

ИЗУЧЕНИЯ АНТИТИРОЗИНАЗНОЙ АКТИВНОСТИ АЗОМЕТИНОВЫХ ПРОИЗВОДНЫХ 2-АМИНО-4,5,6,7-ТЕТРАГИДРО-1-БЕНЗОТИОФЕН-3-КАРБОКСАМИДА

А. С. Чириякин, И. П. Кодониди, Д. И. Поздняков

*Пятигорский медико-фармацевтический институт – филиал
ФГБОУ ВО «Волгоградский государственный медицинский университет»*

Поступила в редакцию 21.09.2021г.

Аннотация. Тирозиназа является металлоферментом класса оксидоредуктаз. Данный фермент принимает участие в каталитическом переносе атома кислорода между двумя соединениями, которые выступают в качестве донора водорода. В результате многоступенчатой реакции аминокислота тирозин превращается в меланин, являющийся пигментом. Ингибиторы тирозиназы применяются в косметических целях и непосредственно для терапии миелолейкоза. Поиск новых средств для лечения гиперпигментации является актуальным направлением современной дерматологии и косметологии. В качестве объектов исследования выступают азометиновые производные 2-амино-4,5,6,7-тетрагидро-1-бензотиофен-3-карбоксамида. *In silico* исследование проводилось методом молекулярного докинга с использованием трехмерной структуры тирозиназы гриба *Garicus bisporus* из базы данных RCSB Protein Data Bank (rcsb.org) с идентификационным номером 2Y9X. Трехмерные структуры исследуемых соединений были построены в программе HyperChem 8.0.4 и затем геометрически оптимизированы в программе ORCA 4.1. методом теории функционала плотности (UB3LYP) с применением базиса 6-311G**. Молекулярный докинг проводился в программе Autodock 4.0. *In vitro* активность тирозиназы определяли согласно методу, описанному Maruyama, 2012. Койевая кислота, гидрохинон и молочная кислота в аналогичном диапазоне концентраций использовались в качестве эталонов сравнения. Гидрохинон и койевая кислота были получены от Hunan Warrant pharmaceuticals (КНР), молочная кислота была предоставлена Sigma-Aldrich (Германия). Изучение взаимосвязи структура-активность по дескрипторам выполнялась с помощью веб-ресурса Online chemical database. Оптимизация геометрии моделируемых структур проводилась инструментом Open Babel. По результатам вычислительного эксперимента осуществлен прогноз антитирозиновой активности и установлены наиболее вероятные конформации моделируемых соединений в сайте связывания фермента. *In vitro* исследования свидетельствуют, о том, что соединение 7 по антитирозиновой активности сопоставимо по действию с наиболее безопасным депигментирующим агентом – молочной кислотой. Анализ количественной оценки взаимосвязи структура-активность выявил линейную зависимость между показателями Homo Lumo Gap и Absolute Softness, которые были рассчитаны в MOPAC 2016 descriptors (35/3D).

Ключевые слова: тирозиназа, азометины, 2-амино-4,5,6,7-тетрагидро-1-бензотиофен-3-карбоксамида, молекулярный докинг, взаимосвязь структура-активность

Гиперпигментация кожи представляет собой процесс диффузного отложения меланина в подкожных структурах, приводящего к окрашиванию отдельных участков кожи в светло-коричневый или коричневый цвет. Гиперпигментация может являться симптомом достаточно опасных поражений кожи. Так хроническое отравление диок-

сином и диоксиноподобными веществами (полихлорводородные токсиканты) приводит к активации арилуглеводородных рецепторов меланоцитов и образованию меланозных отложений – одних из ранних и достоверных признаков меланомы [1-4] Также активация меланоцитов может происходить в следствие интоксикации лекарственными средствами, например, фторхинолонами, тетрациклинами, НПВС или антиаритмическими

препаратами [5,6]. Помимо неэстетичности гиперпигментация кожи (в особенности открытых участков тела) оказывает существенное влияние на психоэмоциональное состояние человека и его социальную адаптацию. França K et al. 2017 установили, что 78% респондентов, у которых отмечена гиперпигментация кожи лица, не способны наладить должный социальный контакт, 22% отмечали ухудшение качества жизни, а 10% нуждались в квалифицированной психологической помощи [7]. Также аномально повышенный меланогенез может быть предрасполагающим фактором дерматологических заболеваний, таких как, черный акантоз, шейная койкилодерма, меланодермия, периорбитальная гиперпигментация, лентицины, рак кожи, либо следствием нейродегенерации, при болезни Паркинсона [8, 9].

