República Federativa do Brasil
Ministério da Economia
Instituto Nacional da Propriedade Industrial

**(21) BR 112020020881-7 A2**

**(22) Data do Depósito:** 12/04/2019

**(43) Data da Publicação Nacional:** 20/04/2021

**(54) Título:** COMPOSIÇÕES FOTOPROTETORAS CONTENDO COMPOSTOS DERIVADOS DE MALASSEZIA E/OU ANÁLOGOS QUÍMICOS DOS MESMOS

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

**(30) Prioridade Unionista:** 07/05/2018 US 62/668,007; 08/10/2018 US 62/742,657; 12/04/2018 US 62/656,769; 15/06/2018 US 62/685,800; 19/06/2018 US 62/686,912; (...).

**(71) Depositante(es):** MICHAEL EINZIGER; ANN MARIE SIMPSON.

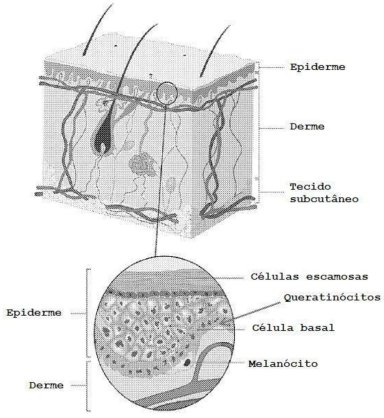
**(72) Inventor(es):** MICHAEL EINZIGER; ANN MARIE SIMPSON.

**(86) Pedido PCT:** PCT US2019027181 de 12/04/2019

**(87) Publicação PCT:** WO 2019/200232 de 17/10/2019

**(85) Data da Fase Nacional:** 09/10/2020

**(57) Resumo:** A presente invenção se refere a compostos, composições e métodos para modular a pigmentação da pele e tratar ou prevenir danos cutâneos induzidos por UV, eritema, envelhecimento da pele, queimaduras solares e hiperpigmentação em um sujeito. Os compostos, composições e métodos da presente invenção geralmente envolvem compostos derivados de Malassezia, incluindo malassezina e indirubina, e/ou seus análogos químicos. Outras aplicações dos compostos e composições aqui divulgadas incluem, mas não estão limitadas a, melhorar a hiperpigmentação causada por um distúrbio de hiperpigmentação, induzir a apoptose de melanócitos e modular a atividade do receptor de hidrocarboneto de aril (AhR), melanogênese, produção de melanina, biogênese de melanossoma, transferência de melanossoma, melanócito atividade e concentração de melanina.



# COMPOSIÇÕES FOTOPROTETORAS CONTENDO COMPOSTOS DERIVADOS DE MALASSEZIA E/OU ANÁLOGOS QUÍMICOS DOS MESMOS

## REFERÊNCIA CRUZADA COM PEDIDOS RELACIONADOS

[001] A presente invenção reivindica o benefício para Pedido U.S. Provisório Nº 62/656.769, depositado em 12 de abril de 2018, Pedido U.S. Provisório Nº 62/668.007, depositado em 7 de maio de 2018, Pedido U.S. Provisório Nº 62/685.800, depositado em 15 de junho de 2018, Pedido U.S. Provisório Nº 62/686.912, depositado em 19 de junho de 2018, Pedido U.S. Provisório Nº 62/722.412, depositado em 24 de agosto de 2018 e Pedido U.S. Provisório Nº 62/742.657, depositado em 8 de outubro de 2018. O conteúdo dos pedidos mencionados anteriormente é incorporado por referência.

## CAMPO DA INVENÇÃO

[002] A presente invenção está relacionada aos compostos produzidos por ou derivados de uma levedura Malassezia, bem como aos análogos químicos destes. Os compostos da presente invenção, e composições que contêm os referidos compostos, possuem, entre outras propriedades benéficas, propriedades fotoprotetoras. Métodos de utilização dos compostos e composições da presente invenção também são contemplados.

## FUNDAMENTOS DA INVENÇÃO

[003] Indivíduos em todo o mundo usam agentes de clareamento da pele para obter diversos objetivos cosméticos, incluindo a produção de um efeito antienvelhecimento, correção de dano solar, e atendimento a certos padrões culturais de beleza. Muitos produtos para clareamento da pele disponíveis comercialmente, embora eficazes em graus variáveis, contêm ingredientes nocivos, alguns dos quais foram ligados ao câncer. Dessa forma, existe

uma necessidade por novos agentes de clareamento da pele e formulações que exibam níveis maiores de segurança e/ou eficácia do que os agentes atualmente no mercado.

[004] *Malassezia* é um gênero de levedura lipofílica comumente encontrada na flora normal da pele humana. *Malassezia* é responsável por diversas doenças da pele, incluindo tinha versicolor (pitiríase versicolor), dermatite seborréica e dermatite atópica.

[005] O habitat natural para *M. furfur* é a epiderme superior. No entanto, a exposição à luz ultravioleta destrói o organismo em seu habitat natural. Portanto, agentes de filtração UV podem ser necessários para a sobrevida do organismo. Dois desses indóis de filtração UV produzidos pelo organismo foram identificados: pitiriacitrina e pitirialactona. Pitiriacitrina, descrita primeiro em Mayser *e cols.*, 2002, é sintetizada por *M. furfur*. Ela é um composto lipofílico amarelo estável que mostra ampla absorção no espectro UVA, UVB e UVC. Um composto similar do gênero *Paracoccus* foi isolado e patenteado como um agente protetor UV (Zhang *e cols.*, 2018).

[006] Gambichler *e cols.*, 2007 investigaram o efeito protetor contra UV de pitiriacitrina em humanos usando métodos de teste *in vitro* e *in vivo*. A espectrofotometria de creme e veículo de pitiriacitrina foi realizada na faixa de comprimento de onda de 290-400 nm. A transmissão UV e o fator de proteção solar (“SPF”) foram avaliados para diferentes formulações de creme. Usando colorimetria, os autores avaliaram eritema e pigmentação após irradiação de pele protegida com creme e não protegida de indivíduos saudáveis. A transmissão UVB, bem como a transmissão UVA, diminuíam com

concentrações crescentes de pitiriacitrina. Um aumento da concentração de pitiriacitrina de 1,25, 2,5 e 5% foi associado com SPFs ligeiramente crescentes de 1,4, 1,5 e 1,7, respectivamente. Os testes *in vivo* confirmaram a validade do SPF de creme de pitiriacitrina 5% determinado *in vitro*. No geral, o efeito protetor contra UV de pitiriacitrina foi muito fraco, sugerindo que pitiriacitrina provavelmente é apenas um co-fator inferior no desenvolvimento de hipopigmentação em lesões alba da pitiríase versicolor após exposição solar.

[007] Estudos adicionais dos efeitos de filtração UV de pitiriacitrina foram realizados na microflora da pele humana. (Machowinski *e cols.*, 2006). Os autores determinaram que pitiriacitrina possui um efeito protetor contra UV sobre *Candida albicans* e estafilococos sem toxicidade nas faixas testadas. As propriedades protetoras contra UV de pitirialactona também foram confirmadas em um modelo em levedura (Mayser *e cols.*, 2003). Pitirialactona parece ser responsável pela fluorescência amarela de Tinha Versicolor sob exame na Luz de Wood.

[008] A tinha versicolor é uma doença não contagiosa da pele causada por supercrescimento de *Malassezia* que altera localmente os níveis de pigmentação. Leveduras *Malassezia* possuem duas vias metabólicas para a síntese de melanina e pigmentos de indol derivado de triptofano. Malassezina e Indirrubina são metabólitos de triptofano de *Malassezia* que podem contribuir para a despigmentação característica do supercrescimento de *Malassezia*.

[009] A invenção revelada nesse relatório descritivo utiliza compostos produzidos por ou derivados de levedura

*Malassezia*, incluindo Malassezina, Indirrubina, e análogos químicos destas, como a base para composições seguras e eficazes para o clareamento da pele e escurecimento da pele. Composições fotoprotetoras que compreendem Malassezina, Indirrubina, e análogos químicos destas também são reveladas nesse relatório descritivo.

**SUMÁRIO DA INVENÇÃO**

[010] Uma modalidade da presente invenção é um composto para clareamento da pele. O composto é um análogo químico de um composto produzido por uma levedura *Malassezia*, ou uma forma cristalina, hidrato ou sal cosmeticamente ou farmaceuticamente aceitável deste.

[011] Outra modalidade da presente invenção é um composto para indução de apoptose de melanócitos. O composto é um análogo químico de um composto produzido por uma levedura *Malassezia*, ou uma forma cristalina, hidrato ou sal cosmeticamente ou farmaceuticamente aceitável deste.

[012] Uma modalidade adicional da presente invenção é um composto para a modulação da atividade de melanócitos. O composto é um análogo químico de um composto produzido por uma levedura *Malassezia*, ou uma forma cristalina, hidrato ou sal cosmeticamente ou farmaceuticamente aceitável deste.

[013] Uma modalidade adicional da presente invenção é um composto para agonismo do receptor de aril-hidrocarboneto (AhR). O composto é um análogo químico de um composto produzido por uma levedura *Malassezia*, ou uma forma cristalina, hidrato ou sal cosmeticamente ou farmaceuticamente aceitável deste.

[014] Outra modalidade da presente invenção é um composto para melhora da hiperpigmentação causada por um

distúrbio de hiperpigmentação. O composto é um análogo químico de um composto produzido por uma levedura *Malassezia*, ou uma forma cristalina, hidrato ou sal cosmeticamente ou farmaceuticamente aceitável deste.

[015] Uma modalidade adicional da presente invenção é um composto para a modulação da produção de melanina. O composto é um análogo químico de um composto produzido por uma levedura *Malassezia*, ou uma forma cristalina, hidrato ou sal cosmeticamente ou farmaceuticamente aceitável deste.

[016] Uma modalidade adicional da presente invenção é um composto para a modulação da biogênese de melanossoma. O composto é um análogo químico de um composto produzido por uma levedura *Malassezia*, ou uma forma cristalina, hidrato ou sal cosmeticamente ou farmaceuticamente aceitável deste.

[017] Outra modalidade da presente invenção é um composto para a modulação da transferência de melanossoma. O composto é um análogo químico de um composto produzido por uma levedura *Malassezia*, ou uma forma cristalina, hidrato ou sal cosmeticamente ou farmaceuticamente aceitável deste.

[018] Uma modalidade adicional da presente invenção é uma composição. A composição compreende uma levedura *Malassezia* e um veículo, diluente ou carreador cosmeticamente ou farmaceuticamente aceitável.

[019] Uma modalidade adicional da presente invenção é uma composição. A composição compreende um composto isolado ou passível de isolamento de uma levedura *Malassezia* e um veículo, diluente ou carreador cosmeticamente ou farmaceuticamente aceitável.

[020] Outra modalidade da presente invenção é uma composição. A composição compreende qualquer um dos

compostos, incluindo análogos, revelados nesse relatório descritivo e um veículo, diluente ou carreador cosmeticamente ou farmaceuticamente aceitável.

[021] Uma modalidade adicional da presente invenção é um método de clareamento da pele em um indivíduo. O método compreende o contato do indivíduo com qualquer um dos compostos ou composições revelados nesse relatório descritivo.

[022] Uma modalidade adicional da presente invenção é um método para indução de apoptose de melanócitos em um indivíduo. O método compreende o contato do indivíduo com qualquer um dos compostos ou composições revelados nesse relatório descritivo.

[023] Outra modalidade da presente invenção é um método para a modulação da atividade de melanócitos em um indivíduo. O método compreende o contato do indivíduo com qualquer um dos compostos ou composições revelados nesse relatório descritivo.

[024] Uma modalidade adicional da presente invenção é um método para o agonismo de um receptor de aril-hidrocarboneto (AhR) em um indivíduo. O método compreende o contato do indivíduo com qualquer um dos compostos ou composições revelados nesse relatório descritivo.

[025] Uma modalidade adicional da presente invenção é um método para melhora da hiperpigmentação causada por um distúrbio de hiperpigmentação em um indivíduo necessitado. O método compreende o contato do indivíduo com qualquer um dos compostos ou composições revelados nesse relatório descritivo.

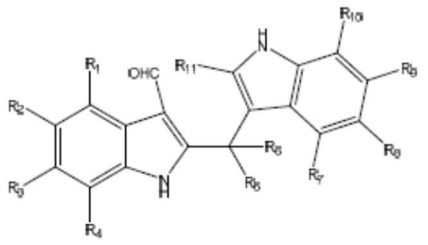
[026] Outra modalidade da presente invenção é um método

para a modulação da produção de melanina em um indivíduo. O método compreende o contato do indivíduo com qualquer um dos compostos ou composições revelados nesse relatório descritivo.

[027] Uma modalidade adicional da presente invenção é um método para a modulação da biogênese de melanossoma em um indivíduo. O método compreende o contato do indivíduo com qualquer um dos compostos ou composições revelados nesse relatório descritivo.

[028] Uma modalidade adicional da presente invenção é um método para a modulação da transferência de melanossoma em um indivíduo. O método compreende o contato do indivíduo com qualquer um dos compostos ou composições revelados nesse relatório descritivo.

[029] Outra modalidade da presente invenção é um composto. O composto possui a estrutura de fórmula (II):

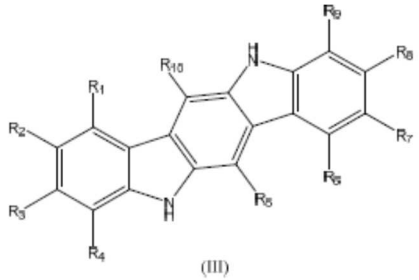



(II)

em que:

R1, R2, R3, R4, R5, R6, R7, R8, R9, R10 e R11 são selecionados independentemente do grupo que consiste em hidrogênio e metil, e pelo menos um de R1, R2, R3, R4, R5, R6, R7, R8, R9, R10 e R11 é metil; ou uma forma cristalina, hidrato ou sal cosmeticamente ou farmaceuticamente aceitável deste.

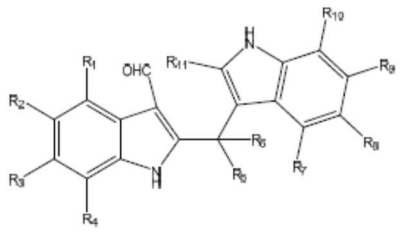
[030] Uma modalidade adicional da presente invenção é um composto. O composto possui a estrutura de fórmula (III):




(III)

em que: R1, R2, R3, R4, R5, R6, R7, R8, R9 e R10 são selecionados independentemente do grupo que consiste em hidrogênio e metil, e pelo menos um de R1, R2, R3, R4, R5, R6, R7, R8, R9 e R10 é metil; ou uma forma cristalina, hidrato ou sal cosmeticamente ou farmaceuticamente aceitável deste.

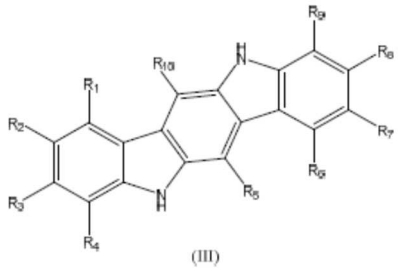
[031] Uma modalidade adicional da presente invenção é um composto para clareamento da pele. O composto possui a estrutura de fórmula (II):




(II)

em que: R1, R2, R3, R4, R5, R6, R7, R8, R9, R10 e R11 são selecionados independentemente do grupo que consiste em hidrogênio e metil; ou uma forma cristalina, hidrato ou sal cosmeticamente ou farmaceuticamente aceitável deste.

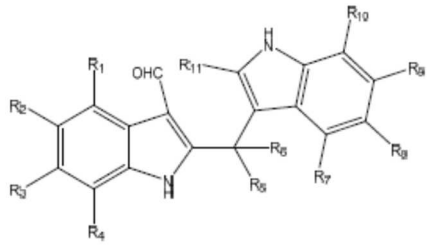
[032]Outra modalidade da presente invenção é um composto para clareamento da pele. O composto possui a estrutura de fórmula (III):



(III)

em que: R1, R2, R3, R4, R5, R6, R7, R8, R9 e R10 são selecionados independentemente do grupo que consiste em hidrogênio e metil; ou uma forma cristalina, hidrato ou sal cosmeticamente ou farmaceuticamente aceitável deste.

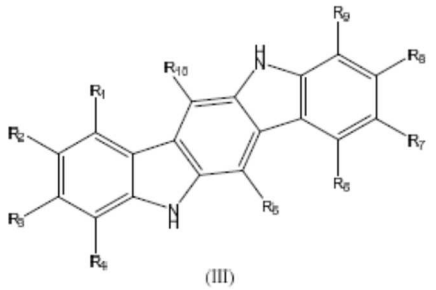
[033] Uma modalidade adicional da presente invenção é um composto para indução de apoptose de melanócitos. O composto possui a estrutura de fórmula (II):



(II)

em que: R1, R2, R3, R4, R5, R6, R7, R8, R9, R10 e R11 são selecionados independentemente do grupo que consiste em hidrogênio e metil; ou uma forma cristalina, hidrato ou sal cosmeticamente ou farmaceuticamente aceitável deste.

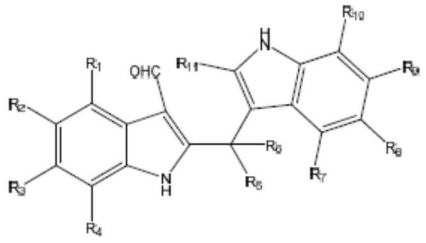
[034] Uma modalidade adicional da presente invenção é um composto para indução de apoptose de melanócitos. O composto possui a estrutura de fórmula (III):



(III)

em que: R1, R2, R3, R4, R5, R6, R7, R8, R9 e R10 são selecionados independentemente do grupo que consiste em hidrogênio e metil; ou uma forma cristalina, hidrato ou sal cosmeticamente ou farmaceuticamente aceitável deste.

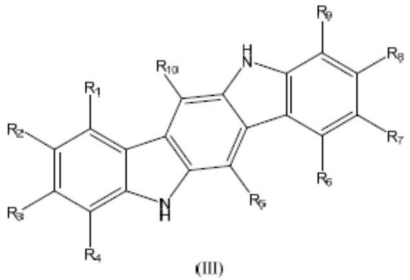
[035] Outra modalidade da presente invenção é um composto para agonismo do receptor de aril-hidrocarboneto (AhR). O composto possui a estrutura de fórmula (II):



(II)

em que: R1, R2, R3, R4, R5, R6, R7, R8, R9, R10 e R11 são selecionados independentemente do grupo que consiste em hidrogênio e metil; ou uma forma cristalina, hidrato ou sal cosmeticamente ou farmaceuticamente aceitável deste.

[036] Uma modalidade adicional da presente invenção é um composto para agonismo do receptor de aril-hidrocarboneto (AhR). O composto possui a estrutura de fórmula (III):

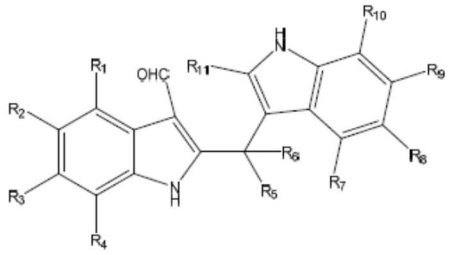


(III)

em que: R1, R2, R3, R4, R5, R6, R7, R8, R9 e R10 são selecionados independentemente do grupo que consiste em hidrogênio e metil; ou uma forma cristalina, hidrato ou sal cosmeticamente ou farmaceuticamente aceitável deste.

[037] Uma modalidade adicional da presente invenção é uma composição. A composição compreende um composto que

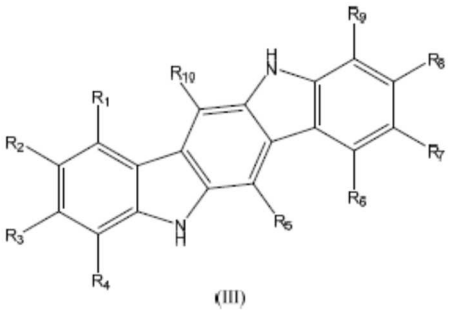
possui a estrutura de fórmula (II):



(II)

em que: R1, R2, R3, R4, R5, R6, R7, R8, R9, R10 e R11 são selecionados independentemente do grupo que consiste em hidrogênio e metil; ou uma forma cristalina, hidrato ou sal cosmeticamente ou farmaceuticamente aceitável deste, e um veículo, diluente ou carreador cosmeticamente ou farmaceuticamente aceitável.

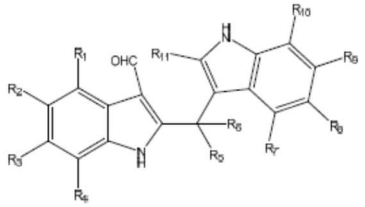
[038] Outra modalidade da presente invenção é uma composição. A composição compreende um composto que possui a estrutura de fórmula (III):



(III)

em que: R1, R2, R3, R4, R5, R6, R7, R8, R9 e R10 são selecionados independentemente do grupo que consiste em hidrogênio e metil; ou uma forma cristalina, hidrato ou sal cosmeticamente ou farmaceuticamente aceitável deste, e um veículo, diluente ou carreador cosmeticamente ou farmaceuticamente aceitável.

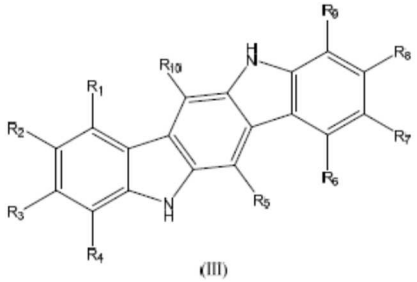
[039] Uma modalidade adicional da presente invenção é um método para clareamento da pele em um indivíduo. O método compreende: o contato do indivíduo com um composto que possui a estrutura de fórmula (II):



(II)

em que: R1, R2, R3, R4, R5, R6, R7, R8, R9, R10 e R11 são selecionados independentemente do grupo que consiste em hidrogênio e metil; ou uma forma cristalina, hidrato ou sal cosmeticamente ou farmaceuticamente aceitável deste.

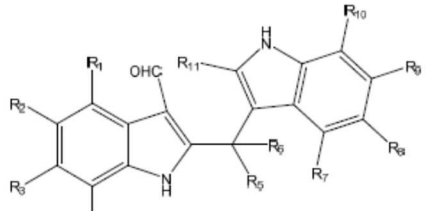
[040] Uma modalidade adicional da presente invenção é um método para clareamento da pele em um indivíduo. O método compreende: o contato do indivíduo com um composto que possui a estrutura de fórmula (III):



(III)

em que: R1, R2, R3, R4, R5, R6, R7, R8, R9 e R10 são selecionados independentemente do grupo que consiste em hidrogênio e metil; ou uma forma cristalina, hidrato ou sal cosmeticamente ou farmaceuticamente aceitável deste.

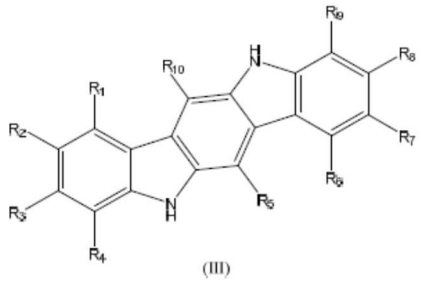
[041] Outra modalidade da presente invenção é um método para indução de apoptose de melanócitos em um indivíduo. O método compreende: o contato do indivíduo com um composto que possui a estrutura de fórmula (II):



(II)

em que: R1, R2, R3, R4, R5, R6, R7, R8, R9, R10 e R11 são selecionados independentemente do grupo que consiste em hidrogênio e metil; ou uma forma cristalina, hidrato ou sal cosmeticamente ou farmaceuticamente aceitável deste.

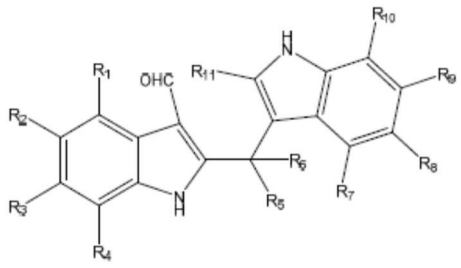
[042] Uma modalidade adicional da presente invenção é um método para indução de apoptose de melanócitos em um indivíduo. O método compreende: o contato do indivíduo com um composto que possui a estrutura de fórmula (III):




(III)

em que: R1, R2, R3, R4, R5, R6, R7, R8, R9 e R10 são selecionados independentemente do grupo que consiste em hidrogênio e metil; ou uma forma cristalina, hidrato ou sal cosmeticamente ou farmaceuticamente aceitável deste.

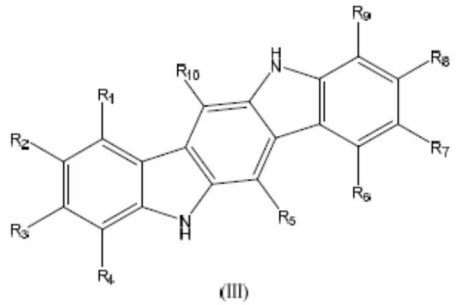
[043] Outra modalidade da presente invenção é um método para o agonismo de um receptor de aril-hidrocarboneto (AhR) em um indivíduo. O método compreende: o contato do indivíduo com um composto que possui a estrutura de fórmula (II):




(II)

em que: R1, R2, R3, R4, R5, R6, R7, R8, R9, R10 e R11 são selecionados independentemente do grupo que consiste em hidrogênio e metil; ou uma forma cristalina, hidrato ou sal cosmeticamente ou farmaceuticamente aceitável deste.

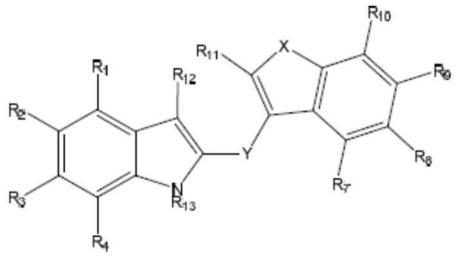
[044] Uma modalidade adicional da presente invenção é um método para o agonismo de um receptor de aril-hidrocarboneto (AhR) em um indivíduo. O método compreende: o contato do indivíduo com um composto que possui a estrutura de fórmula (III):



(III)

em que: R1, R2, R3, R4, R5, R6, R7, R8, R9 e R10 são selecionados independentemente do grupo que consiste em hidrogênio e metil; ou uma forma cristalina, hidrato ou sal cosmeticamente ou farmaceuticamente aceitável deste.

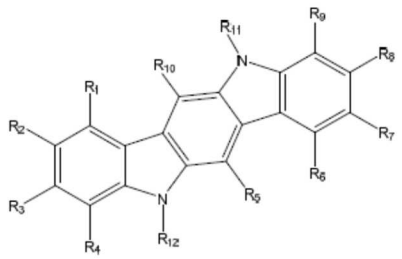
[045] Uma modalidade da presente invenção é um composto. O composto possui a estrutura da seguinte fórmula:



em que: X é selecionado do grupo que consiste em $NR_{14}$ e O; Y é uma ligação covalente, $CR_5R_6$, O ou $NR_{15}$; $R_1$, $R_2$, $R_3$, $R_4$, $R_7$, $R_8$, $R_9$, $R_{10}$ e $R_{11}$ são selecionados independentemente do grupo que consiste em hidrogênio, halogênio, CN, hidroxil, $R_{16}$ ou $OR_{16}$; $R_{13}$, $R_{14}$ e $R_{15}$ são independentemente hidrogênio ou $R_{16}$; $R_5$ e $R_6$ são selecionados independentemente do grupo que consiste em hidrogênio, hidroxil, $OR_{16}$, $R_{16}$ e $C_{3-6}$ cicloalquil, ou $R_5$ e $R_6$ combinam para formar um grupo oxo (=O) ou um $C_{3-6}$ cicloalquil; $R_{12}$ é selecionado do grupo que consiste em hidrogênio, $-COR^a$ e $R_{16}$; cada $R_{16}$ é independentemente formil,

$C_{1-9}$ alquil, $C_{2-9}$ alquenil ou $C_{2-9}$ alquinil; e, $R^a$ é selecionado do grupo que consiste em hidrogênio, hidroxil e $OR_{16}$; em que: se $R^a$ é hidrogênio, Y é $CR_5R_6$ e $R_{13}$ e $R_{14}$ são, ambos, hidrogênio, pelo menos um de $R_1$, $R_2$, $R_3$, $R_4$, $R_5$, $R_6$, $R_7$, $R_8$, $R_9$, $R_{10}$ e $R_{11}$ é $R_{16}$; ou, $R_5$ é selecionado do grupo que consiste em hidroxil, $OR_{16}$, $R_{16}$ e $C_{3-6}$ cicloalquil, ou $R_5$ e $R_6$ combinam para formar um grupo oxo (=O) ou um $C_{3-6}$ cicloalquil; ou uma forma cristalina, hidrato ou sal cosmeticamente ou farmaceuticamente aceitável deste.

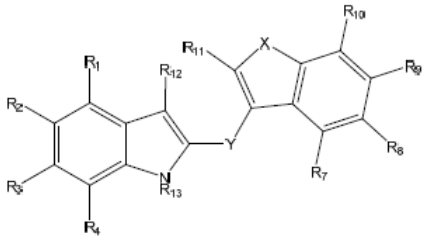
[046] Outra modalidade da presente invenção é um composto. O composto possui a estrutura da seguinte fórmula:




em que: $R_1$, $R_4$, $R_5$, $R_6$, $R_9$ e $R_{10}$ são selecionados independentemente do grupo que consiste em hidrogênio, hidroxil, halogênio, CN, $R_{13}$, $OR_{13}$, $OCOR_{13}$ e -CHO; $R_2$ e $R_3$ são selecionados independentemente do grupo que consiste em hidrogênio, hidroxil, halogênio, CN, $R_{13}$, $OR_{13}$, $OCOR_{13}$ e -CHO, ou $R_2$ e $R_3$ combinam para formar um heterociclil de 5 ou 6 membros; $R_7$ e $R_8$ são selecionados independentemente do grupo que consiste em hidrogênio, hidroxil, halogênio, CN, $R_{13}$, $OR_{13}$, $OCOR_{13}$ e -CHO, ou $R_7$ e $R_8$ combinam para formar um heterociclil de 5 ou 6 membros; $R_{11}$ e $R_{12}$ são independentemente hidrogênio ou $R_{13}$; cada $R_{13}$ é independentemente $C_{1-9}$ alquil, $C_{2-9}$ alquenil ou $C_{2-9}$ alquinil; e, pelo menos um de $R_1$, $R_2$, $R_3$, $R_4$, $R_5$, $R_6$, $R_7$, $R_8$, $R_9$ e $R_{10}$ não é hidrogênio; ou uma forma cristalina, hidrato ou sal

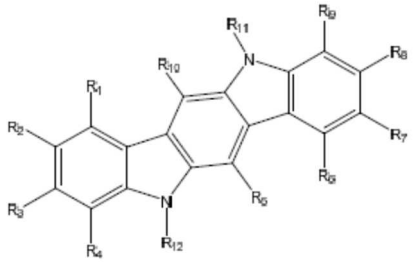
cosmeticamente ou farmaceuticamente aceitável deste.

[047] Uma modalidade adicional da presente invenção é um composto para clareamento da pele. O composto possui a estrutura da seguinte fórmula:



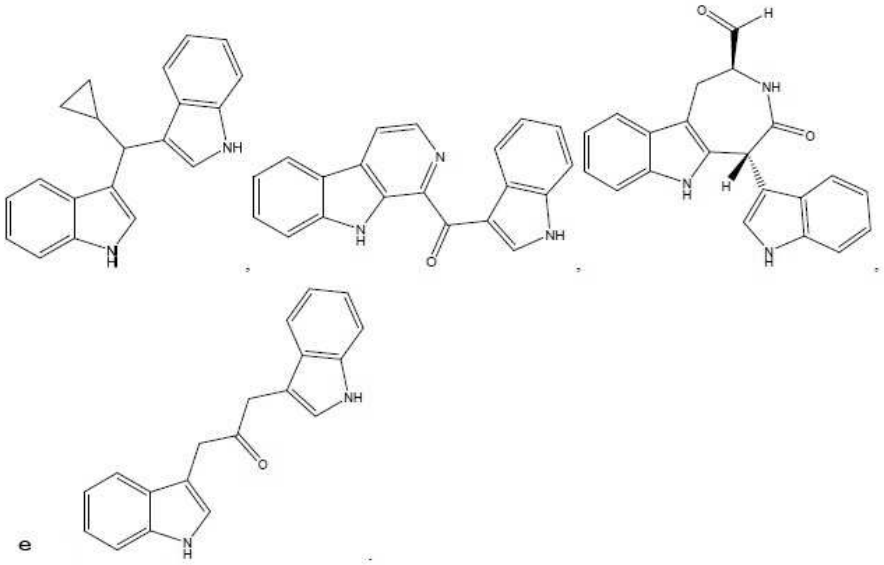
em que: X é selecionado do grupo que consiste em $NR_{14}$ e O; Y é uma ligação covalente, $CR_5R_6$, O ou $NR_{15}$; $R_1$, $R_2$, $R_3$, $R_4$, $R_7$, $R_8$, $R_9$, $R_{10}$ e $R_{11}$ são selecionados independentemente do grupo que consiste em hidrogênio, halogênio, CN, hidroxil, $R_{16}$ ou $OR_{16}$; $R_{13}$, $R_{14}$ e $R_{15}$ são independentemente hidrogênio ou $R_{16}$; $R_5$ e $R_6$ são selecionados independentemente do grupo que consiste em hidrogênio, hidroxil, $OR_{16}$, $R_{16}$ e $C_{3-6}$ cicloalquil, ou $R_5$ e $R_6$ combinam para formar um grupo oxo (=O) ou um $C_{3-6}$ cicloalquil; $R_{12}$ é selecionado do grupo que consiste em hidrogênio, $-COR^a$ e $R_{16}$; cada $R_{16}$ é independentemente formil, $C_{1-9}$ alquil, $C_{2-9}$ alquenil ou $C_{2-9}$ alquinil; e, $R^a$ é selecionado do grupo que consiste em hidrogênio, hidroxil e $OR_{16}$; ou uma forma cristalina, hidrato ou sal cosmeticamente ou farmaceuticamente aceitável deste.

[048] Uma modalidade adicional da presente invenção é um composto para clareamento da pele. O composto possui a estrutura da seguinte fórmula:



em que: $R_1$, $R_4$, $R_5$, $R_6$, $R_9$ e $R_{10}$ são selecionados independentemente do grupo que consiste em hidrogênio, hidroxil, halogênio, CN, $R_{13}$, $OR_{13}$, $OCOR_{13}$ e -CHO; $R_2$ e $R_3$ são selecionados independentemente do grupo que consiste em hidrogênio, hidroxil, halogênio, CN, $R_{13}$, $OR_{13}$, $OCOR_{13}$ e -CHO, ou $R_2$ e $R_3$ combinam para formar um heterociclil de 5 ou 6 membros; $R_7$ e $R_8$ são selecionados independentemente do grupo que consiste em hidrogênio, hidroxil, halogênio, CN, $R_{13}$, $OR_{13}$, $OCOR_{13}$ e -CHO, ou $R_7$ e $R_8$ combinam para formar um heterociclil de 5 ou 6 membros; $R_{11}$ e $R_{12}$ são independentemente hidrogênio ou $R_{13}$; e, cada $R_{13}$ é independentemente $C_{1-9}$ alquil, $C_{2-9}$ alquenil ou $C_{2-9}$ alquinil; ou uma forma cristalina, hidrato ou sal cosmeticamente ou farmaceuticamente aceitável deste.

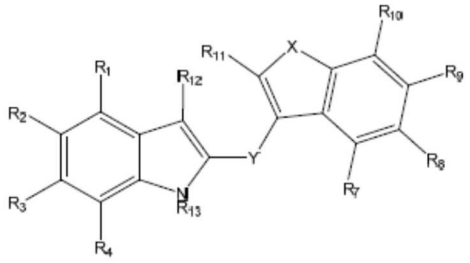
[049] Outra modalidade da presente invenção é um composto para clareamento da pele. O composto é selecionado do grupo que consiste em:



e

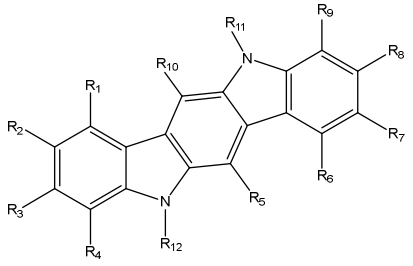


[050] Uma modalidade adicional da presente invenção é um composto para indução de apoptose de melanócitos. O composto possui a estrutura da seguinte fórmula:



em que: X é selecionado do grupo que consiste em $NR_{14}$ e O; Y é uma ligação covalente, $CR_5R_6$, O ou $NR_{15}$; $R_1$, $R_2$, $R_3$, $R_4$, $R_7$, $R_8$, $R_9$, $R_{10}$ e $R_{11}$ são selecionados independentemente do grupo que consiste em hidrogênio, halogênio, CN, hidroxil, $R_{16}$ ou $OR_{16}$; $R_{13}$, $R_{14}$ e $R_{15}$ são independentemente hidrogênio ou $R_{16}$; $R_5$ e $R_6$ são selecionados independentemente do grupo que consiste em hidrogênio, hidroxil, $OR_{16}$, $R_{16}$ e $C_{3-6}$ cicloalquil, ou $R_5$ e $R_6$ combinam para formar um grupo oxo (=O) ou um $C_{3-6}$ cicloalquil; $R_{12}$ é selecionado do grupo que consiste em hidrogênio, -$COR^a$ e $R_{16}$; cada $R_{16}$ é independentemente formil, $C_{1-9}$ alquil, $C_{2-9}$ alquenil ou $C_{2-9}$ alquinil; e, $R^a$ é selecionado do grupo que consiste em hidrogênio, hidroxil e $OR_{16}$; ou uma forma cristalina, hidrato ou sal cosmeticamente ou farmaceuticamente aceitável deste.

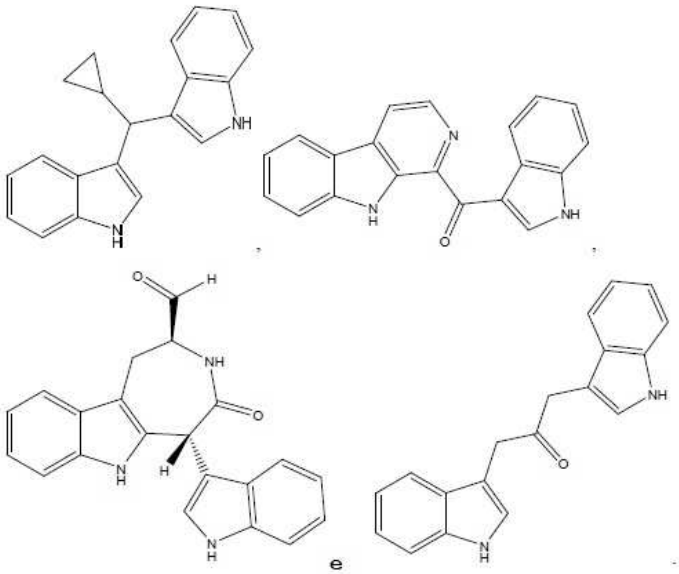
[051] Uma modalidade adicional da presente invenção é um composto para indução de apoptose de melanócitos. O composto possui a estrutura da seguinte fórmula:



em que: $R_1$, $R_4$, $R_5$, $R_6$, $R_9$ e $R_{10}$ são selecionados independentemente do grupo que consiste em hidrogênio, hidroxil, halogênio, CN, $R_{13}$, $OR_{13}$, $OCOR_{13}$ e -CHO; $R_2$ e $R_3$ são

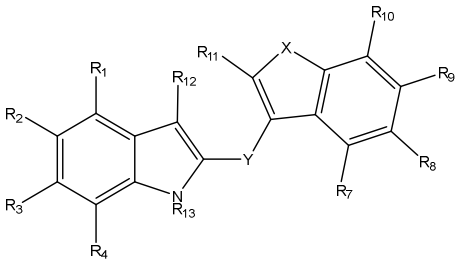
selecionados independentemente do grupo que consiste em hidrogênio, hidroxil, halogênio, CN, $R_{13}$, $OR_{13}$, $OCOR_{13}$ e -CHO, ou $R_2$ e $R_3$ combinam para formar um heterociclil de 5 ou 6 membros; $R_7$ e $R_8$ são selecionados independentemente do grupo que consiste em hidrogênio, hidroxil, halogênio, CN, $R_{13}$, $OR_{13}$, $OCOR_{13}$ e -CHO, ou $R_7$ e $R_8$ combinam para formar um heterociclil de 5 ou 6 membros; $R_{11}$ e $R_{12}$ são independentemente hidrogênio ou $R_{13}$; e, cada $R_{13}$ é independentemente $C_{1-9}$ alquil, $C_{2-9}$ alquenil ou $C_{2-9}$ alquinil; ou uma forma cristalina, hidrato ou sal cosmeticamente ou farmaceuticamente aceitável deste.

[052] Outra modalidade da presente invenção é um composto para indução de apoptose de melanócitos. O composto é selecionado do grupo que consiste em:



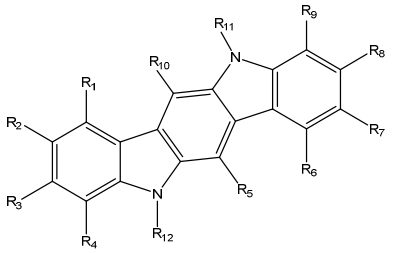
e

[053] Uma modalidade adicional da presente invenção é um composto para a modulação da atividade do receptor de aril-hidrocarboneto (AhR). O composto possui a estrutura da seguinte fórmula:



em que: X é selecionado do grupo que consiste em $NR_{14}$ e O; Y é uma ligação covalente, $CR_5R_6$, O ou $NR_{15}$; $R_1$, $R_2$, $R_3$, $R_4$, $R_7$, $R_8$, $R_9$, $R_{10}$ e $R_{11}$ são selecionados independentemente do grupo que consiste em hidrogênio, halogênio, CN, hidroxil, $R_{16}$ ou $OR_{16}$; $R_{13}$, $R_{14}$ e $R_{15}$ são independentemente hidrogênio ou $R_{16}$; $R_5$ e $R_6$ são selecionados independentemente do grupo que consiste em hidrogênio, hidroxil, $OR_{16}$, $R_{16}$ e $C_{3-6}$ cicloalquil, ou $R_5$ e $R_6$ combinam para formar um grupo oxo (=O) ou um $C_{3-6}$ cicloalquil; $R_{12}$ é selecionado do grupo que consiste em hidrogênio, $-COR^a$ e $R_{16}$; cada $R_{16}$ é independentemente formil, $C_{1-9}$ alquil, $C_{2-9}$ alquenil ou $C_{2-9}$ alquinil; e, $R^a$ é selecionado do grupo que consiste em hidrogênio, hidroxil e $OR_{16}$; ou uma forma cristalina, hidrato ou sal cosmeticamente ou farmaceuticamente aceitável deste.

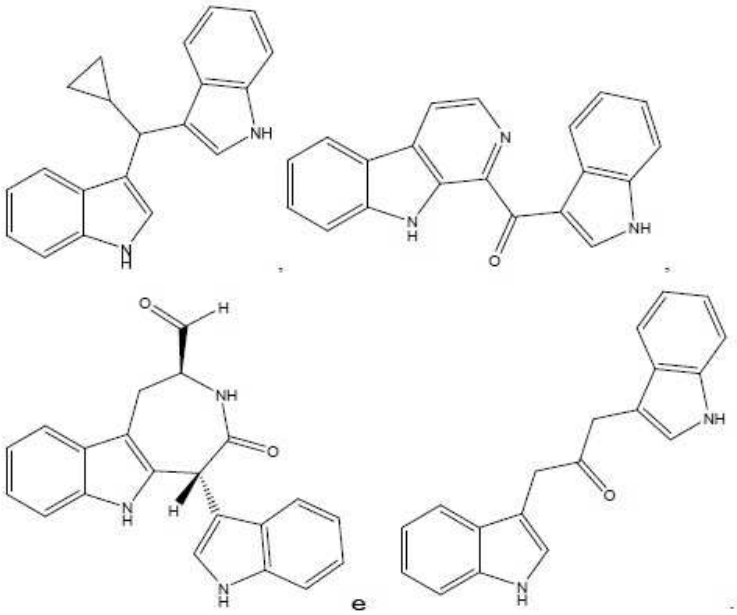
[054] Uma modalidade adicional da presente invenção é um composto para a modulação da atividade do receptor de aril-hidrocarboneto (AhR). O composto possui a estrutura da seguinte fórmula:



em que: $R_1$, $R_4$, $R_5$, $R_6$, $R_9$ e $R_{10}$ são selecionados independentemente do grupo que consiste em hidrogênio,

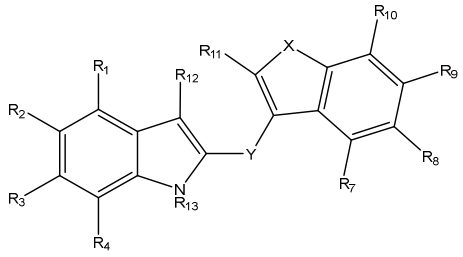
hidroxil, halogênio, CN, $R_{13}$, $OR_{13}$, $OCOR_{13}$ e -CHO; $R_2$ e $R_3$ são selecionados independentemente do grupo que consiste em hidrogênio, hidroxil, halogênio, CN, $R_{13}$, $OR_{13}$, $OCOR_{13}$ e -CHO, ou $R_2$ e $R_3$ combinam para formar um heterociclil de 5 ou 6 membros; $R_7$ e $R_8$ são selecionados independentemente do grupo que consiste em hidrogênio, hidroxil, halogênio, CN, $R_{13}$, $OR_{13}$, $OCOR_{13}$ e -CHO, ou $R_7$ e $R_8$ combinam para formar um heterociclil de 5 ou 6 membros; $R_{11}$ e $R_{12}$ são independentemente hidrogênio ou $R_{13}$; e, cada $R_{13}$ é independentemente $C_{1-9}$ alquil, $C_{2-9}$ alquenil ou $C_{2-9}$ alquinil; ou uma forma cristalina, hidrato ou sal cosmeticamente ou farmaceuticamente aceitável deste.

