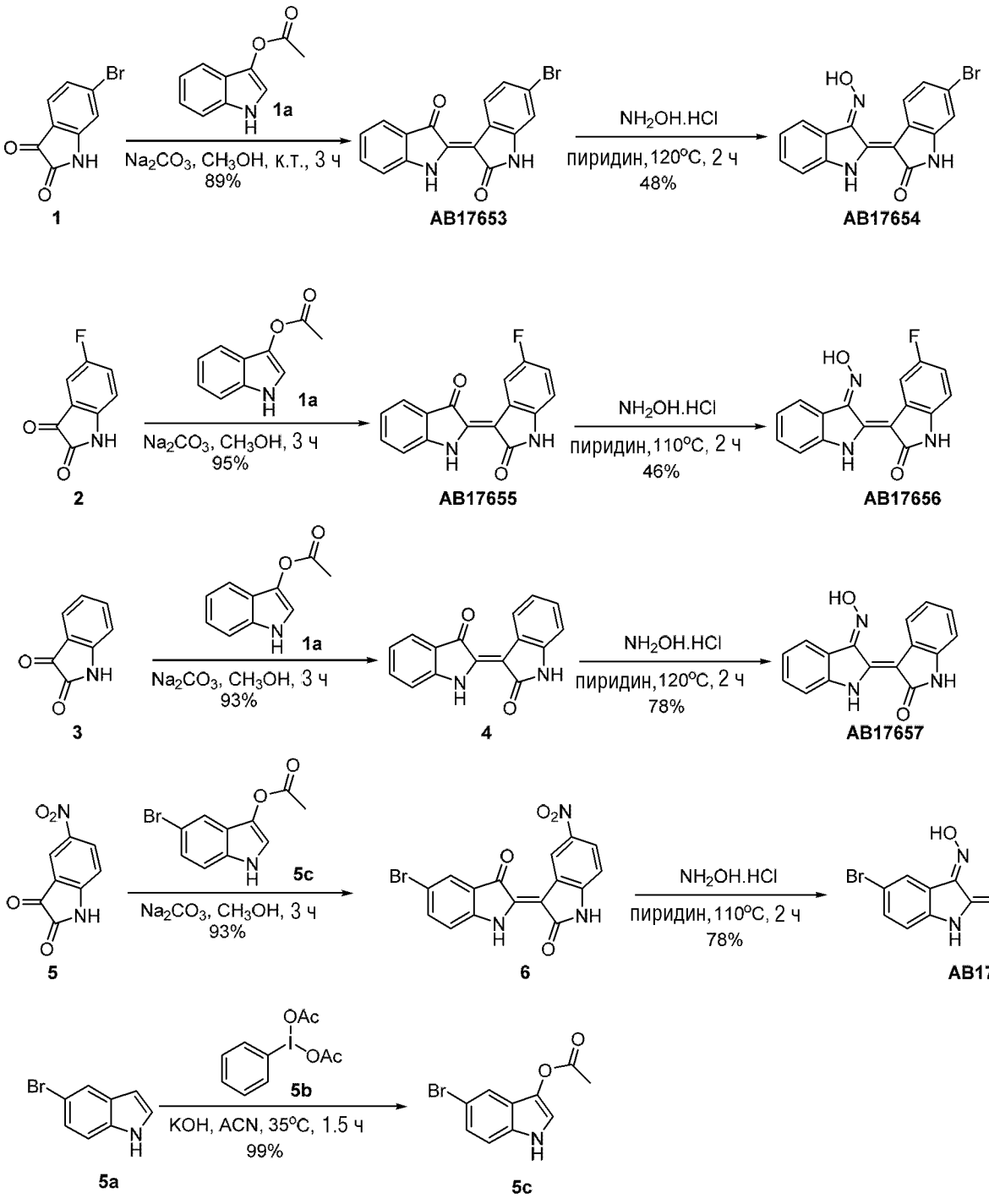
ФИГ.133

A

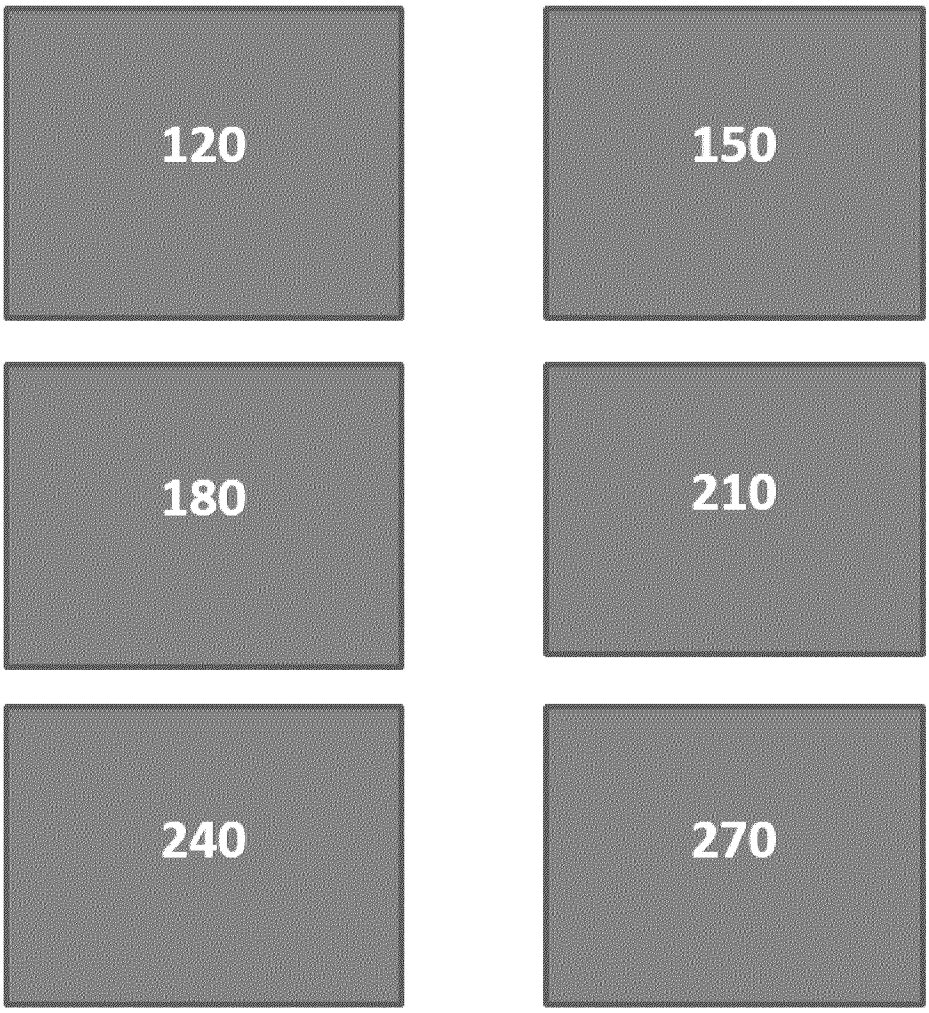

MgBr
THF, 0 °C-к.т., 2 ч, 27%
OH
NaH, диметил-сульфат, уксусная кислота
THF, DMF,0 °C, 1 ч 91%
OMe
1a
1b
1c
I
NHBoc
1
CuI,PdCl2(PPh3)2,TEA
к.т., 2 ч, 92%
2
PtCl2,Na2CO3,индол
трис(пентафторфенил)фосфин
диоксан, 100 °C, 16 ч
36%
3
CH3ONa, THF
0 °C-к.т., 2 ч, 66%
4
POCl3, DMF
0 °C-к.т., 16 ч, 89%
CHO
5
Boc2O, DMAP
TEA, DCM, 50 °C
3 ч, 82%
Boc
6
H2O, NaH2PO4
NaClO2, 0 °C-к.т., 15 ч
99%
HO
7
K2CO3 CH3I
DMF, 0 °C-к.т., 2 ч, 89%
8
HCl/MeOH
к.т., 16 ч, 61%
AB17590

ФИГ.133 (ПРОДОЛЖЕНИЕ)

B



ФИГ.134



ФИГ.135

Последовательность дозирования	Тип кожи					
	I	II	III	IV	V	VI
1-ый	40	70	90	120	150	240
2-ой	60	90	120	150	180	270
3-ий	70	105	150	180	210	300
4-ый	90	120	180	210	240	330
5-ый	105	150	210	240	270	360
6-ой	120	180	240	270	300	390