Меланогенез – комплексный процесс, представленный сложным каскадом ферментативных реакций, в которых определяющая роль отводится белкам, родственными тирозиназе TYRP1 и TYRP2 – полифункциональным медь содержащим металлоферментам, катализирующих реакцию, ограничивающую скорость синтеза меланина. Следовательно, можно предположить, что ингибировании тирозиназы может являться одним из подходов к коррекции гиперпигментации кожи. Среди ингибиторов тирозиназы наиболее известны гидрохинон и койевая кислота, применение которых в клинической практике ограничено значительным числом побочных эффектов. Так гидрохинон рекомендуется использовать только в комбинации с изотретиноином (в форме геля), что значительно повышает лекарственную нагрузку на пациента [10]. Койевая кислота – естественный метаболит, вырабатываемый грибами, ингибирующий тирозиназу. Для койевой кислоты характерна высокая биосовместимость, что, однако, не увеличивает эффективность и не способствует снижению токсичности соединения [11].

В тоже время одним из распространённых и экономически выгодных методов лечения гиперпигментации является химический пилинг молочной кислотой, показывающий высокий уровень в клинической практике. Однако, в силу своей относительной новизны, отсроченные эффекты лактатного химического пилинга не установлены, что не позволяет в полной мере судить о безопасности данного метода и требует дополнительных клинических испытаний [12]. Таким образом, поиск новых средств для лечения гиперпигментации является актуальным направлением современной

дерматологии и косметологии.

Одним из современным методом осуществления вычислительного прогноза биологической активности моделируемых соединений является молекулярный докинг. Использование данного компьютерного метода исследования позволяет также изучить наиболее вероятные молекулярные пути взаимодействия низкомолекулярного соединения с белковой мишенью. На этапе *in silico* эксперимента представляется возможным произвести скрининг химических структур и обосновать целесообразность их дальнейшего синтеза с целью получения веществ с ожидаемым биологическим действием [13, 14].

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Объектами исследования выступают синтезированные на кафедре органической химии ПМФИ азометиновые производные 2-амино-4,5,6,7-тетрагидро-1-бензотиофен-3-карбоксамиды. Данные вещества являются целевыми продуктами реакции взаимодействия 2-амино-4,5,6,7-тетрагидро-1-бензотиофен-3-карбоксамиды с ароматическими альдегидами в среде этанола. [15].

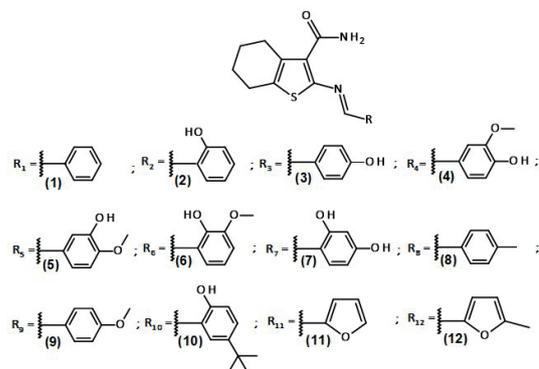


Рис. 1. Структурные формулы азометиновых производных 2-амино-4,5,6,7-тетрагидро-1-бензотиофен-3-карбоксамиды

Тирозиназа представляет собой комплекс, который состоит из двух N-субъединицы двух L-субъединиц. Субъединица N содержит двухъядерный медь связывающий сайт в дезокси-состоянии, в котором три гистидиновых остатка координируют каждый ион меди. Боковые цепи этих гистидиновых аминокислотных остатков имеют свою ориентацию, фиксированную водородными связями или, в случае His 85, тиозфирным мостиком с боковой цепью Cys 83 [16].