[055] Outra modalidade da presente invenção é um composto para a modulação da atividade do receptor de aril-hidrocarboneto (AhR). O composto é selecionado do grupo que consiste em:



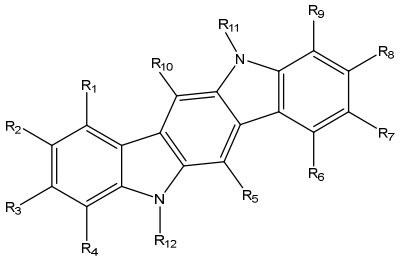
e

[056] Uma modalidade adicional da presente invenção é um composto para a modulação da melanogênese. O composto possui a estrutura da seguinte fórmula:




em que: X é selecionado do grupo que consiste em $NR_{14}$ e O; Y é uma ligação covalente, $CR_5R_6$, O ou $NR_{15}$; $R_1$, $R_2$, $R_3$, $R_4$, $R_7$, $R_8$, $R_9$, $R_{10}$ e $R_{11}$ são selecionados independentemente do grupo que consiste em hidrogênio, halogênio, CN, hidroxil, $R_{16}$ ou $OR_{16}$; $R_{13}$, $R_{14}$ e $R_{15}$ são independentemente hidrogênio ou $R_{16}$; $R_5$ e $R_6$ são selecionados independentemente do grupo que consiste em hidrogênio, hidroxil, $OR_{16}$, $R_{16}$ e $C_{3-6}$ cicloalquil, ou $R_5$ e $R_6$ combinam para formar um grupo oxo (=O) ou um $C_{3-6}$ cicloalquil; $R_{12}$ é selecionado do grupo que consiste em hidrogênio, -$COR^a$ e $R_{16}$; cada $R_{16}$ é independentemente formil, $C_{1-9}$ alquil, $C_{2-9}$ alquenil ou $C_{2-9}$ alquinil; e, $R^a$ é selecionado do grupo que consiste em hidrogênio, hidroxil e $OR_{16}$; ou uma forma cristalina, hidrato ou sal cosmeticamente ou farmaceuticamente aceitável deste.

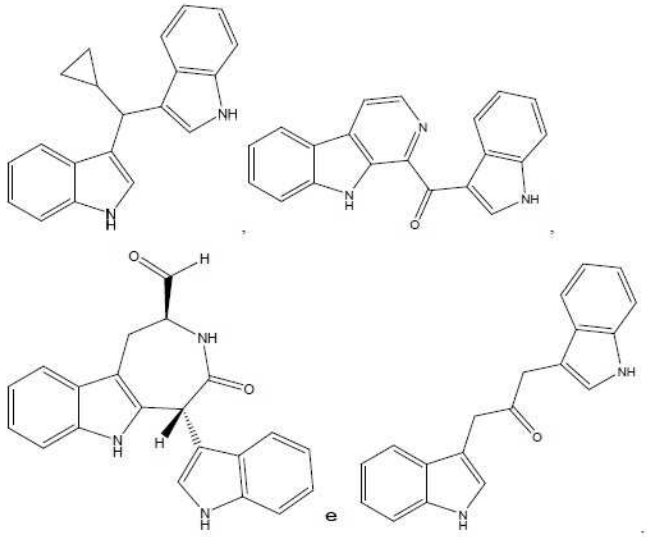
[057] Uma modalidade adicional da presente invenção é um composto para a modulação da melanogênese. O composto possui a estrutura da seguinte fórmula:




em que: $R_1$, $R_4$, $R_5$, $R_6$, $R_9$ e $R_{10}$ são selecionados independentemente do grupo que consiste em hidrogênio, hidroxil, halogênio, CN, $R_{13}$, $OR_{13}$, $OCOR_{13}$ e -CHO; $R_2$ e $R_3$ são

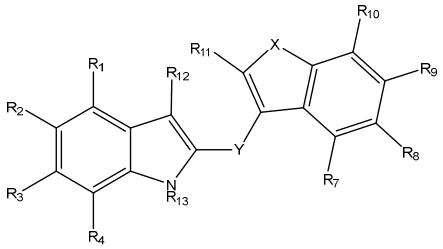
selecionados independentemente do grupo que consiste em hidrogênio, hidroxil, halogênio, CN, $R_{13}$, $OR_{13}$, $OCOR_{13}$ e -CHO, ou $R_2$ e $R_3$ combinam para formar um heterociclil de 5 ou 6 membros; $R_7$ e $R_8$ são selecionados independentemente do grupo que consiste em hidrogênio, hidroxil, halogênio, CN, $R_{13}$, $OR_{13}$, $OCOR_{13}$ e -CHO, ou $R_7$ e $R_8$ combinam para formar um heterociclil de 5 ou 6 membros; $R_{11}$ e $R_{12}$ são independentemente hidrogênio ou $R_{13}$; e, cada $R_{13}$ é independentemente $C_{1-9}$ alquil, $C_{2-9}$ alquenil ou $C_{2-9}$ alquinil; ou uma forma cristalina, hidrato ou sal cosmeticamente ou farmaceuticamente aceitável deste.

[058] Outra modalidade da presente invenção é um composto para a modulação da melanogênese. O composto é selecionado do grupo que consiste em:



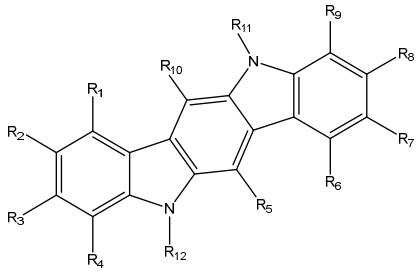
e

[059] Uma modalidade adicional da presente invenção é um composto para a modulação da concentração de melanina. O composto possui a estrutura da seguinte fórmula:



em que: X é selecionado do grupo que consiste em $NR_{14}$ e O; Y é uma ligação covalente, $CR_5R_6$, O ou $NR_{15}$; $R_1$, $R_2$, $R_3$, $R_4$, $R_7$, $R_8$, $R_9$, $R_{10}$ e $R_{11}$ são selecionados independentemente do grupo que consiste em hidrogênio, halogênio, CN, hidroxil, $R_{16}$ ou $OR_{16}$; $R_{13}$, $R_{14}$ e $R_{15}$ são independentemente hidrogênio ou $R_{16}$; $R_5$ e $R_6$ são selecionados independentemente do grupo que consiste em hidrogênio, hidroxil, $OR_{16}$, $R_{16}$ e $C_{3-6}$ cicloalquil, ou $R_5$ e $R_6$ combinam para formar um grupo oxo (=O) ou um $C_{3-6}$ cicloalquil; $R_{12}$ é selecionado do grupo que consiste em hidrogênio, -$COR^a$ e $R_{16}$; cada $R_{16}$ é independentemente formil, $C_{1-9}$ alquil, $C_{2-9}$ alquenil ou $C_{2-9}$ alquinil; e, $R^a$ é selecionado do grupo que consiste em hidrogênio, hidroxil e $OR_{16}$; ou uma forma cristalina, hidrato ou sal cosmeticamente ou farmaceuticamente aceitável deste.

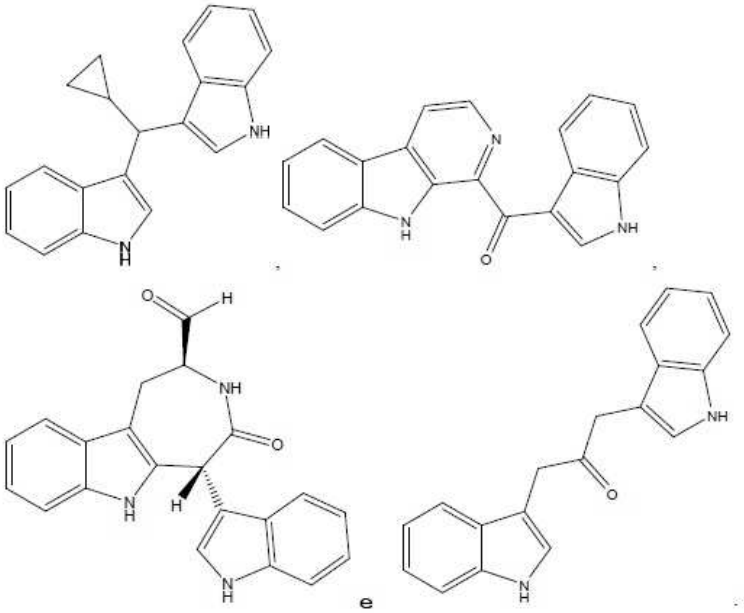
[060] Uma modalidade adicional da presente invenção é um composto para a modulação da concentração de melanina. O composto possui a estrutura da seguinte fórmula:




em que: $R_1$, $R_4$, $R_5$, $R_6$, $R_9$ e $R_{10}$ são selecionados independentemente do grupo que consiste em hidrogênio, hidroxil, halogênio, CN, $R_{13}$, $OR_{13}$, $OCOR_{13}$ e -CHO; $R_2$ e $R_3$ são selecionados independentemente do grupo que consiste em hidrogênio, hidroxil, halogênio, CN, $R_{13}$, $OR_{13}$, $OCOR_{13}$ e -CHO, ou $R_2$ e $R_3$ combinam para formar um heterociclil de 5 ou 6 membros; $R_7$ e $R_8$ são selecionados independentemente do grupo que consiste em hidrogênio, hidroxil, halogênio, CN, $R_{13}$,

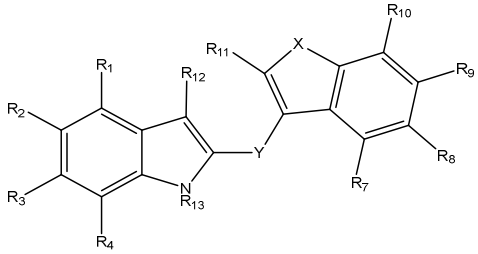
$OR_{13}$, $OCOR_{13}$ e -CHO, ou $R_7$ e $R_8$ combinam para formar um heterociclil de 5 ou 6 membros; $R_{11}$ e $R_{12}$ são independentemente hidrogênio ou $R_{13}$; e, cada $R_{13}$ é independentemente $C_{1-9}$ alquil, $C_{2-9}$ alquenil ou $C_{2-9}$ alquinil; ou uma forma cristalina, hidrato ou sal cosmeticamente ou farmaceuticamente aceitável deste.

[061] Outra modalidade da presente invenção é um composto para a modulação da concentração de melanina. O composto é selecionado do grupo que consiste em:



e

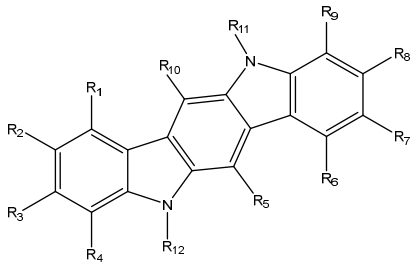
[062] Uma modalidade adicional da presente invenção é uma composição. A composição compreende um composto que possui a estrutura da seguinte fórmula:



em que: X é selecionado do grupo que consiste em $NR_{14}$ e O; Y é uma ligação covalente, $CR_5R_6$, O ou $NR_{15}$; $R_1$, $R_2$, $R_3$, $R_4$, $R_7$, $R_8$, $R_9$, $R_{10}$ e $R_{11}$ são selecionados independentemente do

grupo que consiste em hidrogênio, halogênio, CN, hidroxil, $R_{16}$ ou $OR_{16}$; $R_{13}$, $R_{14}$ e $R_{15}$ são independentemente hidrogênio ou $R_{16}$; $R_5$ e $R_6$ são selecionados independentemente do grupo que consiste em hidrogênio, hidroxil, $OR_{16}$, $R_{16}$ e $C_{3-6}$ cicloalquil, ou $R_5$ e $R_6$ combinam para formar um grupo oxo (=O) ou um $C_{3-6}$ cicloalquil; $R_{12}$ é selecionado do grupo que consiste em hidrogênio, -$COR^a$ e $R_{16}$; cada $R_{16}$ é independentemente formil, $C_{1-9}$ alquil, $C_{2-9}$ alquenil ou $C_{2-9}$ alquinil; e, $R^a$ é selecionado do grupo que consiste em hidrogênio, hidroxil e $OR_{16}$; ou uma forma cristalina, hidrato ou sal cosmeticamente ou farmaceuticamente aceitável deste.

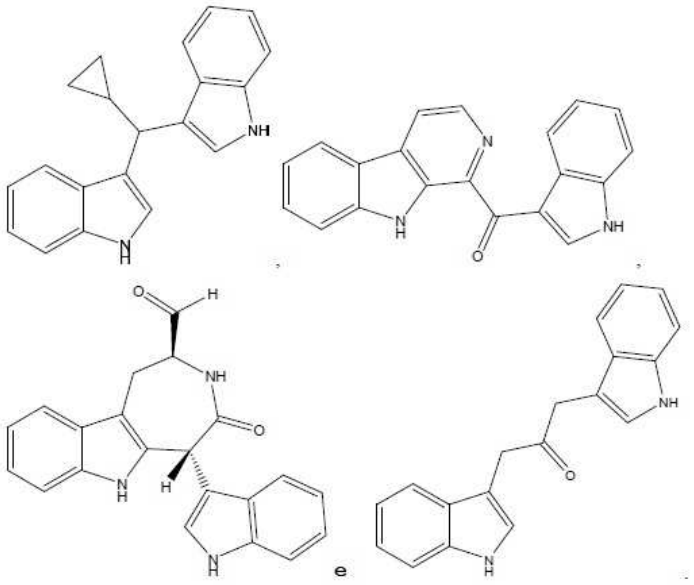
[063] Uma modalidade adicional da presente invenção é uma composição. A composição compreende um composto que possui a estrutura da seguinte fórmula:




em que: $R_1$, $R_4$, $R_5$, $R_6$, $R_9$ e $R_{10}$ são selecionados independentemente do grupo que consiste em hidrogênio, hidroxil, halogênio, CN, $R_{13}$, $OR_{13}$, $OCOR_{13}$ e -CHO; $R_2$ e $R_3$ são selecionados independentemente do grupo que consiste em hidrogênio, hidroxil, halogênio, CN, $R_{13}$, $OR_{13}$, $OCOR_{13}$ e -CHO, ou $R_2$ e $R_3$ combinam para formar um heterociclil de 5 ou 6 membros; $R_7$ e $R_8$ são selecionados independentemente do grupo que consiste em hidrogênio, hidroxil, halogênio, CN, $R_{13}$, $OR_{13}$, $OCOR_{13}$ e -CHO, ou $R_7$ e $R_8$ combinam para formar um heterociclil de 5 ou 6 membros; $R_{11}$ e $R_{12}$ são independentemente hidrogênio ou $R_{13}$; e, cada $R_{13}$ é

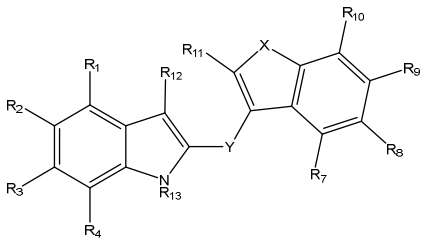
independentemente $C_{1-9}$ alquil, $C_{2-9}$ alquenil ou $C_{2-9}$ alquinil; ou uma forma cristalina, hidrato ou sal cosmeticamente ou farmaceuticamente aceitável deste.

[064] Outra modalidade da presente invenção é uma composição. A composição compreende um composto selecionado do grupo que consiste em:



e

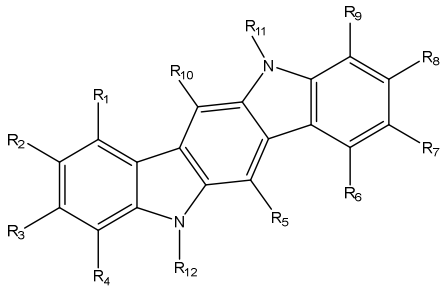
[065] Uma modalidade adicional da presente invenção é um método para clareamento da pele em um indivíduo. O método compreende o contato do indivíduo com um composto que possui a estrutura da seguinte fórmula:



em que: X é selecionado do grupo que consiste em $NR_{14}$ e O; Y é uma ligação covalente, $CR_5R_6$, O ou $NR_{15}$; $R_1$, $R_2$, $R_3$, $R_4$, $R_7$, $R_8$, $R_9$, $R_{10}$ e $R_{11}$ são selecionados independentemente do grupo que consiste em hidrogênio, halogênio, CN, hidroxil, $R_{16}$ ou $OR_{16}$; $R_{13}$, $R_{14}$ e $R_{15}$ são independentemente hidrogênio ou

$R_{16}$; $R_5$ e $R_6$ são selecionados independentemente do grupo que consiste em hidrogênio, hidroxil, $OR_{16}$, $R_{16}$ e $C_{3-6}$ cicloalquil, ou $R_5$ e $R_6$ combinam para formar um grupo oxo (=O) ou um $C_{3-6}$ cicloalquil; $R_{12}$ é selecionado do grupo que consiste em hidrogênio, -$COR^a$ e $R_{16}$; cada $R_{16}$ é independentemente formil, $C_{1-9}$ alquil, $C_{2-9}$ alquenil ou $C_{2-9}$ alquinil; e, $R^a$ é selecionado do grupo que consiste em hidrogênio, hidroxil e $OR_{16}$; ou uma forma cristalina, hidrato ou sal cosmeticamente ou farmaceuticamente aceitável deste.

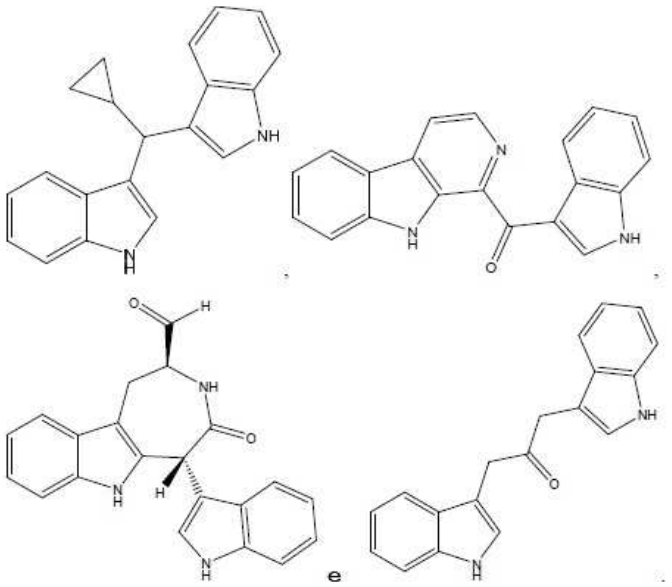
[066] Uma modalidade adicional da presente invenção é um método para clareamento da pele em um indivíduo. O método compreende o contato do indivíduo com um composto que possui a estrutura da seguinte fórmula:




em que: $R_1$, $R_4$, $R_5$, $R_6$, $R_9$ e $R_{10}$ são selecionados independentemente do grupo que consiste em hidrogênio, hidroxil, halogênio, CN, $R_{13}$, $OR_{13}$, $OCOR_{13}$ e -CHO; $R_2$ e $R_3$ são selecionados independentemente do grupo que consiste em hidrogênio, hidroxil, halogênio, CN, $R_{13}$, $OR_{13}$, $OCOR_{13}$ e -CHO, ou $R_2$ e $R_3$ combinam para formar um heterociclil de 5 ou 6 membros; $R_7$ e $R_8$ são selecionados independentemente do grupo que consiste em hidrogênio, hidroxil, halogênio, CN, $R_{13}$, $OR_{13}$, $OCOR_{13}$ e -CHO, ou $R_7$ e $R_8$ combinam para formar um heterociclil de 5 ou 6 membros; $R_{11}$ e $R_{12}$ são independentemente hidrogênio ou $R_{13}$; e, cada $R_{13}$ é independentemente $C_{1-9}$ alquil, $C_{2-9}$ alquenil ou $C_{2-9}$ alquinil;

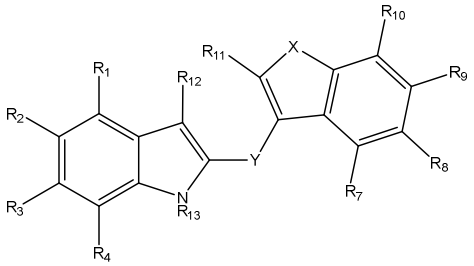
ou uma forma cristalina, hidrato ou sal cosmeticamente ou farmaceuticamente aceitável deste.

[067] Outra modalidade da presente invenção é um método para clareamento da pele em um indivíduo. O método compreende o contato do indivíduo com um composto selecionado do grupo que consiste em:



e

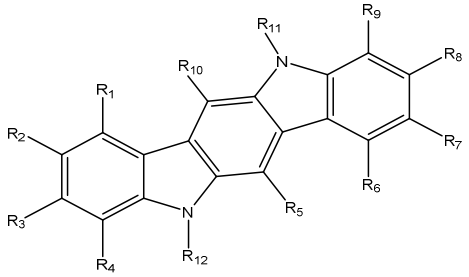
[068] Uma modalidade adicional da presente invenção é um método para indução de apoptose de melanócitos em um indivíduo. O método compreende o contato do indivíduo com um composto que possui a estrutura da seguinte fórmula:



em que: X é selecionado do grupo que consiste em $NR_{14}$ e O; Y é uma ligação covalente, $CR_5R_6$, O ou $NR_{15}$; $R_1$, $R_2$, $R_3$, $R_4$, $R_7$, $R_8$, $R_9$, $R_{10}$ e $R_{11}$ são selecionados independentemente do grupo que consiste em hidrogênio, halogênio, CN, hidroxil, $R_{16}$ ou $OR_{16}$; $R_{13}$, $R_{14}$ e $R_{15}$ são independentemente hidrogênio ou

$R_{16}$; $R_5$ e $R_6$ são selecionados independentemente do grupo que consiste em hidrogênio, hidroxil, $OR_{16}$, $R_{16}$ e $C_{3-6}$ cicloalquil, ou $R_5$ e $R_6$ combinam para formar um grupo oxo (=O) ou um $C_{3-6}$ cicloalquil; $R_{12}$ é selecionado do grupo que consiste em hidrogênio, -$COR^a$ e $R_{16}$; cada $R_{16}$ é independentemente formil, $C_{1-9}$ alquil, $C_{2-9}$ alquenil ou $C_{2-9}$ alquinil; e, $R^a$ é selecionado do grupo que consiste em hidrogênio, hidroxil e $OR_{16}$; ou uma forma cristalina, hidrato ou sal cosmeticamente ou farmaceuticamente aceitável deste.

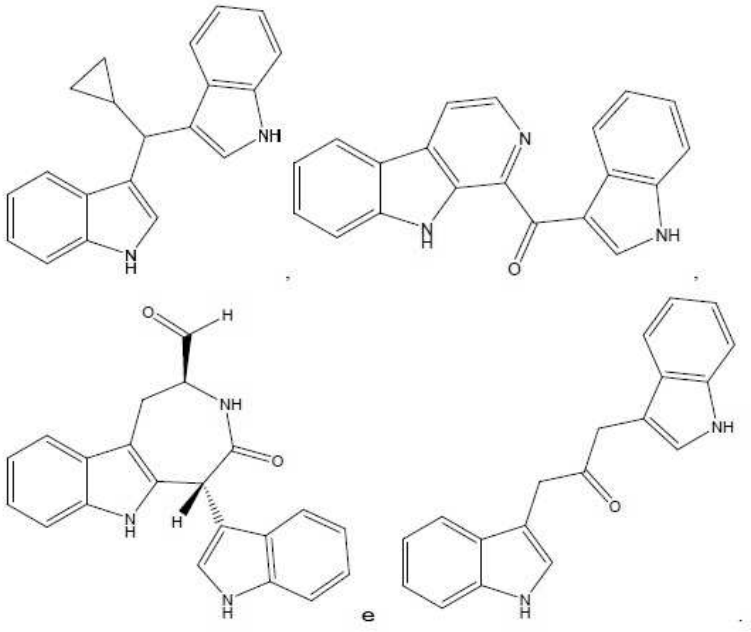
[069] Uma modalidade adicional da presente invenção é um método para indução de apoptose de melanócitos em um indivíduo. O método compreende o contato do indivíduo com um composto que possui a estrutura da seguinte fórmula:



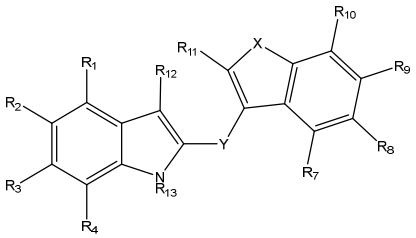

em que: $R_1$, $R_4$, $R_5$, $R_6$, $R_9$ e $R_{10}$ são selecionados independentemente do grupo que consiste em hidrogênio, hidroxil, halogênio, CN, $R_{13}$, $OR_{13}$, $OCOR_{13}$ e -CHO; $R_2$ e $R_3$ são selecionados independentemente do grupo que consiste em hidrogênio, hidroxil, halogênio, CN, $R_{13}$, $OR_{13}$, $OCOR_{13}$ e -CHO, ou $R_2$ e $R_3$ combinam para formar um heterociclil de 5 ou 6 membros; $R_7$ e $R_8$ são selecionados independentemente do grupo que consiste em hidrogênio, hidroxil, halogênio, CN, $R_{13}$, $OR_{13}$, $OCOR_{13}$ e -CHO, ou $R_7$ e $R_8$ combinam para formar um heterociclil de 5 ou 6 membros; $R_{11}$ e $R_{12}$ são independentemente hidrogênio ou $R_{13}$; e, cada $R_{13}$ é independentemente $C_{1-9}$ alquil, $C_{2-9}$ alquenil ou $C_{2-9}$ alquinil;

ou uma forma cristalina, hidrato ou sal cosmeticamente ou farmaceuticamente aceitável deste.

[070] Outra modalidade da presente invenção é um método para indução de apoptose de melanócitos em um indivíduo. O método compreende o contato do indivíduo com um composto selecionado do grupo que consiste em:



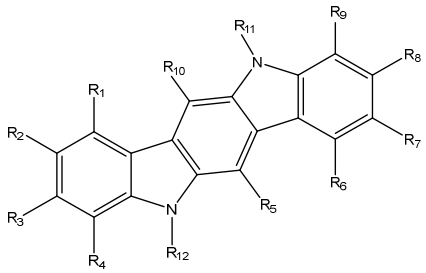
[071] Uma modalidade adicional da presente invenção é um método para a modulação da atividade do receptor de aril-hidrocarboneto (AhR) em um indivíduo. O método compreende o contato do indivíduo com um composto que possui a estrutura da seguinte fórmula:



em que: X é selecionado do grupo que consiste em $NR_{14}$ e O; Y é uma ligação covalente, $CR_5R_6$, O ou $NR_{15}$; $R_1$, $R_2$, $R_3$, $R_4$, $R_7$, $R_8$, $R_9$, $R_{10}$ e $R_{11}$ são selecionados independentemente do grupo que consiste em hidrogênio, halogênio, CN, hidroxil,

$R_{16}$ ou $OR_{16}$; $R_{13}$, $R_{14}$ e $R_{15}$ são independentemente hidrogênio ou $R_{16}$; $R_5$ e $R_6$ são selecionados independentemente do grupo que consiste em hidrogênio, hidroxil, $OR_{16}$, $R_{16}$ e $C_{3-6}$ cicloalquil, ou $R_5$ e $R_6$ combinam para formar um grupo oxo (=O) ou um $C_{3-6}$ cicloalquil; $R_{12}$ é selecionado do grupo que consiste em hidrogênio, -$COR^a$ e $R_{16}$; cada $R_{16}$ é independentemente formil, $C_{1-9}$ alquil, $C_{2-9}$ alquenil ou $C_{2-9}$ alquinil; e, $R^a$ é selecionado do grupo que consiste em hidrogênio, hidroxil e $OR_{16}$; ou uma forma cristalina, hidrato ou sal cosmeticamente ou farmaceuticamente aceitável deste.

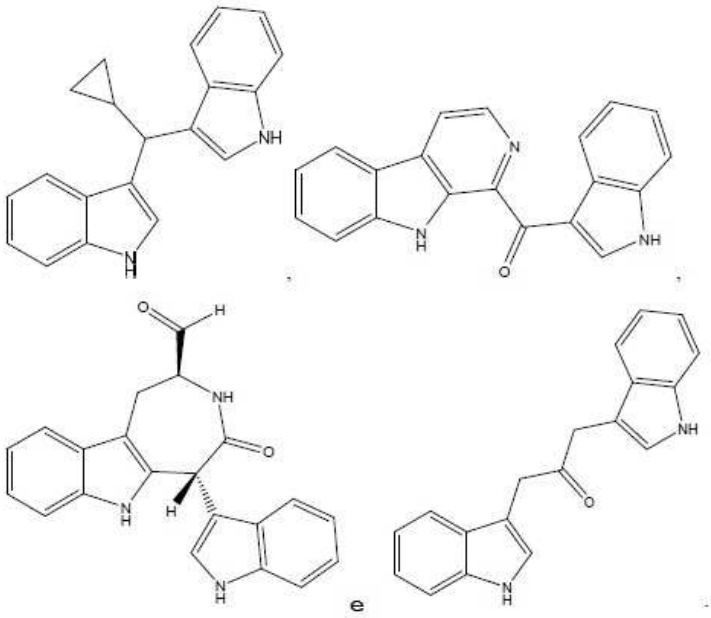
[072] Uma modalidade adicional da presente invenção é um método para a modulação da atividade do receptor de aril-hidrocarboneto (AhR) em um indivíduo. O método compreende o contato do indivíduo com um composto que possui a estrutura da seguinte fórmula:




em que: $R_1$, $R_4$, $R_5$, $R_6$, $R_9$ e $R_{10}$ são selecionados independentemente do grupo que consiste em hidrogênio, hidroxil, halogênio, CN, $R_{13}$, $OR_{13}$, $OCOR_{13}$ e -CHO; $R_2$ e $R_3$ são selecionados independentemente do grupo que consiste em hidrogênio, hidroxil, halogênio, CN, $R_{13}$, $OR_{13}$, $OCOR_{13}$ e -CHO, ou $R_2$ e $R_3$ combinam para formar um heterociclil de 5 ou 6 membros; $R_7$ e $R_8$ são selecionados independentemente do grupo que consiste em hidrogênio, hidroxil, halogênio, CN, $R_{13}$, $OR_{13}$, $OCOR_{13}$ e -CHO, ou $R_7$ e $R_8$ combinam para formar um heterociclil de 5 ou 6 membros; $R_{11}$ e $R_{12}$ são

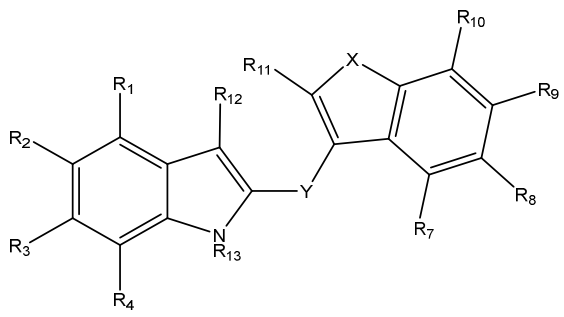
independentemente hidrogênio ou $R_{13}$; e, cada $R_{13}$ é independentemente $C_{1-9}$ alquil, $C_{2-9}$ alquenil ou $C_{2-9}$ alquinil; ou uma forma cristalina, hidrato ou sal cosmeticamente ou farmaceuticamente aceitável deste.

[073] Outra modalidade da presente invenção é um método para a modulação da atividade do receptor de aril-hidrocarboneto (AhR) em um indivíduo. O método compreende o contato do indivíduo com um composto selecionado do grupo que consiste em:



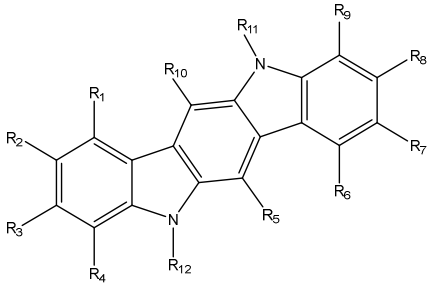
e

[074] Uma modalidade adicional da presente invenção é um método para a modulação da melanogênese em um indivíduo. O método compreende o contato do indivíduo com um composto que possui a estrutura da seguinte fórmula:



em que: X é selecionado do grupo que consiste em $NR_{14}$ e O; Y é uma ligação covalente, $CR_5R_6$, O ou $NR_{15}$; $R_1$, $R_2$, $R_3$, $R_4$, $R_7$, $R_8$, $R_9$, $R_{10}$ e $R_{11}$ são selecionados independentemente do grupo que consiste em hidrogênio, halogênio, CN, hidroxil, $R_{16}$ ou $OR_{16}$; $R_{13}$, $R_{14}$ e $R_{15}$ são independentemente hidrogênio ou $R_{16}$; $R_5$ e $R_6$ são selecionados independentemente do grupo que consiste em hidrogênio, hidroxil, $OR_{16}$, $R_{16}$ e $C_{3-6}$ cicloalquil, ou $R_5$ e $R_6$ combinam para formar um grupo oxo (=O) ou um $C_{3-6}$ cicloalquil; $R_{12}$ é selecionado do grupo que consiste em hidrogênio, $-COR^a$ e $R_{16}$; cada $R_{16}$ é independentemente formil, $C_{1-9}$ alquil, $C_{2-9}$ alquenil ou $C_{2-9}$ alquinil; e, $R^a$ é selecionado do grupo que consiste em hidrogênio, hidroxil e $OR_{16}$; ou uma forma cristalina, hidrato ou sal cosmeticamente ou farmaceuticamente aceitável deste.

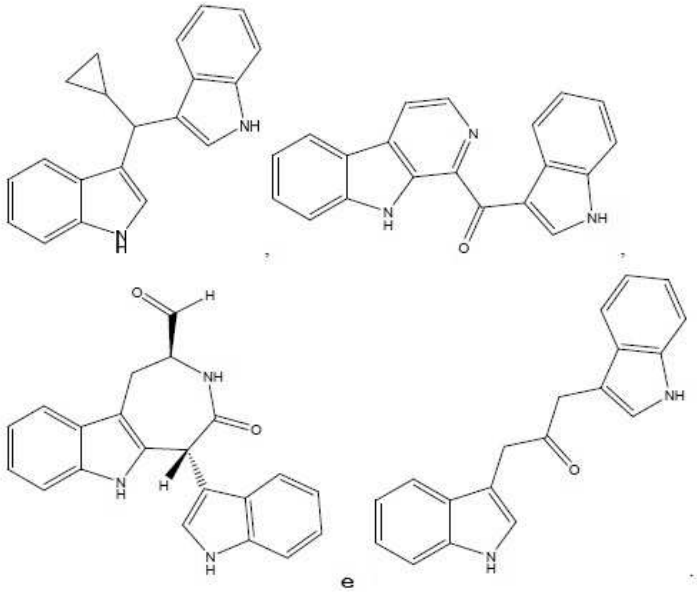
[075] Uma modalidade adicional da presente invenção é um método para a modulação da melanogênese em um indivíduo. O método compreende o contato do indivíduo com um composto que possui a estrutura da seguinte fórmula:




em que: $R_1$, $R_4$, $R_5$, $R_6$, $R_9$ e $R_{10}$ são selecionados independentemente do grupo que consiste em hidrogênio, hidroxil, halogênio, CN, $R_{13}$, $OR_{13}$, $OCOR_{13}$ e -CHO; $R_2$ e $R_3$ são selecionados independentemente do grupo que consiste em hidrogênio, hidroxil, halogênio, CN, $R_{13}$, $OR_{13}$, $OCOR_{13}$ e -CHO, ou $R_2$ e $R_3$ combinam para formar um heterociclil de 5 ou 6 membros; $R_7$ e $R_8$ são selecionados independentemente do grupo

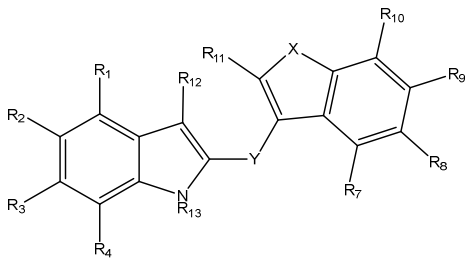
que consiste em hidrogênio, hidroxil, halogênio, CN, $R_{13}$, $OR_{13}$, $OCOR_{13}$ e -CHO, ou $R_7$ e $R_8$ combinam para formar um heterociclil de 5 ou 6 membros; $R_{11}$ e $R_{12}$ são independentemente hidrogênio ou $R_{13}$; e, cada $R_{13}$ é independentemente $C_{1-9}$ alquil, $C_{2-9}$ alquenil ou $C_{2-9}$ alquinil; ou uma forma cristalina, hidrato ou sal cosmeticamente ou farmaceuticamente aceitável deste.

[076] Outra modalidade da presente invenção é um método para a modulação da melanogênese em um indivíduo. O método compreende o contato do indivíduo com um composto selecionado do grupo que consiste em:



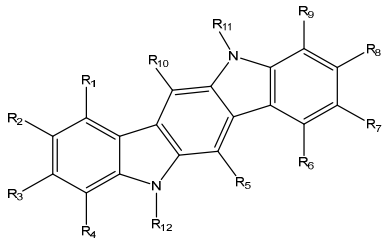
e

[077] Uma modalidade adicional da presente invenção é um método para a modulação da concentração de melanina em um indivíduo. O método compreende o contato do indivíduo com um composto que possui a estrutura da seguinte fórmula:



em que: X é selecionado do grupo que consiste em $NR_{14}$ e O; Y é uma ligação covalente, $CR_5R_6$, O ou $NR_{15}$; $R_1$, $R_2$, $R_3$, $R_4$, $R_7$, $R_8$, $R_9$, $R_{10}$ e $R_{11}$ são selecionados independentemente do grupo que consiste em hidrogênio, halogênio, CN, hidroxil, $R_{16}$ ou $OR_{16}$; $R_{13}$, $R_{14}$ e $R_{15}$ são independentemente hidrogênio ou $R_{16}$; $R_5$ e $R_6$ são selecionados independentemente do grupo que consiste em hidrogênio, hidroxil, $OR_{16}$, $R_{16}$ e $C_{3-6}$ cicloalquil, ou $R_5$ e $R_6$ combinam para formar um grupo oxo (=O) ou um $C_{3-6}$ cicloalquil; $R_{12}$ é selecionado do grupo que consiste em hidrogênio, -$COR^a$ e $R_{16}$; cada $R_{16}$ é independentemente formil, $C_{1-9}$ alquil, $C_{2-9}$ alquenil ou $C_{2-9}$ alquinil; e, $R^a$ é selecionado do grupo que consiste em hidrogênio, hidroxil e $OR_{16}$; ou uma forma cristalina, hidrato ou sal cosmeticamente ou farmaceuticamente aceitável deste.

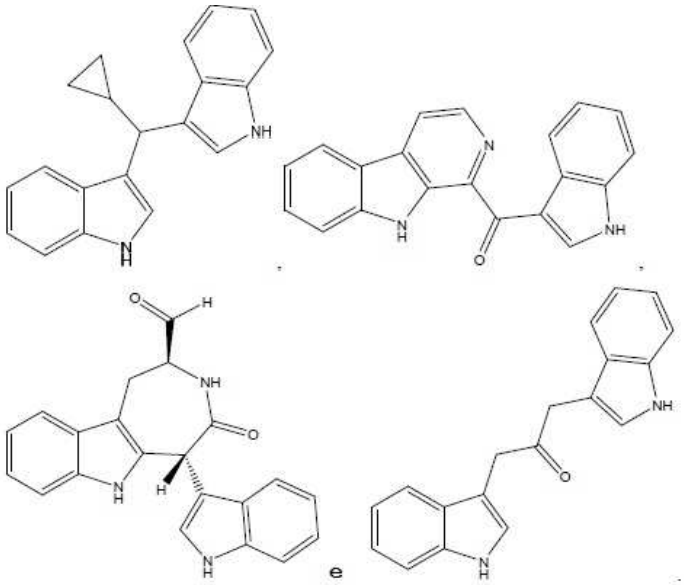
[078] Uma modalidade adicional da presente invenção é um método para a modulação da concentração de melanina em um indivíduo. O método compreende o contato do indivíduo com um composto que possui a estrutura da seguinte fórmula:




em que: $R_1$, $R_4$, $R_5$, $R_6$, $R_9$ e $R_{10}$ são selecionados independentemente do grupo que consiste em hidrogênio, hidroxil, halogênio, CN, $R_{13}$, $OR_{13}$, $OCOR_{13}$ e -CHO; $R_2$ e $R_3$ são selecionados independentemente do grupo que consiste em hidrogênio, hidroxil, halogênio, CN, $R_{13}$, $OR_{13}$, $OCOR_{13}$ e -CHO, ou $R_2$ e $R_3$ combinam para formar um heterociclil de 5 ou 6 membros; $R_7$ e $R_8$ são selecionados independentemente do grupo que consiste em hidrogênio, hidroxil, halogênio, CN, $R_{13}$,

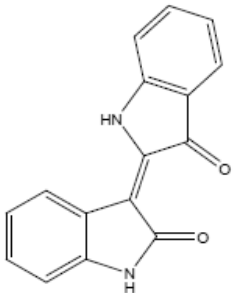
$OR_{13}$, $OCOR_{13}$ e -CHO, ou $R_7$ e $R_8$ combinam para formar um heterociclil de 5 ou 6 membros; $R_{11}$ e $R_{12}$ são independentemente hidrogênio ou $R_{13}$; e, cada $R_{13}$ é independentemente $C_{1-9}$ alquil, $C_{2-9}$ alquenil ou $C_{2-9}$ alquinil; ou uma forma cristalina, hidrato ou sal cosmeticamente ou farmaceuticamente aceitável deste.

[079] Outra modalidade da presente invenção é um método para a modulação da concentração de melanina em um indivíduo. O método compreende o contato do indivíduo com um composto selecionado do grupo que consiste em:



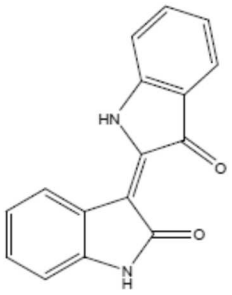
e

[080] Uma modalidade da presente invenção é um composto para clareamento da pele. O composto possui a estrutura da seguinte fórmula:



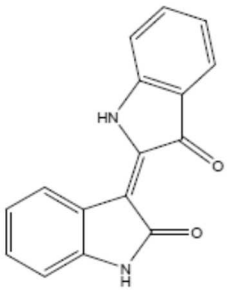
ou um análogo químico, forma cristalina, hidrato, ou sal farmaceuticamente ou cosmeticamente aceitável deste.

[081] Outra modalidade da presente invenção é um composto para indução de apoptose de melanócitos. O composto possui a estrutura da seguinte fórmula:



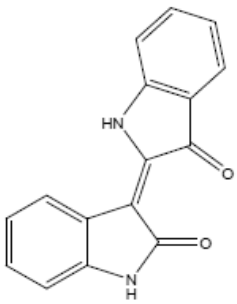

ou um análogo químico, forma cristalina, hidrato, ou sal farmaceuticamente ou cosmeticamente aceitável deste.

[082] Uma modalidade adicional da presente invenção é um composto para a modulação da atividade do receptor de aril-hidrocarboneto (AhR). O composto possui a estrutura da seguinte fórmula:



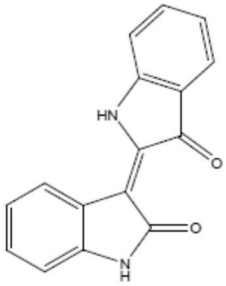

ou um análogo químico, forma cristalina, hidrato, ou sal farmaceuticamente ou cosmeticamente aceitável deste.

[083] Uma modalidade adicional da presente invenção é um composto para a modulação da melanogênese. O composto possui a estrutura da seguinte fórmula:



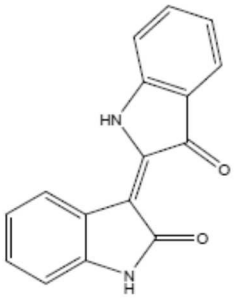
ou um análogo químico, forma cristalina, hidrato, ou sal farmaceuticamente ou cosmeticamente aceitável deste.

[084] Outra modalidade da presente invenção é um composto para a modulação da concentração de melanina. O composto possui a estrutura da seguinte fórmula:



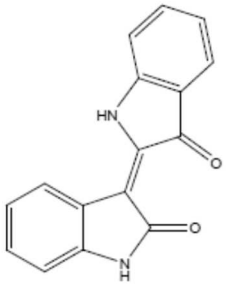

ou um análogo químico, forma cristalina, hidrato, ou sal farmaceuticamente ou cosmeticamente aceitável deste.

[085] Uma modalidade adicional da presente invenção é uma composição que compreende um composto. O composto possui a estrutura da seguinte fórmula:



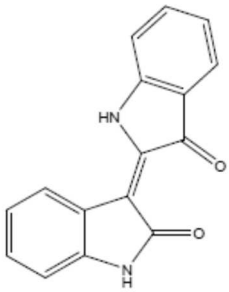

ou um análogo químico, forma cristalina, hidrato, ou sal farmaceuticamente ou cosmeticamente aceitável deste.