ФИГ.136

Область обработки	Меланин	Эритема
Нормальная кожа	471	600
	471	611
	470	610
	470	**607**
Несущая среда	477	627
	477	627
	475	627
	476	**627**
Сутки 7	459	615
	455	609
	453	617
	459	611
	456	619
	453	614
	456	**614**
Сутки 3	468	613
	473	608
	471	604
	469	600
	470	595
	470	**604**
Сутки 1	474	579
	475	585
	474	583
	474	**582**

ФИГ.137

Область обработки	Меланин	Эритема
Сутки 9 Несущая среда крема	473	619
	472	622
	473	621
	472	**620**
Сутки 7 Несущая среда крема	473	608
	473	610
	471	610
	472	**609**
M Сутки 7	465	638
	465	636
	465	633
	463	639
	465	**637**
Без обработки	474	594
	474	594
	474	591
	474	**593**
M Сутки 14	467	601
	471	593
	466	600
	469	603
	468	**599**
M Сутки 10	475	590
	475	594
	473	595
	474	**593**

ФИГ.137 (ПРОДОЛЖЕНИЕ)

Область обработки	Меланин	Эритема
М Сутки 8	483	602
	483	602
	484	605
	483	**603**
М Сутки 3	474	609
	473	610
	476	610
	474	**610**
М Сутки 1	481	585
	479	600
	474	602
	478	**596**
Сразу 15 мин	477	591
	482	602
	485	599
	492	605
	491	607
	485	**601**