В качестве мишени для осуществления молекулярного докинга использована тирозиназа гриба *Garicus bisporus*, так она исследована рентгеноструктурным анализом, а ее трехмерная модель

содержится в базе данных RCSB Protein Data Bank (rcsb.org) с идентификационным номером 2Y9X [16]. В этом комплексе находится ингибитор данного фермента – трополон.

Трехмерные структуры исследуемых соединений были построены в программе HyperChem 8.0.4 и затем геометрически оптимизированы в программе ORCA 4.1. методом теории функционала плотности (UB3LYP) с применением базиса 6-311G**. [17]. Конвертация *hin* формата в *pdb*, необходимая для проведения молекулярного моделирования, проведена в программе Open Babel 2.4.1.

Докинг осуществлялся посредством программы Autodock 4.0 [18]. Молекулярное моделирование проводилось с учетом конформационной подвижности лигандов, торсионные углы которых были установлены в данной программе. Заряды всех атомов моделируемой системы рассчитаны алгоритмом гастейгера (Gasteiger algorithm) и у них присутствуют только полярные атомы водорода. Заряд для двух атомов меди задан вручную и составляют +2. Областью вычислительного эксперимента является куб, центр которого находится по следующим координатам: $x = -9.985$, $y = -27.898$, $z = -40.690$. В программе был задан поиск 200 энергетически выгодных конформаций образования комплекса лиганд-фермент с использованием ламарковской скоринговой функции подсчета энергии взаимодействия (Lamarckian GA 4.2).

Активность тирозиназы определяли согласно методу, описанному *Marunya, 2012* Изучаемые соединения растворяли в диметилсульфоксиде (ДМСО) до конечной концентрации 1000 $\mu\text{g}/\text{мл}$. Данный маточный раствор разбавляли 50 мМ калий - фосфатным буфером (рН 6.5) с получением двукратных разведений (500 $\mu\text{g}/\text{мл}$, 250 $\mu\text{g}/\text{мл}$; 125 $\mu\text{g}/\text{мл}$ и 62.5 $\mu\text{g}/\text{мл}$). Койевая кислота, гидрохинон и молочная кислота в аналогичном диапазоне концентраций использовались в качестве эталонов сравнения. Гидрохинон и койевая кислота были получены от *Hunan Warrant pharmaceuticals* (КНР), молочная кислота была предоставлена *Sigma-Aldrich* (Германия). Ход анализа. В 96-луночный планшет вносили по 70 $\mu\text{л}$ каждого серийного разведения и добавляли $\mu\text{л}$ 30 тирозиназы (333 ЕД / мл в фосфатном буфере). Поученную смесь инкубировали при комнатной температуре в течение 5 минут. После инкубации добавляли 110 $\mu\text{л}$ субстрата (2 мМ раствор L-тирозина) в каждую лунку и повторно инкубировали. Оптическую плотность реакционных смесей регистрировали при 492 нм с помощью планшетного-ридера Infinite F50 (Tecan). Все тесты выполнены в триплетном варианте. На

основании полученных данных методом пробит анализа рассчитывали показатель IC_{50} в моль/мл. Данные выражали в виде M (среднее значение) $\pm SEM$ (стандартная ошибка среднего), межгрупповые сравнения проводили методом ANOVA с постобработкой Ньюмена-Кейлса [19]

Изучение взаимосвязи структура-активность по дескрипторам выполнялась с помощью веб-ресурса Online chemical database [20]. Оптимизация геометрии моделируемых структур проводилась инструментом Open Babel. Линейные зависимости активность-структура были выявлены с использованием дескрипторов программного пакета MOPAC 2016 descriptors (35/3D).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

В ходе расчета лиганд-ферментного взаимодействия были отобраны наиболее энергетически выгодные расположения моделируемых соединений в каталитическом сайте фермента. Основываясь на данных рентгеноструктурного анализа комплекса трополон-тирозидаза, была отобрана конформация азометинового производного 2-амино-4,5,6,7-тетрагидро-1-бензотиофен-3-карбоксамид при котором его азометиновый фрагмент располагался в сторону атомов меди в сужающемся кармане фермента. Данные положение лиганда позволяет смоделировать расположение ингибиторов тирозиназы с небольшой молярной массой (например, трополон, гидрохинон, молочная, коевая кислота).