[086] Uma modalidade adicional da presente invenção é um método para clareamento da pele em um indivíduo. O método compreende o contato do indivíduo com um composto, o composto possuindo a estrutura da seguinte fórmula:



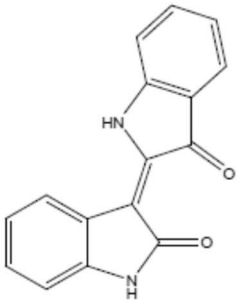
ou um análogo químico, forma cristalina, hidrato, ou sal farmaceuticamente ou cosmeticamente aceitável deste.

[087] Outra modalidade da presente invenção é um método para indução de apoptose de melanócitos em um indivíduo. O método compreende o contato do indivíduo com um composto, o composto possuindo a estrutura da seguinte fórmula:



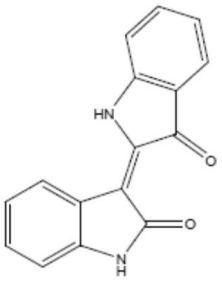
ou um análogo químico, forma cristalina, hidrato, ou sal farmaceuticamente ou cosmeticamente aceitável deste.

[088] Uma modalidade adicional da presente invenção é um método para a modulação da atividade do receptor de aril-hidrocarboneto (AhR) em um indivíduo. O método compreende o contato do indivíduo com um composto, o composto possuindo a estrutura da seguinte fórmula:



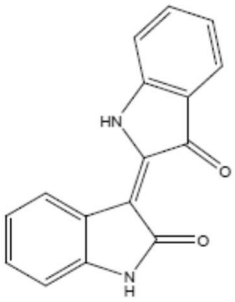
ou um análogo químico, forma cristalina, hidrato, ou sal farmaceuticamente ou cosmeticamente aceitável deste.

[089] Uma modalidade adicional da presente invenção é um método para a modulação da melanogênese em um indivíduo. O método compreende o contato do indivíduo com um composto, o composto possuindo a estrutura da seguinte fórmula:




ou um análogo químico, forma cristalina, hidrato, ou sal farmaceuticamente ou cosmeticamente aceitável deste.

[090] Outra modalidade da presente invenção é um método para a modulação da concentração de melanina em um indivíduo. O método compreende o contato do indivíduo com um composto, o composto possuindo a estrutura da seguinte fórmula:




ou um análogo químico, forma cristalina, hidrato, ou sal farmaceuticamente ou cosmeticamente aceitável deste.

[091] Uma modalidade adicional da presente invenção é uma composição. A composição compreende um ou mais dos compostos listados na Tabela 5 ou Fig. 130, ou um análogo químico, forma cristalina, hidrato, ou sal farmaceuticamente ou cosmeticamente aceitável destes.

[092] Uma modalidade adicional da presente invenção é um método para clareamento da pele em um indivíduo. O método compreende o contato do indivíduo com um ou mais dos

compostos listados na Tabela 5 ou Fig. 130, ou um análogo químico, forma cristalina, hidrato, ou sal farmaceuticamente ou cosmeticamente aceitável destes.

[093] Outra modalidade da presente invenção é um método para indução de apoptose de melanócitos em um indivíduo. O método compreende o contato do indivíduo com um ou mais dos compostos listados na Tabela 5 ou Fig. 130, ou um análogo químico, forma cristalina, hidrato, ou sal farmaceuticamente ou cosmeticamente aceitável destes.

[094] Uma modalidade adicional da presente invenção é um método para a modulação da atividade do receptor de aril-hidrocarboneto (AhR) em um indivíduo. O método compreende o contato do indivíduo com um ou mais dos compostos listados na Tabela 5 ou Fig. 130, ou um análogo químico, forma cristalina, hidrato, ou sal farmaceuticamente ou cosmeticamente aceitável destes.

[095] Uma modalidade adicional da presente invenção é um método para a modulação da melanogênese em um indivíduo. O método compreende o contato do indivíduo com um ou mais dos compostos listados na Tabela 5 ou Fig. 130, ou um análogo químico, forma cristalina, hidrato, ou sal farmaceuticamente ou cosmeticamente aceitável destes.

[096] Outra modalidade da presente invenção é um método para a modulação da concentração de melanina em um indivíduo. O método compreende o contato do indivíduo com um ou mais dos compostos listados na Tabela 5 ou Fig. 130, ou um análogo químico, forma cristalina, hidrato, ou sal farmaceuticamente ou cosmeticamente aceitável destes.

[097] Uma modalidade adicional da presente invenção é uma composição. A composição compreende um ou mais dos

compostos listados na Tabela 5 ou Fig. 130, ou um análogo químico, forma cristalina, hidrato, ou sal farmaceuticamente ou cosmeticamente aceitável destes.

[098] Uma modalidade adicional da presente invenção é uma composição para clareamento da pele. A composição compreende um ou mais dos compostos listados na Tabela 5 ou Fig. 130, ou um análogo químico, forma cristalina, hidrato, ou sal farmaceuticamente ou cosmeticamente aceitável destes.

[099] Outra modalidade da presente invenção é uma composição para indução de apoptose de melanócitos. A composição compreende um ou mais dos compostos listados na Tabela 5 ou Fig. 130, ou um análogo químico, forma cristalina, hidrato, ou sal farmaceuticamente ou cosmeticamente aceitável destes.

[100] Uma modalidade adicional da presente invenção é uma composição para a modulação da atividade do receptor de aril-hidrocarboneto (AhR). A composição compreende um ou mais dos compostos listados na Tabela 5 ou Fig. 130, ou um análogo químico, forma cristalina, hidrato, ou sal farmaceuticamente ou cosmeticamente aceitável destes.

[101] Uma modalidade adicional da presente invenção é uma composição para a modulação da melanogênese. A composição compreende um ou mais dos compostos listados na Tabela 5 ou Fig. 130, ou um análogo químico, forma cristalina, hidrato, ou sal farmaceuticamente ou cosmeticamente aceitável destes.

[102] Outra modalidade da presente invenção é uma composição para a modulação da concentração de melanina. A composição compreende um ou mais dos compostos listados na Tabela 5 ou Fig. 130, ou um análogo químico, forma cristalina, hidrato, ou sal farmaceuticamente ou

cosmeticamente aceitável destes.

[103] Uma modalidade adicional da presente invenção é um método para clareamento da pele em um indivíduo. O método compreende o contato do indivíduo com uma composição, a composição compreendendo um ou mais dos compostos listados na Tabela 5 ou Fig. 130, ou um análogo químico, forma cristalina, hidrato, ou sal farmaceuticamente ou cosmeticamente aceitável destes.

[104] Uma modalidade adicional da presente invenção é um método para indução de apoptose de melanócitos em um indivíduo. O método compreende o contato do indivíduo com uma composição, a composição compreendendo um ou mais dos compostos listados na Tabela 5 ou Fig. 130, ou um análogo químico, forma cristalina, hidrato, ou sal farmaceuticamente ou cosmeticamente aceitável destes.

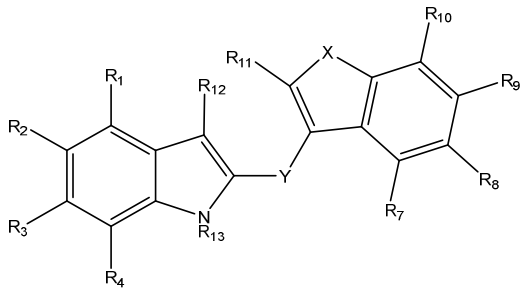
[105] Outra modalidade da presente invenção é um método para a modulação da atividade do receptor de aril-hidrocarboneto (AhR) em um indivíduo. O método compreende o contato do indivíduo com uma composição, a composição compreendendo um ou mais dos compostos listados na Tabela 5 ou Fig. 130, ou um análogo químico, forma cristalina, hidrato, ou sal farmaceuticamente ou cosmeticamente aceitável destes.

[106] Uma modalidade adicional da presente invenção é um método para a modulação da melanogênese em um indivíduo. O método compreende o contato do indivíduo com uma composição, a composição compreendendo um ou mais dos compostos listados na Tabela 5 ou Fig. 130, ou um análogo químico, forma cristalina, hidrato, ou sal farmaceuticamente ou cosmeticamente aceitável destes.

[107] Uma modalidade adicional da presente invenção é um método para a modulação da concentração de melanina em um indivíduo. O método compreende o contato do indivíduo com uma composição, a composição compreendendo um ou mais dos compostos listados na Tabela 5 ou Fig. 130, ou um análogo químico, forma cristalina, hidrato, ou sal farmaceuticamente ou cosmeticamente aceitável destes.

[108] Outra modalidade da presente invenção é uma composição. A composição compreende uma levedura *Malassezia* e um veículo, diluente ou carreador cosmeticamente ou farmaceuticamente aceitável.

[109] Uma modalidade adicional da presente invenção é uma composição. A composição compreende um composto que possui a estrutura da seguinte fórmula:




em que:

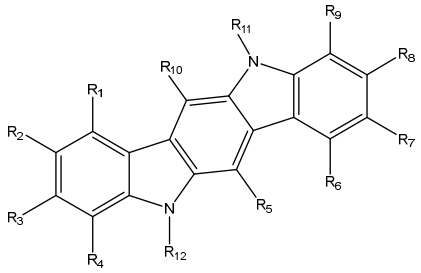
X é selecionado do grupo que consiste em $NR_{14}$ e O; Y é uma ligação covalente, $CR_5R_6$, O ou $NR_{15}$; $R_1$, $R_2$, $R_3$, $R_4$, $R_7$, $R_8$, $R_9$, $R_{10}$ e $R_{11}$ são selecionados independentemente do grupo que consiste em hidrogênio, halogênio, CN, hidroxil, $R_{16}$ ou $OR_{16}$; $R_{13}$, $R_{14}$ e $R_{15}$ são independentemente hidrogênio ou $R_{16}$; $R_5$ e $R_6$ são selecionados independentemente do grupo que consiste em hidrogênio, hidroxil, $OR_{16}$, $R_{16}$ e $C_{3-6}$ cicloalquil, ou $R_5$ e $R_6$ combinam para formar um grupo oxo (=O) ou um $C_{3-6}$ cicloalquil; $R_{12}$ é selecionado do grupo que consiste em hidrogênio, $-COR^a$ e $R_{16}$; cada $R_{16}$ é independentemente formil,

$C_{1-9}$ alquil, $C_{2-9}$ alquenil ou $C_{2-9}$ alquinil; e, $R^a$ é selecionado do grupo que consiste em hidrogênio, hidroxil e $OR_{16}$;

ou uma forma cristalina, hidrato ou sal cosmeticamente ou farmaceuticamente aceitável deste,

e um veículo, diluente ou carreador cosmeticamente ou farmaceuticamente aceitável.

[110] Uma modalidade adicional da presente invenção é uma composição. A composição compreende um composto que possui a estrutura da seguinte fórmula:




em que:

$R_1$, $R_4$, $R_5$, $R_6$, $R_9$ e $R_{10}$ são selecionados independentemente do grupo que consiste em hidrogênio, hidroxil, halogênio, CN, $R_{13}$, $OR_{13}$, $OCOR_{13}$ e -CHO; $R_2$ e $R_3$ são selecionados independentemente do grupo que consiste em hidrogênio, hidroxil, halogênio, CN, $R_{13}$, $OR_{13}$, $OCOR_{13}$ e -CHO, ou $R_2$ e $R_3$ combinam para formar um heterociclil de 5 ou 6 membros; $R_7$ e $R_8$ são selecionados independentemente do grupo que consiste em hidrogênio, hidroxil, halogênio, CN, $R_{13}$, $OR_{13}$, $OCOR_{13}$ e -CHO, ou $R_7$ e $R_8$ combinam para formar um heterociclil de 5 ou 6 membros; $R_{11}$ e $R_{12}$ são independentemente hidrogênio ou $R_{13}$; e, cada $R_{13}$ é independentemente $C_{1-9}$ alquil, $C_{2-9}$ alquenil ou $C_{2-9}$ alquinil;

ou uma forma cristalina, hidrato ou sal cosmeticamente ou farmaceuticamente aceitável deste,

e um veículo, diluente ou carreador cosmeticamente ou

farmaceuticamente aceitável.

[111] Outra modalidade da presente invenção é uma composição. A composição compreende um composto listado na Tabela 5 ou Fig. 130, ou um análogo químico, forma cristalina, hidrato ou sal cosmeticamente ou farmaceuticamente aceitável deste, e um veículo, diluente ou carreador cosmeticamente ou farmaceuticamente aceitável.

[112] Uma modalidade adicional da presente invenção é um método de tratamento ou prevenção de dano à pele induzido por UV em um indivíduo. O método compreende o contato do indivíduo com qualquer uma das composições reveladas nesse relatório descritivo.

[113] Uma modalidade adicional da presente invenção é um método de tratamento ou prevenção de eritema induzido por UV em um indivíduo. O método compreende o contato do indivíduo com qualquer uma das composições reveladas nesse relatório descritivo.

[114] Outra modalidade da presente invenção é um método de tratamento ou prevenção de envelhecimento da pele induzido por UV em um indivíduo. O método compreende o contato do indivíduo com qualquer uma das composições reveladas nesse relatório descritivo.

[115] Uma modalidade adicional da presente invenção é um método de tratamento ou prevenção de queimadura solar em um indivíduo. O método compreende o contato do indivíduo com qualquer uma das composições reveladas nesse relatório descritivo.

[116] Uma modalidade adicional da presente invenção é um método de tratamento ou prevenção de hiperpigmentação induzida por UV em um indivíduo. O método compreende o

contato do indivíduo com qualquer uma das composições reveladas nesse relatório descritivo.

[117] Outra modalidade da presente invenção é um método para clareamento da pele em um indivíduo. O método compreende o contato do indivíduo com qualquer uma das composições reveladas nesse relatório descritivo.

[118] Uma modalidade adicional da presente invenção é um método para indução de apoptose de melanócitos em um indivíduo. O método compreende o contato do indivíduo com qualquer uma das composições reveladas nesse relatório descritivo.

[119] Uma modalidade adicional da presente invenção é um método para a modulação da atividade do receptor de aril-hidrocarboneto (AhR) em um indivíduo. O método compreende o contato do indivíduo com qualquer uma das composições reveladas nesse relatório descritivo.

[120] Outra modalidade da presente invenção é um método para a modulação da melanogênese em um indivíduo. O método compreende o contato do indivíduo com qualquer uma das composições reveladas nesse relatório descritivo.

[121] Uma modalidade adicional da presente invenção é um método para a modulação da concentração de melanina em um indivíduo. O método compreende o contato do indivíduo com qualquer uma das composições reveladas nesse relatório descritivo.

## BREVE DESCRIÇÃO DOS DESENHOS

[122] A patente ou arquivo do pedido contém pelo menos um desenho executado em cores. Cópias dessa patente ou da publicação de pedido de patente com desenhos em cores serão fornecidas pelo Escritório mediante solicitação e pagamento

da taxa necessária.

[123] A Fig. 1A é um diagrama esquemático das camadas componentes da pele. O diagrama inserido mostra a constituição celular da epiderme e derme. A Fig. 1B é um diagrama esquemático que mostra mecanismos de ação potenciais de agentes que causam hipopigmentação.

[124] A Fig. 2 é um conjunto de esquemas sintéticos para malassezina e derivados de malassezina: Fig. 2A: malassezina e indol[3,2-b]carbazol; Fig. 2B: compostos I e IV; Fig. 2C: composto II.

[125] A Fig. 3A é um gráfico de resumo que mostra valores da $EC_{50}$ de indução de anexina V para certos compostos da presente invenção em células MeWo e WM115. As Figs. 3B-3M são gráficos de linhas que mostram a percentagem de células MeWo (Figs. 3B-3G) ou WM115 (Figs. 3H-3M) marcadas com anexina V após exposição a várias concentrações dos compostos listados.

[126] As Figs. 4A-4D são gráficos que mostram níveis relativos de anexina V (%) em células MeWo e WM115 após exposição a várias concentrações dos compostos listados por 6, 24, 48 e 72 horas. As Figs. 4E-4J são histogramas que mostram os resultados das Figs. 4A-4D. As Figs. 4K e 4L são histogramas que mostram a percentagem de células MeWo (Fig. 4K) e WM115 (Fig. 4L) marcadas com anexina V após exposição de 6 horas aos compostos listados nas concentrações mostradas.

[127] As Figs. 5A-5K são micrográficos que mostram a morfologia da célula MeWo após 6 horas de tratamento com várias concentrações de CV-8684, CV-8685, CV-8688, DMSO e estaurosporina.

[128] As Figs. 6A-6K são micrográficos que mostram a morfologia da célula MeWo após 24 horas de tratamento com várias concentrações de CV-8684, CV-8685, CV-8688, DMSO e estaurosporina.

[129] As Figs. 7A-7K são micrográficos que mostram a morfologia da célula MeWo após 48 horas de tratamento com várias concentrações de CV-8684, CV-8685, CV-8688, DMSO e estaurosporina.

[130] As Figs. 8A-8K são micrográficos que mostram a morfologia da célula MeWo após 72 horas de tratamento com várias concentrações de CV-8684, CV-8685, CV-8688, DMSO e estaurosporina.

[131] As Figs. 9A-9K são micrográficos que mostram a morfologia da célula WM115 após 6 horas de tratamento com várias concentrações de CV-8684, CV-8685, CV-8688, DMSO e estaurosporina.

[132] As Figs. 10A-10K são micrográficos que mostram a morfologia da célula WM115 após 24 horas de tratamento com várias concentrações de CV-8684, CV-8685, CV-8688, DMSO e estaurosporina.

[133] As Figs. 11A-11K são micrográficos que mostram a morfologia da célula WM115 após 48 horas de tratamento com várias concentrações de CV-8684, CV-8685, CV-8688, DMSO e estaurosporina.

[134] As Figs. 12A-12K são micrográficos que mostram a morfologia da célula WM115 após 72 horas de tratamento com várias concentrações de CV-8684, CV-8685, CV-8688, DMSO e estaurosporina.

[135] As Figs. 13A-13D são gráficos que mostram a percentagem de células MeWo e WM115 viáveis restante após

tratamento com várias concentrações de CV-8684 (Fig. 13A), CV-8685 (Fig. 13B), CV-8688 (Fig. 13C) ou estaurosporina (Fig. 13D) por 6, 24, 48 e 72 horas. A viabilidade celular foi testada usando CellTiter-Glo®. As Figs. 13E-13J são histogramas que mostram os resultados das Figs. 13A-13D. A Fig. 13K é um gráfico de resumo que compara percentagens de células MeWo e WM115 viáveis após exposição às concentrações listadas de malassezina, indolocarbazol, composto II e estaurosporina por 24, 48 e 72 horas.

[136] As Figs. 14A-14D são gráficos que mostram os níveis de liberação de lactato desidrogenase (“LDH”) por células MeWo e WM115 após tratamento com várias concentrações de CV-8684 (Fig. 14A), CV-8685 (Fig. 14B), CV-8688 (Fig. 14C) ou estaurosporina (Fig. 14D) por 6, 24, 48 e 72 horas. As Figs. 14E-14J são histogramas que mostram os resultados das Figs. 14A-14D. As Figs. 14K e 14L são histogramas que mostram níveis de lactato desidrogenase após exposição de células MeWo (Fig. 14K) e WM115 (Fig. 14L) às concentrações listadas de malassezina, carbazol, composto II e estaurosporina por 24 horas.

[137] As Figs. 15A-15E que mostram dados brutos e gráficos de linhas da ativação do receptor de aril-hidrocarboneto (“AhR”) em células HepG2 transfectadas estavelmente com um plasmídeo de gene repórter de luciferase responsivo ao AhR mediante exposição a várias concentrações de omeprazol (Fig. 15A), CV-8684 (Fig. 15B), CV-8685 (Fig. 15C), CV-8686 (Fig. 15D) e CV-8688 (Fig. 15E). A Fig. 15F mostra valores da $EC_{50}$ for cada composto testado.

[138] As Figs. 16A-16K são fotografias de matrizes MelanoDerm™ no dia 0 ou dia 7 após exposição a nenhum

tratamento (Fig. 16A), água deionizada estéril (Fig. 16B), ácido kójico 1% (Fig. 16C), DMSO 0,2% (Fig. 16D), DMSO 0,05% (Fig. 16E), 200 μM de CV-8684 (Fig. 16F), 50 μM de CV-8684 (Fig. 16G), 200 μM de CV-8686 (Fig. 16H), 50 μM de CV-8686 (Fig. 16I), 200 μM de CV-8688 (Fig. 16J) e 50 μM de CV-8688 (Fig. 16K).

[139] As Figs. 17A-17K são fotomicrografias de ampliação de 15X de matrizes MelanoDerm™ no dia 0 ou dia 7 após exposição a nenhum tratamento (Fig. 17A), água deionizada estéril (Fig. 17B), ácido kójico 1% (Fig. 17C), DMSO 0,2% (Fig. 17D), DMSO 0,05% (Fig. 17E), 200 μM de CV-8684 (Fig. 17F), 50 μM de CV-8684 (Fig. 17G), 200 μM de CV-8686 (Fig. 17H), 50 μM de CV-8686 (Fig. 17I), 200 μM de CV-8688 (Fig. 17J) e 50 μM de CV-8688 (Fig. 17K).

[140] As Figs. 18A-18F são fotografias de peixe-zebra exposto a nenhum tratamento (Fig. 18A), DMSO (Fig. 18B), feniltiouréia (“PTU”) (Fig. 18C) e composto II a 2,5 μM (Fig. 18D), 5 μM (Fig. 18E) e 10 μM (Fig. 18F). Setas vermelhas indicam melanócitos normais.

[141] As Figs. 19A-19F são fotografias de peixe-zebra exposto a nenhum tratamento (Fig. 19A), DMSO (Fig. 19B), feniltiouréia (“PTU”) (Fig. 19C) e composto II a 0,3 μM (Fig. 19D), 1 μM (Fig. 19E) e 3 μM (Fig. 19F). Setas vermelhas indicam melanócitos normais. Setas amarelas indicam melanócitos anormalmente pequenos.

[142] A Fig. 20 é um gráfico de resumo que mostra o número e percentual de peixe-zebra com pigmentação da pele diminuída após exposição às condições listadas. As seis fileiras finais mostram os efeitos de várias concentrações de composto II.

[143] As Figs. 21A-21E são fotografias de peixe-zebra tratado sem tratamento (Fig. 21A), DMSO (Fig. 21B), PTU (Fig. 21C), 0,5 μM (Fig. 21D) e 1,5 μM (Fig. 21E). Os painéis inferiores incluem regiões de inversão do esquema de cor.

[144] As Figs. 22A e 22B são histogramas que mostram densidade de pigmentação como medida por pixels pigmentados / $mm^3$ (Fig. 22A) e pixels totais (Fig. 22B) de fotografias de embriões de peixe-zebra, exemplificadas nas Figs. 21A-21E.

[145] As Figs. 23A-23C são espectros de massa de CV-8684 em DMSO (Fig. 23A), meio RPMI (Fig. 23B) e DMEM (Fig. 23C). As Figs. 23D-23F são espectros de massa de CV-8686 em DMSO (Fig. 23D), meio RPMI (Fig. 23E) e DMEM (Fig. 23F). As Figs. 23G-23I são espectros de massa de CV-8688 em DMSO (Fig. 23G), meio RPMI (Fig. 23H) e DMEM (Fig. 23I). A Fig. 23J é um gráfico de resumo que mostra percentual de composto de teste restante no solvente listado após incubação de 2 horas.

[146] As Figs. 24A-24S mostram esquemas sintéticos para derivados de malassezina da presente invenção: Fig. 24A: composto C (CV-8802); Fig. 24B: composto K (CV-8803); Fig. 24C: composto A (CV-8804); Fig. 24D: composto E (AB12508); Fig. 24E: composto A5 (CV-8819); Fig. 24F: composto H (AB12509); Fig. 24G: composto B (CV-8877); Fig. 24H: composto B10; Fig. 24I: composto AB11644; Fig. 24J: O52 (AB12976); Fig. 24K: Indol de *Malassezia* A (AB17011); Fig. 24L: pitiriacitrina (AB17014); Fig. 24M: AB17151; Fig. 24N: composto VI (AB17225); Fig. 24O: ácido lático de *Malassezia* (AB17227); Fig. 24P: AB12507; Fig. 24Q: composto V (AB17219); Fig. 24R: composto VIII (AB17220), e Fig. 24S: composto VII (AB17221).

[147] As Figs. 25A-25D mostram tabelas de dados que contêm as percentagens de células Anexina V-positivas em 6 horas (Fig. 25A), 24 horas (Fig. 25B), 48 horas (Fig. 25C) e 72 horas (Fig. 25D) após exposição aos tratamentos mostrados.

[148] As Figs. 26A-26D mostram tabelas de dados que contêm a razão de aumento da indução de Caspase 3/7 em 6 horas (Fig. 26A), 24 horas (Fig. 26B), 48 horas (Fig. 26C) e 72 horas (Fig. 26D) após exposição aos tratamentos mostrados.

[149] As Figs. 27A-27B mostram as percentagens de viabilidade celular restantes para células MeWo (Fig. 27A) e WM115 (Fig. 27B) após exposição a AB12508 (composto E).

[150] As Figs. 28A-28B mostram as percentagens de viabilidade celular restantes para células MeWo (Fig. 28A) e WM115 (Fig. 28B) após exposição a uma composição desconhecida.

[151] As Figs. 29A-29B mostram as percentagens de viabilidade celular restantes para células MeWo (Fig. 29A) e WM115 (Fig. 29B) após exposição a CV-8803 (composto K).

[152] As Figs. 30A-30B mostram as percentagens de viabilidade celular restantes para células MeWo (Fig. 30A) e WM115 (Fig. 30B) após exposição a CV-8804 (composto A).

[153] As Figs. 31A-31B mostram as percentagens de viabilidade celular restantes para células MeWo (Fig. 31A) e WM115 (Fig. 31B) após exposição a CV-8684 (malassezina).

[154] As Figs. 32A-32B mostram as percentagens de viabilidade celular restantes para células MeWo (Fig. 32A) e WM115 (Fig. 32B) após exposição a CV-8685 (indol[3,2-b]carbazol).

[155] As Figs. 33A-33B mostram as percentagens de viabilidade celular restantes para células MeWo (Fig. 33A) e WM115 (Fig. 33B) após exposição a CV-8686 (composto I).

[156] As Figs. 34A-34B mostram as percentagens de viabilidade celular restantes para células MeWo (Fig. 34A) e WM115 (Fig. 34B) após exposição a CV-8688 (composto II).

[157] As Figs. 35A-35B mostram as percentagens de viabilidade celular restantes para células MeWo (Fig. 35A) e WM115 (Fig. 35B) após exposição à estaurosporina.

[158] A Fig. 36A mostra leituras da atividade de AhR por ensaios de HepG2-AhR-Luciferase mediante exposição a várias concentrações de omeprazol. A Fig. 36B mostra um gráfico de linhas dos dados da Fig. 36A, enquanto a inserção mostra a $EC_{50}$ medida.

[159] A Fig. 37A mostra leituras da atividade de AhR por ensaios de HepG2-AhR-Luciferase mediante exposição a várias concentrações de CV-8684 (malassezina). A Fig. 37B mostra um gráfico de linhas dos dados da Fig. 37A, enquanto a inserção mostra a $EC_{50}$ medida.

[160] A Fig. 38A mostra leituras da atividade de AhR por ensaios de HepG2-AhR-Luciferase mediante exposição a várias concentrações de CV-8685 (indol[3,2-b]carbazol). A Fig. 38B mostra um gráfico de linhas dos dados da Fig. 38A, enquanto a inserção mostra a $EC_{50}$ medida.

[161] A Fig. 39A mostra leituras da atividade de AhR por ensaios de HepG2-AhR-Luciferase mediante exposição a várias concentrações de CV-8686 (composto I). A Fig. 39B mostra um gráfico de linhas dos dados da Fig. 39A, enquanto a inserção mostra a $EC_{50}$ medida.

[162] A Fig. 40A mostra leituras da atividade de AhR por

ensaios de HepG2-AhR-Luciferase mediante exposição a várias concentrações de uma composição desconhecida. A Fig. 40B mostra um gráfico de linhas dos dados da Fig. 40A, enquanto a inserção mostra a $EC_{50}$ medida.

[163] A Fig. 41A mostra leituras da atividade de AhR por ensaios de HepG2-AhR-Luciferase mediante exposição a várias concentrações de CV-8803 (composto K). A Fig. 41B mostra um gráfico de linhas dos dados da Fig. 41A, enquanto a inserção mostra a $EC_{50}$ medida.

[164] A Fig. 42A mostra leituras da atividade de AhR por ensaios de HepG2-AhR-Luciferase mediante exposição a várias concentrações de CV-8804 (composto A). A Fig. 42B mostra um gráfico de linhas dos dados da Fig. 42A, enquanto a inserção mostra a $EC_{50}$ medida.

[165] A Fig. 43A mostra leituras da atividade de AhR por ensaios de HepG2-AhR-Luciferase mediante exposição a várias concentrações de AB12508 (composto E). A Fig. 43B mostra um gráfico de linhas dos dados da Fig. 43A, enquanto a inserção mostra a $EC_{50}$ medida.

[166] A Fig. 44A mostra leituras da atividade de AhR por ensaios de HepG2-AhR-Luciferase mediante exposição a várias concentrações de CV-8688 (composto II). A Fig. 44B mostra um gráfico de linhas dos dados da Fig. 44A, enquanto a inserção mostra a $EC_{50}$ medida.

[167] A Fig. 45A mostra leituras da atividade de AhR por ensaios de HepG2-AhR-Luciferase mediante exposição a várias concentrações de omeprazol. A Fig. 45B mostra um gráfico de linhas dos dados da Fig. 45A.

[168] A Fig. 46A mostra leituras da atividade de AhR por ensaios de HepG2-AhR-Luciferase mediante exposição a várias

concentrações de uma composição desconhecida. A Fig. 46B mostra um gráfico de linhas dos dados da Fig. 46A.

[169] A Fig. 47A mostra leituras da atividade de AhR por ensaios de HepG2-AhR-Luciferase mediante exposição a várias concentrações de 2,3,7,8-tetraclorodibenzodioxina (TCDD).

[170] A Fig. 47B mostra um gráfico de linhas dos dados da Fig. 47A.

[171] A Fig. 48A mostra leituras da atividade de AhR por ensaios de HepG2-AhR-Luciferase mediante exposição a várias concentrações de CV-8819 (composto A5). A Fig. 48B mostra um gráfico de linhas dos dados da Fig. 48A.

[172] A Fig. 49A mostra leituras da atividade de AhR por ensaios de HepG2-AhR-Luciferase mediante exposição a várias concentrações de CV-8684 (malassezina). A Fig. 49B mostra um gráfico de linhas dos dados da Fig. 49A.

[173] A Fig. 50A mostra leituras da atividade de AhR por ensaios de HepG2-AhR-Luciferase mediante exposição a várias concentrações de AB12508 (composto E). A Fig. 50B mostra um gráfico de linhas dos dados da Fig. 50A.

[174] A Fig. 51A mostra leituras da atividade de AhR por ensaios de HepG2-AhR-Luciferase mediante exposição a várias concentrações de CV-8686 (composto I). A Fig. 51B mostra um gráfico de linhas dos dados da Fig. 51A.

[175] A Fig. 52A mostra leituras da atividade de AhR por ensaios de HepG2-AhR-Luciferase mediante exposição a várias concentrações de AB12509 (composto H). A Fig. 52B mostra um gráfico de linhas dos dados da Fig. 52A.

[176] A Fig. 53A mostra leituras da atividade de AhR por ensaios de HepG2-AhR-Luciferase mediante exposição a várias concentrações de CV-8688 (composto II). A Fig. 53B mostra um

gráfico de linhas dos dados da Fig. 53A.

[177] A Fig. 54A mostra leituras da atividade de AhR por ensaios de HepG2-AhR-Luciferase mediante exposição a várias concentrações de CV-8877 (composto B). A Fig. 54B mostra um gráfico de linhas dos dados da Fig. 54A.

[178] A Fig. 55A mostra leituras da atividade de AhR por ensaios de HepG2-AhR-Luciferase mediante exposição a várias concentrações de CV-8685 (indol[3,2-b]carbazol). A Fig. 55B mostra um gráfico de linhas dos dados da Fig. 55A.

[179] A Fig. 56A mostra leituras da atividade de AhR por ensaios de HepG2-AhR-Luciferase mediante exposição a várias concentrações de composto B10. A Fig. 56B mostra um gráfico de linhas dos dados da Fig. 56A.

[180] A Fig. 57A mostra leituras da atividade de AhR por ensaios de HepG2-AhR-Luciferase mediante exposição a várias concentrações de CV-8687 (composto IV). A Fig. 57B mostra um gráfico de linhas dos dados da Fig. 57A.

[181] A Fig. 58A mostra leituras da atividade de AhR por ensaios de HepG2-AhR-Luciferase mediante exposição a várias concentrações de omeprazol. A Fig. 58B mostra um gráfico de linhas dos dados da Fig. 58A.

[182] A Fig. 59A mostra leituras da atividade de AhR por ensaios de HepG2-AhR-Luciferase mediante exposição a várias concentrações de TCDD. A Fig. 59B mostra um gráfico de linhas dos dados da Fig. 59A.

[183] A Fig. 60A mostra leituras da atividade de AhR por ensaios de HepG2-AhR-Luciferase mediante exposição a várias concentrações de precursor de Malassezina. A Fig. 60B mostra um gráfico de linhas dos dados da Fig. 60A.

[184] A Fig. 61A mostra leituras da atividade de AhR por

ensaios de HepG2-AhR-Luciferase mediante exposição a várias concentrações de AB11644. A Fig. 61B mostra um gráfico de linhas dos dados da Fig. 61A.

[185] A Fig. 62A mostra leituras da atividade de AhR por ensaios de HepG2-AhR-Luciferase mediante exposição a várias concentrações de 3-metilcolantreno (3-MC). A Fig. 62B mostra um gráfico de linhas dos dados da Fig. 62A.

[186] A Fig. 63A mostra leituras da atividade de AhR por ensaios de HepG2-AhR-Luciferase mediante exposição a várias concentrações de AB12976 (O52). A Fig. 63B mostra um gráfico de linhas dos dados da Fig. 63A.

[187] A Fig. 64A mostra leituras da atividade de AhR por ensaios de HepG2-AhR-Luciferase mediante exposição a várias concentrações de AB17011 (Indol de *Malassezia* A). A Fig. 64B mostra um gráfico de linhas dos dados da Fig. 64A.

[188] A Fig. 65A mostra leituras da atividade de AhR por ensaios de HepG2-AhR-Luciferase mediante exposição a várias concentrações de AB17014 (pitiriacitrina). A Fig. 65B mostra um gráfico de linhas dos dados da Fig. 65A.

[189] A Fig. 66A mostra leituras da atividade de AhR por ensaios de HepG2-AhR-Luciferase mediante exposição a várias concentrações de AB17151. A Fig. 66B mostra um gráfico de linhas dos dados da Fig. 66A.

[190] A Fig. 67A mostra leituras da atividade de AhR por ensaios de HepG2-AhR-Luciferase mediante exposição a várias concentrações de AB17225. A Fig. 67B mostra um gráfico de linhas dos dados da Fig. 67A.

[191] A Fig. 68 é uma tabela que mostra dados de viabilidade de MTT verificados de substratos de MelanoDerm™ tratados com concentrações variáveis dos compostos

mostrados.

[192] A Fig. 69 é uma tabela que mostra dados da concentração de melanina verificados de substratos de MelanoDerm™ tratados com concentrações variáveis dos compostos mostrados.

[193] A Fig. 70 mostra imagens fotográficas macroscópicas representativas de amostras de MelanoDerm™ expostas a CV-8686 (composto I) e AB11644, retiradas nos dias especificados, nos quais amostras foram expostas aos tratamentos mostrados.

[194] A Fig. 71 mostra imagens fotográficas microscópicas (15X) representativas de amostras de MelanoDerm™ expostas a CV-8686 (composto I) e AB11644, retiradas nos dias especificados, nos quais amostras foram expostas aos tratamentos mostrados.

[195] A Fig. 72 mostra imagens fotográficas microscópicas (15X) representativas de amostras de MelanoDerm™ expostas a CV-8686 (composto I) e ácido kójico, retiradas nos dias especificados, nos quais amostras foram expostas aos tratamentos mostrados.

[196] A Fig. 73 mostra imagens fotográficas macroscópicas representativas de amostras de MelanoDerm™ expostas a CV-8686 (composto I) e ácido kójico, retiradas no dia especificado, no qual amostras foram expostas aos tratamentos mostrados.

[197] A Fig. 74 mostra imagens fotográficas macroscópicas representativas de amostras de MelanoDerm™ expostas a CV-8686 (composto I) e ácido kójico, retiradas no dia especificado, no qual amostras foram expostas aos tratamentos mostrados.

[198] A Fig. 75 é uma tabela que mostra dados médios da viabilidade tecidual e da concentração de melanina verificados de substratos de MelanoDerm™ tratados com concentrações variáveis dos compostos mostrados. Quando a Designação do Patrocinador é vazia, a amostra era uma composição desconhecida.

[199] A Fig. 76 mostra imagens fotográficas macroscópicas representativas de amostras de MelanoDerm™ expostas aos tratamentos mostrados, retiradas no dia especificado.

[200] A Fig. 77 mostra imagens fotográficas macroscópicas representativas de amostras de MelanoDerm™ expostas aos tratamentos mostrados, retiradas no dia 7 após tratamento. Quando o nome do composto está vazio, a amostra era uma composição desconhecida.

[201] A Fig. 78 mostra imagens fotográficas microscópicas (15X) representativas de amostras de MelanoDerm™ expostas aos tratamentos mostrados, retiradas no dia especificado.

[202] A Fig. 79 mostra imagens fotográficas microscópicas (15X) representativas de amostras de MelanoDerm™ expostas aos tratamentos mostrados, retiradas no dia especificado. Quando o nome do composto está vazio, a amostra era uma composição desconhecida.

[203] As Figs. 80-87 mostram imagens fotográficas macroscópicas representativas de amostras de MelanoDerm™ expostas aos tratamentos mostrados, retiradas no dia 7. Na Fig. 85, quando o nome do composto está vazio, a amostra era uma composição desconhecida.

[204] A Fig. 88 é uma tabela que mostra dados médios da

viabilidade tecidual e da concentração de melanina verificados de substratos de MelanoDerm™ tratados com concentrações variáveis dos compostos mostrados.

[205] As Fig. 89A-89X mostram histogramas de viabilidade percentual e alteração percentual de melanina de melanócitos B16 após os tratamentos mostrados. Nas Figs. 89M-89N, quando o nome do composto está vazio, a amostra era uma composição desconhecida.

[206] As Figs. 90A, 90C e 90E mostram tabelas de dados que contêm as percentagens de células B16F1 (Fig. 90A), células MeWo (Fig. 90C) e células WM115 (Fig. 90E) Anexina V-positivas em 6, 24, 48 e 72 horas após exposição à estaurosporina. As Figs. 90B, 90D e 90F mostram tabelas de dados que contêm as percentagens de células B16F1 (Fig. 90B), células MeWo (Fig. 90D) e células WM115 (Fig. 90F) iodeto de propídio (PI)-positivas em 6, 24, 48 e 72 horas após exposição à estaurosporina.

[207] As Figs. 91A, 91C e 91E mostram tabelas de dados que contêm as percentagens de células B16F1 (Fig. 91A), células MeWo (Fig. 91C) e células WM115 (Fig. 91E) Anexina V-positivas em 6, 24, 48 e 72 horas após exposição ao composto H (AB12509). As Figs. 91B, 91D e 91F mostram tabelas de dados que contêm as percentagens de células B16F1 (Fig. 91B), células MeWo (Fig. 91D) e células WM115 (Fig. 91F) iodeto de propídio (PI)-positivas em 6, 24, 48 e 72 horas após exposição ao composto H (AB12509).

[208] As Figs. 92A, 92C e 92E mostram tabelas de dados que contêm as percentagens de células B16F1 (Fig. 92A), células MeWo (Fig. 92C) e células WM115 (Fig. 92E) Anexina V-positivas em 6, 24, 48 e 72 horas após exposição à

malassezina (CV-8684). As Figs. 92B, 92D e 92F mostram tabelas de dados que contêm as percentagens de células B16F1 (Fig. 92B), células MeWo (Fig. 92D) e células WM115 (Fig. 92F) iodeto de propídio (PI)-positivas em 6, 24, 48 e 72 horas após exposição à malassezina (CV-8684).

[209] As Figs. 93A, 93C e 93E mostram tabelas de dados que contêm as percentagens de células B16F1 (Fig. 93A), células MeWo (Fig. 93C) e células WM115 (Fig. 93E) Anexina V-positivas em 6, 24, 48 e 72 horas após exposição ao composto B (CV-8877). As Figs. 93B, 93D e 93F mostram tabelas de dados que contêm as percentagens de células B16F1 (Fig. 93B), células MeWo (Fig. 93D) e células WM115 (Fig. 93F) iodeto de propídio (PI)-positivas em 6, 24, 48 e 72 horas após exposição ao composto B (CV-8877).

[210] As Figs. 94A, 94C e 94E mostram tabelas de dados que contêm as percentagens de células B16F1 (Fig. 94A), células MeWo (Fig. 94C) e células WM115 (Fig. 94E) Anexina V-positivas em 6, 24, 48 e 72 horas após exposição ao composto I (CV-8686). As Figs. 94B, 94D e 94F mostram tabelas de dados que contêm as percentagens de células B16F1 (Fig. 94B), células MeWo (Fig. 94D) e células WM115 (Fig. 94F) iodeto de propídio (PI)-positivas em 6, 24, 48 e 72 horas após exposição ao composto I (CV-8686).

[211] As Figs. 95A, 95C e 95E mostram tabelas de dados que contêm as percentagens de células B16F1 (Fig. 95A), células MeWo (Fig. 95C) e células WM115 (Fig. 95E) Anexina V-positivas em 6, 24, 48 e 72 horas após exposição ao composto B10. As Figs. 95B, 95D e 95F mostram tabelas de dados que contêm as percentagens de células B16F1 (Fig. 95B), células MeWo (Fig. 95D) e células WM115 (Fig. 95F) iodeto de

propídio (PI)-positivas em 6, 24, 48 e 72 horas após exposição ao composto B10.

[212] As Figs. 96A, 96C e 96E mostram tabelas de dados que contêm as percentagens de células B16F1 (Fig. 96A), células MeWo (Fig. 96C) e células WM115 (Fig. 96E) Anexina V-positivas em 6, 24, 48 e 72 horas após exposição ao composto II (CV-8688). As Figs. 96B, 96D e 96F mostram tabelas de dados que contêm as percentagens de células B16F1 (Fig. 96B), células MeWo (Fig. 96D) e células WM115 (Fig. 96F) iodeto de propídio (PI)-positivas em 6, 24, 48 e 72 horas após exposição ao composto II (CV-8688).

[213] As Figs. 97A, 97C e 97E mostram tabelas de dados que contêm as percentagens de células B16F1 (Fig. 97A), células MeWo (Fig. 97C) e células WM115 (Fig. 97E) Anexina V-positivas em 6, 24, 48 e 72 horas após exposição ao precursor de Malassezina. As Figs. 97B, 97D e 97F mostram tabelas de dados que contêm as percentagens de células B16F1 (Fig. 97B), células MeWo (Fig. 97D) e células WM115 (Fig. 97F) iodeto de propídio (PI)-positivas em 6, 24, 48 e 72 horas após exposição ao precursor de Malassezina.

[214] As Figs. 98A, 98C e 98E mostram tabelas de dados que contêm as percentagens de células B16F1 (Fig. 98A), células MeWo (Fig. 98C) e células WM115 (Fig. 98E) Anexina V-positivas em 6, 24, 48 e 72 horas após exposição a indol[3,2-b]carbazol (CV-8685). As Figs. 98B, 98D e 98F mostram tabelas de dados que contêm as percentagens de células B16F1 (Fig. 98B), células MeWo (Fig. 98D) e células WM115 (Fig. 98F) iodeto de propídio (PI)-positivas em 6, 24, 48 e 72 horas após exposição a indol[3,2-b]carbazol (CV-8685).

[215] As Figs. 99A, 99C e 99E mostram tabelas de dados que contêm as percentagens de células B16F1 (Fig. 99A), células MeWo (Fig. 99C) e células WM115 (Fig. 99E) Anexina V-positivas em 6, 24, 48 e 72 horas após exposição a AB17151. As Figs. 99B, 99D e 99F mostram tabelas de dados que contêm as percentagens de células B16F1 (Fig. 99B), células MeWo (Fig. 99D) e células WM115 (Fig. 99F) iodeto de propídio (PI)-positivas em 6, 24, 48 e 72 horas após exposição a AB17151.

[216] As Figs. 100A, 100C e 100E mostram tabelas de dados que contêm as percentagens de células B16F1 (Fig. 100A), células MeWo (Fig. 100C) e células WM115 (Fig. 100E) Anexina V-positivas em 6, 24, 48 e 72 horas após exposição ao composto IV (CV-8687). As Figs. 100B, 100D e 100F mostram tabelas de dados que contêm as percentagens de células B16F1 (Fig. 100B), células MeWo (Fig. 100D) e células WM115 (Fig. 100F) iodeto de propídio (PI)-positivas em 6, 24, 48 e 72 horas após exposição ao composto IV (CV-8687).