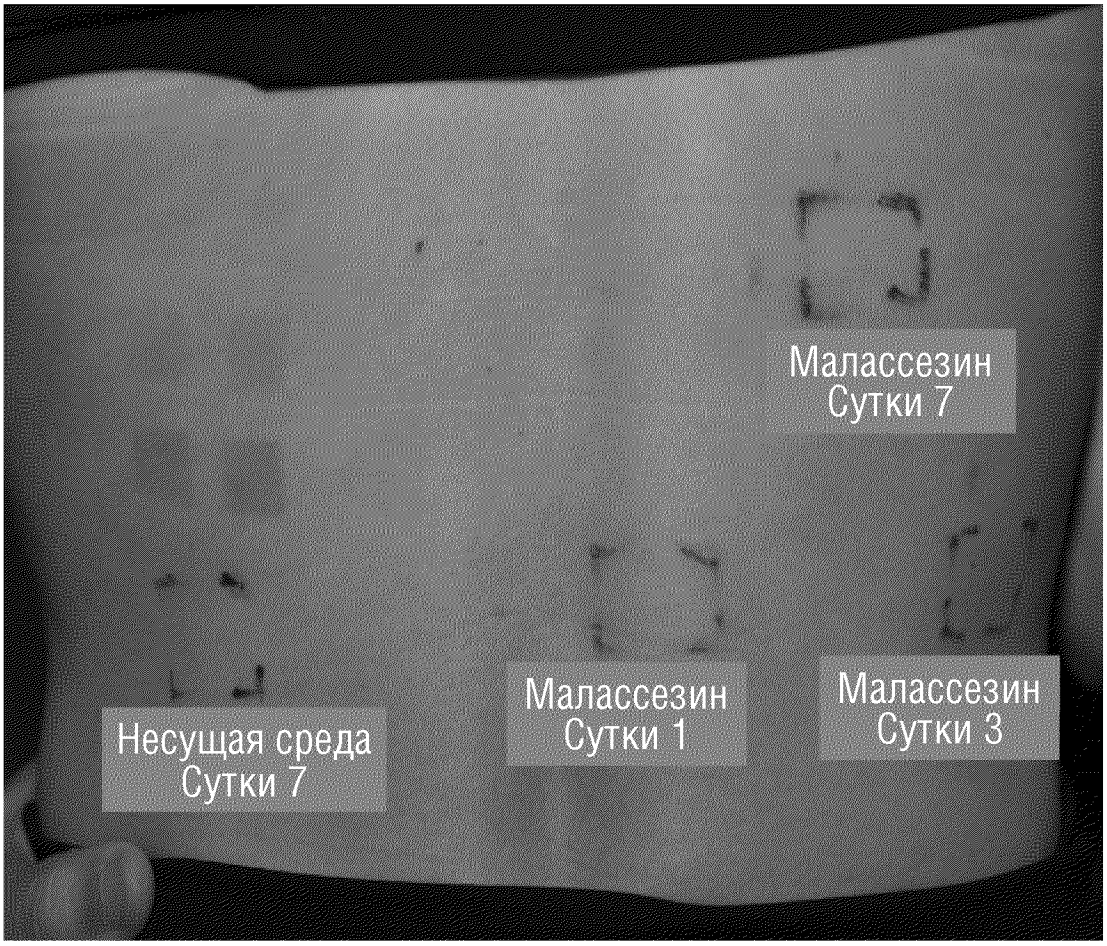
ФИГ.138

0	Нет - отсутствие порозовения или покраснения
1	Минимальный - незначительное порозовение или покраснение
2	Слабый - значительное порозовение или покраснение
3	Умеренный - умеренное порозовение или покраснение
4	От умеренного до тяжелого - существенное порозовение или покраснение
5	Тяжелый- очень существенное порозовение или покраснение