По данным молекулярного докинга ароматические азометиновые производные 2-амино-4,5,6,7-тетрагидро-1-бензотиофен-3-карбоксамид формируют связи с остатками аминокислот активного сайта тирозиназы: His 259, Asn 260, His 263, Phe 264, Arg 268, Met 280, Gly 281, Ser 282, Val 283, Pro 284. Соединения 1-4, 6, 7, 8, 9 и 11 образуют водородную связь между атомом водорода амидной группы и аминокислотой Gly 281. Водород гидроксигруппы арильного фрагмента веществ 2 и 7 формирует водородную связь с аминокислотой Met 280, а соединения 3, 4, 5, 7 и 11 этим же структурным фрагментом образуют водородную связь с аминокислотным остатком Asn 260. Соединение 8 может формировать водородную связь карбонильной группой с аминокислотой Arg 260.

В таблице 1 представлены минимальные энергии образования комплекса лиганда с активным сайтом тирозиназы. Исходя из этих данных соединениями-лидерами являются структуры под номерами 3, 7 и 10.

Таблица 1

Значения минимальной энергии лиганд-ферментного взаимодействия моделируемых соединений с активным сайтом тирозиназы и информация об водородных связях

Соединение	Энергия	Остаток аминокислоты	Группа лиганда	Расстояние (Å)
1	-5.96	Gly 281	NH ₂	1.931
2	-6.21	Gly 281	NH ₂	1.968
		Met 280	OH	2.145
3	-6.47	Gly 281	NH ₂	2.012
		Asn 260	OH	1.883
4	-6.39	Gly 281	NH ₂	2.084
		Asn 260	OH	1.898
5	-6.19	Asn 260	OH	2.095
6	-5.84	Gly 281	NH ₂	1.965
7	-6.4	Gly 281	NH ₂	1.903
		Met 280	OH	2.095
		Asn 260	OH	1.773
8	-5.85	Arg 268	C=O	2.223
9	-5.87	Gly 281	NH ₂	1.981
10	-6.83	Asn 260	OH	2.028
11	-5.18	Gly 281	NH ₂	1.843
12	-5.64	-	-	-

На рисунке 2 показана конформация соединения 7 в активном сайте фермента по результатам молекулярного докинга и расположение трополона, установленное рентгеноструктурным анализом. Видно, что фенильный фрагмент азометина накладывается на молекулу трополона, что позволяет предположить аналогичный механизм ингибирования тирозиназы.

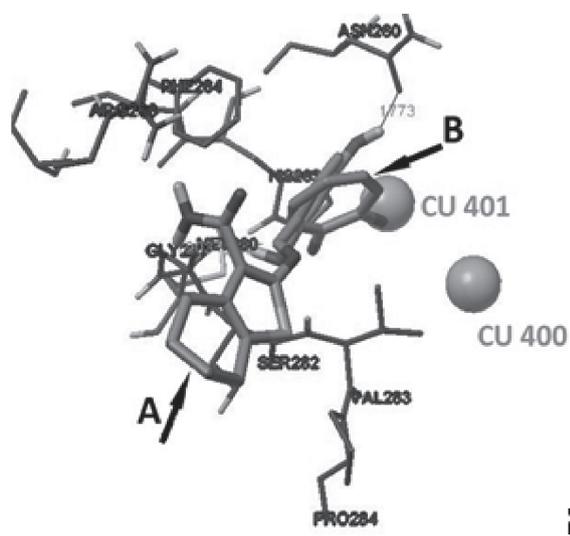


Рис. 2. Расположение соединения 7 (А) и трополона (В) в сайте связывания тирозиназы

Проведенная *in vitro* оценка влияния изучаемых соединений на активность тирозиназы показала, что практически все исследуемые соединения уступают референтам по выраженности фармакологической активности. Исключение составляет соединение 7, которое было сопоставимо

по действию с наиболее безопасным депигментирующим агентом – молочной кислотой. В тоже время показатель IC₅₀ соединения 6 статистически значимо был выше такового у гидрохинона и койевой кислоты.