[217] As Figs. 101A, 101C e 101E mostram tabelas de dados que contêm as percentagens de células B16F1 (Fig. 101A), células MeWo (Fig. 101C) e células WM115 (Fig. 101E) Anexina V-positivas em 6, 24, 48 e 72 horas após exposição a AB17011. As Figs. 101B, 101D e 101F mostram tabelas de dados que contêm as percentagens de células Fig. 101B), células MeWo (Fig. 101D) e células WM115 (Fig. 101F) B16F1 iodeto de propídio (PI)-positivas (em 6, 24, 48 e 72 horas após exposição a AB17011.

[218] As Figs. 102A, 102C e 102E mostram tabelas de dados que contêm as percentagens de células B16F1 (Fig. 102A), células MeWo (Fig. 102C) e células WM115 (Fig. 102E) Anexina

V-positivas em 6, 24, 48 e 72 horas após exposição a AB11644. As Figs. 102B, 102D e 102F mostram tabelas de dados que contêm as percentagens de células B16F1 (Fig. 102B), células MeWo (Fig. 102D) e células WM115 (Fig. 102F) iodeto de propídio (PI)-positivas em 6, 24, 48 e 72 horas após exposição a AB11644.

[219] As Figs. 103A, 103C e 103E mostram tabelas de dados que contêm as percentagens de células B16F1 (Fig. 103A), células MeWo (Fig. 103C) e células WM115 (Fig. 103E) Anexina V-positivas em 6, 24, 48 e 72 horas após exposição a AB17014. As Figs. 103B, 103D e 103F mostram tabelas de dados que contêm as percentagens de células B16F1 (Fig. 103B), células MeWo (Fig. 103D) e células WM115 (Fig. 103F) iodeto de propídio (PI)-positivas em 6, 24, 48 e 72 horas após exposição a AB17014.

[220] As Figs. 104A, 104C e 104E mostram tabelas de dados que contêm as percentagens de células B16F1 (Fig. 104A), células MeWo (Fig. 104C) e células WM115 (Fig. 104E) Anexina V-positivas em 6, 24, 48 e 72 horas após exposição a uma composição desconhecida. As Figs. 104B, 104D e 104F mostram tabelas de dados que contêm as percentagens de células B16F1 (Fig. 104B), células MeWo (Fig. 104D) e células WM115 (Fig. 104F) iodeto de propídio (PI)-positivas em 6, 24, 48 e 72 horas após exposição a uma composição desconhecida.

[221] As Figs. 105A, 105C e 105E mostram tabelas de dados que contêm as percentagens de células B16F1 (Fig. 105A), células MeWo (Fig. 105C) e células WM115 (Fig. 105E) Anexina V-positivas em 6, 24, 48 e 72 horas após exposição a AB17225. As Figs. 105B, 105D e 105F mostram tabelas de dados que contêm as percentagens de células B16F1 (Fig. 105B), células

MeWo (Fig. 105D) e células WM115 (Fig. 105F) iodeto de propídio (PI)-positivas em 6, 24, 48 e 72 horas após exposição a AB17225.

[222] As Figs. 106A, 106C e 106E mostram tabelas de dados que contêm as percentagens de células B16F1 (Fig. 106A), células MeWo (Fig. 106C) e células WM115 (Fig. 106E) Anexina V-positivas em 6, 24, 48 e 72 horas após exposição ao composto A5 (CV-8819). As Figs. 106B, 106D e 106F mostram tabelas de dados que contêm as percentagens de células B16F1 (Fig. 106B), células MeWo (Fig. 106D) e células WM115 (Fig. 106F) iodeto de propídio (PI)-positivas em 6, 24, 48 e 72 horas após exposição ao composto A5 (CV-8819).

[223] As Figs. 107A, 107C e 107E mostram tabelas de dados que contêm as percentagens de células B16F1 (Fig. 107A), células MeWo (Fig. 107C) e células WM115 (Fig. 107E) Anexina V-positivas em 6, 24, 48 e 72 horas após exposição a AB12976. As Figs. 107B, 107D e 107F mostram tabelas de dados que contêm as percentagens de células B16F1 (Fig. 107B), células MeWo (Fig. 107D) e células WM115 (Fig. 107F) iodeto de propídio (PI)-positivas em 6, 24, 48 e 72 horas após exposição a AB12976.

[224] As Figs. 108A, 108C e 108E mostram tabelas de dados que contêm as percentagens de células B16F1 (Fig. 108A), células MeWo (Fig. 108C) e células WM115 (Fig. 108E) Anexina V-positivas em 6, 24, 48 e 72 horas após exposição ao composto E (AB12508). As Figs. 108B, 108D e 108F mostram tabelas de dados que contêm as percentagens de células B16F1 (Fig. 108B), células MeWo (Fig. 108D) e células WM115 (Fig. 108F) iodeto de propídio (PI)-positivas em 6, 24, 48 e 72 horas após exposição ao composto E (AB12508).

[225] As Figs. 109A, 109B e 109C mostram tabelas de dados que contêm a percentagem de indução de Caspase 3/7 comparada com controle de veículo para células B16F1, células MeWo e células WM115, respectivamente, em 6, 24, 48 e 72 horas após exposição à estaurosporina.

[226] As Figs. 110A, 110B e 110C mostram tabelas de dados que contêm a percentagem de indução de Caspase 3/7 comparada com controle de veículo para células B16F1, células MeWo e células WM115, respectivamente, em 6, 24, 48 e 72 horas após exposição à malassezina (CV-8684).

[227] As Figs. 111A, 111B e 111C mostram tabelas de dados que contêm a percentagem de indução de Caspase 3/7 comparada com controle de veículo para células B16F1, células MeWo e células WM115, respectivamente, em 6, 24, 48 e 72 horas após exposição ao composto I (CV-8686).

[228] As Figs. 112A, 112B e 112C mostram tabelas de dados que contêm a percentagem de indução de Caspase 3/7 comparada com controle de veículo para células B16F1, células MeWo e células WM115, respectivamente, em 6, 24, 48 e 72 horas após exposição ao composto II (CV-8688).

[229] As Figs. 113A, 113B e 113C mostram tabelas de dados que contêm a percentagem de indução de Caspase 3/7 comparada com controle de veículo para células B16F1, células MeWo e células WM115, respectivamente, em 6, 24, 48 e 72 horas após exposição a indol[3,2-b]carbazol (CV-8685).

[230] As Figs. 114A, 114B e 114C mostram tabelas de dados que contêm a percentagem de indução de Caspase 3/7 comparada com controle de veículo para células B16F1, células MeWo e células WM115, respectivamente, em 6, 24, 48 e 72 horas após exposição ao composto IV (CV-8687).

[231] As Figs. 115A, 115B e 115C mostram tabelas de dados que contêm a percentagem de indução de Caspase 3/7 comparada com controle de veículo para células B16F1, células MeWo e células WM115, respectivamente, em 6, 24, 48 e 72 horas após exposição a AB11644.

[232] As Figs. 116A, 116B e 116C mostram tabelas de dados que contêm a percentagem de indução de Caspase 3/7 comparada com controle de veículo para células B16F1, células MeWo e células WM115, respectivamente, em 6, 24, 48 e 72 horas após exposição a uma composição desconhecida.

[233] As Figs. 117A, 117B e 117C mostram tabelas de dados que contêm a percentagem de indução de Caspase 3/7 comparada com controle de veículo para células B16F1, células MeWo e células WM115, respectivamente, em 6, 24, 48 e 72 horas após exposição ao composto A5 (CV-8819).

[234] As Figs. 118A, 118B e 118C mostram tabelas de dados que contêm a percentagem de indução de Caspase 3/7 comparada com controle de veículo para células B16F1, células MeWo e células WM115, respectivamente, em 6, 24, 48 e 72 horas após exposição ao composto E (AB12508).

[235] As Figs. 119A, 119B e 119C mostram tabelas de dados que contêm a percentagem de indução de Caspase 3/7 comparada com controle de veículo para células B16F1, células MeWo e células WM115, respectivamente, em 6, 24, 48 e 72 horas após exposição ao composto H (AB12509).

[236] As Figs. 120A, 120B e 120C mostram tabelas de dados que contêm a percentagem de indução de Caspase 3/7 comparada com controle de veículo para células B16F1, células MeWo e células WM115, respectivamente, em 6, 24, 48 e 72 horas após exposição ao composto B (CV-8877).

[237] As Figs. 121A, 121B e 121C mostram tabelas de dados que contêm a percentagem de indução de Caspase 3/7 comparada com controle de veículo para células B16F1, células MeWo e células WM115, respectivamente, em 6, 24, 48 e 72 horas após exposição ao composto B10.

[238] As Figs. 122A, 122B e 122C mostram tabelas de dados que contêm a percentagem de indução de Caspase 3/7 comparada com controle de veículo para células B16F1, células MeWo e células WM115, respectivamente, em 6, 24, 48 e 72 horas após exposição ao precursor de Malassezina.

[239] As Figs. 123A, 123B e 123C mostram tabelas de dados que contêm a percentagem de indução de Caspase 3/7 comparada com controle de veículo para células B16F1, células MeWo e células WM115, respectivamente, em 6, 24, 48 e 72 horas após exposição a AB17151.

[240] As Figs. 124A, 124B e 124C mostram tabelas de dados que contêm a percentagem de indução de Caspase 3/7 comparada com controle de veículo para células B16F1, células MeWo e células WM115, respectivamente, em 6, 24, 48 e 72 horas após exposição a AB17011.

[241] As Figs. 125A, 125B e 125C mostram tabelas de dados que contêm a percentagem de indução de Caspase 3/7 comparada com controle de veículo para células B16F1, células MeWo e células WM115, respectivamente, em 6, 24, 48 e 72 horas após exposição a AB17014.

[242] As Figs. 126A, 126B e 126C mostram tabelas de dados que contêm a percentagem de indução de Caspase 3/7 comparada com controle de veículo para células B16F1, células MeWo e células WM115, respectivamente, em 6, 24, 48 e 72 horas após exposição a AB17225.

[243] As Figs. 127A, 127B e 127C mostram tabelas de dados que contêm a percentagem de indução de Caspase 3/7 comparada com controle de veículo para células B16F1, células MeWo e células WM115, respectivamente, em 6, 24, 48 e 72 horas após exposição a AB12976.

[244] As Figs. 128-129 são tabelas que mostram dados médios da viabilidade tecidual e da concentração de melanina verificados de experimentos separados com substratos de MelanoDerm™ tratados com concentrações variáveis dos artigos de teste mostrados.

[245] A Fig. 130 mostra compostos produzidos por *Malassezia*.

[246] As Figs. 131-132 são tabelas que mostram dados médios da viabilidade tecidual e da concentração de melanina verificados de experimentos separados com substratos de MelanoDerm™ tratados com concentrações variáveis dos artigos de teste / composições de teste mostradas.

[247] As Figs. 133A-133B mostram esquemas de síntese para AB17590 (Fig. 133A) e AB17653, AB17654, AB17655, AB17656, AB17657 e AB17658 (Fig. 133B).

[248] A Fig. 134 é uma representação esquemática que mostra um modelo de tratamento da pele para pacientes com Tipo de Pele IV. Os valores indicam dose de UV para certa área em $mJ/cm^2$.

[249] A Fig. 135 é uma tabela que mostra uma escala Dualight para os Tipos de Pele I-VI.

[250] A Fig. 136 é uma tabela que mostra medições por Mexameter MX 16 de melanina e eritema no Dia 8 após irradiação no Dia 7.

[251] A Fig. 137 é uma tabela que mostra medições por

Mexameter MX 16 de melanina e eritema no Dia 15 após irradiação no Dia 14.

[252] A Fig. 138 é uma tabela que mostra uma escala de eritema de valores numéricos associados com vários graus de eritema.

[253] A Fig. 139 é uma fotografia que mostra a pele de um indivíduo 24 horas após irradiação com vários níveis de UV de acordo com o modelo de tratamento da pele mostrado na Fig. 7. A dose de eritema mínima (“MED”) foi de 120 mJ de UVB 24 horas após irradiação.

[254] A Fig. 140 é uma fotografia que mostra locais de teste na pele de um indivíduo no Dia 7.

[255] A Fig. 141 é uma fotografia que mostra locais de teste na pele de um indivíduo no Dia 8, 24 horas pós-irradiação com 120 mJ de UVB.

[256] A Fig. 142 é uma fotografia que mostra locais de teste na pele de um indivíduo no Dia 14 após uma semana adicional de terapia com Malassezina. As áreas de tratamento foram dosadas com 120 mJ de UVB.

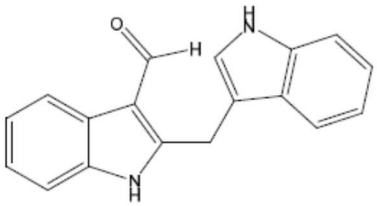
[257] A Fig. 143 é uma fotografia que mostra locais de teste na pele de um indivíduo no Dia 15, 24 horas pós-irradiação com 120 mJ de UVB. Observe eritema no local de veículo para os Dias 7 e 9. Observe também eritema mínimo a leve em locais tratados com Malassezina 1% para o Dia 14, 10 e 8, com traços de eritema nos Dias 1 e 3.

## DESCRIÇÃO DETALHADA DA INVENÇÃO

[258] Uma modalidade da presente invenção é um composto para clareamento da pele. O composto é um análogo químico de um composto produzido por uma levedura *Malassezia*, ou uma forma cristalina, hidrato ou sal cosmeticamente ou

farmaceuticamente aceitável deste.

[259] Em um aspecto dessa modalidade, o composto produzido por uma levedura *Malassezia* possui a estrutura de fórmula (I):

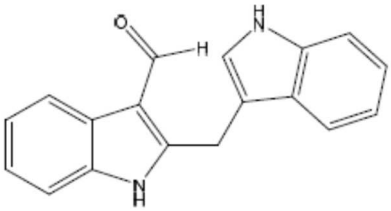


(I)

[260] Em outro aspecto dessa modalidade, o composto é um análogo químico de malassezina.

[261] Outra modalidade da presente invenção é um composto para indução de apoptose de melanócitos. O composto é um análogo químico de um composto produzido por uma levedura *Malassezia*, ou uma forma cristalina, hidrato ou sal cosmeticamente ou farmaceuticamente aceitável deste.

[262] Em um aspecto dessa modalidade, o composto produzido por uma levedura *Malassezia* possui a estrutura de fórmula (I):

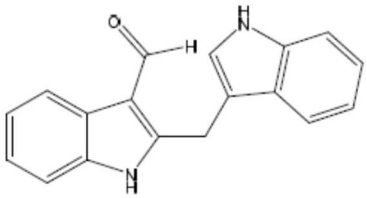


(I)

[263] Em outro aspecto dessa modalidade, o composto é um análogo químico de malassezina.

[264] Uma modalidade adicional da presente invenção é um composto para a modulação da atividade de melanócitos. O composto é um análogo químico de um composto produzido por uma levedura *Malassezia*, ou uma forma cristalina, hidrato ou sal cosmeticamente ou farmaceuticamente aceitável deste.

[265] Em um aspecto dessa modalidade, o composto produzido por uma levedura *Malassezia* possui a estrutura de fórmula (I):

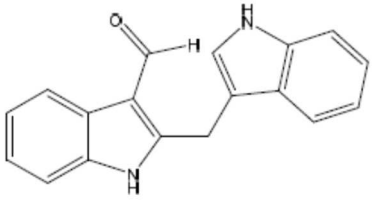


(I)

[266] Em outro aspecto dessa modalidade, o composto é um análogo químico de malassezina.

[267] Uma modalidade adicional da presente invenção é um composto para agonismo do receptor de aril-hidrocarboneto (AhR). O composto é um análogo químico de um composto produzido por uma levedura *Malassezia*, ou uma forma cristalina, hidrato ou sal cosmeticamente ou farmaceuticamente aceitável deste.

[268] Em um aspecto dessa modalidade, o composto produzido por uma levedura *Malassezia* possui a estrutura de fórmula (I):



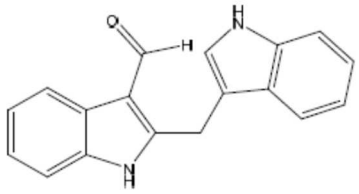
(I)

[269] Em outro aspecto dessa modalidade, o composto é um análogo químico de malassezina.

[270] Outra modalidade da presente invenção é um composto para melhora da hiperpigmentação causada por um distúrbio de hiperpigmentação. O composto é um análogo químico de um composto produzido por uma levedura *Malassezia*, ou uma forma cristalina, hidrato ou sal cosmeticamente ou

farmaceuticamente aceitável deste.

[271] Em um aspecto dessa modalidade, o composto produzido por uma levedura *Malassezia* possui a estrutura de fórmula (I):

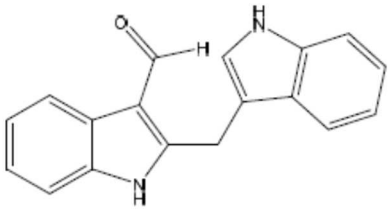


(I)

[272] Em outro aspecto dessa modalidade, o composto é um análogo químico de malassezina.

[273] Uma modalidade adicional da presente invenção é um composto para a modulação da produção de melanina. O composto é um análogo químico de um composto produzido por uma levedura *Malassezia*, ou uma forma cristalina, hidrato ou sal cosmeticamente ou farmaceuticamente aceitável deste.

[274] Em um aspecto dessa modalidade, o composto produzido por uma levedura *Malassezia* possui a estrutura de fórmula (I):

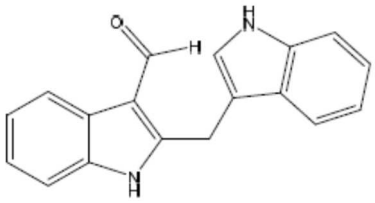


(I)

[275] Em outro aspecto dessa modalidade, o composto é um análogo químico de malassezina.

[276] Uma modalidade adicional da presente invenção é um composto para a modulação da biogênese de melanossoma. O composto é um análogo químico de um composto produzido por uma levedura *Malassezia*, ou uma forma cristalina, hidrato ou sal cosmeticamente ou farmaceuticamente aceitável deste.

[277] Em um aspecto dessa modalidade, o composto produzido por uma levedura *Malassezia* possui a estrutura de fórmula (I):

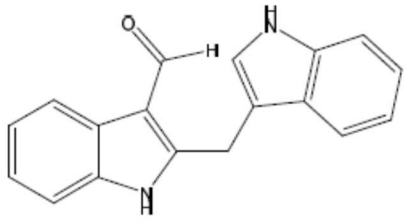


(I)

[278] Em outro aspecto dessa modalidade, o composto é um análogo químico de malassezina.

[279] Outra modalidade da presente invenção é um composto para a modulação da transferência de melanossoma. O composto é um análogo químico de um composto produzido por uma levedura *Malassezia*, ou uma forma cristalina, hidrato ou sal cosmeticamente ou farmaceuticamente aceitável deste.

[280] Em um aspecto dessa modalidade, o composto produzido por uma levedura *Malassezia* possui a estrutura de fórmula (I):



(I)

[281] Em outro aspecto dessa modalidade, o composto é um análogo químico de malassezina.

[282] Uma modalidade adicional da presente invenção é uma composição. A composição compreende uma levedura *Malassezia* e um veículo, diluente ou carreador cosmeticamente ou farmaceuticamente aceitável.

[283] Uma modalidade adicional da presente invenção é

uma composição. A composição compreende um composto isolado ou passível de isolamento de uma levedura *Malassezia* e um veículo, diluente ou carreador cosmeticamente ou farmaceuticamente aceitável.

[284] Outra modalidade da presente invenção é uma composição. A composição compreende qualquer um dos compostos revelados nesse relatório descritivo, incluindo análogos, e um veículo, diluente ou carreador cosmeticamente ou farmaceuticamente aceitável.

[285] Uma modalidade adicional da presente invenção é um método de clareamento da pele em um indivíduo. O método compreende o contato do indivíduo com qualquer um dos compostos ou composições revelados nesse relatório descritivo.

[286] Uma modalidade adicional da presente invenção é um método para indução de apoptose de melanócitos em um indivíduo. O método compreende o contato do indivíduo com qualquer um dos compostos ou composições revelados nesse relatório descritivo.

[287] Outra modalidade da presente invenção é um método para a modulação da atividade de melanócitos em um indivíduo. O método compreende o contato do indivíduo com qualquer um dos compostos ou composições revelados nesse relatório descritivo.

[288] Uma modalidade adicional da presente invenção é um método para o agonismo de um receptor de aril-hidrocarboneto (AhR). O método compreende o contato do indivíduo com qualquer um dos compostos ou composições revelados nesse relatório descritivo.

[289] Uma modalidade adicional da presente invenção é um

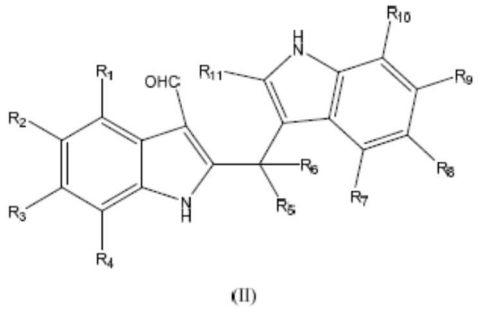
método para melhora da hiperpigmentação causada por um distúrbio de hiperpigmentação em um indivíduo necessitado. O método compreende o contato do indivíduo com qualquer um dos compostos ou composições revelados nesse relatório descritivo.

[290] Outra modalidade da presente invenção é um método para a modulação da produção de melanina em um indivíduo. O método compreende o contato do indivíduo com qualquer um dos compostos ou composições revelados nesse relatório descritivo.

[291] Uma modalidade adicional da presente invenção é um método para a modulação da biogênese de melanossoma em um indivíduo. O método compreende o contato do indivíduo com qualquer um dos compostos ou composições revelados nesse relatório descritivo.

[292] Uma modalidade adicional da presente invenção é um método para a modulação da transferência de melanossoma em um indivíduo. O método compreende o contato do indivíduo com qualquer um dos compostos ou composições revelados nesse relatório descritivo.

[293] Outra modalidade da presente invenção é um composto. O composto possui a estrutura de fórmula (II):

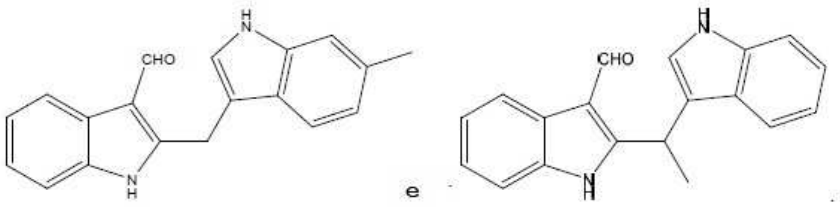



(II)

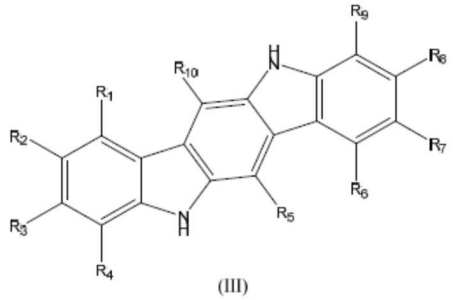
em que: R1, R2, R3, R4, R5, R6, R7, R8, R9, R10 e R11 são selecionados independentemente do grupo que consiste em hidrogênio e metil, e pelo menos um de R1, R2, R3, R4, R5,

R6, R7, R8, R9, R10 e R11 é metil; ou uma forma cristalina, hidrato ou sal cosmeticamente ou farmaceuticamente aceitável deste.

[294] Em um aspecto dessa modalidade, o composto é selecionado do grupo que consiste em:



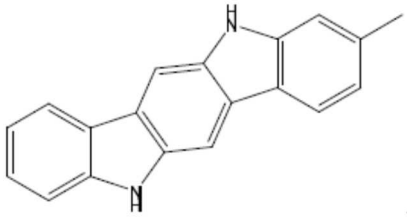

[295] Uma modalidade adicional da presente invenção é um composto. O composto possui uma estrutura de fórmula (III):




(III)

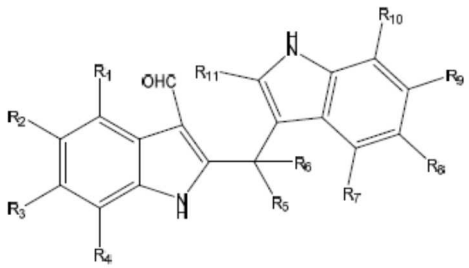
em que: R1, R2, R3, R4, R5, R6, R7, R8, R9 e R10 são selecionados independentemente do grupo que consiste em hidrogênio e metil, e pelo menos um de R1, R2, R3, R4, R5, R6, R7, R8, R9 e R10 é metil; ou uma forma cristalina, hidrato ou sal cosmeticamente ou farmaceuticamente aceitável deste.

[296] Em um aspecto dessa modalidade, o composto é:




[297] Uma modalidade adicional da presente invenção é um composto para clareamento da pele. O composto possui a

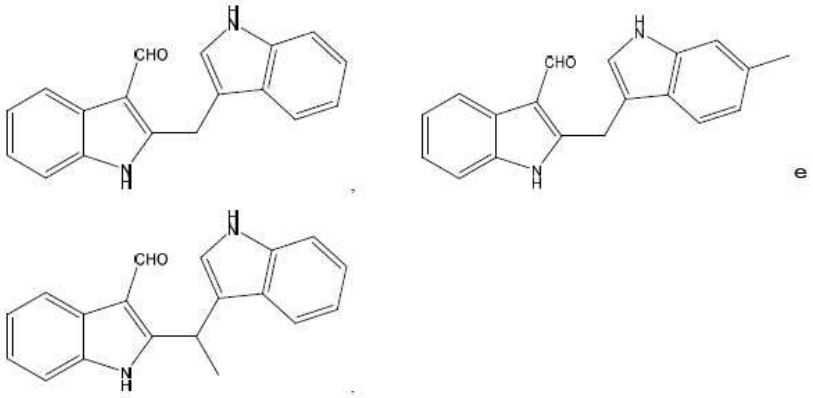
estrutura de fórmula (II):



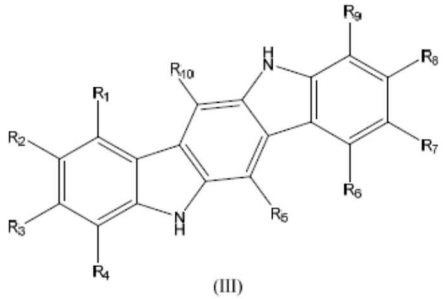
(II)

em que: R1, R2, R3, R4, R5, R6, R7, R8, R9, R10 e R11 são selecionados independentemente do grupo que consiste em hidrogênio e metil; ou uma forma cristalina, hidrato ou sal cosmeticamente ou farmaceuticamente aceitável deste.

[298] Em um aspecto dessa modalidade, o composto é selecionado do grupo que consiste em:



[299] Outra modalidade da presente invenção é um composto para clareamento da pele. O composto possui a estrutura de fórmula (III):

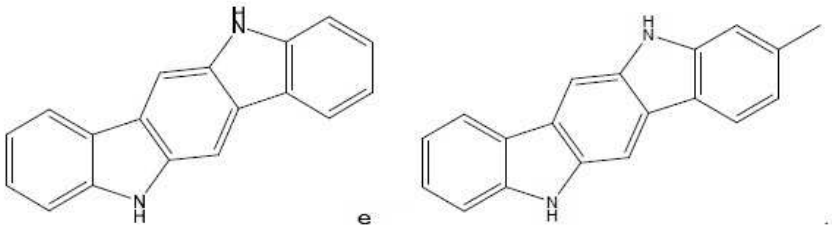


(III)

em que: R1, R2, R3, R4, R5, R6, R7, R8, R9 e R10 são selecionados independentemente do grupo que consiste em hidrogênio e metil; ou uma forma cristalina, hidrato ou sal

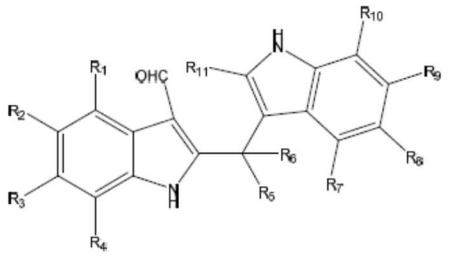
cosmeticamente ou farmaceuticamente aceitável deste.

[300] Em um aspecto dessa modalidade, o composto é selecionado do grupo que consiste em:



e

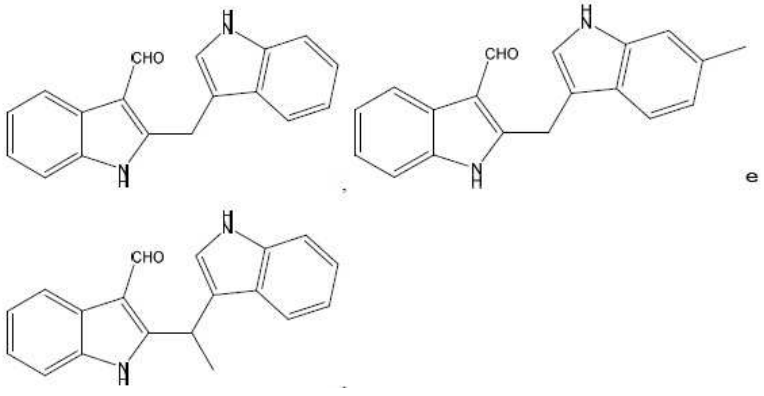
[301] Uma modalidade adicional da presente invenção é um composto para indução de apoptose de melanócitos. O composto possui a estrutura de fórmula (II):



(II)

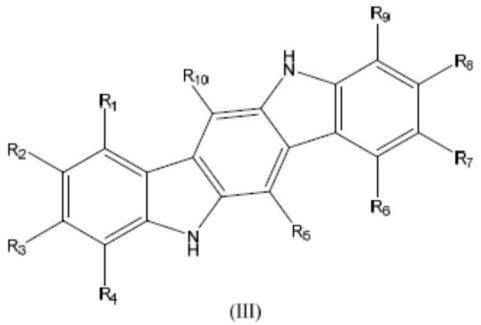
em que: R1, R2, R3, R4, R5, R6, R7, R8, R9, R10 e R11 são selecionados independentemente do grupo que consiste em hidrogênio e metil; ou uma forma cristalina, hidrato ou sal cosmeticamente ou farmaceuticamente aceitável deste.

[302] Em um aspecto dessa modalidade, o composto é selecionado do grupo que consiste em:



e

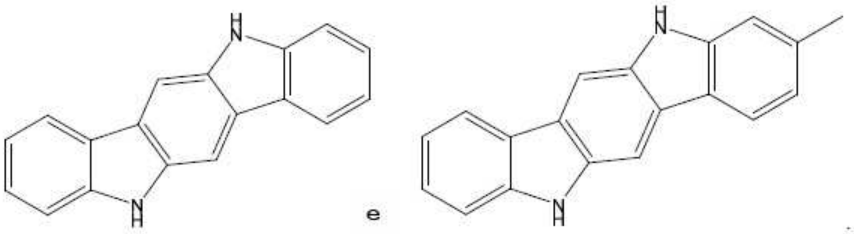
[303] Uma modalidade adicional da presente invenção é um composto para indução de apoptose de melanócitos. O composto possui a estrutura de fórmula (III):



(III)

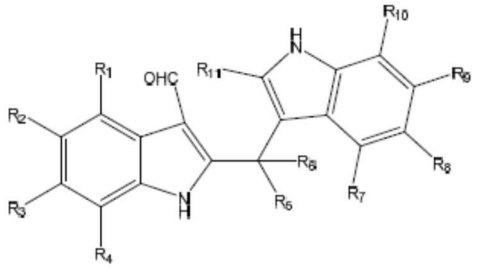
em que: R1, R2, R3, R4, R5, R6, R7, R8, R9 e R10 são selecionados independentemente do grupo que consiste em hidrogênio e metil; ou uma forma cristalina, hidrato ou sal cosmeticamente ou farmaceuticamente aceitável deste.

[304] Em um aspecto dessa modalidade, o composto é selecionado do grupo que consiste em:



e

[305] Outra modalidade da presente invenção é um composto para agonismo do receptor de aril-hidrocarboneto (AhR). O composto possui a estrutura de fórmula (II):

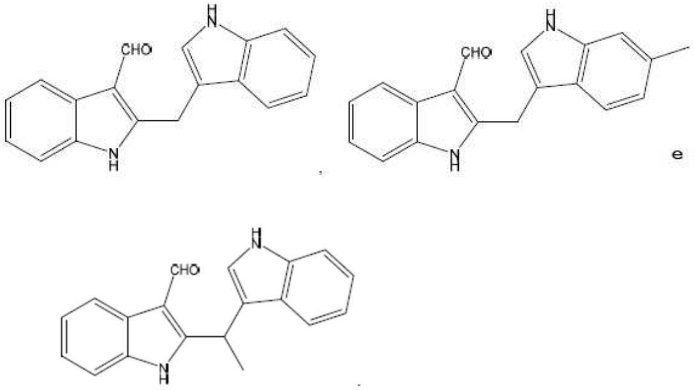


(II)

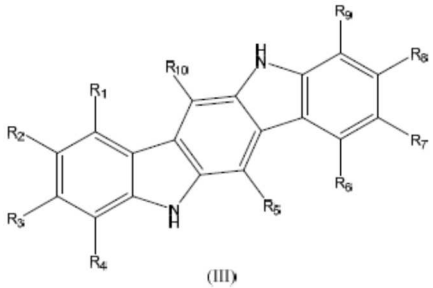
em que: R1, R2, R3, R4, R5, R6, R7, R8, R9, R10 e R11 são selecionados independentemente do grupo que consiste em hidrogênio e metil; ou uma forma cristalina, hidrato ou sal

cosmeticamente ou farmaceuticamente aceitável deste.

[306] Em um aspecto dessa modalidade, o composto é selecionado do grupo que consiste em:



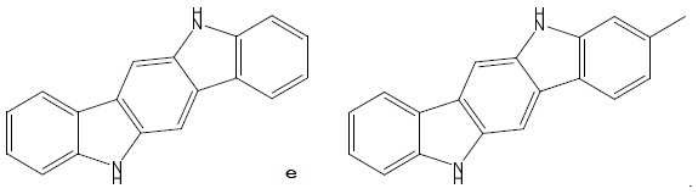

[307] Uma modalidade adicional da presente invenção é um composto para agonismo do receptor de aril-hidrocarboneto (AhR). O composto possui a estrutura de fórmula (III):




(III)

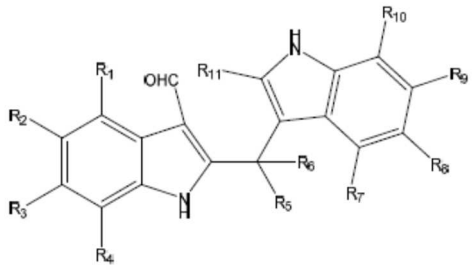
em que: R1, R2, R3, R4, R5, R6, R7, R8, R9 e R10 são selecionados independentemente do grupo que consiste em hidrogênio e metil; ou uma forma cristalina, hidrato ou sal cosmeticamente ou farmaceuticamente aceitável deste.

[308] Em um aspecto dessa modalidade, o composto é selecionado do grupo que consiste em:




[309] Uma modalidade adicional da presente invenção é uma composição. A composição compreende um composto que

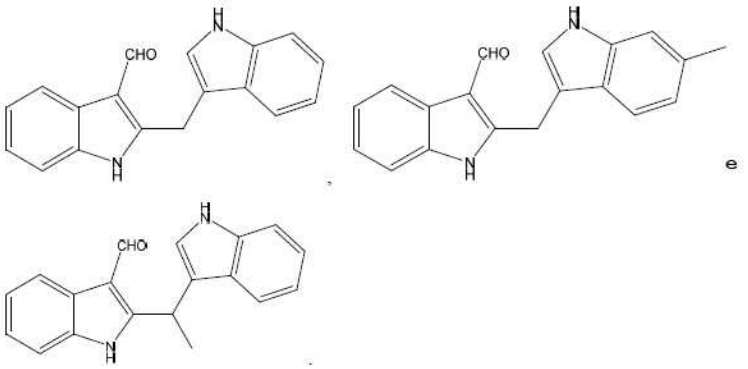
possui a estrutura de fórmula (II)



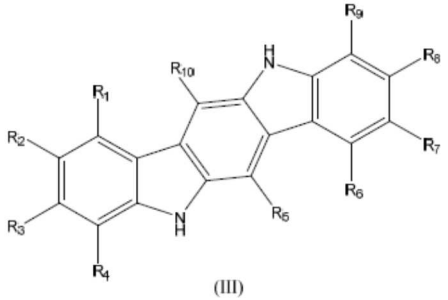

(II)

em que: R1, R2, R3, R4, R5, R6, R7, R8, R9, R10 e R11 são selecionados independentemente do grupo que consiste em hidrogênio e metil; ou uma forma cristalina, hidrato ou sal cosmeticamente ou farmaceuticamente aceitável deste, e um veículo, diluente ou carreador cosmeticamente ou farmaceuticamente aceitável.

[310] Em um aspecto dessa modalidade, o composto é selecionado do grupo que consiste em:



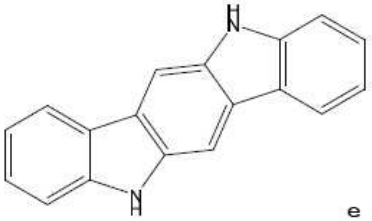

[311] Outra modalidade da presente invenção é uma composição. A composição compreende um composto que possui a estrutura de fórmula (III):



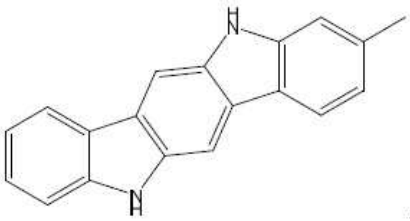

(III)

em que: R1, R2, R3, R4, R5, R6, R7, R8, R9 e R10 são selecionados independentemente do grupo que consiste em hidrogênio e metil; ou uma forma cristalina, hidrato ou sal cosmeticamente ou farmaceuticamente aceitável deste, e um veículo, diluente ou carreador cosmeticamente ou farmaceuticamente aceitável.

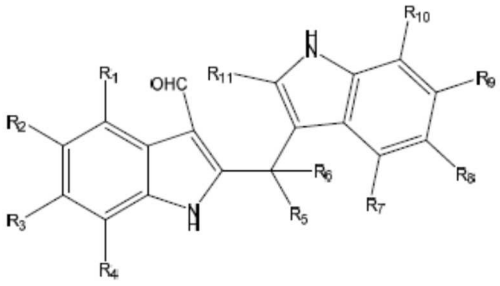
[312] Em um aspecto dessa modalidade, o composto é selecionado do grupo que consiste em:



e



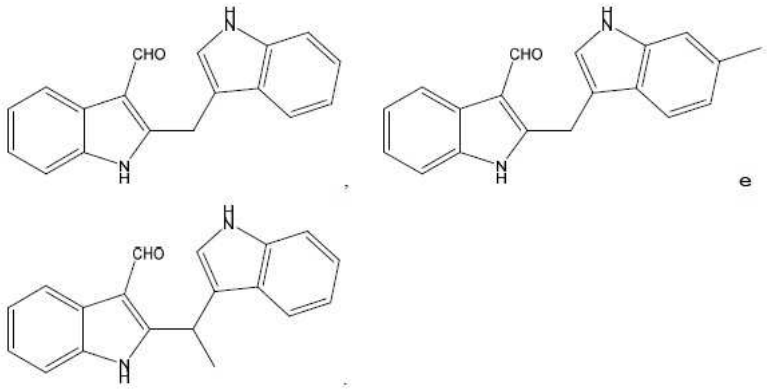
[313] Uma modalidade adicional da presente invenção é um método para clareamento da pele em um indivíduo. O método compreende: o contato do indivíduo com um composto que possui a estrutura de fórmula (II):



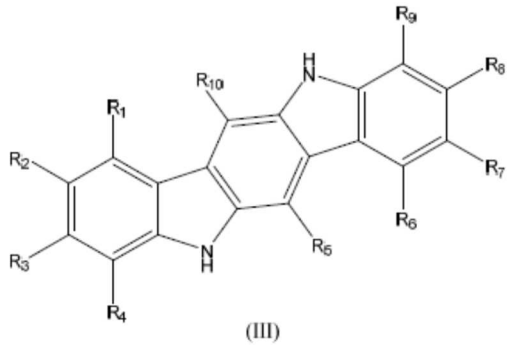

(II)

em que: R1, R2, R3, R4, R5, R6, R7, R8, R9, R10 e R11 são selecionados independentemente do grupo que consiste em hidrogênio e metil; ou uma forma cristalina, hidrato ou sal cosmeticamente ou farmaceuticamente aceitável deste.

[314] Em um aspecto dessa modalidade, o composto é selecionado do grupo que consiste em:



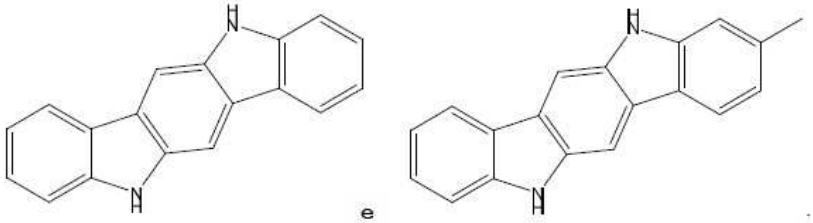

Uma modalidade adicional da presente invenção é um método para clareamento da pele em um indivíduo. O método compreende: o contato do indivíduo com um composto que possui a estrutura de fórmula (III):



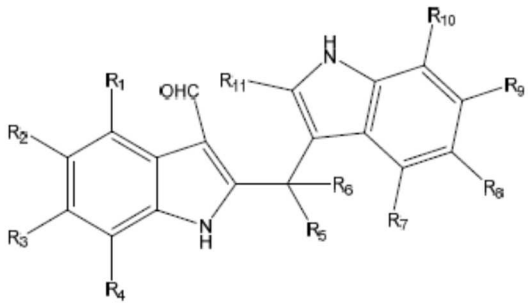

(III)

em que: R1, R2, R3, R4, R5, R6, R7, R8, R9 e R10 são selecionados independentemente do grupo que consiste em hidrogênio e metil; ou uma forma cristalina, hidrato ou sal cosmeticamente ou farmaceuticamente aceitável deste.

[315] Em um aspecto dessa modalidade, o composto é selecionado do grupo que consiste em:



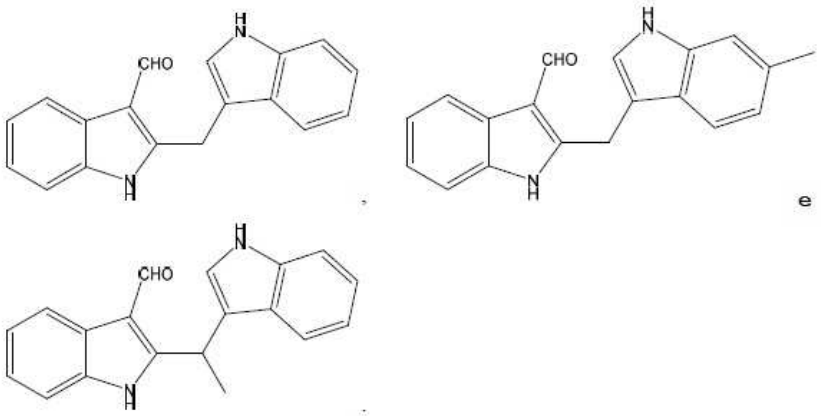
[316] Outra modalidade da presente invenção é um método para indução de apoptose de melanócitos em um indivíduo. O método compreende: o contato do indivíduo com um composto que possui a estrutura de fórmula (II):



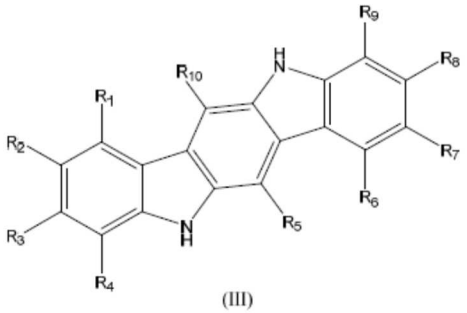
(II)

em que: R1, R2, R3, R4, R5, R6, R7, R8, R9, R10 e R11 são selecionados independentemente do grupo que consiste em hidrogênio e metil; ou uma forma cristalina, hidrato ou sal cosmeticamente ou farmaceuticamente aceitável deste.

[317] Em um aspecto dessa modalidade, o composto é selecionado do grupo que consiste em:



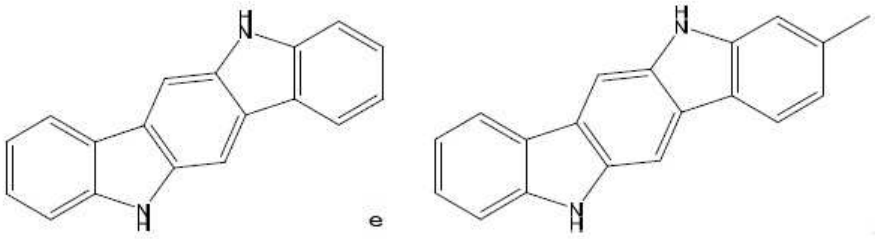
[318] Uma modalidade adicional da presente invenção é um método para indução de apoptose de melanócitos em um indivíduo. O método compreende: o contato do indivíduo com um composto que possui a estrutura de fórmula (III):



(III)

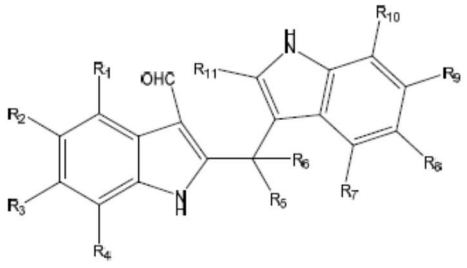
em que: R1, R2, R3, R4, R5, R6, R7, R8, R9 e R10 são selecionados independentemente do grupo que consiste em hidrogênio e metil; ou uma forma cristalina, hidrato ou sal cosmeticamente ou farmaceuticamente aceitável deste.