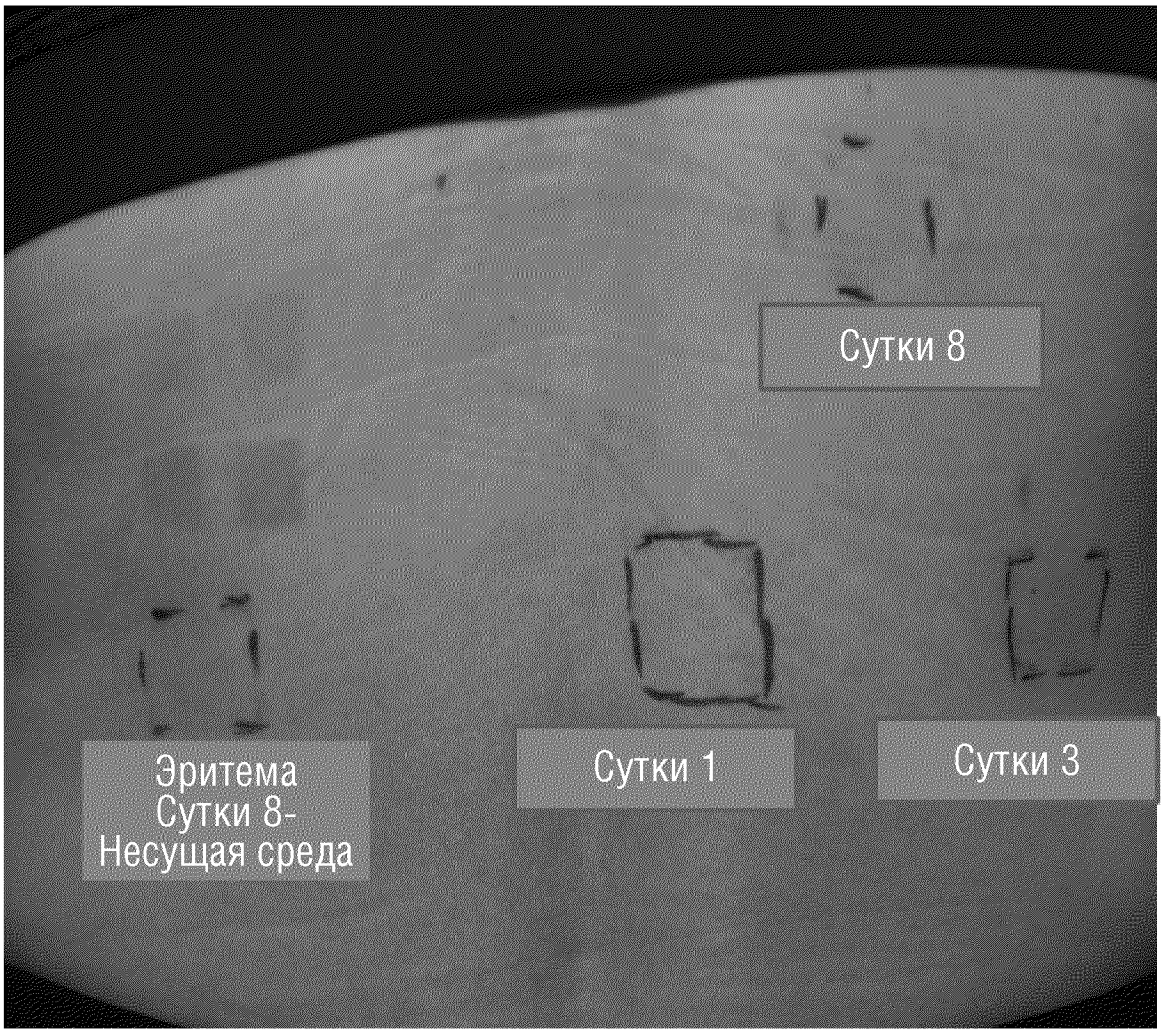
ФИГ.139



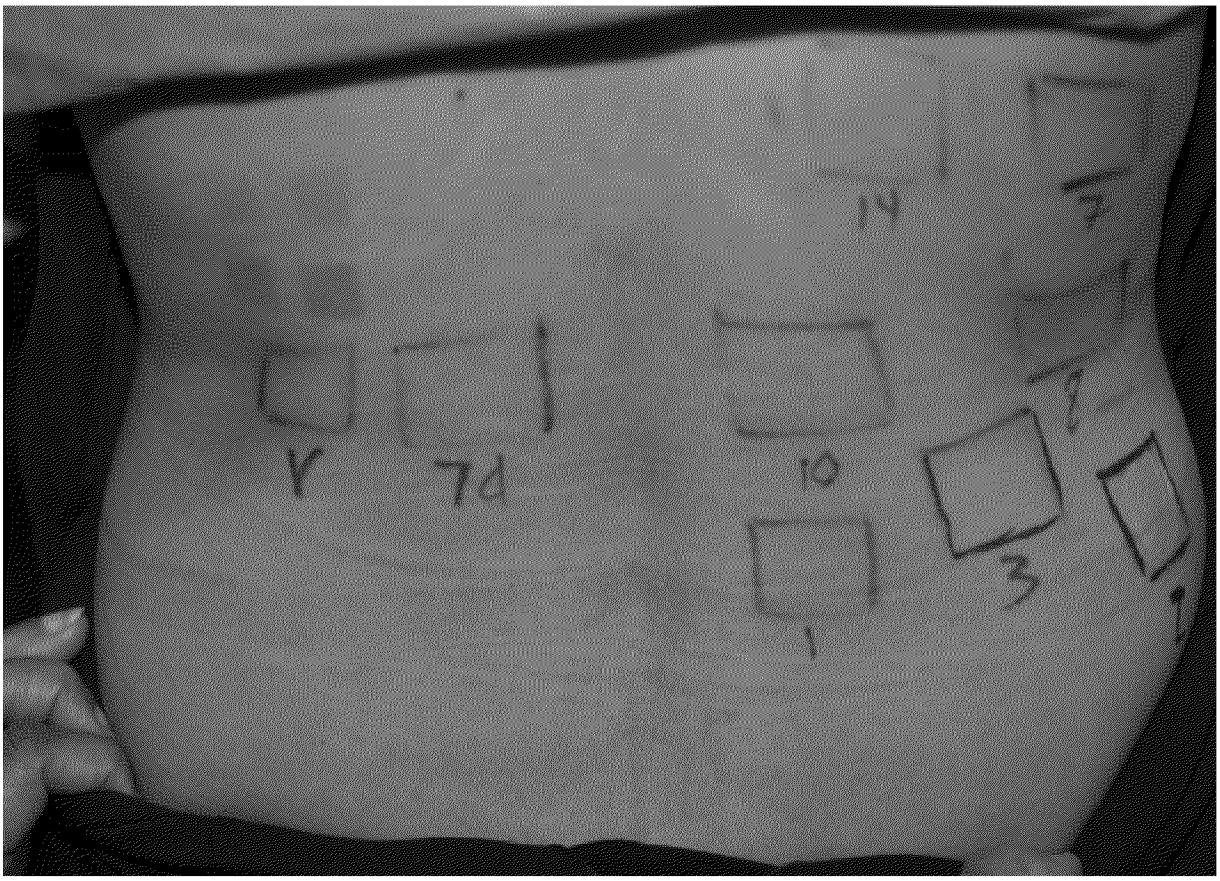
ФИГ.140


Малассезин
Сутки 7
Несущая среда
Сутки 7
Малассезин
Сутки 1
Малассезин
Сутки 3

ФИГ.141



ФИГ.142



ФИГ.143