Таблица 2.

Влияние исследуемых соединений и референтов на изменение активности тирозиназы *in vitro*

Соединение	IC ₅₀ ±SEM ммоль/мл
1	3.1±0.2*#Δ
2	0.84±0.015*#Δ
3	0.96±0.07*#Δ
4	1.57±0.09*#Δ
5	1.51±0.001*#Δ
6	1.09±0.013*#Δ
7	0.58±0.015*#
8	1.16±0.07*#Δ
9	1.18±0.16*#Δ
10	1.17±0.07*#Δ
11	2.35±0.14*#Δ
12	2.7±0.06*#Δ
Гидрохинон	0.15±0.007
Койевая кислота	0.32±0.005
Молочная кислота	0.46±0.031

Примечание: * - статистически значимо относительно гидрохинона (критерий Ньюмена-Кейлса, p<0.05); # - статистически значимо относительно койевой кислоты (критерий Ньюмена-Кейлса, p<0.05); Δ - статистически значимо относительно молочной кислоты (критерий Ньюмена-Кейлса, p<0.05).

Корреляционная взаимосвязь структура-активность наблюдается в случае использования дескрипторов Homo Lumo Gap и Absolute Softness. Дескриптор Homo Lumo Gap характеризует разницу энергий между нижней незанятой молекулярной орбитали и высшей занятой молекулярной орбитали соединения. Absolute Softness (абсолютная мягкость) величина, используемая в рамках теории электронных молекулярных орбиталей.

Таблица 3.

Значения дескрипторов Homo Lumo Gap и Absolute Softness, полученных в программном пакете MOPAC 2016 descriptors (35/3D)

Соединение	Homo Lumo Gap, эВ	Absolute Softness, эВ ⁻¹
1	7.56	0.132
2	7.61	0.131
3	7.52	0.133
4	7.45	0.134
5	7.45	0.134
6	7.48	0.134
7	7.70	0.130
8	7.53	0.133
9	7.57	0.132
10	7.49	0.134
11	7.37	0.136
12	7.34	0.136

Между величиной Homo Lumo Gap и антигитрозиновой активностью исследуемых соединений наблюдается линейная зависимость с корреляцией 81.9%, в случае использования показателей абсолютной мягкости соединений – 77.3%. В обоих случаях было исключено соединений 1, так как у него отсутствуют заместители в ароматическом ядре, что приводит к значительным расчетным отличиям и сказывается на значении коэффициента корреляции.

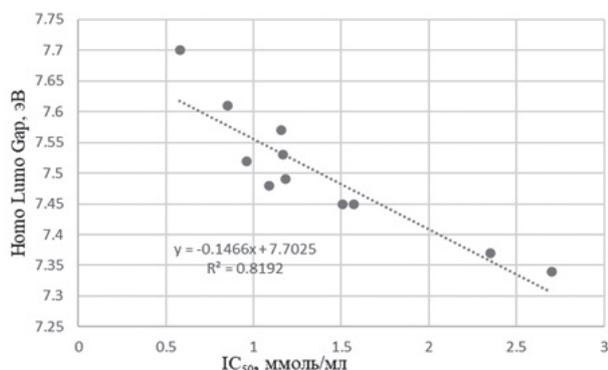


Рис 3. Линейная зависимость между показателями Homo Lumo Gap и IC₅₀

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

1. В ходе проведенного исследования осуществлено моделирование антигитрозиновой

активности методом молекулярного докинга, что позволило спрогнозировать молекулярное взаимодействие азометиновых производных 2-амино-4,5,6,7-тетрагидро-1-бензотиофен-3-карбоксамидов с сайтом связывания тирозиназы.