[319] Em um aspecto dessa modalidade, o composto é selecionado do grupo que consiste em:



e

[320] Uma modalidade adicional da presente invenção é um método para o agonismo de um receptor de aril-hidrocarboneto (AhR) em um indivíduo. O método compreende: o contato do indivíduo com um composto que possui a estrutura de fórmula (II):

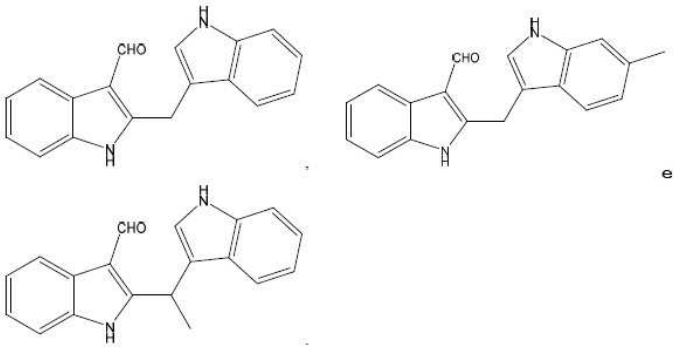


(II)

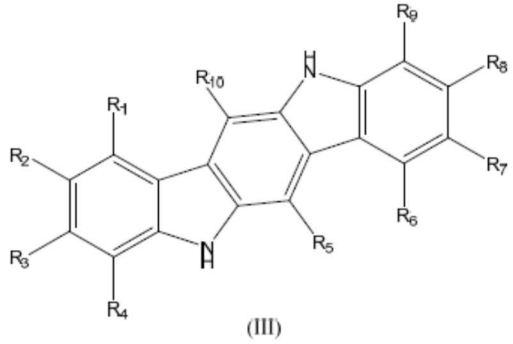
em que: R1, R2, R3, R4, R5, R6, R7, R8, R9, R10 e R11 são selecionados independentemente do grupo que consiste em hidrogênio e metil; ou uma forma cristalina, hidrato ou sal

cosmeticamente ou farmaceuticamente aceitável deste.

[321] Em um aspecto dessa modalidade, o composto é selecionado do grupo que consiste em:



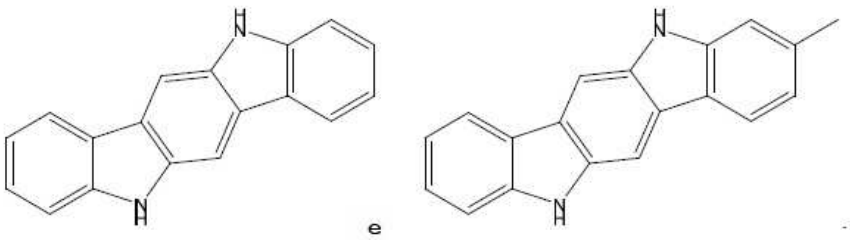

[322] Outra modalidade da presente invenção é um método para o agonismo de um receptor de aril-hidrocarboneto (AhR) em um indivíduo. O método compreende: o contato do indivíduo com um composto que possui a estrutura de fórmula (III):



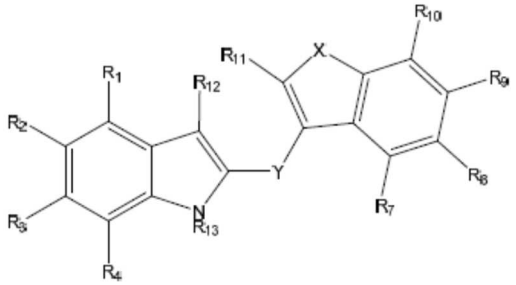

(III)

em que: R1, R2, R3, R4, R5, R6, R7, R8, R9 e R10 são selecionados independentemente do grupo que consiste em hidrogênio e metil; ou uma forma cristalina, hidrato ou sal cosmeticamente ou farmaceuticamente aceitável deste.

[323] Em um aspecto dessa modalidade, o composto é selecionado do grupo que consiste em:

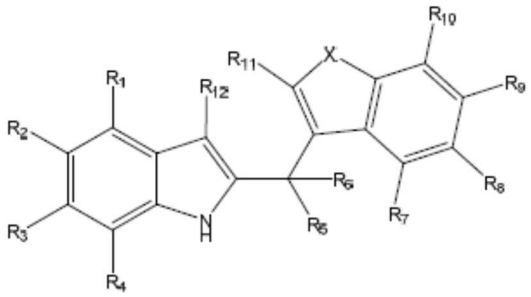


[324] Uma modalidade da presente invenção é um composto. O composto possui a estrutura da seguinte fórmula:




em que: X é selecionado do grupo que consiste em $NR_{14}$ e O; Y é uma ligação covalente, $CR_5R_6$, O ou $NR_{15}$; $R_1$, $R_2$, $R_3$, $R_4$, $R_7$, $R_8$, $R_9$, $R_{10}$ e $R_{11}$ são selecionados independentemente do grupo que consiste em hidrogênio, halogênio, CN, hidroxil, $R_{16}$ ou $OR_{16}$; $R_{13}$, $R_{14}$ e $R_{15}$ são independentemente hidrogênio ou $R_{16}$; $R_5$ e $R_6$ são selecionados independentemente do grupo que consiste em hidrogênio, hidroxil, $OR_{16}$, $R_{16}$ e $C_{3-6}$ cicloalquil, ou $R_5$ e $R_6$ combinam para formar um grupo oxo (=O) ou um $C_{3-6}$ cicloalquil; $R_{12}$ é selecionado do grupo que consiste em hidrogênio, $-COR^a$ e $R_{16}$; cada $R_{16}$ é independentemente formil, $C_{1-9}$ alquil, $C_{2-9}$ alquenil ou $C_{2-9}$ alquinil; e, $R^a$ é selecionado do grupo que consiste em hidrogênio, hidroxil e $OR_{16}$; em que: se $R^a$ é hidrogênio, Y é $CR_5R_6$ e $R_{13}$ e $R_{14}$ são, ambos, hidrogênio, pelo menos um de $R_1$, $R_2$, $R_3$, $R_4$, $R_5$, $R_6$, $R_7$, $R_8$, $R_9$, $R_{10}$ e $R_{11}$ é $R_{16}$; ou, $R_5$ é selecionado do grupo que consiste em hidroxil, $OR_{16}$, $R_{16}$ e $C_{3-6}$ cicloalquil, ou $R_5$ e $R_6$ combinam para formar um grupo oxo (=O) ou um $C_{3-6}$ cicloalquil; ou uma forma cristalina, hidrato ou sal cosmeticamente ou farmaceuticamente aceitável deste.

[325] Em um aspecto dessa modalidade, o composto possui a seguinte estrutura:



(I)

ou uma forma cristalina, hidrato ou sal cosmeticamente ou farmaceuticamente aceitável deste.

[326] Em outro aspecto dessa modalidade, X é NH.

[327] Em um aspecto adicional dessa modalidade, Y é $CR_5R_6$; $R_5$ é hidrogênio e $R_6$ é hidrogênio, $C_{1-4}$ alquil, $C_{3-6}$ cicloalquil ou O-($C_{1-4}$ alquil); ou $R_5$ e $R_6$ combinam para formar um grupo oxo (=O).

[328] De preferência, $CR_5R_6$ é $CH_2$, $CHCH_3$, $CHOCH_3$, C=O ou $CH(C_3H_5)$.

[329] Em um aspecto adicional dessa modalidade, pelo menos um de $R_1$, $R_2$, $R_3$, $R_4$, $R_7$, $R_8$, $R_9$, $R_{10}$ e $R_{11}$ é $C_{1-4}$ alquil.

[330] De preferência, $R_2$ é $C_{1-4}$ alquil.

[331] Mais preferivelmente, $R_2$ é metil.

[332] Em outro aspecto dessa modalidade, cada um de $R_1$, $R_2$, $R_3$, $R_4$, $R_7$, $R_8$, $R_9$, $R_{10}$ e $R_{11}$ é hidrogênio.

[333] Em um aspecto adicional dessa modalidade, $R_{12}$ é -$COR^a$ ou $C_{1-4}$ hidroxialquil; e $R^a$ é hidrogênio ou $C_{1-4}$ alquil.

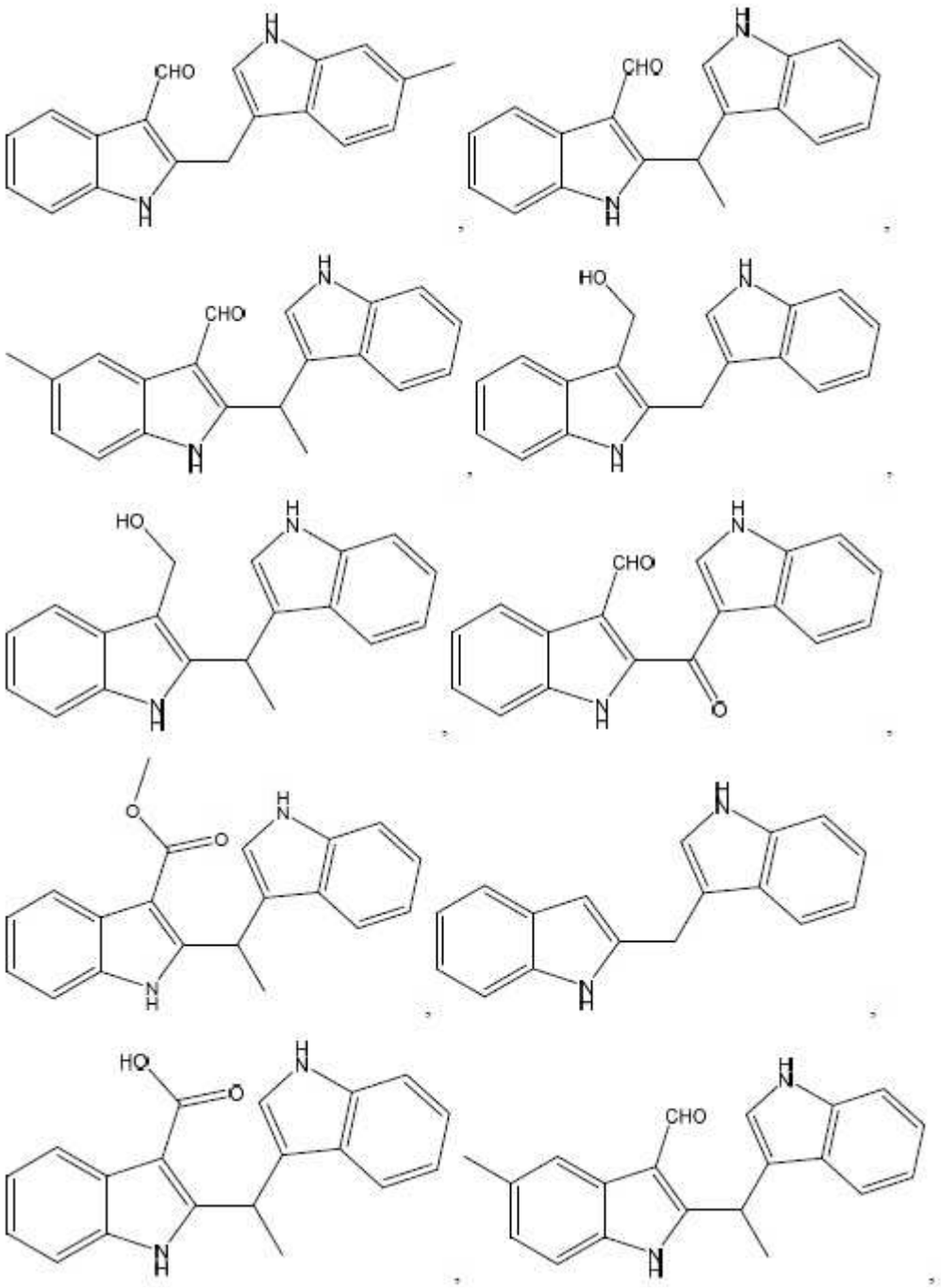
[334] De preferência, $R_{12}$ é CHO, $CH_2OH$ ou C(=O)-O-($C_{1-4}$ alquil).

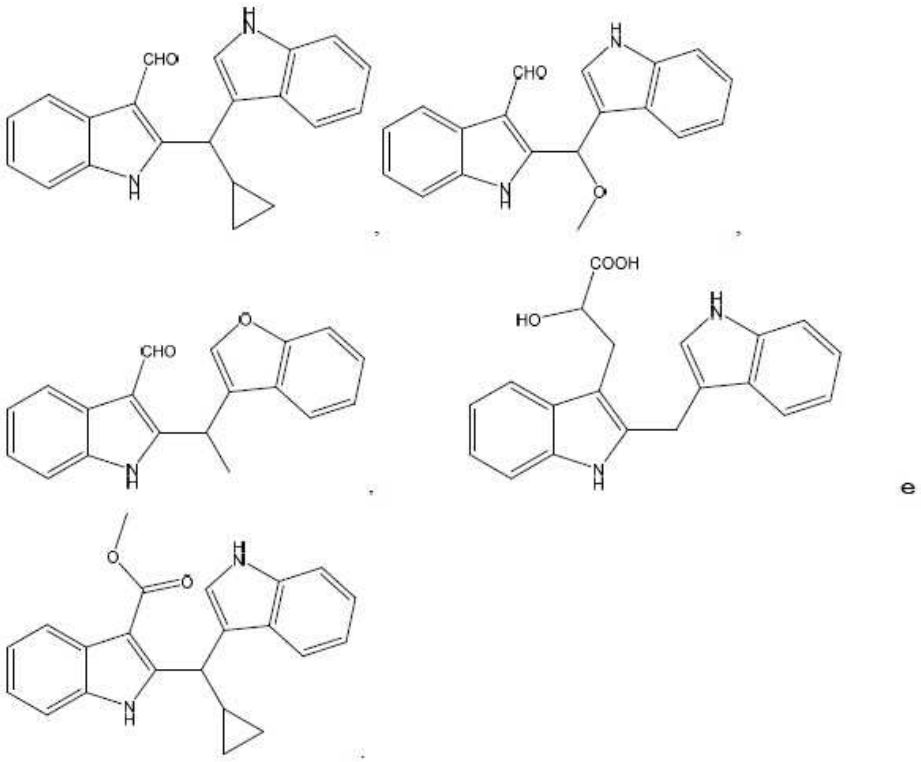
[335] Mais preferivelmente, $R_{12}$ é CHO, $CH_2OH$ ou $CO_2CH_3$.

[336] Em um aspecto adicional dessa modalidade, X é NH; Y é $CR_5R_6$; cada um de $R_1$, $R_3$, $R_4$, $R_7$, $R_8$, $R_9$, $R_{10}$, $R_{11}$ e $R_{13}$ é hidrogênio; $R_2$ é hidrogênio ou $C_{1-4}$ alquil; $R_5$ é hidrogênio e $R_6$ é hidrogênio, $C_{1-4}$ alquil, $C_{3-6}$ cicloalquil ou O-($C_{1-4}$

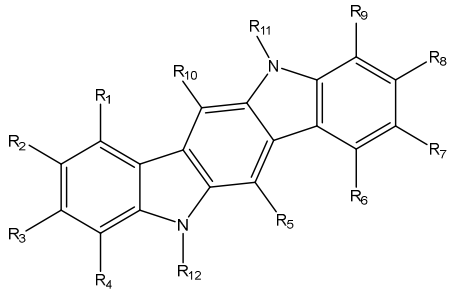
alquil); ou $R_5$ e $R_6$ combinam para formar um grupo oxo (=O); $R_{12}$ é -$COR^a$ ou $C_{1-4}$ hidroxialquil; e $R^a$ é hidrogênio ou $C_{1-4}$ alquil.

[337] Em outro aspecto dessa modalidade, o composto é selecionado do grupo que consiste em:





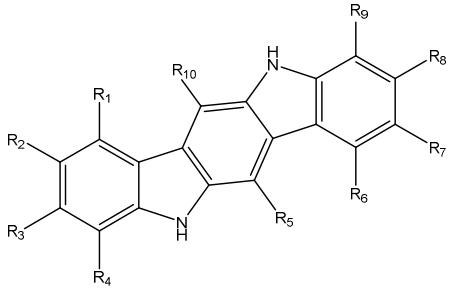

[338] Outra modalidade da presente invenção é um composto. O composto possui a seguinte estrutura:




em que: $R_1$, $R_4$, $R_5$, $R_6$, $R_9$ e $R_{10}$ são selecionados independentemente do grupo que consiste em hidrogênio, hidroxil, halogênio, CN, $R_{13}$, $OR_{13}$, $OCOR_{13}$ e -CHO; $R_2$ e $R_3$ são selecionados independentemente do grupo que consiste em hidrogênio, hidroxil, halogênio, CN, $R_{13}$, $OR_{13}$, $OCOR_{13}$ e -CHO, ou $R_2$ e $R_3$ combinam para formar um heterociclil de 5 ou 6 membros; $R_7$ e $R_8$ são selecionados independentemente do grupo que consiste em hidrogênio, hidroxil, halogênio, CN, $R_{13}$,

$OR_{13}$, $OCOR_{13}$ e -CHO, ou $R_7$ e $R_8$ combinam para formar um heterociclil de 5 ou 6 membros; $R_{11}$ e $R_{12}$ são independentemente hidrogênio ou $R_{13}$; cada $R_{13}$ é independentemente $C_{1-9}$ alquil, $C_{2-9}$ alquenil ou $C_{2-9}$ alquinil; e, pelo menos um de $R_1$, $R_2$, $R_3$, $R_4$, $R_5$, $R_6$, $R_7$, $R_8$, $R_9$ e $R_{10}$ não é hidrogênio; ou uma forma cristalina, hidrato ou sal cosmeticamente ou farmaceuticamente aceitável deste.

[339] Em um aspecto dessa modalidade, o composto possui uma estrutura de acordo com a fórmula (II),




(II)

ou uma forma cristalina, hidrato ou sal cosmeticamente ou farmaceuticamente aceitável deste.

[340] Em outro aspecto dessa modalidade, $R_1$, $R_2$, $R_3$, $R_4$, $R_5$, $R_6$, $R_7$, $R_8$, $R_9$ e $R_{10}$ são selecionados independentemente do grupo que consiste em hidrogênio e $C_{1-4}$ alquil.

[341] De preferência, um ou dois de $R_1$, $R_2$, $R_3$, $R_4$, $R_5$, $R_6$, $R_7$, $R_8$, $R_9$ e $R_{10}$ são $C_{1-4}$ alquil, e os grupos restantes são hidrogênio.

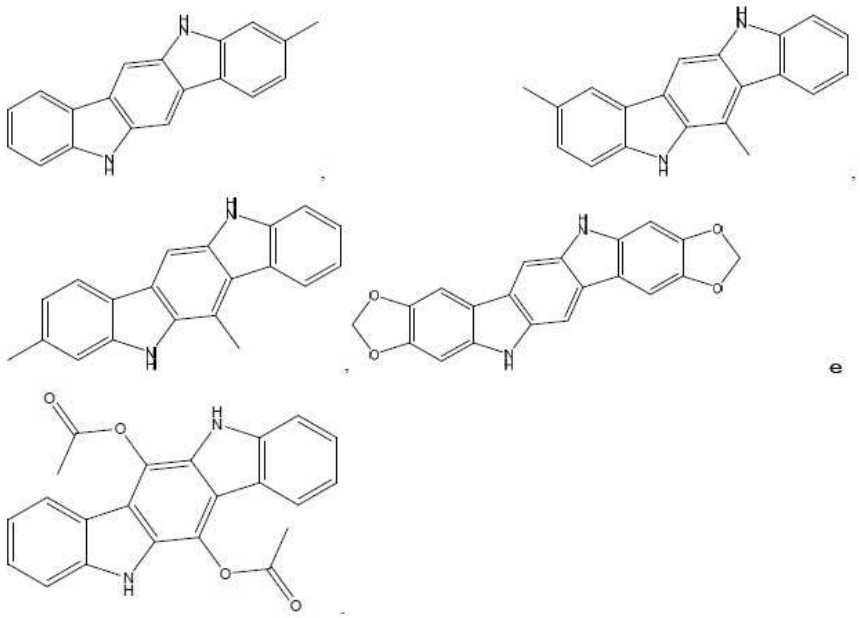
[342] Em um aspecto adicional dessa modalidade, um de $R_5$ e $R_{10}$ é $C_{1-4}$ alquil, e o outro é hidrogênio.

[343] Em um aspecto adicional dessa modalidade, um de $R_1$, $R_2$, $R_3$, $R_4$, $R_6$, $R_7$, $R_8$ e $R_9$ é $C_{1-4}$ alquil, e os grupos restantes são hidrogênio.

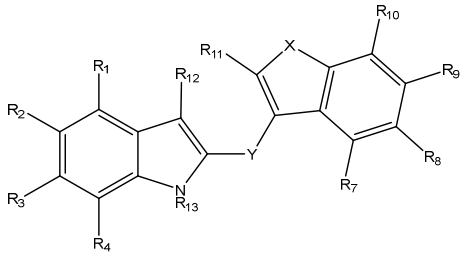
[344] De preferência, $R_{11}$ e $R_{12}$ são, cada um, hidrogênio; e um, dois, três ou quatro de $R_1$, $R_2$, $R_3$, $R_4$, $R_5$, $R_6$, $R_7$, $R_8$,

$R_9$ e $R_{10}$ são metil, e os grupos restantes são hidrogênio.

[345] Em outro aspecto dessa modalidade, o composto é selecionado do grupo que consiste em:



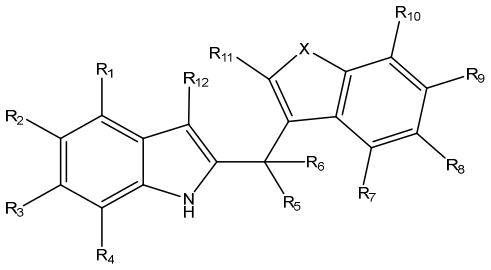
[346] Uma modalidade adicional da presente invenção é um composto para clareamento da pele. O composto possui a estrutura da seguinte fórmula:



em que: X é selecionado do grupo que consiste em $NR_{14}$ e O; Y é uma ligação covalente, $CR_5R_6$, O ou $NR_{15}$; $R_1$, $R_2$, $R_3$, $R_4$, $R_7$, $R_8$, $R_9$, $R_{10}$ e $R_{11}$ são selecionados independentemente do grupo que consiste em hidrogênio, halogênio, CN, hidroxil, $R_{16}$ ou $OR_{16}$; $R_{13}$, $R_{14}$ e $R_{15}$ são independentemente hidrogênio ou $R_{16}$; $R_5$ e $R_6$ são selecionados independentemente do grupo que consiste em hidrogênio, hidroxil, $OR_{16}$, $R_{16}$ e $C_{3-6}$ cicloalquil, ou $R_5$ e $R_6$ combinam para formar um grupo oxo (=O) ou um $C_{3-6}$

cicloalquil; $R_{12}$ é selecionado do grupo que consiste em hidrogênio, -$COR^a$ e $R_{16}$; cada $R_{16}$ é independentemente formil, $C_{1-9}$ alquil, $C_{2-9}$ alquenil ou $C_{2-9}$ alquinil; e, $R^a$ é selecionado do grupo que consiste em hidrogênio, hidroxil e $OR_{16}$; ou uma forma cristalina, hidrato ou sal cosmeticamente ou farmaceuticamente aceitável deste.

[347] Em um aspecto dessa modalidade, o composto possui a seguinte estrutura:




(I)

ou uma forma cristalina, hidrato ou sal cosmeticamente ou farmaceuticamente aceitável deste.

[348] Em outro aspecto dessa modalidade, X é NH.

[349] Em um aspecto adicional dessa modalidade, Y é $CR_5R_6$; $R_5$ é hidrogênio e $R_6$ é hidrogênio, $C_{1-4}$ alquil, $C_{3-6}$ cicloalquil ou O-($C_{1-4}$ alquil); ou $R_5$ e $R_6$ combinam para formar um grupo oxo (=O).

[350] De preferência, $CR_5R_6$ é $CH_2$, $CHCH_3$, $CHOCH_3$, C=O ou $CH(C_3H_5)$.

[351] Em um aspecto adicional dessa modalidade, pelo menos um de $R_1$, $R_2$, $R_3$, $R_4$, $R_7$, $R_8$, $R_9$, $R_{10}$ e $R_{11}$ é $C_{1-4}$ alquil.

[352] De preferência, $R_2$ é $C_{1-4}$ alquil.

[353] Mais preferivelmente, $R_2$ é metil.

[354] Em outro aspecto dessa modalidade, cada um de $R_1$, $R_2$, $R_3$, $R_4$, $R_7$, $R_8$, $R_9$, $R_{10}$ e $R_{11}$ é hidrogênio.

[355] Em um aspecto adicional dessa modalidade, $R_{12}$ é -

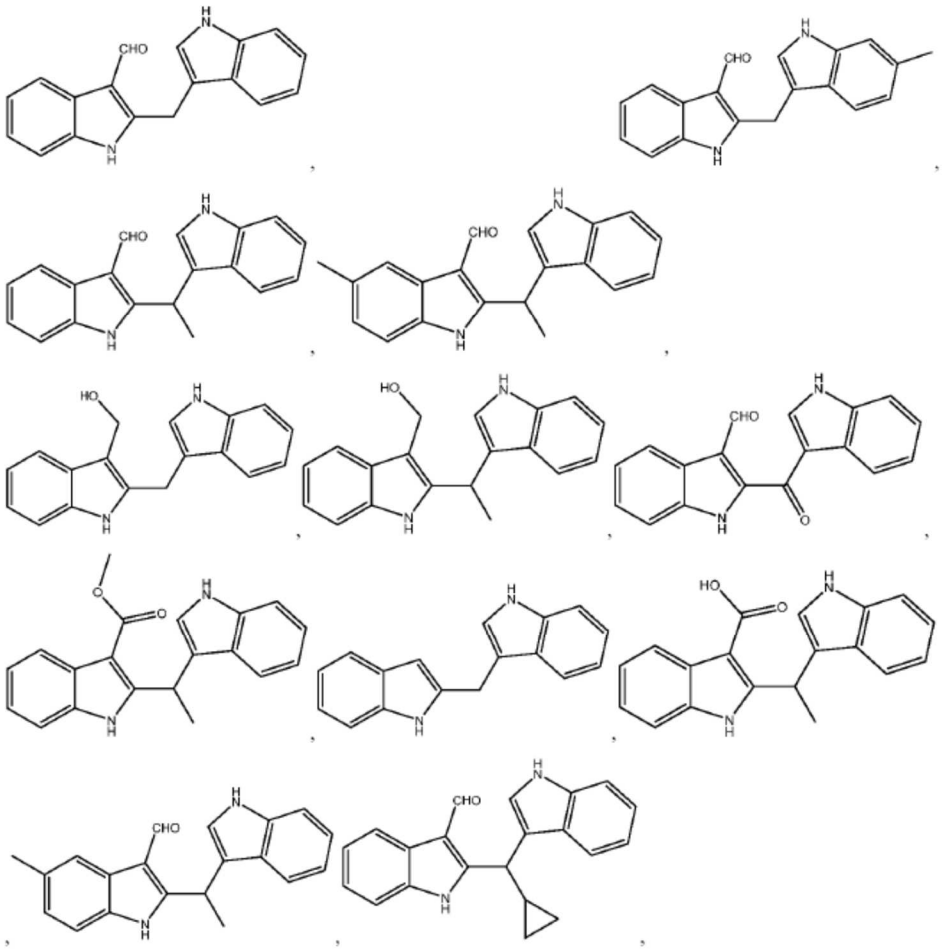
$COR^a$ ou $C_{1-4}$ hidroxialquil; e $R^a$ é hidrogênio ou $C_{1-4}$ alquil.

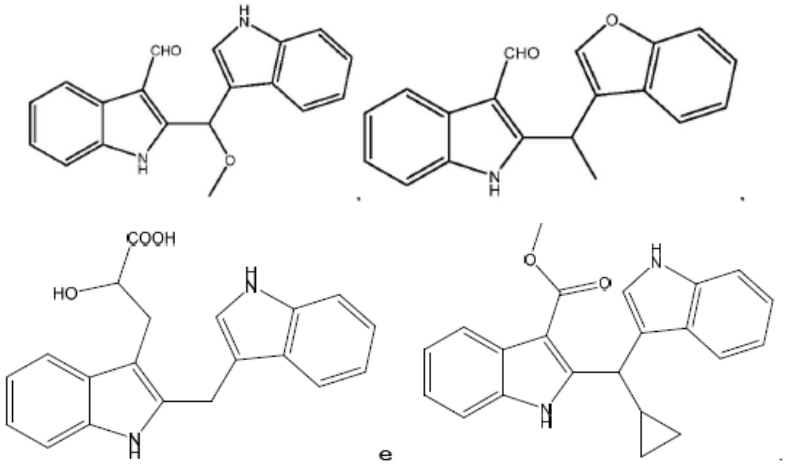
[356] De preferência, $R_{12}$ é CHO, $CH_2OH$ ou C(=O)-O-($C_{1-4}$ alquil).

[357] Mais preferivelmente, $R_{12}$ é CHO, $CH_2OH$ ou $CO_2CH_3$.

[358] Em um aspecto adicional dessa modalidade, X é NH; Y é $CR_5R_6$; cada um de $R_1$, $R_3$, $R_4$, $R_7$, $R_8$, $R_9$, $R_{10}$, $R_{11}$ e $R_{13}$ é hidrogênio; $R_2$ é hidrogênio ou $C_{1-4}$ alquil; $R_5$ é hidrogênio e $R_6$ é hidrogênio, $C_{1-4}$ alquil, $C_{3-6}$ cicloalquil ou O-($C_{1-4}$ alquil); ou $R_5$ e $R_6$ combinam para formar um grupo oxo (=O); $R_{12}$ é -$COR^a$ ou $C_{1-4}$ hidroxialquil; e $R^a$ é hidrogênio ou $C_{1-4}$ alquil.

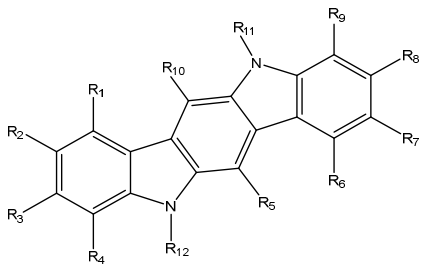
[359] Em outro aspecto dessa modalidade, o composto é selecionado do grupo que consiste em:





[360] Em um aspecto adicional dessa modalidade, se $R^a$ é hidrogênio, Y é $CR_5R_6$ e $R_{13}$ e $R_{14}$ são, ambos, hidrogênio, pelo menos um de $R_1$, $R_2$, $R_3$, $R_4$, $R_5$, $R_6$, $R_7$, $R_8$, $R_9$, $R_{10}$ e $R_{11}$ é $R_{16}$; ou, $R_5$ é selecionado do grupo que consiste em hidroxil, $OR_{16}$, $R_{16}$ e $C_{3-}6$ cicloalquil, ou R5 e $R_6$ combinam para formar um grupo oxo (=O) ou um C3-6 cicloalquil.

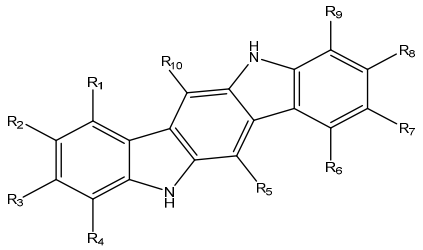
[361] Uma modalidade adicional da presente invenção é um composto para clareamento da pele. O composto possui a seguinte fórmula:



em que: $R_1$, $R_4$, $R_5$, $R_6$, $R_9$ e $R_{10}$ são selecionados independentemente do grupo que consiste em hidrogênio, hidroxil, halogênio, CN, $R_{13}$, $OR_{13}$, $OCOR_{13}$ e -CHO; $R_2$ e $R_3$ são selecionados independentemente do grupo que consiste em hidrogênio, hidroxil, halogênio, CN, $R_{13}$, $OR_{13}$, $OCOR_{13}$ e -CHO, ou $R_2$ e $R_3$ combinam para formar um heterociclil de 5 ou 6 membros; $R_7$ e $R_8$ são selecionados independentemente do grupo

que consiste em hidrogênio, hidroxil, halogênio, CN, $R_{13}$, $OR_{13}$, $OCOR_{13}$ e -CHO, ou $R_7$ e $R_8$ combinam para formar um heterociclil de 5 ou 6 membros; $R_{11}$ e $R_{12}$ são independentemente hidrogênio ou $R_{13}$; e, cada $R_{13}$ é independentemente $C_{1-9}$ alquil, $C_{2-9}$ alquenil ou $C_{2-9}$ alquinil; ou uma forma cristalina, hidrato ou sal cosmeticamente ou farmaceuticamente aceitável deste.

[362] Em um aspecto dessa modalidade, o composto possui uma estrutura de acordo com a fórmula (II),




(II)

ou uma forma cristalina, hidrato ou sal cosmeticamente ou farmaceuticamente aceitável deste.

[363] Em outro aspecto dessa modalidade, $R_1$, $R_2$, $R_3$, $R_4$, $R_5$, $R_6$, $R_7$, $R_8$, $R_9$ e $R_{10}$ são selecionados independentemente do grupo que consiste em hidrogênio e $C_{1-4}$ alquil.

[364] De preferência, um ou dois de $R_1$, $R_2$, $R_3$, $R_4$, $R_5$, $R_6$, $R_7$, $R_8$, $R_9$ e $R_{10}$ são $C_{1-4}$ alquil, e os grupos restantes são hidrogênio.

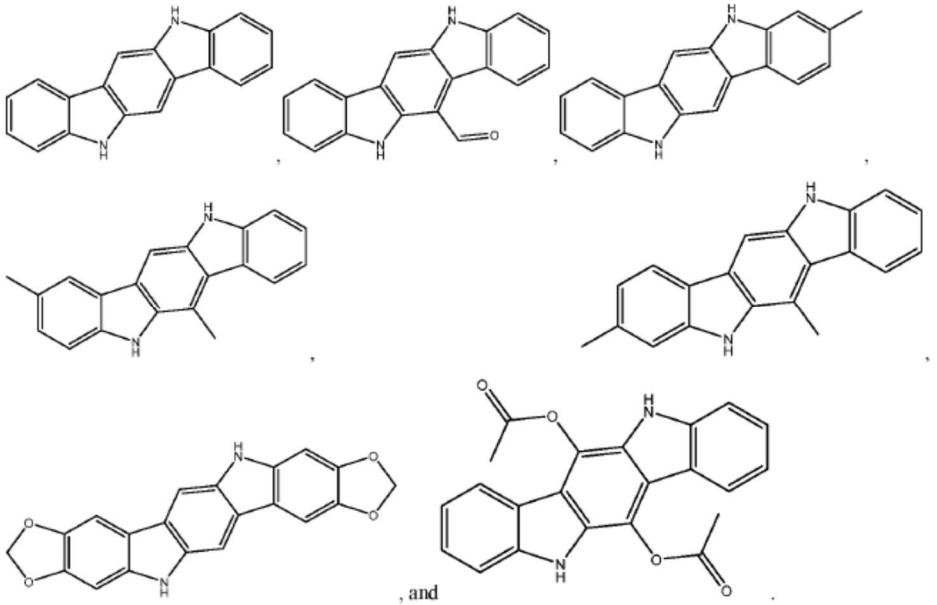
[365] Em um aspecto adicional dessa modalidade, um de $R_5$ e $R_{10}$ é $C_{1-4}$ alquil, e o outro é hidrogênio.

[366] Em um aspecto adicional dessa modalidade, um de $R_1$, $R_2$, $R_3$, $R_4$, $R_6$, $R_7$, $R_8$ e $R_9$ é $C_{1-4}$ alquil, e os grupos restantes são hidrogênio.

[367] Em outro aspecto dessa modalidade, $R_{11}$ e $R_{12}$ são, cada um, hidrogênio; e um, dois, três ou quatro de $R_1$, $R_2$, $R_3$, $R_4$, $R_5$, $R_6$, $R_7$, $R_8$, $R_9$ e $R_{10}$ são metil, e os grupos restantes

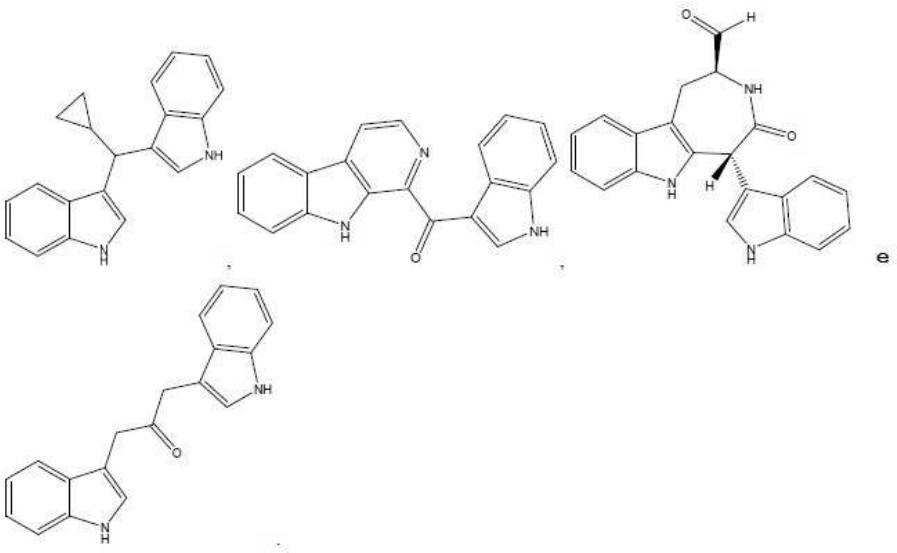
são hidrogênio.

[368] Em um aspecto adicional dessa modalidade, o composto é selecionado do grupo que consiste em:

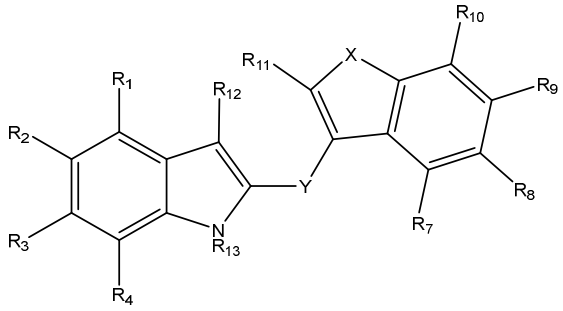



[369] Em um aspecto adicional dessa modalidade, pelo menos um de $R_1$, $R_2$, $R_3$, $R_4$, $R_5$, $R_6$, $R_7$, $R_8$, $R_9$ e $R_{10}$ não é hidrogênio.

[370] Outra modalidade da presente invenção é um composto para clareamento da pele. O composto é selecionado do grupo que consiste em:

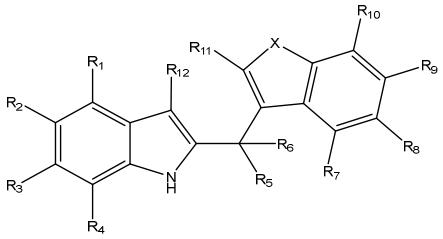


[371] Uma modalidade adicional da presente invenção é um composto para indução de apoptose de melanócitos. O composto possui a estrutura da seguinte fórmula:




em que: X é selecionado do grupo que consiste em $NR_{14}$ e O; Y é uma ligação covalente, $CR_5R_6$, O ou $NR_{15}$; $R_1$, $R_2$, $R_3$, $R_4$, $R_7$, $R_8$, $R_9$, $R_{10}$ e $R_{11}$ são selecionados independentemente do grupo que consiste em hidrogênio, halogênio, CN, hidroxil, $R_{16}$ ou $OR_{16}$; $R_{13}$, $R_{14}$ e $R_{15}$ são independentemente hidrogênio ou $R_{16}$; $R_5$ e $R_6$ são selecionados independentemente do grupo que consiste em hidrogênio, hidroxil, $OR_{16}$, $R_{16}$ e $C_{3-6}$ cicloalquil, ou $R_5$ e $R_6$ combinam para formar um grupo oxo (=O) ou um $C_{3-6}$ cicloalquil; $R_{12}$ é selecionado do grupo que consiste em hidrogênio, -$COR^a$ e $R_{16}$; cada $R_{16}$ é independentemente formil, $C_{1-9}$ alquil, $C_{2-9}$ alquenil ou $C_{2-9}$ alquinil; e, $R^a$ é selecionado do grupo que consiste em hidrogênio, hidroxil e $OR_{16}$; ou uma forma cristalina, hidrato ou sal cosmeticamente ou farmaceuticamente aceitável deste.

[372] Em um aspecto dessa modalidade, o composto possui a seguinte estrutura:




(I)

ou uma forma cristalina, hidrato ou sal cosmeticamente

ou farmaceuticamente aceitável deste.

[373] Em outro aspecto dessa modalidade, X é NH.

[374] Em um aspecto adicional dessa modalidade, Y é $CR_5R_6$; $R_5$ é hidrogênio e $R_6$ é hidrogênio, $C_{1-4}$ alquil, $C_{3-6}$ cicloalquil ou O-($C_{1-4}$ alquil); ou $R_5$ e $R_6$ combinam para formar um grupo oxo (=O).

[375] De preferência, $CR_5R_6$ é $CH_2$, $CHCH_3$, $CHOCH_3$, C=O ou $CH(C_3H_5)$.

[376] Em um aspecto adicional dessa modalidade, pelo menos um de $R_1$, $R_2$, $R_3$, $R_4$, $R_7$, $R_8$, $R_9$, $R_{10}$ e $R_{11}$ é $C_{1-4}$ alquil.

[377] De preferência, $R_2$ é $C_{1-4}$ alquil.

[378] Mais preferivelmente, $R_2$ é metil.

[379] Em outro aspecto dessa modalidade, cada um de $R_1$, $R_2$, $R_3$, $R_4$, $R_7$, $R_8$, $R_9$, $R_{10}$ e $R_{11}$ é hidrogênio.

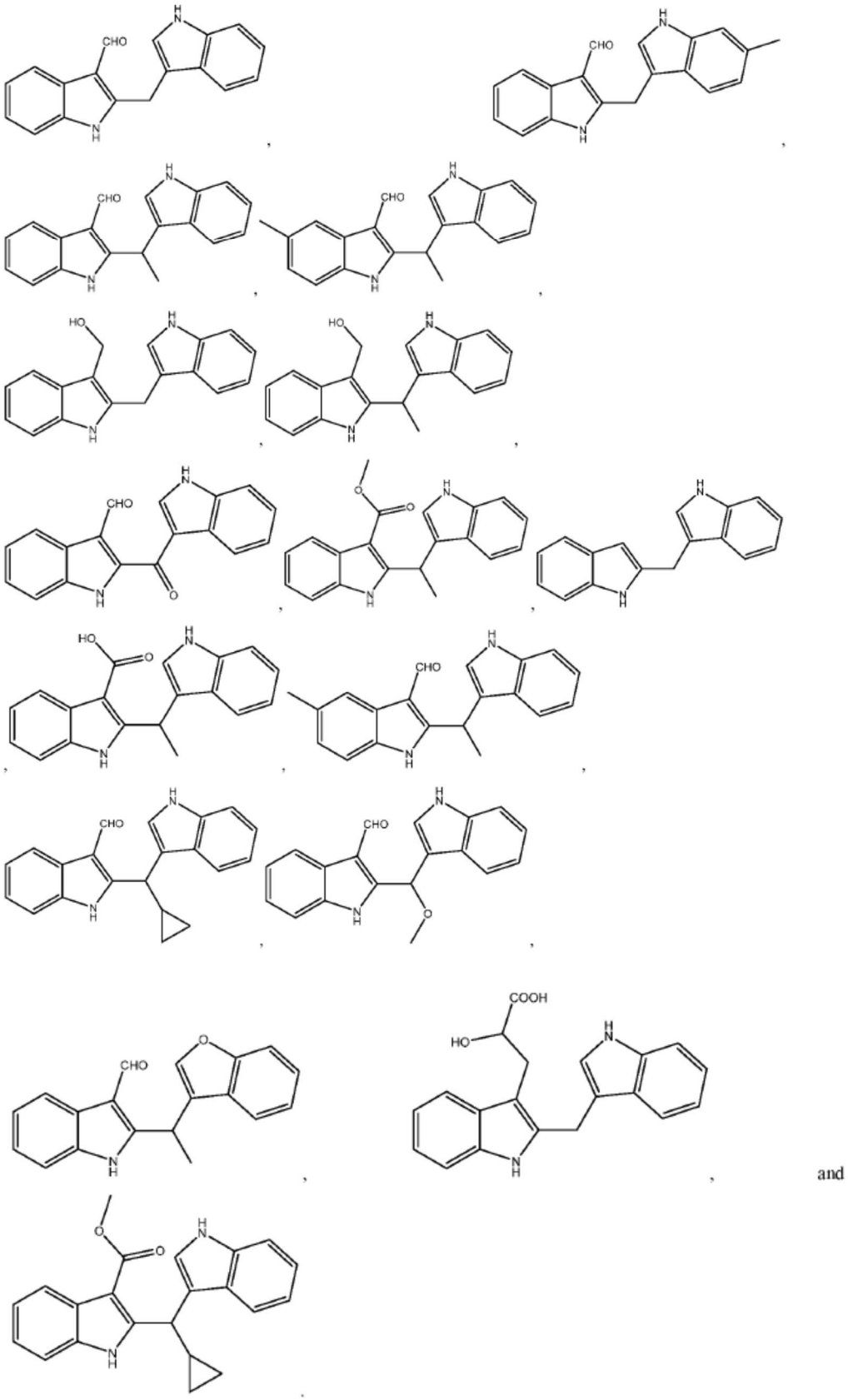
[380] Em um aspecto adicional dessa modalidade, $R_{12}$ é -$COR^a$ ou $C_{1-4}$ hidroxialquil; e $R^a$ é hidrogênio ou $C_{1-4}$ alquil.

[381] De preferência, $R_{12}$ é CHO, $CH_2OH$ ou C(=O)-O-($C_{1-4}$ alquil).

[382] Mais preferivelmente, $R_{12}$ é CHO, $CH_2OH$ ou $CO_2CH_3$.

[383] Em um aspecto adicional dessa modalidade, X é NH; Y é $CR_5R_6$; cada um de $R_1$, $R_3$, $R_4$, $R_7$, $R_8$, $R_9$, $R_{10}$, $R_{11}$ e $R_{13}$ é hidrogênio; $R_2$ é hidrogênio ou $C_{1-4}$ alquil; $R_5$ é hidrogênio e $R_6$ é hidrogênio, $C_{1-4}$ alquil, $C_{3-6}$ cicloalquil ou O-($C_{1-4}$ alquil); ou $R_5$ e $R_6$ combinam para formar um grupo oxo (=O); $R_{12}$ é -$COR^a$ ou $C_{1-4}$ hidroxialquil; e $R^a$ é hidrogênio ou $C_{1-4}$ alquil.

[384] Em outro aspecto dessa modalidade, o composto é selecionado do grupo que consiste em:

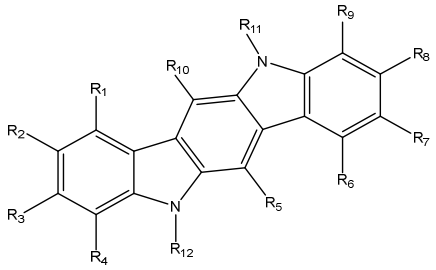


and

[385] Em um aspecto adicional dessa modalidade, se $R^a$ é hidrogênio, Y é $CR_5R_6$ e $R_{13}$ e $R_{14}$ são, ambos, hidrogênio, pelo

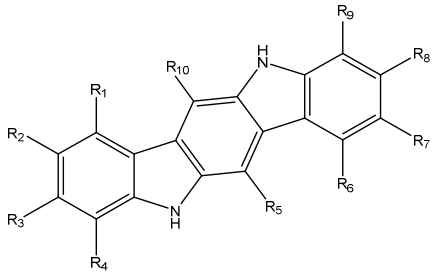
menos um de $R_1$, $R_2$, $R_3$, $R_4$, $R_5$, $R_6$, $R_7$, $R_8$, $R_9$, $R_{10}$ e $R_{11}$ é $R_{16}$; ou, $R_5$ é selecionado do grupo que consiste em hidroxil, $OR_{16}$, $R_{16}$ e $C_{3-6}$ cicloalquil, ou $R_5$ e $R_6$ combinam para formar um grupo oxo (=O) ou um $C_{3-6}$ cicloalquil.

[386] Uma modalidade adicional da presente invenção é um composto para indução de apoptose de melanócitos, o composto possuindo a seguinte fórmula:




em que: $R_1$, $R_4$, $R_5$, $R_6$, $R_9$ e $R_{10}$ são selecionados independentemente do grupo que consiste em hidrogênio, hidroxil, halogênio, CN, $R_{13}$, $OR_{13}$, $OCOR_{13}$ e -CHO; $R_2$ e $R_3$ são selecionados independentemente do grupo que consiste em hidrogênio, hidroxil, halogênio, CN, $R_{13}$, $OR_{13}$, $OCOR_{13}$ e -CHO, ou $R_2$ e $R_3$ combinam para formar um heterociclil de 5 ou 6 membros; $R_7$ e $R_8$ são selecionados independentemente do grupo que consiste em hidrogênio, hidroxil, halogênio, CN, $R_{13}$, $OR_{13}$, $OCOR_{13}$ e -CHO, ou $R_7$ e $R_8$ combinam para formar um heterociclil de 5 ou 6 membros; $R_{11}$ e $R_{12}$ são independentemente hidrogênio ou $R_{13}$; e, cada $R_{13}$ é independentemente $C_{1-9}$ alquil, $C_{2-9}$ alquenil ou $C_{2-9}$ alquinil; ou uma forma cristalina, hidrato ou sal cosmeticamente ou farmaceuticamente aceitável deste.

[387] Em um aspecto dessa modalidade, o composto possui uma estrutura de acordo com a fórmula (II),



(II)

ou uma forma cristalina, hidrato ou sal cosmeticamente ou farmaceuticamente aceitável deste.

[388] Em outro aspecto dessa modalidade, $R_1$, $R_2$, $R_3$, $R_4$, $R_5$, $R_6$, $R_7$, $R_8$, $R_9$ e $R_{10}$ são selecionados independentemente do grupo que consiste em hidrogênio e $C_{1-4}$ alquil.

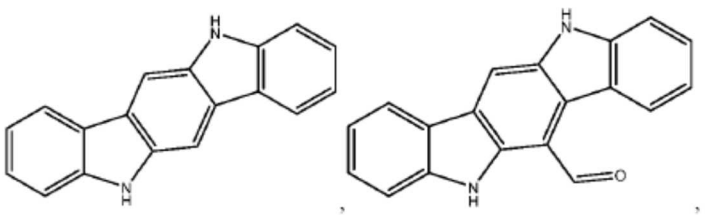
[389] De preferência, um ou dois de $R_1$, $R_2$, $R_3$, $R_4$, $R_5$, $R_6$, $R_7$, $R_8$, $R_9$ e $R_{10}$ são $C_{1-4}$ alquil, e os grupos restantes são hidrogênio.

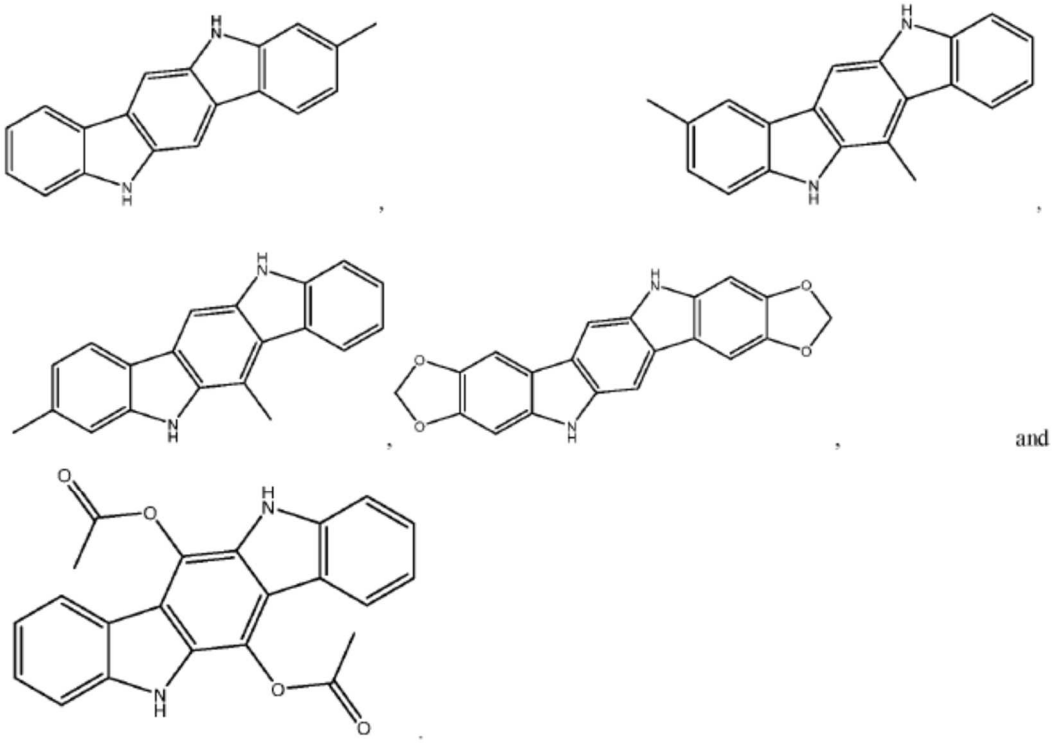
[390] Em um aspecto adicional dessa modalidade, um de $R_5$ e $R_{10}$ é $C_{1-4}$ alquil, e o outro é hidrogênio.

[391] Em um aspecto adicional dessa modalidade, um de $R_1$, $R_2$, $R_3$, $R_4$, $R_6$, $R_7$, $R_8$ e $R_9$ é $C_{1-4}$ alquil, e os grupos restantes são hidrogênio.

[392] Em outro aspecto dessa modalidade, $R_{11}$ e $R_{12}$ são, cada um, hidrogênio; e um, dois, três ou quatro de $R_1$, $R_2$, $R_3$, $R_4$, $R_5$, $R_6$, $R_7$, $R_8$, $R_9$ e $R_{10}$ são metil, e os grupos restantes são hidrogênio.

[393] Em um aspecto adicional dessa modalidade, o composto é selecionado do grupo que consiste em:

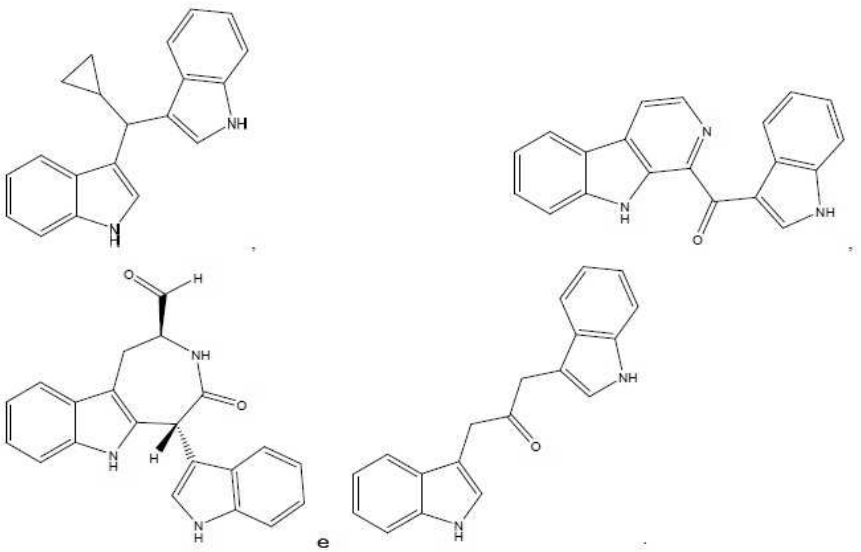




and

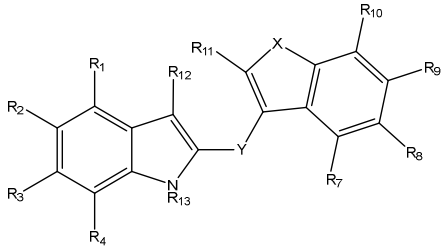
[394] Em um aspecto adicional dessa modalidade, pelo menos um de $R_1$, $R_2$, $R_3$, $R_4$, $R_5$, $R_6$, $R_7$, $R_8$, $R_9$ e $R_{10}$ não é hidrogênio.

[395] Outra modalidade da presente invenção é um composto para indução de apoptose de melanócitos. O composto é selecionado do grupo que consiste em:



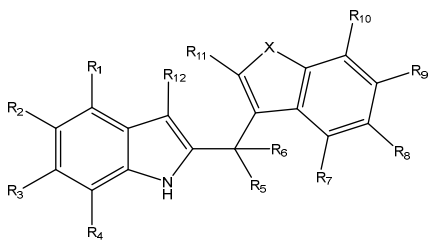
e

[396] Uma modalidade adicional da presente invenção é um composto para a modulação da atividade do receptor de aril-hidrocarboneto (AhR). O composto possui a estrutura da seguinte fórmula:



em que: X é selecionado do grupo que consiste em $NR_{14}$ e O; Y é uma ligação covalente, $CR_5R_6$, O ou $NR_{15}$; $R_1$, $R_2$, $R_3$, $R_4$, $R_7$, $R_8$, $R_9$, $R_{10}$ e $R_{11}$ são selecionados independentemente do grupo que consiste em hidrogênio, halogênio, CN, hidroxil, $R_{16}$ ou $OR_{16}$; $R_{13}$, $R_{14}$ e $R_{15}$ são independentemente hidrogênio ou $R_{16}$; $R_5$ e $R_6$ são selecionados independentemente do grupo que consiste em hidrogênio, hidroxil, $OR_{16}$, $R_{16}$ e $C_{3-6}$ cicloalquil, ou $R_5$ e $R_6$ combinam para formar um grupo oxo (=O) ou um $C_{3-6}$ cicloalquil; $R_{12}$ é selecionado do grupo que consiste em hidrogênio, -$COR^a$ e $R_{16}$; cada $R_{16}$ é independentemente formil, $C_{1-9}$ alquil, $C_{2-9}$ alquenil ou $C_{2-9}$ alquinil; e, $R^a$ é selecionado do grupo que consiste em hidrogênio, hidroxil e $OR_{16}$; ou uma forma cristalina, hidrato ou sal cosmeticamente ou farmaceuticamente aceitável deste.

[397] Em um aspecto dessa modalidade, o composto possui a seguinte estrutura:



(I)

ou uma forma cristalina, hidrato ou sal cosmeticamente

ou farmaceuticamente aceitável deste.

[398] Em outro aspecto dessa modalidade, X é NH.

[399] Em um aspecto adicional dessa modalidade, Y é $CR_5R_6$; $R_5$ é hidrogênio e $R_6$ é hidrogênio, $C_{1-4}$ alquil, $C_{3-6}$ cicloalquil ou O-($C_{1-4}$ alquil); ou $R_5$ e $R_6$ combinam para formar um grupo oxo (=O).

[400] De preferência, $CR_5R_6$ é $CH_2$, $CHCH_3$, $CHOCH_3$, C=O ou $CH(C_3H_5)$.

[401] Em um aspecto adicional dessa modalidade, pelo menos um de $R_1$, $R_2$, $R_3$, $R_4$, $R_7$, $R_8$, $R_9$, $R_{10}$ e $R_{11}$ é $C_{1-4}$ alquil.

[402] De preferência, $R_2$ é $C_{1-4}$ alquil.

[403] Mais preferivelmente, $R_2$ é metil.

[404] Em outro aspecto dessa modalidade, cada um de $R_1$, $R_2$, $R_3$, $R_4$, $R_7$, $R_8$, $R_9$, $R_{10}$ e $R_{11}$ é hidrogênio.

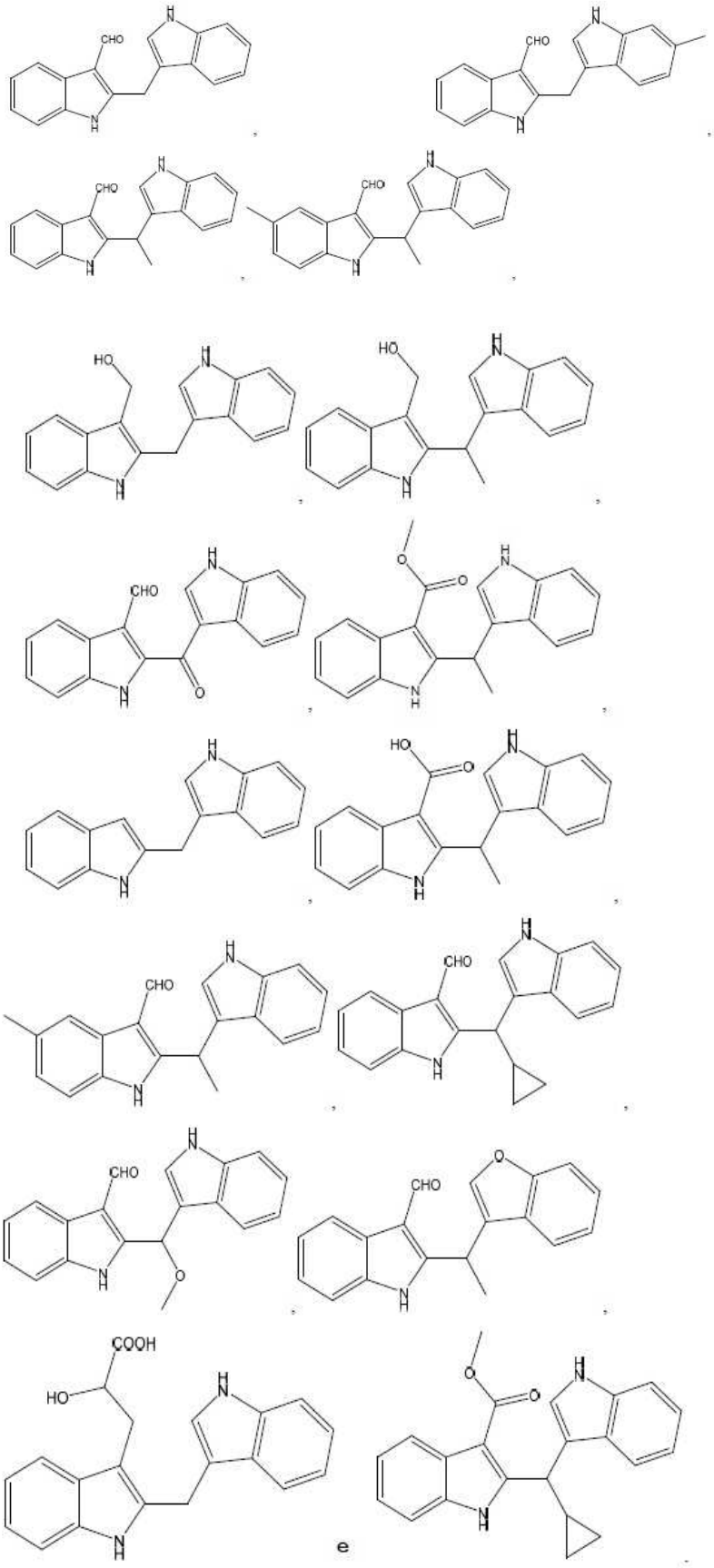
[405] Em um aspecto adicional dessa modalidade, $R_{12}$ é -$COR^a$ ou $C_{1-4}$ hidroxialquil; e $R^a$ é hidrogênio ou $C_{1-4}$ alquil.

[406] De preferência, $R_{12}$ é CHO, $CH_2OH$ ou C(=O)-O-($C_{1-4}$ alquil).

[407] Mais preferivelmente, $R_{12}$ é CHO, $CH_2OH$ ou $CO_2CH_3$.

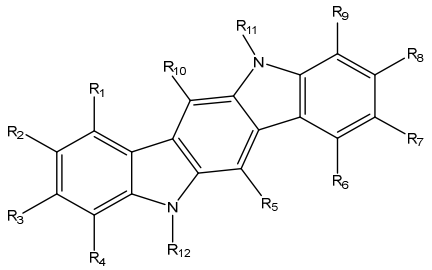
[408] Em um aspecto adicional dessa modalidade, X é NH; Y é $CR_5R_6$; cada um de $R_1$, $R_3$, $R_4$, $R_7$, $R_8$, $R_9$, $R_{10}$, $R_{11}$ e $R_{13}$ é hidrogênio; $R_2$ é hidrogênio ou $C_{1-4}$ alquil; $R_5$ é hidrogênio e $R_6$ é hidrogênio, $C_{1-4}$ alquil, $C_{3-6}$ cicloalquil ou O-($C_{1-4}$ alquil); ou $R_5$ e $R_6$ combinam para formar um grupo oxo (=O); $R_{12}$ é -$COR^a$ ou $C_{1-4}$ hidroxialquil; e $R^a$ é hidrogênio ou $C_{1-4}$ alquil.

[409] Em outro aspecto dessa modalidade, o composto é selecionado do grupo que consiste em:



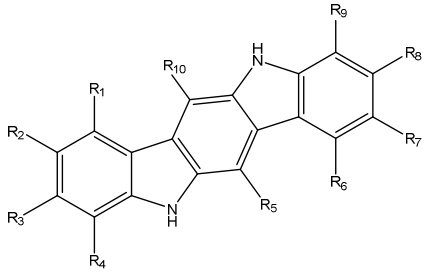
[410] Em um aspecto adicional dessa modalidade, se $R^a$ é hidrogênio, Y é $CR_5R_6$ e $R_{13}$ e $R_{14}$ são, ambos, hidrogênio, pelo menos um de $R_1$, $R_2$, $R_3$, $R_4$, $R_5$, $R_6$, $R_7$, $R_8$, $R_9$, $R_{10}$ e $R_{11}$ é $R_{16}$; ou, $R_5$ é selecionado do grupo que consiste em hidroxil, $OR_{16}$, $R_{16}$ e $C_{3-6}$ cicloalquil, ou $R_5$ e $R_6$ combinam para formar um grupo oxo (=O) ou um $C_{3-6}$ cicloalquil.

[411] Uma modalidade adicional da presente invenção é um composto para a modulação da atividade do receptor de aril-hidrocarboneto (AhR). O composto possui a seguinte fórmula:




em que: $R_1$, $R_4$, $R_5$, $R_6$, $R_9$ e $R_{10}$ são selecionados independentemente do grupo que consiste em hidrogênio, hidroxil, halogênio, CN, $R_{13}$, $OR_{13}$, $OCOR_{13}$ e -CHO; $R_2$ e $R_3$ são selecionados independentemente do grupo que consiste em hidrogênio, hidroxil, halogênio, CN, $R_{13}$, $OR_{13}$, $OCOR_{13}$ e -CHO, ou $R_2$ e $R_3$ combinam para formar um heterociclil de 5 ou 6 membros; $R_7$ e $R_8$ são selecionados independentemente do grupo que consiste em hidrogênio, hidroxil, halogênio, CN, $R_{13}$, $OR_{13}$, $OCOR_{13}$ e -CHO, ou $R_7$ e $R_8$ combinam para formar um heterociclil de 5 ou 6 membros; $R_{11}$ e $R_{12}$ são independentemente hidrogênio ou $R_{13}$; e, cada $R_{13}$ é independentemente $C_{1-9}$ alquil, $C_{2-9}$ alquenil ou $C_{2-9}$ alquinil; ou uma forma cristalina, hidrato ou sal cosmeticamente ou farmaceuticamente aceitável deste.

[412] Em um aspecto dessa modalidade, o composto possui uma estrutura de acordo com a fórmula (II),



(II)

ou uma forma cristalina, hidrato ou sal cosmeticamente ou farmaceuticamente aceitável deste.

[413] Em outro aspecto dessa modalidade, $R_1$, $R_2$, $R_3$, $R_4$, $R_5$, $R_6$, $R_7$, $R_8$, $R_9$ e $R_{10}$ são selecionados independentemente do grupo que consiste em hidrogênio e $C_{1-4}$ alquil.

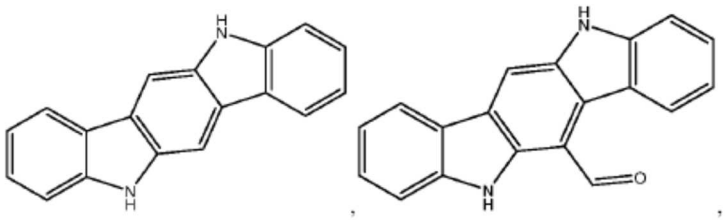
[414] De preferência, um ou dois de $R_1$, $R_2$, $R_3$, $R_4$, $R_5$, $R_6$, $R_7$, $R_8$, $R_9$ e $R_{10}$ são $C_{1-4}$ alquil, e os grupos restantes são hidrogênio.

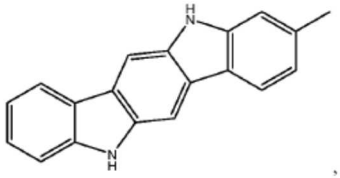
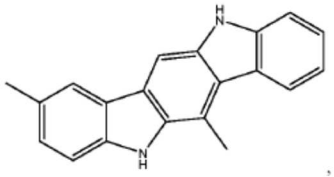
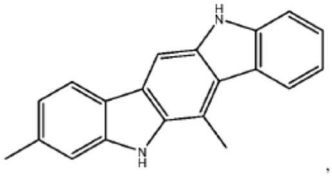
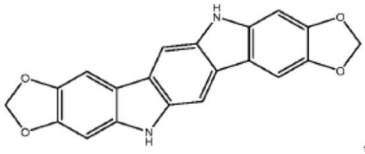
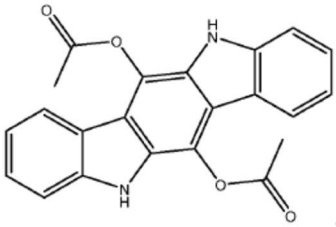
[415] Em um aspecto adicional dessa modalidade, um de $R_5$ e $R_{10}$ é $C_{1-4}$ alquil, e o outro é hidrogênio.

[416] Em um aspecto adicional dessa modalidade, um de $R_1$, $R_2$, $R_3$, $R_4$, $R_6$, $R_7$, $R_8$ e $R_9$ é $C_{1-4}$ alquil, e os grupos restantes são hidrogênio.

[417] Em outro aspecto dessa modalidade, $R_{11}$ e $R_{12}$ são, cada um, hidrogênio; e um, dois, três ou quatro de $R_1$, $R_2$, $R_3$, $R_4$, $R_5$, $R_6$, $R_7$, $R_8$, $R_9$ e $R_{10}$ são metil, e os grupos restantes são hidrogênio.

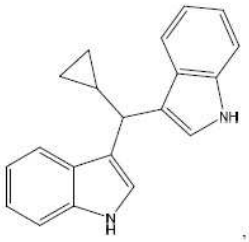
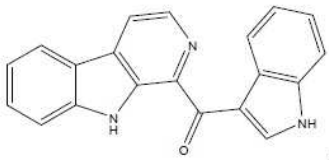
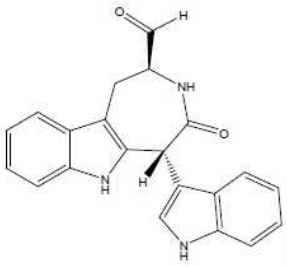
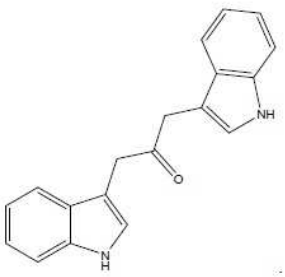
[418] Em um aspecto adicional dessa modalidade, o composto é selecionado do grupo que consiste em:



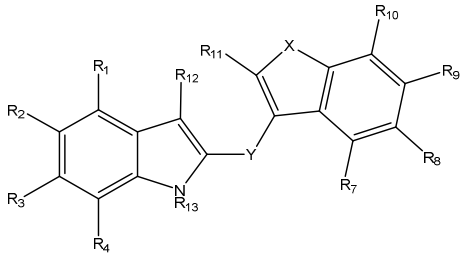

,

,

,

, and

.

[419] Em um aspecto adicional dessa modalidade, pelo menos um de $R_1$, $R_2$, $R_3$, $R_4$, $R_5$, $R_6$, $R_7$, $R_8$, $R_9$ e $R_{10}$ não é hidrogênio.

[420] Outra modalidade da presente invenção é um composto para a modulação da atividade do receptor de aril-hidrocarboneto (AhR). O composto é selecionado do grupo que consiste em:

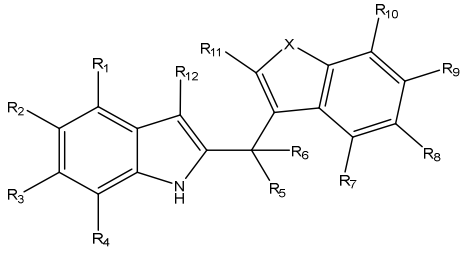

,

,

e

.

[421] Uma modalidade adicional da presente invenção é um composto para a modulação da melanogênese. O composto possui a estrutura da seguinte fórmula:



em que: X é selecionado do grupo que consiste em $NR_{14}$ e O; Y é uma ligação covalente, $CR_5R_6$, O ou $NR_{15}$; $R_1$, $R_2$, $R_3$, $R_4$, $R_7$, $R_8$, $R_9$, $R_{10}$ e $R_{11}$ são selecionados independentemente do grupo que consiste em hidrogênio, halogênio, CN, hidroxil, $R_{16}$ ou $OR_{16}$; $R_{13}$, $R_{14}$ e $R_{15}$ são independentemente hidrogênio ou $R_{16}$; $R_5$ e $R_6$ são selecionados independentemente do grupo que consiste em hidrogênio, hidroxil, $OR_{16}$, $R_{16}$ e $C_{3-6}$ cicloalquil, ou $R_5$ e $R_6$ combinam para formar um grupo oxo (=O) ou um $C_{3-6}$ cicloalquil; $R_{12}$ é selecionado do grupo que consiste em hidrogênio, $-COR^a$ e $R_{16}$; cada $R_{16}$ é independentemente formil, $C_{1-9}$ alquil, $C_{2-9}$ alquenil ou $C_{2-9}$ alquinil; e, $R^a$ é selecionado do grupo que consiste em hidrogênio, hidroxil e $OR_{16}$; ou uma forma cristalina, hidrato ou sal cosmeticamente ou farmaceuticamente aceitável deste.

[422] Em um aspecto dessa modalidade, o composto possui a seguinte estrutura:



(I)

ou uma forma cristalina, hidrato ou sal cosmeticamente ou farmaceuticamente aceitável deste.

[423] Em outro aspecto dessa modalidade, X é NH.

[424] Em um aspecto adicional dessa modalidade, Y é

$CR_5R_6$; $R_5$ é hidrogênio e $R_6$ é hidrogênio, $C_{1-4}$ alquil, $C_{3-6}$ cicloalquil ou O-($C_{1-4}$ alquil); ou $R_5$ e $R_6$ combinam para formar um grupo oxo (=O).

[425] De preferência, $CR_5R_6$ é $CH_2$, $CHCH_3$, $CHOCH_3$, C=O ou $CH(C_3H_5)$.

[426] Em um aspecto adicional dessa modalidade, pelo menos um de $R_1$, $R_2$, $R_3$, $R_4$, $R_7$, $R_8$, $R_9$, $R_{10}$ e $R_{11}$ é $C_{1-4}$ alquil.

[427] De preferência, $R_2$ é $C_{1-4}$ alquil.

[428] Mais preferivelmente, $R_2$ é metil.

[429] Em outro aspecto dessa modalidade, cada um de $R_1$, $R_2$, $R_3$, $R_4$, $R_7$, $R_8$, $R_9$, $R_{10}$ e $R_{11}$ é hidrogênio.

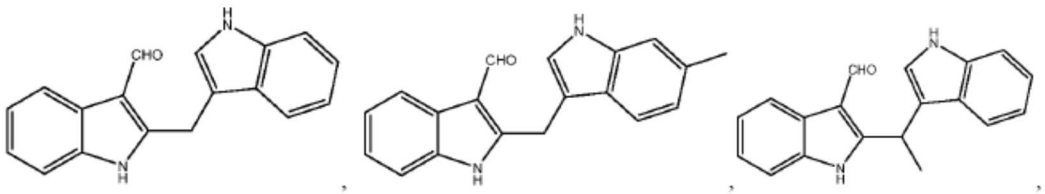
[430] Em um aspecto adicional dessa modalidade, $R_{12}$ é -$COR^a$ ou $C_{1-4}$ hidroxialquil; e $R^a$ é hidrogênio ou $C_{1-4}$ alquil.

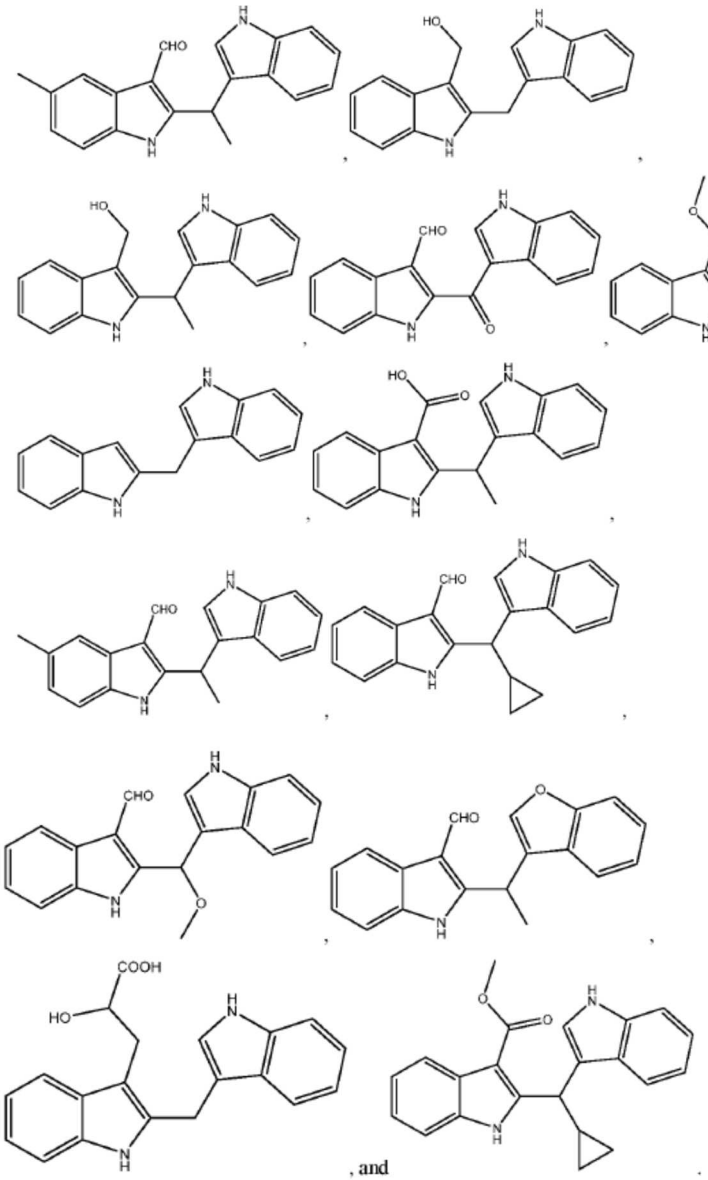
[431] De preferência, $R_{12}$ é CHO, $CH_2OH$ ou C(=O)-O-($C_{1-4}$ alquil).

[432] Mais preferivelmente, $R_{12}$ é CHO, $CH_2OH$ ou $CO_2CH_3$.

[433] Em um aspecto adicional dessa modalidade, X é NH; Y é $CR_5R_6$; cada um de $R_1$, $R_3$, $R_4$, $R_7$, $R_8$, $R_9$, $R_{10}$, $R_{11}$ e $R_{13}$ é hidrogênio; $R_2$ é hidrogênio ou $C_{1-4}$ alquil; $R_5$ é hidrogênio e $R_6$ é hidrogênio, $C_{1-4}$ alquil, $C_{3-6}$ cicloalquil ou O-($C_{1-4}$ alquil); ou $R_5$ e $R_6$ combinam para formar um grupo oxo (=O); $R_{12}$ é -$COR^a$ ou $C_{1-4}$ hidroxialquil; e $R^a$ é hidrogênio ou $C_{1-4}$ alquil.

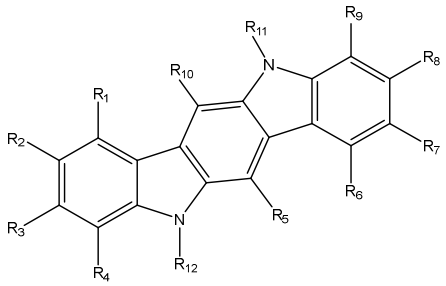
[434] Em outro aspecto dessa modalidade, o composto é selecionado do grupo que consiste em:





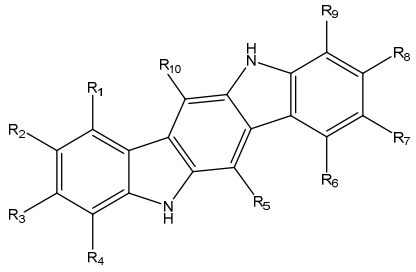
[435] Em um aspecto adicional dessa modalidade, se $R^a$ é hidrogênio, Y é $CR_5R_6$ e $R_{13}$ e $R_{14}$ são, ambos, hidrogênio, pelo menos um de $R_1$, $R_2$, $R_3$, $R_4$, $R_5$, $R_6$, $R_7$, $R_8$, $R_9$, $R_{10}$ e $R_{11}$ é $R_{16}$; ou, $R_5$ é selecionado do grupo que consiste em hidroxil, $OR_{16}$, $R_{16}$ e $C_{3-6}$ cicloalquil, ou $R_5$ e $R_6$ combinam para formar um grupo oxo (=O) ou um $C_{3-6}$ cicloalquil.

[436] Uma modalidade adicional da presente invenção é um composto para a modulação da melanogênese. O composto possui a seguinte fórmula:



em que: $R_1$, $R_4$, $R_5$, $R_6$, $R_9$ e $R_{10}$ são selecionados independentemente do grupo que consiste em hidrogênio, hidroxil, halogênio, CN, $R_{13}$, $OR_{13}$, $OCOR_{13}$ e -CHO; $R_2$ e $R_3$ são selecionados independentemente do grupo que consiste em hidrogênio, hidroxil, halogênio, CN, $R_{13}$, $OR_{13}$, $OCOR_{13}$ e -CHO, ou $R_2$ e $R_3$ combinam para formar um heterociclil de 5 ou 6 membros; $R_7$ e $R_8$ são selecionados independentemente do grupo que consiste em hidrogênio, hidroxil, halogênio, CN, $R_{13}$, $OR_{13}$, $OCOR_{13}$ e -CHO, ou $R_7$ e $R_8$ combinam para formar um heterociclil de 5 ou 6 membros; $R_{11}$ e $R_{12}$ são independentemente hidrogênio ou $R_{13}$; e, cada $R_{13}$ é independentemente $C_{1-9}$ alquil, $C_{2-9}$ alquenil ou $C_{2-9}$ alquinil; ou uma forma cristalina, hidrato ou sal cosmeticamente ou farmaceuticamente aceitável deste.

[437] Em um aspecto dessa modalidade, o composto possui uma estrutura de acordo com a fórmula (II),



(II)

ou uma forma cristalina, hidrato ou sal cosmeticamente ou farmaceuticamente aceitável deste.

[438] Em outro aspecto dessa modalidade, $R_1$, $R_2$, $R_3$, $R_4$, $R_5$, $R_6$, $R_7$, $R_8$, $R_9$ e $R_{10}$ são selecionados independentemente do

grupo que consiste em hidrogênio e $C_{1-4}$ alquil.

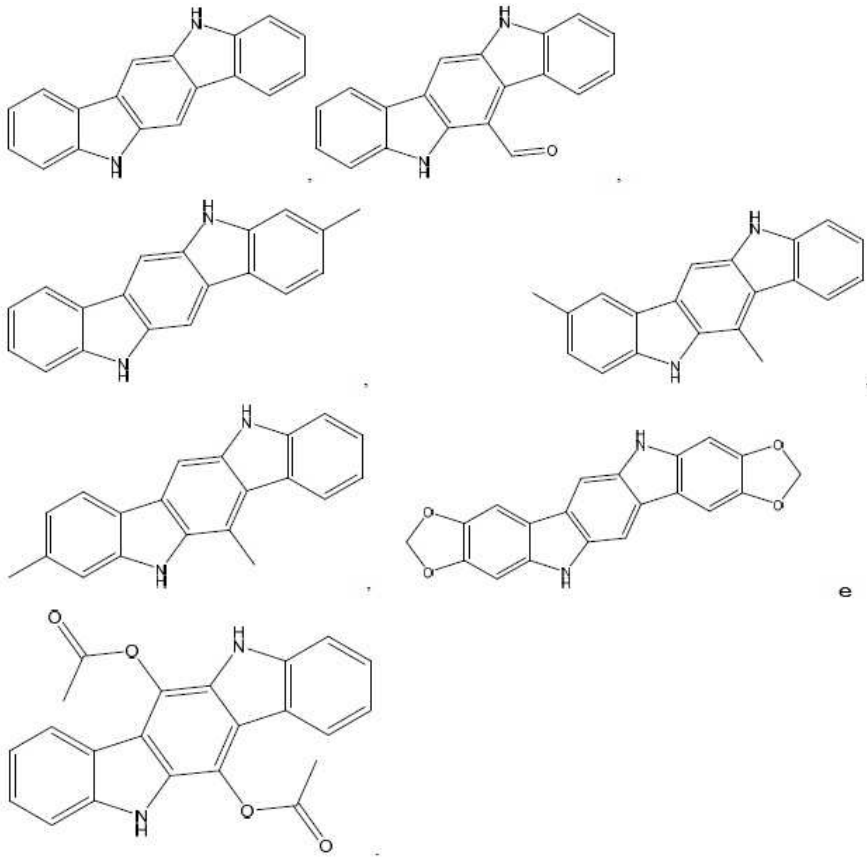
[439] De preferência, um ou dois de $R_1$, $R_2$, $R_3$, $R_4$, $R_5$, $R_6$, $R_7$, $R_8$, $R_9$ e $R_{10}$ são $C_{1-4}$ alquil, e os grupos restantes são hidrogênio.

[440] Em outro aspecto dessa modalidade, um de $R_5$ e $R_{10}$ é $C_{1-4}$ alquil, e o outro é hidrogênio.

[441] Em um aspecto adicional dessa modalidade, um de $R_1$, $R_2$, $R_3$, $R_4$, $R_6$, $R_7$, $R_8$ e $R_9$ é $C_{1-4}$ alquil, e os grupos restantes são hidrogênio.

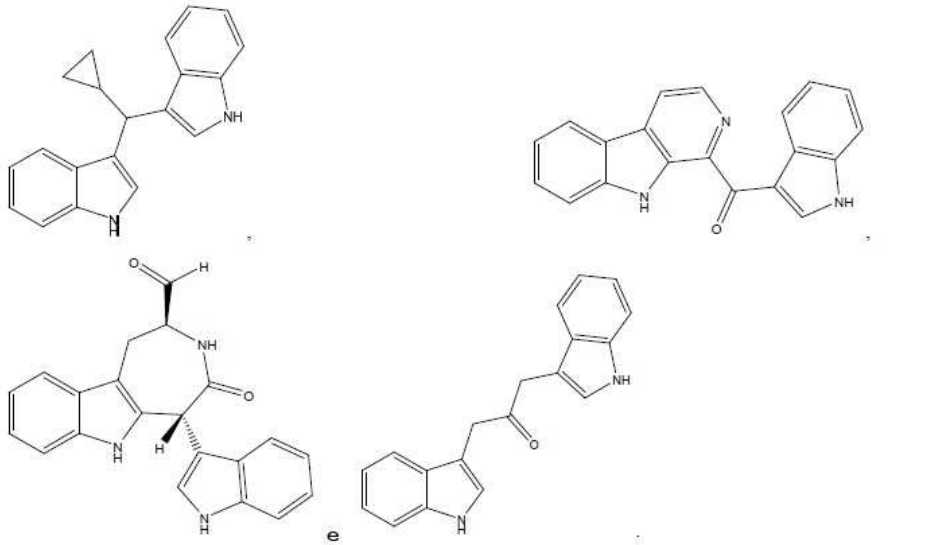
[442] Em um aspecto adicional dessa modalidade, $R_{11}$ e $R_{12}$ são, cada um, hidrogênio; e um, dois, três ou quatro de $R_1$, $R_2$, $R_3$, $R_4$, $R_5$, $R_6$, $R_7$, $R_8$, $R_9$ e $R_{10}$ são metil, e os grupos restantes são hidrogênio.

[443] Em outro aspecto dessa modalidade, o composto é selecionado do grupo que consiste em:



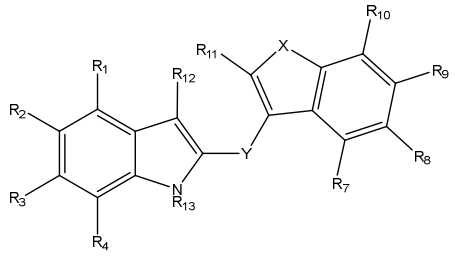
[444] Em um aspecto adicional dessa modalidade, pelo menos um de $R_1$, $R_2$, $R_3$, $R_4$, $R_5$, $R_6$, $R_7$, $R_8$, $R_9$ e $R_{10}$ não é hidrogênio.