2. Результаты *in vitro* исследования свидетельствуют, о том, что соединение 7 по антигитрозиновой активности сопоставимо по действию с наиболее безопасным депигментирующим агентом – молочной кислотой.

3. Анализ количественной оценки взаимосвязи структура-активность выявил линейную зависимость между показателями Homo Lumo Gap и Absolute Softness, вычисленную посредством программы MOPAC 2016 descriptors (35/3D).

Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ в рамках научного проекта № 20-315-90060.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Furue M., Tsuji G. // Int J Environ Res Public Health. 2019. Vol. 16, No. 23, pp. 4864.
2. Pandya A.G., Guevara I.L. // Dermatologic Clinics. 2000. Vol. 18, No. 1, pp. 91-98.
3. Davis E.C., Callender V.D. // J Clin Aesthet Dermatol. 2010. Vol. 3, No. 7, pp. 20-31.
4. Sarkar R., Arora P., Garg K.V. // J Cutan Aesthet Surg. 2013. Vol. 6, No. 1, pp. 4-11.
5. Giménez García R.M., Carrasco Molina S. // J Am Board FamMed. 2019. Vol. 32, No. 4, pp. 628-638.
6. Lerner E.A., Sober A.J. // Dermatologic Clinics. 1988. Vol. 6, No. 2, pp. 327-337.
7. França K., Keri J. // AnBrasDermatol. 2017. Vol. 92, No. 4, pp. 505-509.
8. Rigopoulos D., Gregoriou S., Katsambas A. // Journal of Cosmetic Dermatology. 2007. Vol. 6, No. 3, pp. 195-202.
9. Baker K.P. // Veterinary Parasitology. 1975. Vol. 1, No. 2, pp. 193-197.
10. Chandra M., Levitt J., Pensabene C.A. // ActaDermVenereol. 2012. Vol. 92, No. 3, pp. 232-235.
11. Saedi M., Eslamifar M., Khezri K. // BiomedPharmacother. 2019. Vol. 110, pp. 582-593.
12. Sarkar R., Bansal S., Garg V.K. // J CutanAesthetSurg. 2012. Vol. 5, No. 4, pp. 247-253.
13. Chiriapkin A.S., Kodonidi I.P., Pozdnyakov D.I., Zolotykh D.S. // PharmacologyOnline. 2021. Vol. 3, pp. 563-584.
14. Fan, J., Fu, A., Zhang, L. // Quant Biol. 2019. Vol. 7, pp. 83-89.
15. Чиряпкин А.С., Кодониди И.П., Ларский М.В. // Разработка и регистрация лекарственных средств. 2021. Т. 10. № 2. С. 25-31.

16. Ismaya W.T., Rozeboom H. J., Weijn A., Mes J.J., Fusetti F., Wichers H.J., Dijkstra B.W. // *Biochemistry*. 2011. Vol. 50, No. 24, pp. 5477–5486.
17. Brian J. // *J. Chem. Inf. Comput. Sci.* 1992. Vol. 32, pp. 757 – 759.
18. Morris G.M., Huey R., Lindstrom W., Sanner M.F., Belew R.K., Goodsell D. S., Olson A.J. // *Journal of Computational Chemistry*. 2009. Vol. 30, No. 16, pp. 2785—2791.
19. Mapunya M.B., Nikolova R.V., Lall N. // *Evid Based Complement Alternat Med*. 2012. No. 374017.
20. Sushko I., Novotarskyi S., Körner R., Pandey A.K., Rupp M., Teetz W., Brandmaier S., Abdelaziz A., Prokopenko V.V., Tanchuk V.Y., Todeschini R., Varnek A., Marcou G., Ertl P., Potemkin V., Grishina M., Gasteiger J., Schwab C., Baskin I.I., Palyulin V.A., Radchenko E.V., Welsh W.J., Kholodovych V., Chekmarev D., Cherkasov A., Aires-de-Sousa J., Zhang Q.U., Bender A., Nigsch F., Patiny L., Williams A., Tkachenko V., Tetko I.V. // *J ComputAidedMolDes*. 2011. Vol. 25, No. 6, pp. 533-554.