[445] Outra modalidade da presente invenção é um composto para a modulação da melanogênese. O composto é selecionado do grupo que consiste em:



e

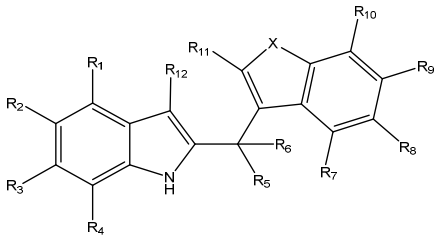
[446] Uma modalidade adicional da presente invenção é um composto para a modulação da concentração de melanina. O composto possui a estrutura da seguinte fórmula:



em que: X é selecionado do grupo que consiste em $NR_{14}$ e O; Y é uma ligação covalente, $CR_5R_6$, O ou $NR_{15}$; $R_1$, $R_2$, $R_3$, $R_4$, $R_7$, $R_8$, $R_9$, $R_{10}$ e $R_{11}$ são selecionados independentemente do grupo que consiste em hidrogênio, halogênio, CN, hidroxil, $R_{16}$ ou $OR_{16}$; $R_{13}$, $R_{14}$ e $R_{15}$ são independentemente hidrogênio ou $R_{16}$; $R_5$ e $R_6$ são selecionados independentemente do grupo que

consiste em hidrogênio, hidroxil, $OR_{16}$, $R_{16}$ e $C_{3-6}$ cicloalquil, ou $R_5$ e $R_6$ combinam para formar um grupo oxo (=O) ou um $C_{3-6}$ cicloalquil; $R_{12}$ é selecionado do grupo que consiste em hidrogênio, -$COR^a$ e $R_{16}$; cada $R_{16}$ é independentemente formil, $C_{1-9}$ alquil, $C_{2-9}$ alquenil ou $C_{2-9}$ alquinil; e, $R^a$ é selecionado do grupo que consiste em hidrogênio, hidroxil e $OR_{16}$; ou uma forma cristalina, hidrato ou sal cosmeticamente ou farmaceuticamente aceitável deste.

[447] Em um aspecto dessa modalidade, o composto possui a seguinte estrutura:




(I)

ou uma forma cristalina, hidrato ou sal cosmeticamente ou farmaceuticamente aceitável deste.

[448] Em outro aspecto dessa modalidade, X é NH.

[449] Em um aspecto adicional dessa modalidade, Y é $CR_5R_6$; $R_5$ é hidrogênio e $R_6$ é hidrogênio, $C_{1-4}$ alquil, $C_{3-6}$ cicloalquil ou O-($C_{1-4}$ alquil); ou $R_5$ e $R_6$ combinam para formar um grupo oxo (=O).

[450] De preferência, $CR_5R_6$ é $CH_2$, $CHCH_3$, $CHOCH_3$, C=O ou $CH(C_3H_5)$.

[451] Em um aspecto adicional dessa modalidade, pelo menos um de $R_1$, $R_2$, $R_3$, $R_4$, $R_7$, $R_8$, $R_9$, $R_{10}$ e $R_{11}$ é $C_{1-4}$ alquil.

[452] De preferência, $R_2$ é $C_{1-4}$ alquil.

[453] Mais preferivelmente, $R_2$ é metil.

[454] Em outro aspecto dessa modalidade, cada um de $R_1$, $R_2$, $R_3$, $R_4$, $R_7$, $R_8$, $R_9$, $R_{10}$ e $R_{11}$ é hidrogênio.

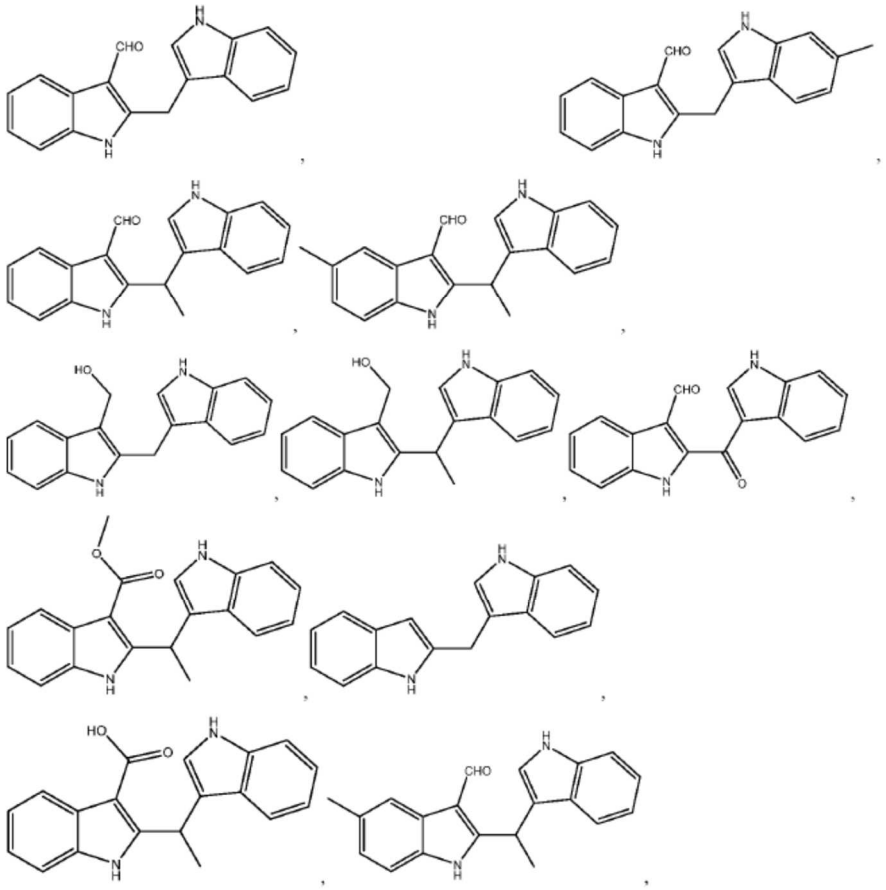
[455] Em um aspecto adicional dessa modalidade, $R_{12}$ é -$COR^a$ ou $C_{1-4}$ hidroxialquil; e $R^a$ é hidrogênio ou $C_{1-4}$ alquil.

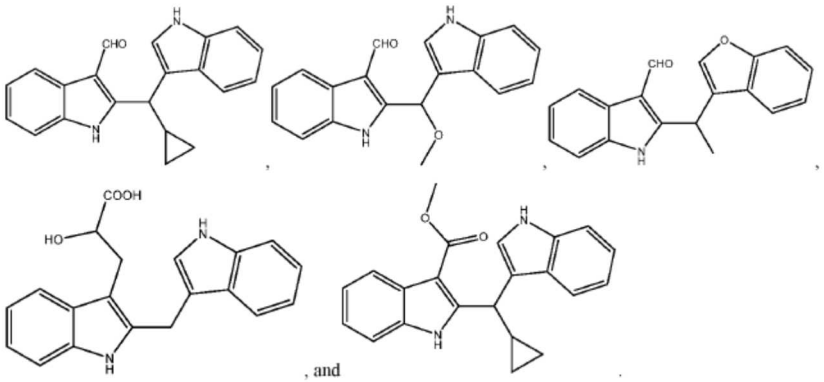
[456] De preferência, $R_{12}$ é CHO, $CH_2OH$ ou C(=O)-O-($C_{1-4}$ alquil).

[457] Mais preferivelmente, $R_{12}$ é CHO, $CH_2OH$ ou $CO_2CH_3$.

[458] Em um aspecto adicional dessa modalidade, X é NH; Y é $CR_5R_6$; cada um de $R_1$, $R_3$, $R_4$, $R_7$, $R_8$, $R_9$, $R_{10}$, $R_{11}$ e $R_{13}$ é hidrogênio; $R_2$ é hidrogênio ou $C_{1-4}$ alquil; $R_5$ é hidrogênio e $R_6$ é hidrogênio, $C_{1-4}$ alquil, $C_{3-6}$ cicloalquil ou O-($C_{1-4}$ alquil); ou $R_5$ e $R_6$ combinam para formar um grupo oxo (=O); $R_{12}$ é -$COR^a$ ou $C_{1-4}$ hidroxialquil; e $R^a$ é hidrogênio ou $C_{1-4}$ alquil.

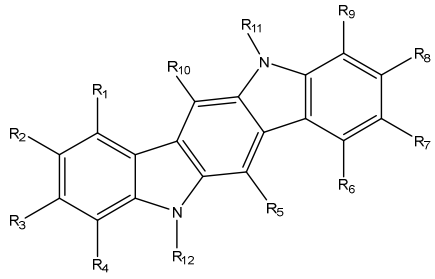
[459] Em outro aspecto dessa modalidade, o composto é selecionado do grupo que consiste em:






[460] Em um aspecto adicional dessa modalidade, se $R^a$ é hidrogênio, Y é $CR_5R_6$ e $R_{13}$ e $R_{14}$ são, ambos, hidrogênio, pelo menos um de $R_1$, $R_2$, $R_3$, $R_4$, $R_5$, $R_6$, $R_7$, $R_8$, $R_9$, $R_{10}$ e $R_{11}$ é $R_{16}$; ou, $R_5$ é selecionado do grupo que consiste em hidroxil, $OR_{16}$, $R_{16}$ e $C_{3-6}$ cicloalquil, ou $R_5$ e $R_6$ combinam para formar um grupo oxo (=O) ou um $C_{3-6}$ cicloalquil.

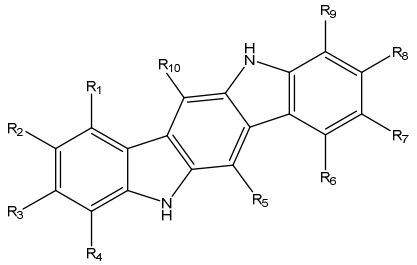
[461] Uma modalidade adicional da presente invenção é um composto para a modulação da concentração de melanina. O composto possui a seguinte fórmula:




em que: $R_1$, $R_4$, $R_5$, $R_6$, $R_9$ e $R_{10}$ são selecionados independentemente do grupo que consiste em hidrogênio, hidroxil, halogênio, CN, $R_{13}$, $OR_{13}$, $OCOR_{13}$ e -CHO; $R_2$ e $R_3$ são selecionados independentemente do grupo que consiste em hidrogênio, hidroxil, halogênio, CN, $R_{13}$, $OR_{13}$, $OCOR_{13}$ e -CHO, ou $R_2$ e $R_3$ combinam para formar um heterociclil de 5 ou 6 membros; $R_7$ e $R_8$ são selecionados independentemente do grupo que consiste em hidrogênio, hidroxil, halogênio, CN, $R_{13}$, $OR_{13}$, $OCOR_{13}$ e -CHO, ou $R_7$ e $R_8$ combinam para formar um

heterociclil de 5 ou 6 membros; $R_{11}$ e $R_{12}$ são independentemente hidrogênio ou $R_{13}$; e, cada $R_{13}$ é independentemente $C_{1-9}$ alquil, $C_{2-9}$ alquenil ou $C_{2-9}$ alquinil; ou uma forma cristalina, hidrato ou sal cosmeticamente ou farmaceuticamente aceitável deste.

[462] Em um aspecto dessa modalidade, o composto possui uma estrutura de acordo com a fórmula (II),




(II)

ou uma forma cristalina, hidrato ou sal cosmeticamente ou farmaceuticamente aceitável deste.

[463] Em outro aspecto dessa modalidade, $R_1$, $R_2$, $R_3$, $R_4$, $R_5$, $R_6$, $R_7$, $R_8$, $R_9$ e $R_{10}$ são selecionados independentemente do grupo que consiste em hidrogênio e $C_{1-4}$ alquil.

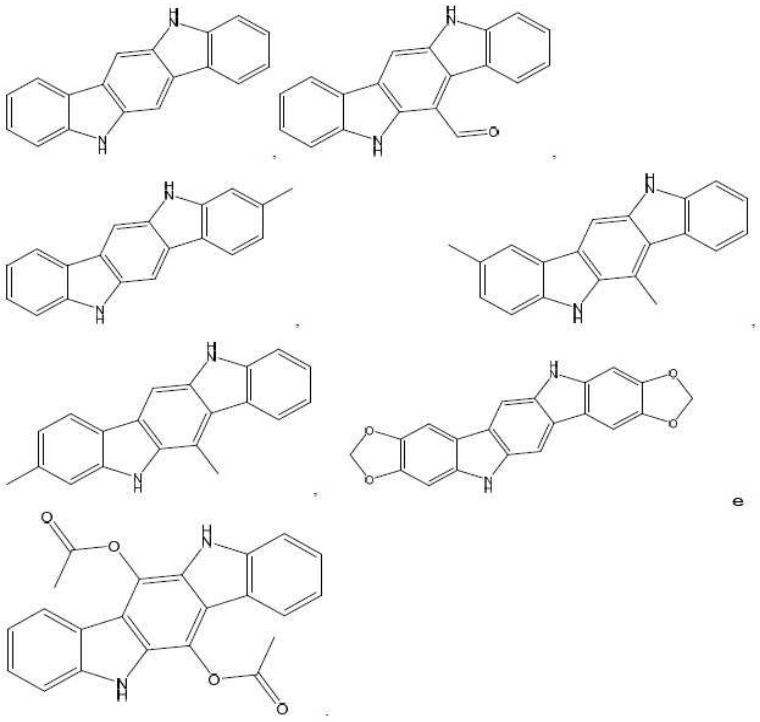
[464] De preferência, um ou dois de $R_1$, $R_2$, $R_3$, $R_4$, $R_5$, $R_6$, $R_7$, $R_8$, $R_9$ e $R_{10}$ são $C_{1-4}$ alquil, e os grupos restantes são hidrogênio.

[465] Em um aspecto adicional dessa modalidade, um de $R_5$ e $R_{10}$ é $C_{1-4}$ alquil, e o outro é hidrogênio.

[466] Em um aspecto adicional dessa modalidade, um de $R_1$, $R_2$, $R_3$, $R_4$, $R_6$, $R_7$, $R_8$ e $R_9$ é $C_{1-4}$ alquil, e os grupos restantes são hidrogênio.

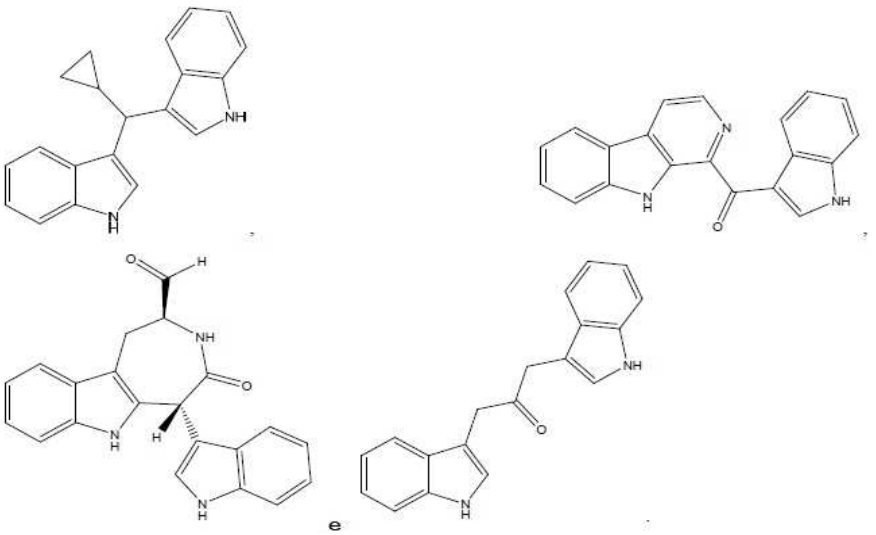
[467] Em outro aspecto dessa modalidade, $R_{11}$ e $R_{12}$ são, cada um, hidrogênio; e um, dois, três ou quatro de $R_1$, $R_2$, $R_3$, $R_4$, $R_5$, $R_6$, $R_7$, $R_8$, $R_9$ e $R_{10}$ são metil, e os grupos restantes são hidrogênio.

[468] Em um aspecto adicional dessa modalidade, o composto é selecionado do grupo que consiste em:

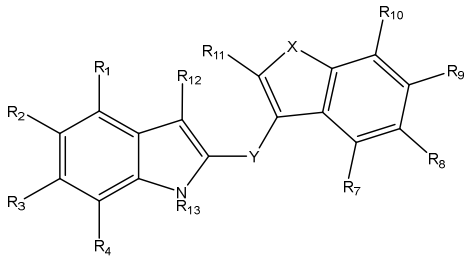


[469] Em um aspecto adicional dessa modalidade, pelo menos um de $R_1$, $R_2$, $R_3$, $R_4$, $R_5$, $R_6$, $R_7$, $R_8$, $R_9$ e $R_{10}$ não é hidrogênio.

[470] Outra modalidade da presente invenção é um composto para a modulação da concentração de melanina. O composto é selecionado do grupo que consiste em:

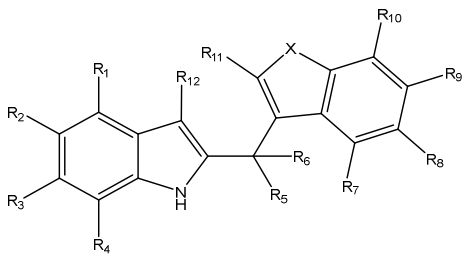


[471] Uma modalidade adicional da presente invenção é uma composição que compreende um composto. O composto possui a estrutura da seguinte fórmula:




em que: X é selecionado do grupo que consiste em $NR_{14}$ e O; Y é uma ligação covalente, $CR_5R_6$, O ou $NR_{15}$; $R_1$, $R_2$, $R_3$, $R_4$, $R_7$, $R_8$, $R_9$, $R_{10}$ e $R_{11}$ são selecionados independentemente do grupo que consiste em hidrogênio, halogênio, CN, hidroxil, $R_{16}$ ou $OR_{16}$; $R_{13}$, $R_{14}$ e $R_{15}$ são independentemente hidrogênio ou $R_{16}$; $R_5$ e $R_6$ são selecionados independentemente do grupo que consiste em hidrogênio, hidroxil, $OR_{16}$, $R_{16}$ e $C_{3-6}$ cicloalquil, ou $R_5$ e $R_6$ combinam para formar um grupo oxo (=O) ou um $C_{3-6}$ cicloalquil; $R_{12}$ é selecionado do grupo que consiste em hidrogênio, $-COR^a$ e $R_{16}$; cada $R_{16}$ é independentemente formil, $C_{1-9}$ alquil, $C_{2-9}$ alquenil ou $C_{2-9}$ alquinil; e, $R^a$ é selecionado do grupo que consiste em hidrogênio, hidroxil e $OR_{16}$; ou uma forma cristalina, hidrato ou sal cosmeticamente ou farmaceuticamente aceitável deste.

[472] Em um aspecto dessa modalidade, o composto possui a seguinte estrutura:




(I)

ou uma forma cristalina, hidrato ou sal cosmeticamente

ou farmaceuticamente aceitável deste.

[473] Em outro aspecto dessa modalidade, X é NH.

[474] Em um aspecto adicional dessa modalidade, Y é $CR_5R_6$; $R_5$ é hidrogênio e $R_6$ é hidrogênio, $C_{1-4}$ alquil, $C_{3-6}$ cicloalquil ou O-($C_{1-4}$ alquil); ou $R_5$ e $R_6$ combinam para formar um grupo oxo (=O).

[475] De preferência, $CR_5R_6$ é $CH_2$, $CHCH_3$, $CHOCH_3$, C=O ou $CH(C_3H_5)$.

[476] Em um aspecto adicional dessa modalidade, pelo menos um de $R_1$, $R_2$, $R_3$, $R_4$, $R_7$, $R_8$, $R_9$, $R_{10}$ e $R_{11}$ é $C_{1-4}$ alquil.

[477] De preferência, $R_2$ é $C_{1-4}$ alquil.

[478] Mais preferivelmente, $R_2$ é metil.

[479] Em outro aspecto dessa modalidade, cada um de $R_1$, $R_2$, $R_3$, $R_4$, $R_7$, $R_8$, $R_9$, $R_{10}$ e $R_{11}$ é hidrogênio.

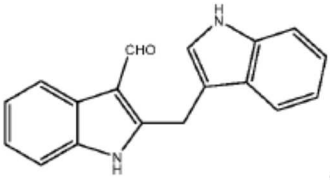
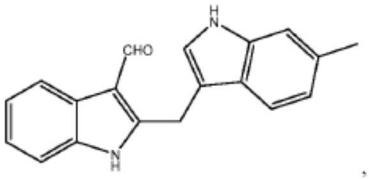
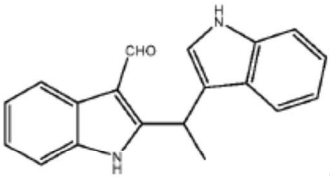
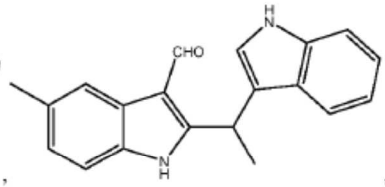
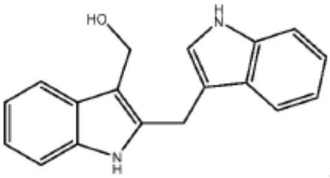
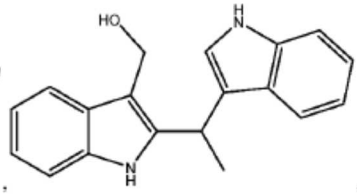
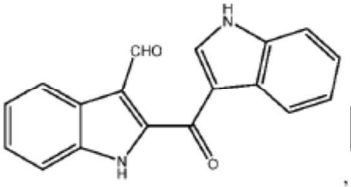
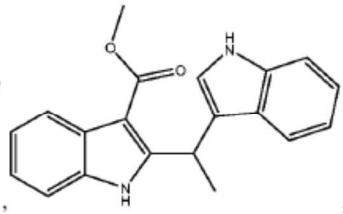
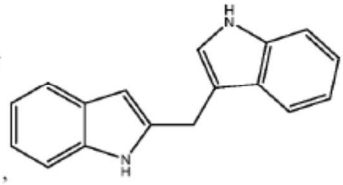
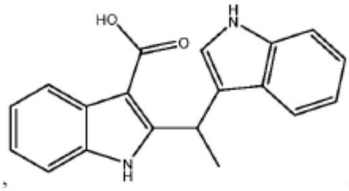
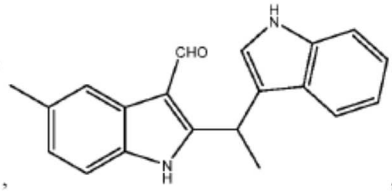
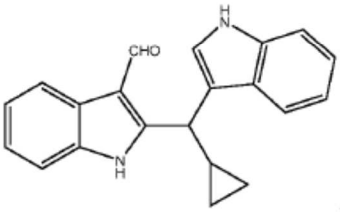
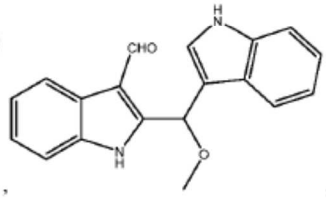
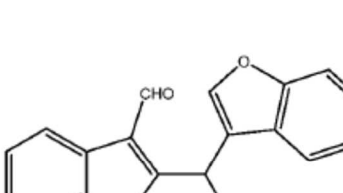
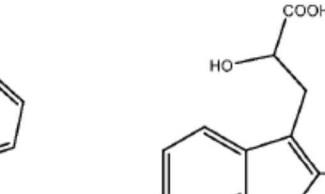
[480] Em um aspecto adicional dessa modalidade, $R_{12}$ é -$COR^a$ ou $C_{1-4}$ hidroxialquil; e $R^a$ é hidrogênio ou $C_{1-4}$ alquil.

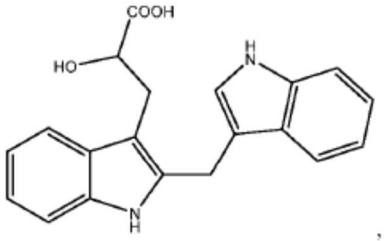
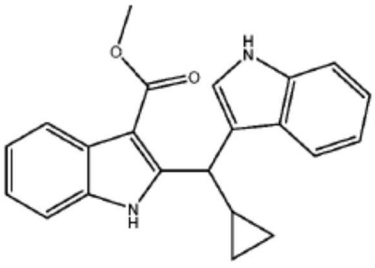
[481] De preferência, $R_{12}$ é CHO, $CH_2OH$ ou C(=O)-O-($C_{1-4}$ alquil).

[482] Mais preferivelmente, $R_{12}$ é CHO, $CH_2OH$ ou $CO_2CH_3$.

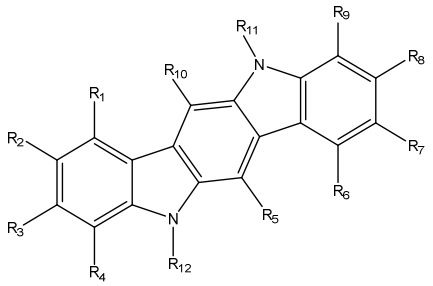
[483] Em um aspecto adicional dessa modalidade, X é NH; Y é $CR_5R_6$; cada um de $R_1$, $R_3$, $R_4$, $R_7$, $R_8$, $R_9$, $R_{10}$, $R_{11}$ e $R_{13}$ é hidrogênio; $R_2$ é hidrogênio ou $C_{1-4}$ alquil; $R_5$ é hidrogênio e $R_6$ é hidrogênio, $C_{1-4}$ alquil, $C_{3-6}$ cicloalquil ou O-($C_{1-4}$ alquil); ou $R_5$ e $R_6$ combinam para formar um grupo oxo (=O); $R_{12}$ é -$COR^a$ ou $C_{1-4}$ hidroxialquil; e $R^a$ é hidrogênio ou $C_{1-4}$ alquil.

[484] Em outro aspecto dessa modalidade, o composto é selecionado do grupo que consiste em:


,

,

,

,

,

,

,

,

,

,

,

,

,

,

,

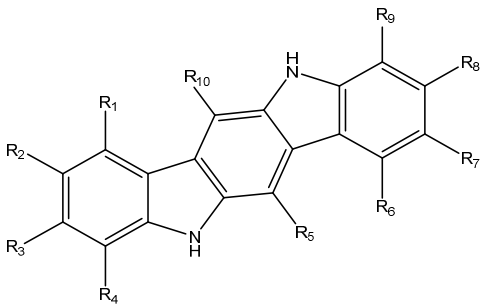
,

, and

.

[485] Uma modalidade adicional da presente invenção é uma composição que compreende um composto. O composto possui a seguinte fórmula:




em que: $R_1$, $R_4$, $R_5$, $R_6$, $R_9$ e $R_{10}$ são selecionados independentemente do grupo que consiste em hidrogênio, hidroxil, halogênio, CN, $R_{13}$, $OR_{13}$, $OCOR_{13}$ e -CHO; $R_2$ e $R_3$ são selecionados independentemente do grupo que consiste em hidrogênio, hidroxil, halogênio, CN, $R_{13}$, $OR_{13}$, $OCOR_{13}$ e -CHO, ou $R_2$ e $R_3$ combinam para formar um heterociclil de 5 ou 6 membros; $R_7$ e $R_8$ são selecionados independentemente do grupo que consiste em hidrogênio, hidroxil, halogênio, CN, $R_{13}$, $OR_{13}$, $OCOR_{13}$ e -CHO, ou $R_7$ e $R_8$ combinam para formar um heterociclil de 5 ou 6 membros; $R_{11}$ e $R_{12}$ são independentemente hidrogênio ou $R_{13}$; e, cada $R_{13}$ é independentemente $C_{1-9}$ alquil, $C_{2-9}$ alquenil ou $C_{2-9}$ alquinil; ou uma forma cristalina, hidrato ou sal cosmeticamente ou farmaceuticamente aceitável deste.

[486] Em um aspecto dessa modalidade, o composto possui uma estrutura de acordo com a fórmula (II),




(II)

ou uma forma cristalina, hidrato ou sal cosmeticamente ou farmaceuticamente aceitável deste.

[487] Em outro aspecto dessa modalidade, $R_1$, $R_2$, $R_3$, $R_4$, $R_5$, $R_6$, $R_7$, $R_8$, $R_9$ e $R_{10}$ são selecionados independentemente do grupo que consiste em hidrogênio e $C_{1-4}$ alquil.

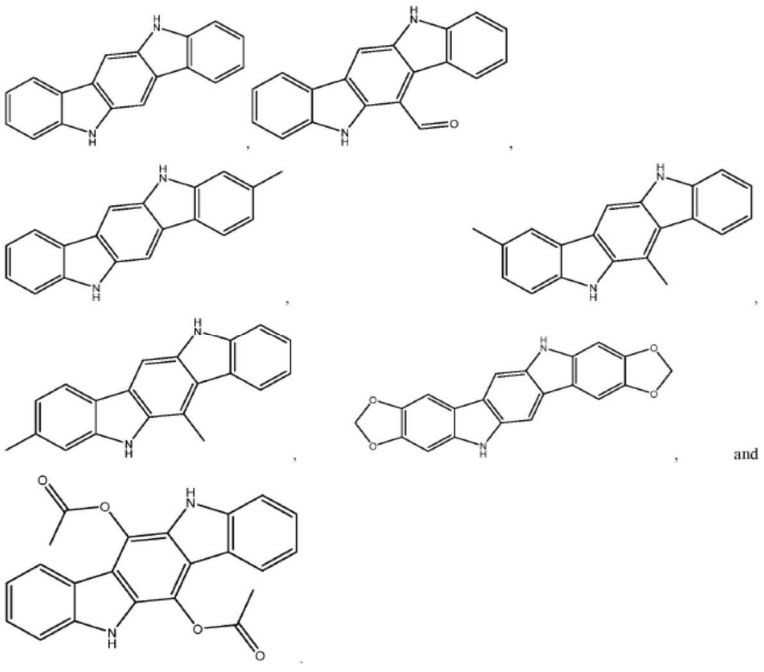
[488] De preferência, um ou dois de $R_1$, $R_2$, $R_3$, $R_4$, $R_5$, $R_6$, $R_7$, $R_8$, $R_9$ e $R_{10}$ são $C_{1-4}$ alquil, e os grupos restantes são hidrogênio.

[489] Em um aspecto adicional dessa modalidade, um de $R_5$ e $R_{10}$ é $C_{1-4}$ alquil, e o outro é hidrogênio.

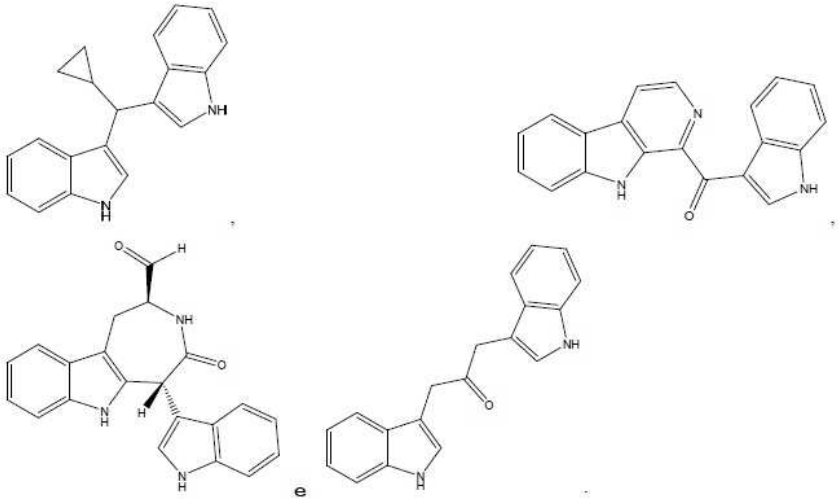
[490] Em um aspecto adicional dessa modalidade, um de $R_1$, $R_2$, $R_3$, $R_4$, $R_6$, $R_7$, $R_8$ e $R_9$ é $C_{1-4}$ alquil, e os grupos restantes são hidrogênio.

[491] Em outro aspecto dessa modalidade, $R_{11}$ e $R_{12}$ são, cada um, hidrogênio; e um, dois, três ou quatro de $R_1$, $R_2$, $R_3$, $R_4$, $R_5$, $R_6$, $R_7$, $R_8$, $R_9$ e $R_{10}$ são metil, e os grupos restantes são hidrogênio.

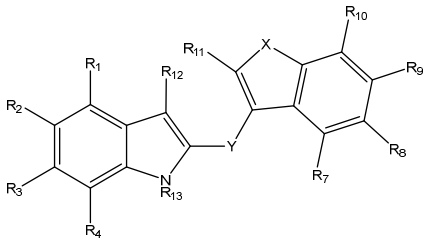
[492] Em um aspecto adicional dessa modalidade, o composto é selecionado do grupo que consiste em:



[493] Outra modalidade da presente invenção é uma composição que compreende um composto. O composto é selecionado do grupo que consiste em:



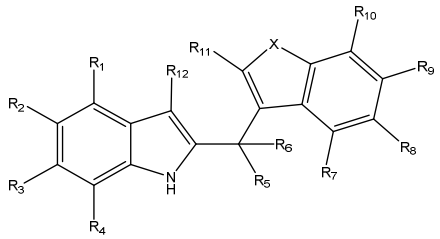
[494] Uma modalidade adicional da presente invenção é um método para clareamento da pele em um indivíduo. O método compreende o contato do indivíduo com um composto, o composto possuindo a estrutura da seguinte fórmula:



em que: X é selecionado do grupo que consiste em $NR_{14}$ e O; Y é uma ligação covalente, $CR_5R_6$, O ou $NR_{15}$; $R_1$, $R_2$, $R_3$, $R_4$, $R_7$, $R_8$, $R_9$, $R_{10}$ e $R_{11}$ são selecionados independentemente do grupo que consiste em hidrogênio, halogênio, CN, hidroxil, $R_{16}$ ou $OR_{16}$; $R_{13}$, $R_{14}$ e $R_{15}$ são independentemente hidrogênio ou $R_{16}$; $R_5$ e $R_6$ são selecionados independentemente do grupo que consiste em hidrogênio, hidroxil, $OR_{16}$, $R_{16}$ e $C_{3-6}$ cicloalquil, ou $R_5$ e $R_6$ combinam para formar um grupo oxo (=O) ou um $C_{3-6}$ cicloalquil; $R_{12}$ é selecionado do grupo que consiste em hidrogênio, -$COR^a$ e $R_{16}$; cada $R_{16}$ é independentemente formil,

$C_{1-9}$ alquil, $C_{2-9}$ alquenil ou $C_{2-9}$ alquinil; e, $R^a$ é selecionado do grupo que consiste em hidrogênio, hidroxil e $OR_{16}$; ou uma forma cristalina, hidrato ou sal cosmeticamente ou farmaceuticamente aceitável deste.

[495] Em um aspecto dessa modalidade, o composto possui a seguinte estrutura:




(I)

ou uma forma cristalina, hidrato ou sal cosmeticamente ou farmaceuticamente aceitável deste.

[496] Em outro aspecto dessa modalidade, X é NH.

[497] Em um aspecto adicional dessa modalidade, Y é $CR_5R_6$; $R_5$ é hidrogênio e $R_6$ é hidrogênio, $C_{1-4}$ alquil, $C_{3-6}$ cicloalquil ou O-($C_{1-4}$ alquil); ou $R_5$ e $R_6$ combinam para formar um grupo oxo (=O).

[498] De preferência, $CR_5R_6$ é $CH_2$, $CHCH_3$, $CHOCH_3$, C=O ou $CH(C_3H_5)$.

[499] Em um aspecto adicional dessa modalidade, pelo menos um de $R_1$, $R_2$, $R_3$, $R_4$, $R_7$, $R_8$, $R_9$, $R_{10}$ e $R_{11}$ é $C_{1-4}$ alquil.

[500] De preferência, $R_2$ é $C_{1-4}$ alquil.

[501] Mais preferivelmente, $R_2$ é metil.

[502] Em outro aspecto dessa modalidade, cada um de $R_1$, $R_2$, $R_3$, $R_4$, $R_7$, $R_8$, $R_9$, $R_{10}$ e $R_{11}$ é hidrogênio.

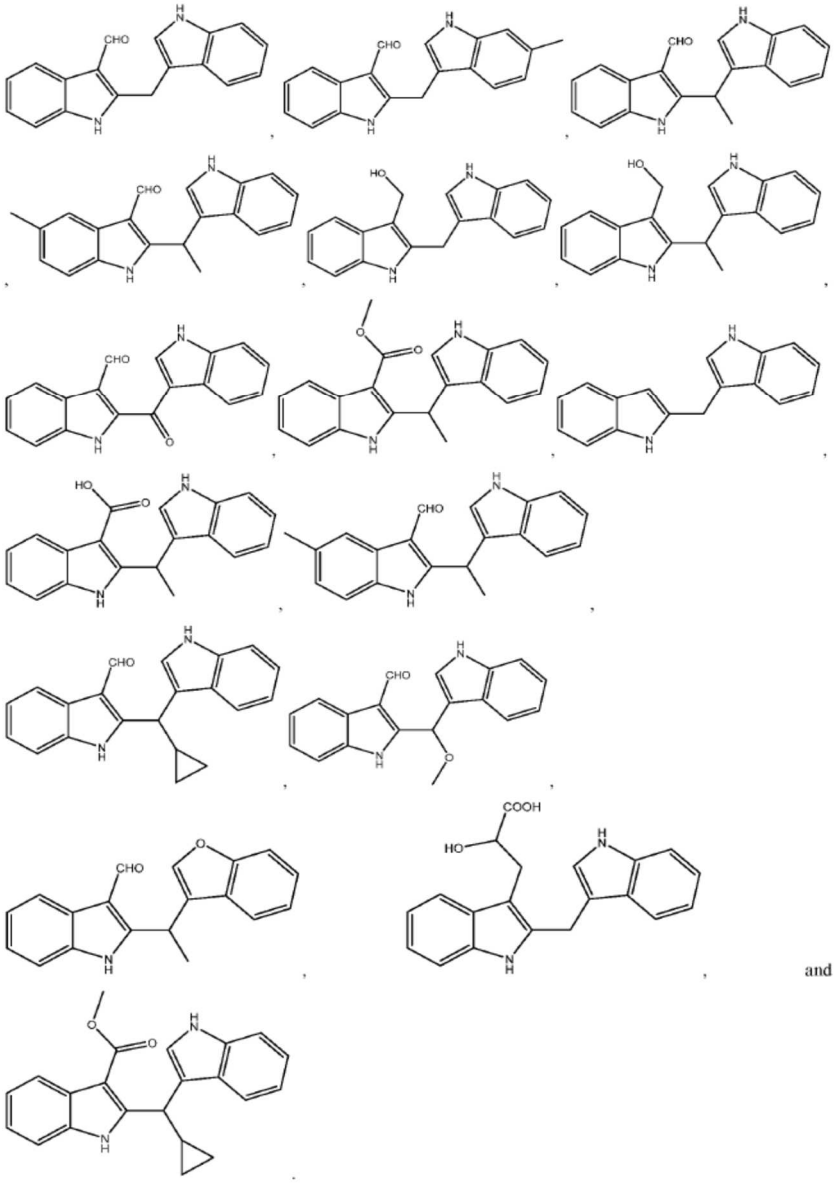
[503] Em um aspecto adicional dessa modalidade, $R_{12}$ é -$COR^a$ ou $C_{1-4}$ hidroxialquil; e $R^a$ é hidrogênio ou $C_{1-4}$ alquil.

[504] De preferência, $R_{12}$ é CHO, $CH_2OH$ ou C(=O)-O-($C_{1-4}$ alquil).

[505] Mais preferivelmente, $R_{12}$ é CHO, $CH_2OH$ ou $CO_2CH_3$.

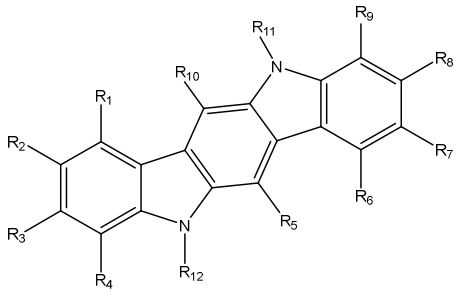
[506] Em um aspecto adicional dessa modalidade, X é NH; Y é $CR_5R_6$; cada um de $R_1$, $R_3$, $R_4$, $R_7$, $R_8$, $R_9$, $R_{10}$, $R_{11}$ e $R_{13}$ é hidrogênio; $R_2$ é hidrogênio ou $C_{1-4}$ alquil; $R_5$ é hidrogênio e $R_6$ é hidrogênio, $C_{1-4}$ alquil, $C_{3-6}$ cicloalquil ou O-($C_{1-4}$ alquil); ou $R_5$ e $R_6$ combinam para formar um grupo oxo (=O); $R_{12}$ é $-COR^a$ ou $C_{1-4}$ hidroxialquil; e $R^a$ é hidrogênio ou $C_{1-4}$ alquil.

[507] Em outro aspecto dessa modalidade, o composto é selecionado do grupo que consiste em:



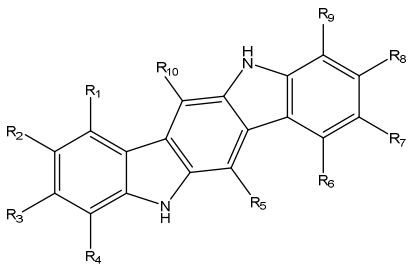
and

[508] Uma modalidade adicional da presente invenção é um método para clareamento da pele em um indivíduo. O método compreende o contato do indivíduo com um composto, o composto possuindo a seguinte fórmula:




em que: $R_1$, $R_4$, $R_5$, $R_6$, $R_9$ e $R_{10}$ são selecionados independentemente do grupo que consiste em hidrogênio, hidroxil, halogênio, CN, $R_{13}$, $OR_{13}$, $OCOR_{13}$ e -CHO; $R_2$ e $R_3$ são selecionados independentemente do grupo que consiste em hidrogênio, hidroxil, halogênio, CN, $R_{13}$, $OR_{13}$, $OCOR_{13}$ e -CHO, ou $R_2$ e $R_3$ combinam para formar um heterociclil de 5 ou 6 membros; $R_7$ e $R_8$ são selecionados independentemente do grupo que consiste em hidrogênio, hidroxil, halogênio, CN, $R_{13}$, $OR_{13}$, $OCOR_{13}$ e -CHO, ou $R_7$ e $R_8$ combinam para formar um heterociclil de 5 ou 6 membros; $R_{11}$ e $R_{12}$ são independentemente hidrogênio ou $R_{13}$; e, cada $R_{13}$ é independentemente $C_{1-9}$ alquil, $C_{2-9}$ alquenil ou $C_{2-9}$ alquinil; ou uma forma cristalina, hidrato ou sal cosmeticamente ou farmaceuticamente aceitável deste.

[509] Em um aspecto dessa modalidade, o composto possui uma estrutura de acordo com a fórmula (II),




(II)

ou uma forma cristalina, hidrato ou sal cosmeticamente ou farmaceuticamente aceitável deste.

[510] Em outro aspecto dessa modalidade, $R_1$, $R_2$, $R_3$, $R_4$, $R_5$, $R_6$, $R_7$, $R_8$, $R_9$ e $R_{10}$ são selecionados independentemente do grupo que consiste em hidrogênio e $C_{1-4}$ alquil.

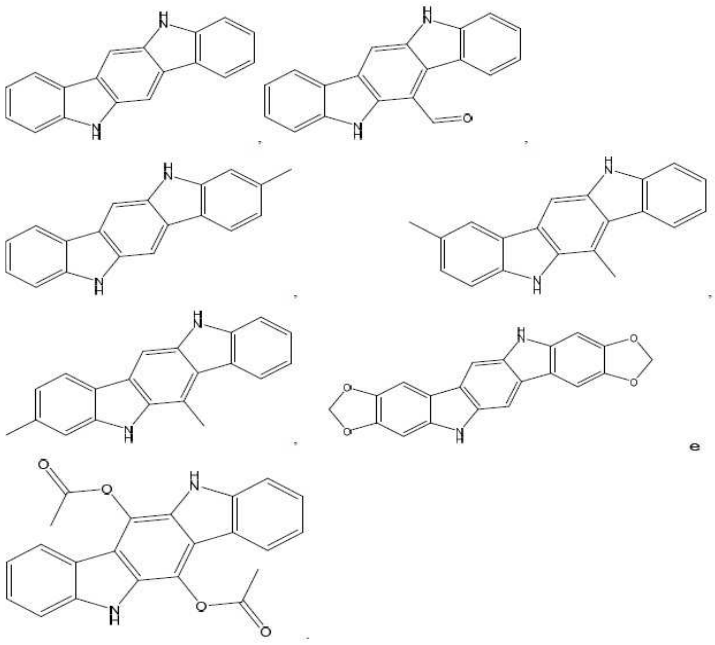
[511] De preferência, um ou dois de $R_1$, $R_2$, $R_3$, $R_4$, $R_5$, $R_6$, $R_7$, $R_8$, $R_9$ e $R_{10}$ são $C_{1-4}$ alquil, e os grupos restantes são hidrogênio.

[512] Em um aspecto adicional dessa modalidade, um de $R_5$ e $R_{10}$ é $C_{1-4}$ alquil, e o outro é hidrogênio.

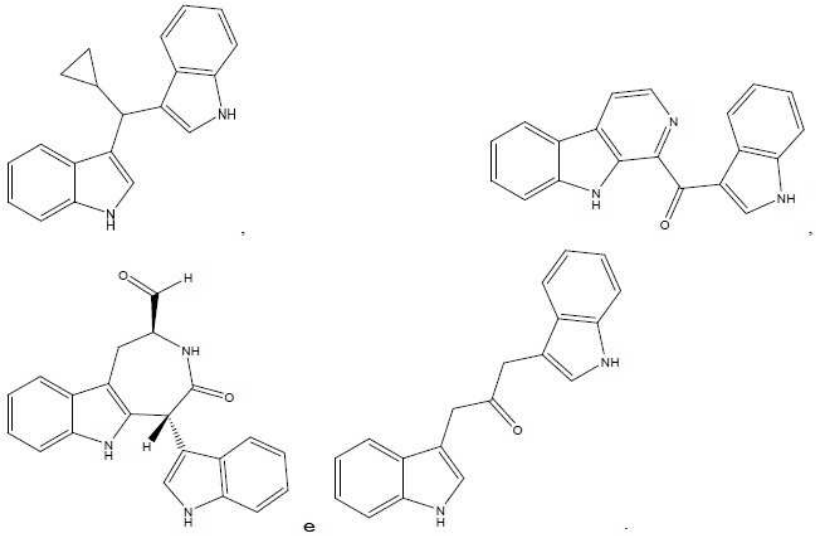
[513] Em um aspecto adicional dessa modalidade, um de $R_1$, $R_2$, $R_3$, $R_4$, $R_6$, $R_7$, $R_8$ e $R_9$ é $C_{1-4}$ alquil, e os grupos restantes são hidrogênio.