Пятигорский медико-фармацевтический институт

*Чиряпкин А.С., аспирант кафедры органической химии

E-mail: alexey.chiriapkin@yandex.ru

Кодониди И.П., д.ф.н., профессор кафедрой органической химии

E-mail: kodonidiip@mail.ru

Поздняков Д.И., к.ф.н., доцент кафедры фармакологии с курсом клинической фармакологии

E-mail: pozdniackow.dmitry@yandex.ru

Pyatigorsk Medical and Pharmaceutical Institute

*Chiriapkin A.S., postgraduate student of the Department of organic chemistry

E-mail: alexey.chiriapkin@yandex.ru

Kodonidi I.P., PhD., DSci., Full Professor of the Department of organic chemistry

E-mail: kodonidiip@mail.ru

Pozdnyakov D.I. PhD, Associate Professor of the Department of pharmacology with the course of clinical pharmacology

E-mail: pozdniackow.dmitry@yandex.ru

STUDIES OF ANTITHYROSINASE ACTIVITY OF AZOMETHINE DERIVATIVES OF 2-AMINO-4,5,6,7-TETRAHYDRO-1-BENZOTHIOPHENE-3-CARBOXAMIDE

A. S. Chiriapkin., I. P. Kodonidi, D. I. Pozdnyakov

Pyatigorsk Medical Pharmaceutical Institute of Volgograd Medical State University

Abstract. Tyrosinase is a metalloenzyme of the oxidoreductase class. This enzyme participates in the catalytic transfer of an oxygen atom between two compounds that act as a hydrogen donor. As a result of a multi-step reaction, the amino acid tyrosine is converted into melanin, which is a pigment. Tyrosinase inhibitors are used for cosmetic purposes and directly for the treatment of myeloid leukemia. The search for new remedies for the treatment of hyperpigmentation is an urgent area of modern dermatology and cosmetology. The objects of research are azomethine derivatives of 2-amino-4,5,6,7-tetrahydro-1-benzothiophene-3-carboxamide. In silico study was carried out by molecular docking using the three-dimensional structure of the tyrosinase of the fungus *Garicus bisporus* from the RCSB Protein Data Bank database (rcsb.org) with the identification number 2Y9X. The three-dimensional structures of the studied compounds were constructed in the HyperChem 8.0.8 program and then geometrically optimized in the ORCA 4.1 program using the density functional theory (UB3LYP) method and the 6-311G** basis set. Molecular docking was performed in the Autodock 4.0 program. In vitro tyrosinase activity was determined according to the method described by Mapunya, 2012. Kojic acid, hydroquinone, and lactic acid in a similar concentration range were used as reference standards. Hydroquinone and kojic acid were obtained from Hunan Warrant pharmaceuticals (PRC), lactic acid was provided by Sigma-Aldrich (Germany). The study of the structure-activity relationship by descriptors was performed using the Online chemical database web resource. The geometry of the simulated structures was optimized using the Open Babel. Based on the

results of the computational experiment, the antityrosinase activity was predicted and the most probable conformations of the modeled compounds in the enzyme binding site were determined. In vitro studies indicate that compound 7 is comparable in antityrosinase activity to the safest depigmenting agent – lactic acid. The analysis of the quantitative assessment of the structure-activity relationship revealed a linear relationship between the Homo Lumo Gap and Absolute Softness indicators, which were calculated in MOPAC 2016 descriptors (35/3D).

Keywords: tyrosinase, azomethines, 2-amino-4,5,6,7-tetrahydro-1-benzothiophene-3-carboxamide, molecular docking, structure-activity relationship

REFERENCES

1. Furue M., Tsuji G., *Int J Environ Res Public Health.*, 2019, Vol. 16, No. 23, pp. 4864. DOI: 10.3390/ijerph16234864.
2. Pandya A.G., Guevara I.L., *Dermatologic Clinics.*, 2000, Vol. 18, No. 1, pp. 91-98. DOI: 10.1016/s0733-8635(05)70150-9.
3. Davis E.C., Callender V.D., *J Clin Aesthet Dermatol.*, 2010, Vol. 3, No. 7, pp. 20-31.
4. Sarkar R., Arora P., Garg K.V., *J Cutan Aesthet Surg.*, 2013, Vol. 6, No. 1, pp. 4-11.
5. Giménez García R.M., Carrasco Molina S., *J AmBoardFam Med.*, 2019, Vol. 32, No. 4, pp. 628-638.
6. Lerner E.A., Sober A.J., *Dermatologic Clinics.*, 1988, Vol. 6, No. 2, pp. 327-337. DOI: 10.1016/S0733-8635(18)30678-8.
7. França K., Keri J., *AnBrasDermatol.*, 2017, Vol. 92, No. 4, pp. 505-509.
8. Rigopoulos D., Gregoriou S., Katsambas A., *Journal of Cosmetic Dermatology.*, 2007, Vol. 6, No. 3, pp. 195-202. DOI: 10.1111/j.1473-2165.2007.00321.x.
9. Baker K.P., *Veterinary Parasitology.*, 1975, Vol. 1, No. 2, pp. 193-197.
10. Chandra M., Levitt J., Pensabene C.A., *ActaDermVenereol.*, 2012, Vol. 92, No. 3, pp. 232-235. DOI: 10.2340/00015555-1225.
11. Saeedi M., Eslamifar M., Khezri K., *BiomedPharmacother.*, 2019, Vol. 110, pp. 582-593. DOI: 10.1016/j.biopha.2018.12.006.
12. Sarkar R., Bansal S., Garg V.K., *J CutanAesthetSurg.*, 2012, Vol. 5, No. 4, pp. 247-253.
13. Chiriapkin A.S., Kodonidi I.P., Pozdnyakov D.I., Zolotykh D.S., *PharmacologyOnline.*, 2021, Vol. 3, pp. 563-584.
14. Fan, J., Fu, A., Zhang, L., *Quant Biol.*, 2019, Vol. 7, pp. 83–89. DOI: 10.1007/s40484-019-0172-y.
15. Chiriapkin A.S., Kodonidi I.P., Larsky M.V., *Drug development & registration.*, 2021, Vol. 10, No. 2, pp. 25-31. DOI: 10.33380/2305-2066-2021-10-2-25-31.
16. Ismaya W.T., Rozeboom H. J., Weijn A., Mes J.J., Fusetti F., Wichers H.J., Dijkstra B.W., *Biochemistry.*, 2011, Vol. 50, No. 24, pp. 5477–5486.
17. Brian J., *J. Chem. Inf. Comput. Sci.*, 1992, Vol. 32, pp. 757 – 759. DOI: 10.1021/bi200395t.
18. Morris G.M., Huey R., Lindstrom W., Sanner M.F., Belew R.K., Goodsell D. S., Olson A.J., *Journal of Computational Chemistry.*, 2009, Vol. 30, No. 16, pp. 2785—2791. DOI: 10.1002/jcc.21256.
19. Mapunya M.B., Nikolova R.V., Lall N., *Evid Based Complement Alternat Med.*, 2012, No. 374017. DOI: 10.1155/2012/374017.
20. Sushko I., Novotarskyi S., Körner R., Pandey A.K., Rupp M., Teetz W., Brandmaier S., Abdelaziz A., Prokopenko V.V., Tanchuk V.Y., Todeschini R., Varnek A., Marcou G., Ertl P., Potemkin V., Grishina M., Gasteiger J., Schwab C., Baskin I.I., Palyulin V.A., Radchenko E.V., Welsh W.J., Kholodovych V., Chekmarev D., Cherkasov A., Aires-de-Sousa J., Zhang Q.U., Bender A., Nigsch F., Patiny L., Williams A., Tkachenko V., Tetko I.V., *J ComputAidedMolDes.*, 2011, Vol. 25, No. 6, pp. 533-554. DOI: 10.1007/s10822-011-9440-2.