[514] Em outro aspecto dessa modalidade, $R_{11}$ e $R_{12}$ são, cada um, hidrogênio; e um, dois, três ou quatro de $R_1$, $R_2$, $R_3$, $R_4$, $R_5$, $R_6$, $R_7$, $R_8$, $R_9$ e $R_{10}$ são metil, e os grupos restantes são hidrogênio.

[515] Em um aspecto adicional dessa modalidade, o composto é selecionado do grupo que consiste em:

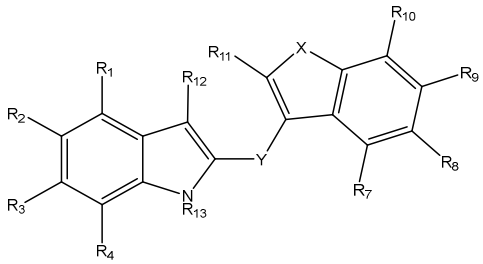


[516] Outra modalidade da presente invenção é um método para clareamento da pele em um indivíduo. O método compreende o contato do indivíduo com um composto, o composto selecionado do grupo que consiste em:



e

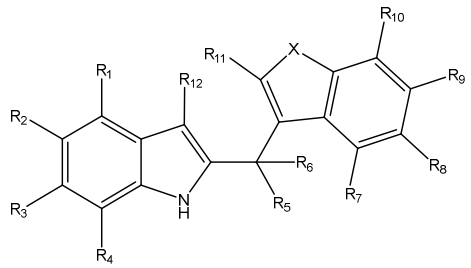
[517] Uma modalidade adicional da presente invenção é um método para indução de apoptose de melanócitos em um indivíduo. O método compreende o contato do indivíduo com um composto, o composto possuindo a estrutura da seguinte fórmula:



em que: X é selecionado do grupo que consiste em $NR_{14}$ e O; Y é uma ligação covalente, $CR_5R_6$, O ou $NR_{15}$; $R_1$, $R_2$, $R_3$, $R_4$, $R_7$, $R_8$, $R_9$, $R_{10}$ e $R_{11}$ são selecionados independentemente do grupo que consiste em hidrogênio, halogênio, CN, hidroxil, $R_{16}$ ou $OR_{16}$; $R_{13}$, $R_{14}$ e $R_{15}$ são independentemente hidrogênio ou $R_{16}$; $R_5$ e $R_6$ são selecionados independentemente do grupo que

consiste em hidrogênio, hidroxil, $OR_{16}$, $R_{16}$ e $C_{3-6}$ cicloalquil, ou $R_5$ e $R_6$ combinam para formar um grupo oxo (=O) ou um $C_{3-6}$ cicloalquil; $R_{12}$ é selecionado do grupo que consiste em hidrogênio, -$COR^a$ e $R_{16}$; cada $R_{16}$ é independentemente formil, $C_{1-9}$ alquil, $C_{2-9}$ alquenil ou $C_{2-9}$ alquinil; e, $R^a$ é selecionado do grupo que consiste em hidrogênio, hidroxil e $OR_{16}$; ou uma forma cristalina, hidrato ou sal cosmeticamente ou farmaceuticamente aceitável deste.

[518] Em um aspecto dessa modalidade, o composto possui a seguinte estrutura:




(I)

ou uma forma cristalina, hidrato ou sal cosmeticamente ou farmaceuticamente aceitável deste.

[519] Em outro aspecto dessa modalidade, X é NH.

[520] Em um aspecto adicional dessa modalidade, Y é $CR_5R_6$; $R_5$ é hidrogênio e $R_6$ é hidrogênio, $C_{1-4}$ alquil, $C_{3-6}$ cicloalquil ou O-($C_{1-4}$ alquil); ou $R_5$ e $R_6$ combinam para formar um grupo oxo (=O).

[521] De preferência, $CR_5R_6$ é $CH_2$, $CHCH_3$, $CHOCH_3$, C=O ou $CH(C_3H_5)$.

[522] Em um aspecto adicional dessa modalidade, pelo menos um de $R_1$, $R_2$, $R_3$, $R_4$, $R_7$, $R_8$, $R_9$, $R_{10}$ e $R_{11}$ é $C_{1-4}$ alquil.

[523] De preferência, $R_2$ é $C_{1-4}$ alquil.

[524] Mais preferivelmente, $R_2$ é metil.

[525] Em outro aspecto dessa modalidade, cada um de $R_1$,

$R_2$, $R_3$, $R_4$, $R_7$, $R_8$, $R_9$, $R_{10}$ e $R_{11}$ é hidrogênio.

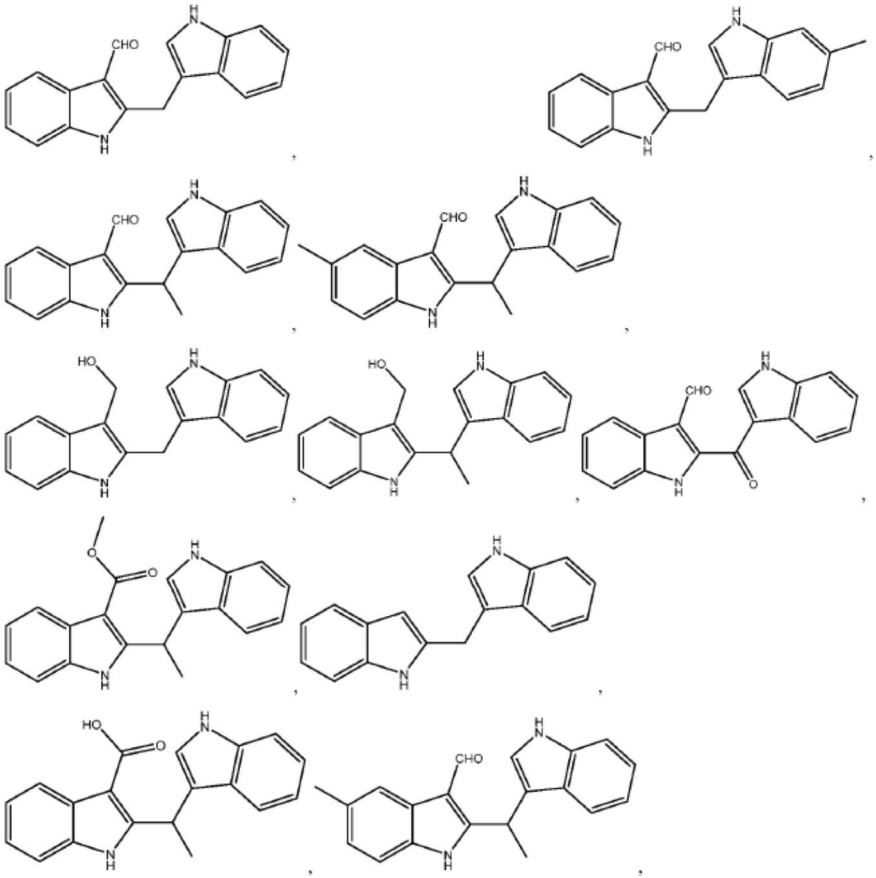
[526] Em um aspecto adicional dessa modalidade, $R_{12}$ é -$COR^a$ ou $C_{1-4}$ hidroxialquil; e $R^a$ é hidrogênio ou $C_{1-4}$ alquil.

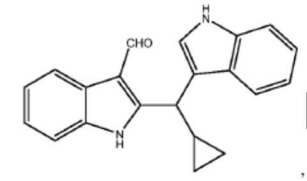
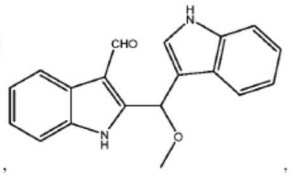
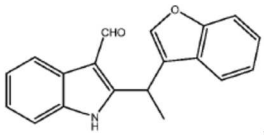
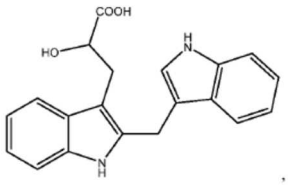
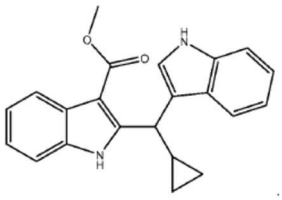
[527] De preferência, $R_{12}$ é CHO, $CH_2OH$ ou C(=O)-O-($C_{1-4}$ alquil).

[528] Mais preferivelmente, $R_{12}$ é CHO, $CH_2OH$ ou $CO_2CH_3$.

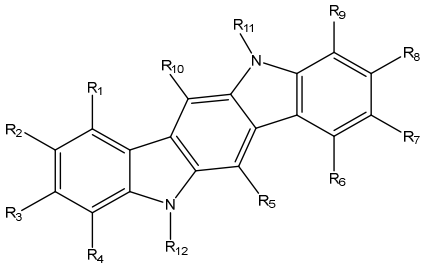
[529] Em um aspecto adicional dessa modalidade, X é NH; Y é $CR_5R_6$; cada um de $R_1$, $R_3$, $R_4$, $R_7$, $R_8$, $R_9$, $R_{10}$, $R_{11}$ e $R_{13}$ é hidrogênio; $R_2$ é hidrogênio ou $C_{1-4}$ alquil; $R_5$ é hidrogênio e $R_6$ é hidrogênio, $C_{1-4}$ alquil, $C_{3-6}$ cicloalquil ou O-($C_{1-4}$ alquil); ou $R_5$ e $R_6$ combinam para formar um grupo oxo (=O); $R_{12}$ é -$COR^a$ ou $C_{1-4}$ hidroxialquil; e $R^a$ é hidrogênio ou $C_{1-4}$ alquil.

[530] Em outro aspecto dessa modalidade, o composto é selecionado do grupo que consiste em:







and


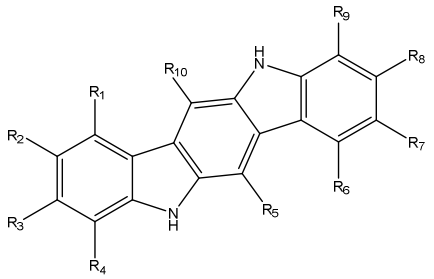
[531] Uma modalidade adicional da presente invenção é um método para indução de apoptose de melanócitos em um indivíduo. O método compreende o contato do indivíduo com um composto, o composto possuindo a seguinte fórmula:



em que: $R_1$, $R_4$, $R_5$, $R_6$, $R_9$ e $R_{10}$ são selecionados independentemente do grupo que consiste em hidrogênio, hidroxil, halogênio, CN, $R_{13}$, $OR_{13}$, $OCOR_{13}$ e -CHO; $R_2$ e $R_3$ são selecionados independentemente do grupo que consiste em hidrogênio, hidroxil, halogênio, CN, $R_{13}$, $OR_{13}$, $OCOR_{13}$ e -CHO, ou $R_2$ e $R_3$ combinam para formar um heterociclil de 5 ou 6 membros; $R_7$ e $R_8$ são selecionados independentemente do grupo que consiste em hidrogênio, hidroxil, halogênio, CN, $R_{13}$, $OR_{13}$, $OCOR_{13}$ e -CHO, ou $R_7$ e $R_8$ combinam para formar um heterociclil de 5 ou 6 membros; $R_{11}$ e $R_{12}$ são independentemente hidrogênio ou $R_{13}$; e, cada $R_{13}$ é

independentemente $C_{1-9}$ alquil, $C_{2-9}$ alquenil ou $C_{2-9}$ alquinil; ou uma forma cristalina, hidrato ou sal cosmeticamente ou farmaceuticamente aceitável deste.

[532] Em um aspecto dessa modalidade, o composto possui uma estrutura de acordo com a fórmula (II),



(II)

ou uma forma cristalina, hidrato ou sal cosmeticamente ou farmaceuticamente aceitável deste.

[533] Em outro aspecto dessa modalidade, $R_1$, $R_2$, $R_3$, $R_4$, $R_5$, $R_6$, $R_7$, $R_8$, $R_9$ e $R_{10}$ são selecionados independentemente do grupo que consiste em hidrogênio e $C_{1-4}$ alquil.

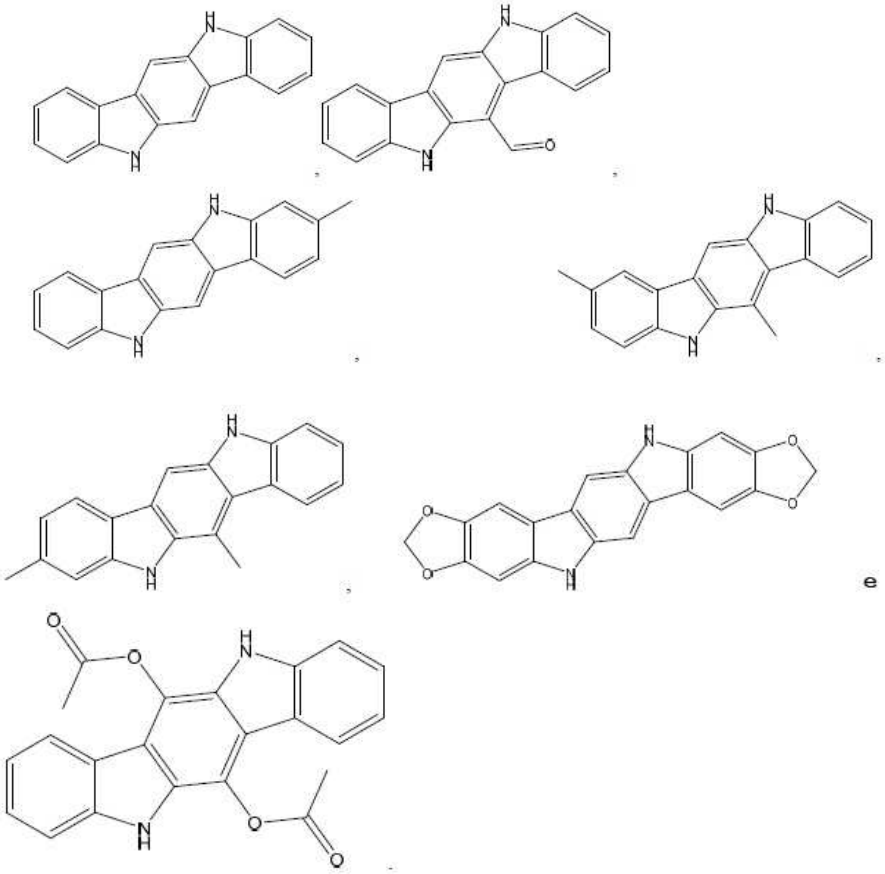
[534] De preferência, um ou dois de $R_1$, $R_2$, $R_3$, $R_4$, $R_5$, $R_6$, $R_7$, $R_8$, $R_9$ e $R_{10}$ são $C_{1-4}$ alquil, e os grupos restantes são hidrogênio.

[535] Em um aspecto adicional dessa modalidade, um de $R_5$ e $R_{10}$ é $C_{1-4}$ alquil, e o outro é hidrogênio.

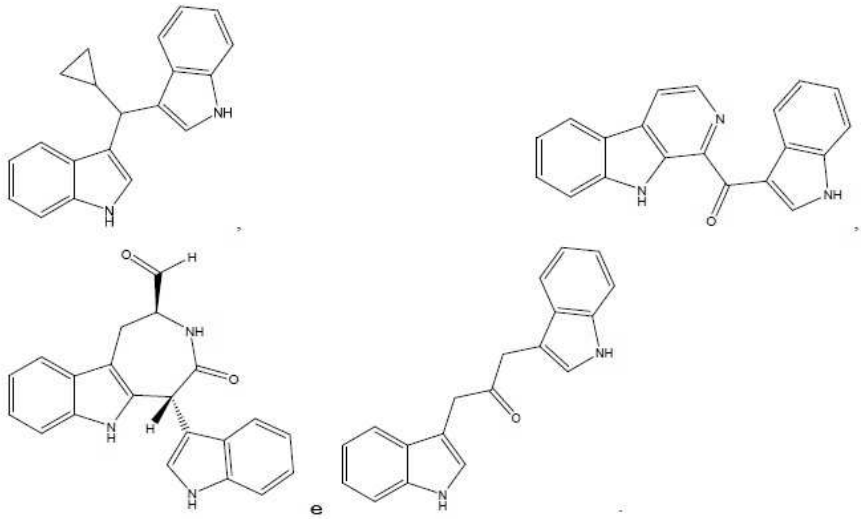
[536] Em um aspecto adicional dessa modalidade, um de $R_1$, $R_2$, $R_3$, $R_4$, $R_6$, $R_7$, $R_8$ e $R_9$ é $C_{1-4}$ alquil, e os grupos restantes são hidrogênio.

[537] Em outro aspecto dessa modalidade, $R_{11}$ e $R_{12}$ são, cada um, hidrogênio; e um, dois, três ou quatro de $R_1$, $R_2$, $R_3$, $R_4$, $R_5$, $R_6$, $R_7$, $R_8$, $R_9$ e $R_{10}$ são metil, e os grupos restantes são hidrogênio.

[538] Em um aspecto adicional dessa modalidade, o composto é selecionado do grupo que consiste em:

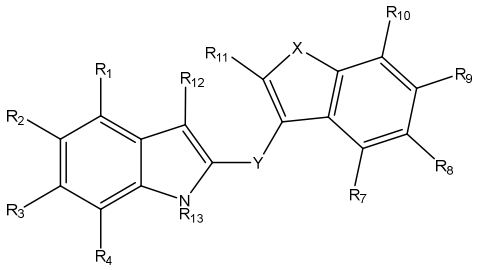


[539] Outra modalidade da presente invenção é um método para indução de apoptose de melanócitos em um indivíduo. O método compreende o contato do indivíduo com um composto, o composto selecionado do grupo que consiste em:



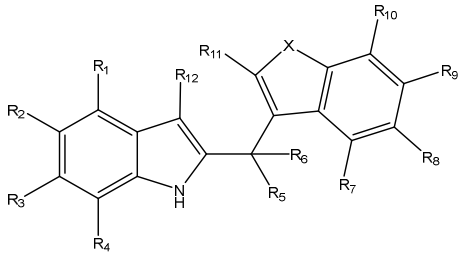
[540] Uma modalidade adicional da presente invenção é um método para a modulação da atividade do receptor de aril-

hidrocarboneto (AhR) em um indivíduo. O método compreende o contato do indivíduo com um composto, o composto possuindo a estrutura da seguinte fórmula:



em que: X é selecionado do grupo que consiste em $NR_{14}$ e O; Y é uma ligação covalente, $CR_5R_6$, O ou $NR_{15}$; $R_1$, $R_2$, $R_3$, $R_4$, $R_7$, $R_8$, $R_9$, $R_{10}$ e $R_{11}$ são selecionados independentemente do grupo que consiste em hidrogênio, halogênio, CN, hidroxil, $R_{16}$ ou $OR_{16}$; $R_{13}$, $R_{14}$ e $R_{15}$ são independentemente hidrogênio ou $R_{16}$; $R_5$ e $R_6$ são selecionados independentemente do grupo que consiste em hidrogênio, hidroxil, $OR_{16}$, $R_{16}$ e $C_{3-6}$ cicloalquil, ou $R_5$ e $R_6$ combinam para formar um grupo oxo (=O) ou um $C_{3-6}$ cicloalquil; $R_{12}$ é selecionado do grupo que consiste em hidrogênio, $-COR^a$ e $R_{16}$; cada $R_{16}$ é independentemente formil, $C_{1-9}$ alquil, $C_{2-9}$ alquenil ou $C_{2-9}$ alquinil; e, $R^a$ é selecionado do grupo que consiste em hidrogênio, hidroxil e $OR_{16}$; ou uma forma cristalina, hidrato ou sal cosmeticamente ou farmaceuticamente aceitável deste.

[541] Em um aspecto dessa modalidade, o composto possui a seguinte estrutura:



(I)

ou uma forma cristalina, hidrato ou sal cosmeticamente

ou farmaceuticamente aceitável deste.

[542] Em outro aspecto dessa modalidade, X é NH.

[543] Em um aspecto adicional dessa modalidade, Y é $CR_5R_6$; $R_5$ é hidrogênio e $R_6$ é hidrogênio, $C_{1-4}$ alquil, $C_{3-6}$ cicloalquil ou O-($C_{1-4}$ alquil); ou $R_5$ e $R_6$ combinam para formar um grupo oxo (=O).

[544] De preferência, $CR_5R_6$ é $CH_2$, $CHCH_3$, $CHOCH_3$, C=O ou $CH(C_3H_5)$.

[545] Em um aspecto adicional dessa modalidade, pelo menos um de $R_1$, $R_2$, $R_3$, $R_4$, $R_7$, $R_8$, $R_9$, $R_{10}$ e $R_{11}$ é $C_{1-4}$ alquil.

[546] De preferência, $R_2$ é $C_{1-4}$ alquil.

[547] Mais preferivelmente, $R_2$ é metil.

[548] Em outro aspecto dessa modalidade, cada um de $R_1$, $R_2$, $R_3$, $R_4$, $R_7$, $R_8$, $R_9$, $R_{10}$ e $R_{11}$ é hidrogênio.

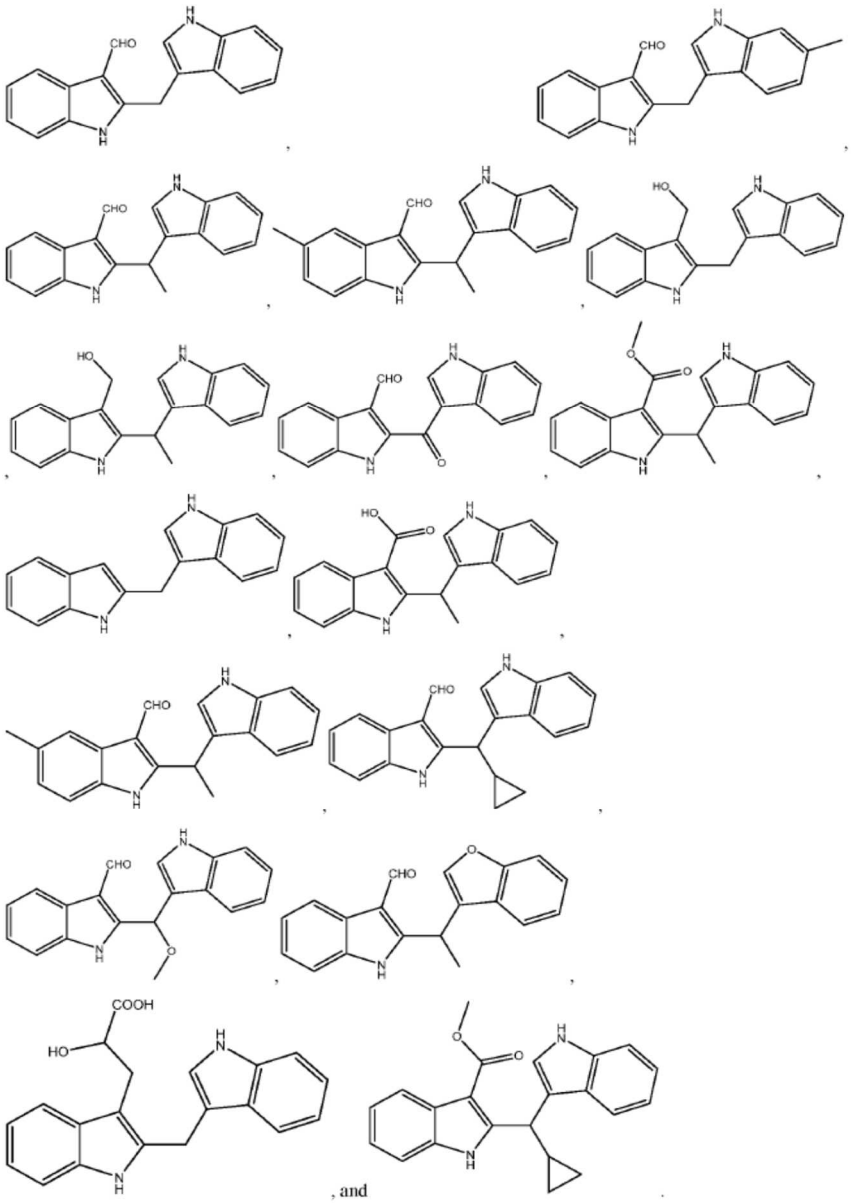
[549] Em um aspecto adicional dessa modalidade, $R_{12}$ é -$COR^a$ ou $C_{1-4}$ hidroxialquil; e $R^a$ é hidrogênio ou $C_{1-4}$ alquil.

[550] De preferência, $R_{12}$ é CHO, $CH_2OH$ ou C(=O)-O-($C_{1-4}$ alquil).

[551] Mais preferivelmente, $R_{12}$ é CHO, $CH_2OH$ ou $CO_2CH_3$.

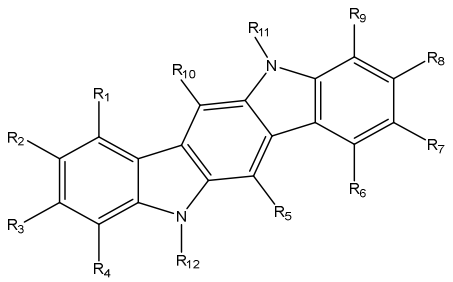
[552] Em um aspecto adicional dessa modalidade, X é NH; Y é $CR_5R_6$; cada um de $R_1$, $R_3$, $R_4$, $R_7$, $R_8$, $R_9$, $R_{10}$, $R_{11}$ e $R_{13}$ é hidrogênio; $R_2$ é hidrogênio ou $C_{1-4}$ alquil; $R_5$ é hidrogênio e $R_6$ é hidrogênio, $C_{1-4}$ alquil, $C_{3-6}$ cicloalquil ou O-($C_{1-4}$ alquil); ou $R_5$ e $R_6$ combinam para formar um grupo oxo (=O); $R_{12}$ é -$COR^a$ ou $C_{1-4}$ hidroxialquil; e $R^a$ é hidrogênio ou $C_{1-4}$ alquil.

[553] Em outro aspecto dessa modalidade, o composto é selecionado do grupo que consiste em:



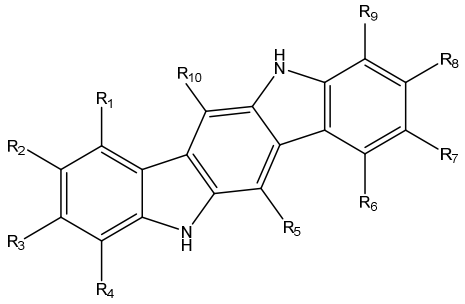
, and

[554] Uma modalidade adicional da presente invenção é um método para a modulação da atividade do receptor de aril-hidrocarboneto (AhR) em um indivíduo. O método compreende o contato do indivíduo com um composto, o composto possuindo a seguinte fórmula:



em que: $R_1$, $R_4$, $R_5$, $R_6$, $R_9$ e $R_{10}$ são selecionados independentemente do grupo que consiste em hidrogênio, hidroxil, halogênio, CN, $R_{13}$, $OR_{13}$, $OCOR_{13}$ e -CHO; $R_2$ e $R_3$ são selecionados independentemente do grupo que consiste em hidrogênio, hidroxil, halogênio, CN, $R_{13}$, $OR_{13}$, $OCOR_{13}$ e -CHO, ou $R_2$ e $R_3$ combinam para formar um heterociclil de 5 ou 6 membros; $R_7$ e $R_8$ são selecionados independentemente do grupo que consiste em hidrogênio, hidroxil, halogênio, CN, $R_{13}$, $OR_{13}$, $OCOR_{13}$ e -CHO, ou $R_7$ e $R_8$ combinam para formar um heterociclil de 5 ou 6 membros; $R_{11}$ e $R_{12}$ são independentemente hidrogênio ou $R_{13}$; e, cada $R_{13}$ é independentemente $C_{1-9}$ alquil, $C_{2-9}$ alquenil ou $C_{2-9}$ alquinil; ou uma forma cristalina, hidrato ou sal cosmeticamente ou farmaceuticamente aceitável deste.

[555] Em um aspecto dessa modalidade, o composto possui uma estrutura de acordo com a fórmula (II),




(II)

ou uma forma cristalina, hidrato ou sal cosmeticamente ou farmaceuticamente aceitável deste.

[556] Em outro aspecto dessa modalidade, $R_1$, $R_2$, $R_3$, $R_4$, $R_5$, $R_6$, $R_7$, $R_8$, $R_9$ e $R_{10}$ são selecionados independentemente do grupo que consiste em hidrogênio e $C_{1-4}$ alquil.

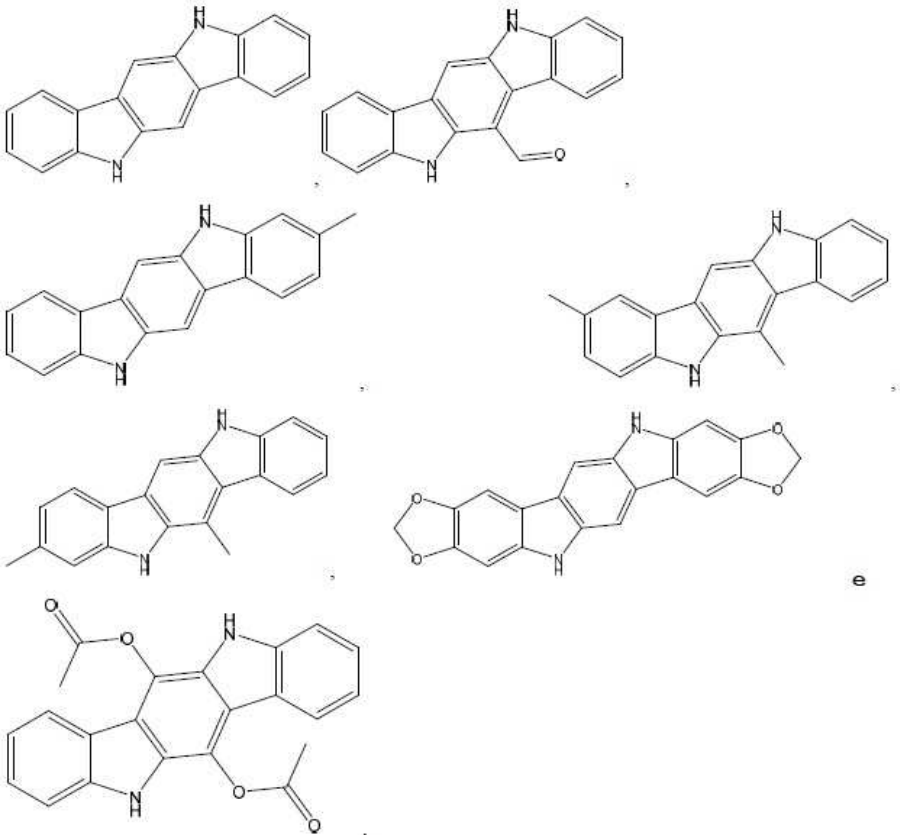
[557] De preferência, um ou dois de $R_1$, $R_2$, $R_3$, $R_4$, $R_5$, $R_6$, $R_7$, $R_8$, $R_9$ e $R_{10}$ são $C_{1-4}$ alquil, e os grupos restantes são hidrogênio.

[558] Em um aspecto adicional dessa modalidade, um de $R_5$ e $R_{10}$ é $C_{1-4}$ alquil, e o outro é hidrogênio.

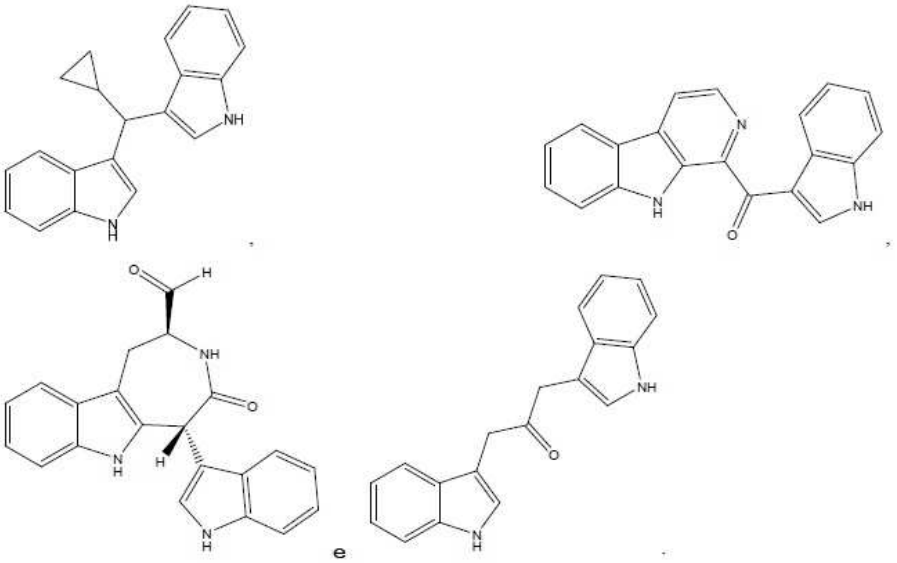
[559] Em um aspecto adicional dessa modalidade, um de $R_1$, $R_2$, $R_3$, $R_4$, $R_6$, $R_7$, $R_8$ e $R_9$ é $C_{1-4}$ alquil, e os grupos restantes são hidrogênio.

[560] Em outro aspecto dessa modalidade, $R_{11}$ e $R_{12}$ são, cada um, hidrogênio; e um, dois, três ou quatro de $R_1$, $R_2$, $R_3$, $R_4$, $R_5$, $R_6$, $R_7$, $R_8$, $R_9$ e $R_{10}$ são metil, e os grupos restantes são hidrogênio.

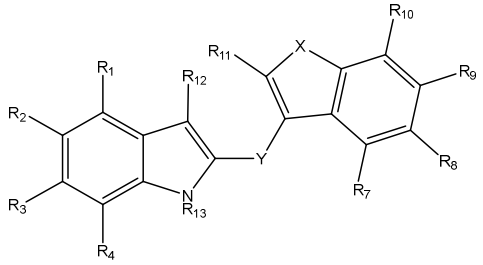
[561] Em um aspecto adicional dessa modalidade, o composto é selecionado do grupo que consiste em:



[562] Outra modalidade da presente invenção é um método para a modulação da atividade do receptor de aril-hidrocarboneto (AhR) em um indivíduo. O método compreende o contato do indivíduo com um composto, o composto selecionado do grupo que consiste em:



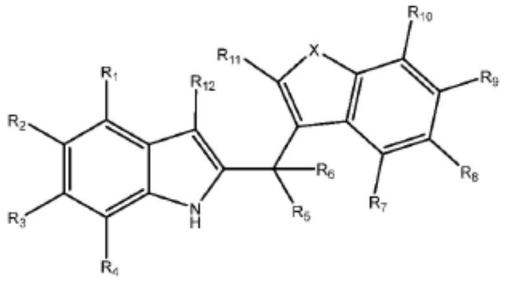
[563] Uma modalidade adicional da presente invenção é um método para a modulação da melanogênese em um indivíduo. O método compreende o contato do indivíduo com um composto, o composto possuindo a estrutura da seguinte fórmula:



em que: X é selecionado do grupo que consiste em $NR_{14}$ e O; Y é uma ligação covalente, $CR_5R_6$, O ou $NR_{15}$; $R_1$, $R_2$, $R_3$, $R_4$, $R_7$, $R_8$, $R_9$, $R_{10}$ e $R_{11}$ são selecionados independentemente do grupo que consiste em hidrogênio, halogênio, CN, hidroxil, $R_{16}$ ou $OR_{16}$; $R_{13}$, $R_{14}$ e $R_{15}$ são independentemente hidrogênio ou $R_{16}$; $R_5$ e $R_6$ são selecionados independentemente do grupo que consiste em hidrogênio, hidroxil, $OR_{16}$, $R_{16}$ e $C_{3-6}$ cicloalquil, ou $R_5$ e $R_6$ combinam para formar um grupo oxo (=O) ou um $C_{3-6}$ cicloalquil; $R_{12}$ é selecionado do grupo que consiste em hidrogênio, -$COR^a$ e $R_{16}$; cada $R_{16}$ é independentemente formil, $C_{1-9}$ alquil, $C_{2-9}$ alquenil ou $C_{2-9}$ alquinil; e, $R^a$ é selecionado

do grupo que consiste em hidrogênio, hidroxil e $OR_{16}$; ou uma forma cristalina, hidrato ou sal cosmeticamente ou farmaceuticamente aceitável deste.

[564] Em um aspecto dessa modalidade, o composto possui a seguinte estrutura:




(I)

ou uma forma cristalina, hidrato ou sal cosmeticamente ou farmaceuticamente aceitável deste.

[565] Em outro aspecto dessa modalidade, X é NH.

[566] Em um aspecto adicional dessa modalidade, Y é $CR_5R_6$; $R_5$ é hidrogênio e $R_6$ é hidrogênio, $C_{1-4}$ alquil, $C_{3-6}$ cicloalquil ou O-($C_{1-4}$ alquil); ou $R_5$ e $R_6$ combinam para formar um grupo oxo (=O).

[567] De preferência, $CR_5R_6$ é $CH_2$, $CHCH_3$, $CHOCH_3$, C=O ou $CH(C_3H_5)$.

[568] Em um aspecto adicional dessa modalidade, pelo menos um de $R_1$, $R_2$, $R_3$, $R_4$, $R_7$, $R_8$, $R_9$, $R_{10}$ e $R_{11}$ é $C_{1-4}$ alquil.

[569] De preferência, $R_2$ é $C_{1-4}$ alquil.

[570] Mais preferivelmente, $R_2$ é metil.

[571] Em outro aspecto dessa modalidade, cada um de $R_1$, $R_2$, $R_3$, $R_4$, $R_7$, $R_8$, $R_9$, $R_{10}$ e $R_{11}$ é hidrogênio.

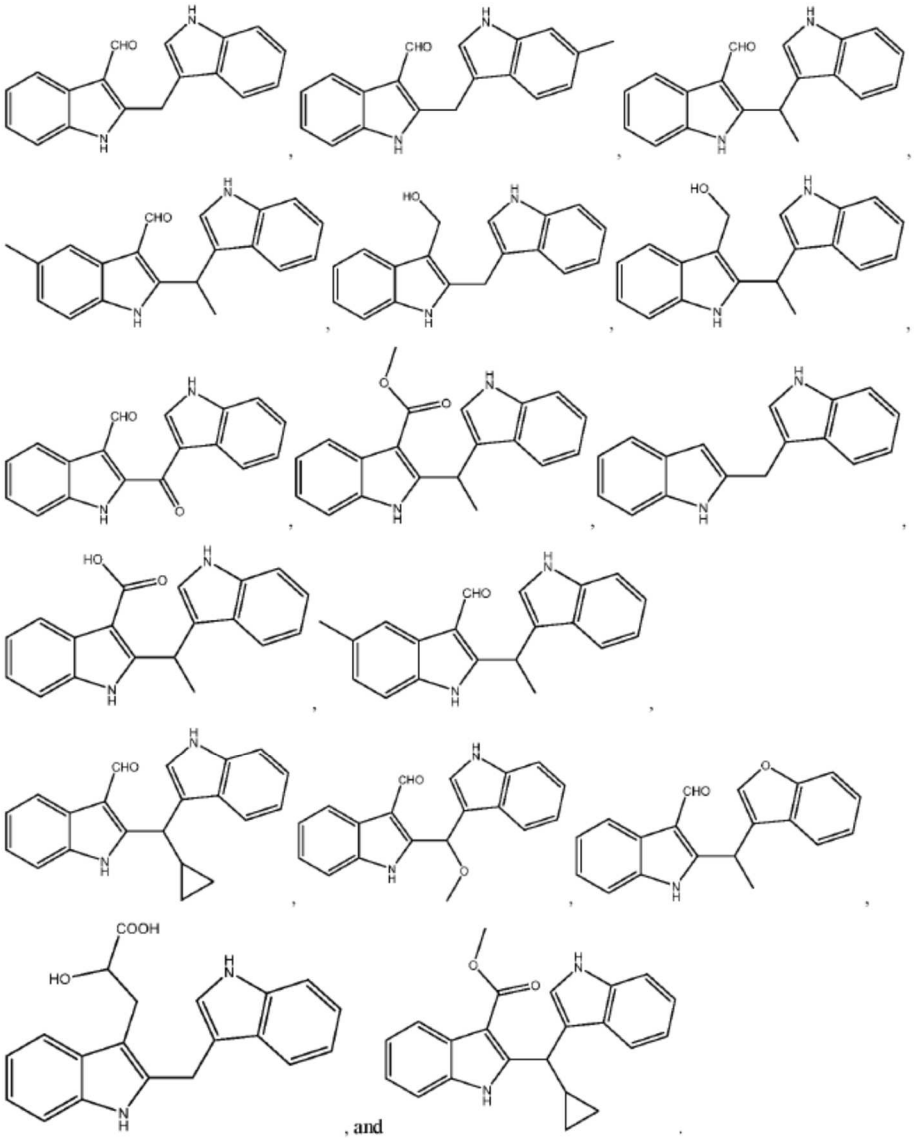
[572] Em um aspecto adicional dessa modalidade, $R_{12}$ é -$COR^a$ ou $C_{1-4}$ hidroxialquil; e $R^a$ é hidrogênio ou $C_{1-4}$ alquil.

[573] De preferência, $R_{12}$ é CHO, $CH_2OH$ ou C(=O)-O-($C_{1-4}$ alquil).

[574] Mais preferivelmente, $R_{12}$ é CHO, $CH_2OH$ ou $CO_2CH_3$.

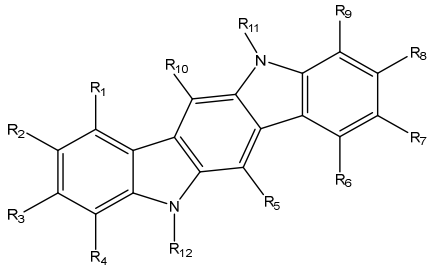
[575] Em um aspecto adicional dessa modalidade, X é NH; Y é $CR_5R_6$; cada um de $R_1$, $R_3$, $R_4$, $R_7$, $R_8$, $R_9$, $R_{10}$, $R_{11}$ e $R_{13}$ é hidrogênio; $R_2$ é hidrogênio ou $C_{1-4}$ alquil; $R_5$ é hidrogênio e $R_6$ é hidrogênio, $C_{1-4}$ alquil, $C_{3-6}$ cicloalquil ou O-($C_{1-4}$ alquil); ou $R_5$ e $R_6$ combinam para formar um grupo oxo (=O); $R_{12}$ é $-COR^a$ ou $C_{1-4}$ hidroxialquil; e $R^a$ é hidrogênio ou $C_{1-4}$ alquil.

[576] Em outro aspecto dessa modalidade, o composto é selecionado do grupo que consiste em:



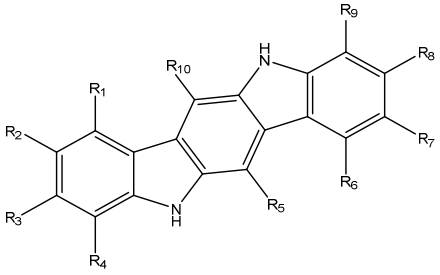
, and .

[577] Uma modalidade adicional da presente invenção é um método para a modulação da melanogênese em um indivíduo. O método compreende o contato do indivíduo com um composto, o composto possuindo a seguinte fórmula:



em que: $R_1$, $R_4$, $R_5$, $R_6$, $R_9$ e $R_{10}$ são selecionados independentemente do grupo que consiste em hidrogênio, hidroxil, halogênio, CN, $R_{13}$, $OR_{13}$, $OCOR_{13}$ e -CHO; $R_2$ e $R_3$ são selecionados independentemente do grupo que consiste em hidrogênio, hidroxil, halogênio, CN, $R_{13}$, $OR_{13}$, $OCOR_{13}$ e -CHO, ou $R_2$ e $R_3$ combinam para formar um heterociclil de 5 ou 6 membros; $R_7$ e $R_8$ são selecionados independentemente do grupo que consiste em hidrogênio, hidroxil, halogênio, CN, $R_{13}$, $OR_{13}$, $OCOR_{13}$ e -CHO, ou $R_7$ e $R_8$ combinam para formar um heterociclil de 5 ou 6 membros; $R_{11}$ e $R_{12}$ são independentemente hidrogênio ou $R_{13}$; e, cada $R_{13}$ é independentemente $C_{1-9}$ alquil, $C_{2-9}$ alquenil ou $C_{2-9}$ alquinil; ou uma forma cristalina, hidrato ou sal cosmeticamente ou farmaceuticamente aceitável deste.

[578] Em um aspecto dessa modalidade, o composto possui uma estrutura de acordo com a fórmula (II),



(II)

ou uma forma cristalina, hidrato ou sal cosmeticamente ou farmaceuticamente aceitável deste.

[579] Em outro aspecto dessa modalidade, $R_1$, $R_2$, $R_3$, $R_4$, $R_5$, $R_6$, $R_7$, $R_8$, $R_9$ e $R_{10}$ são selecionados independentemente do grupo que consiste em hidrogênio e $C_{1-4}$ alquil.

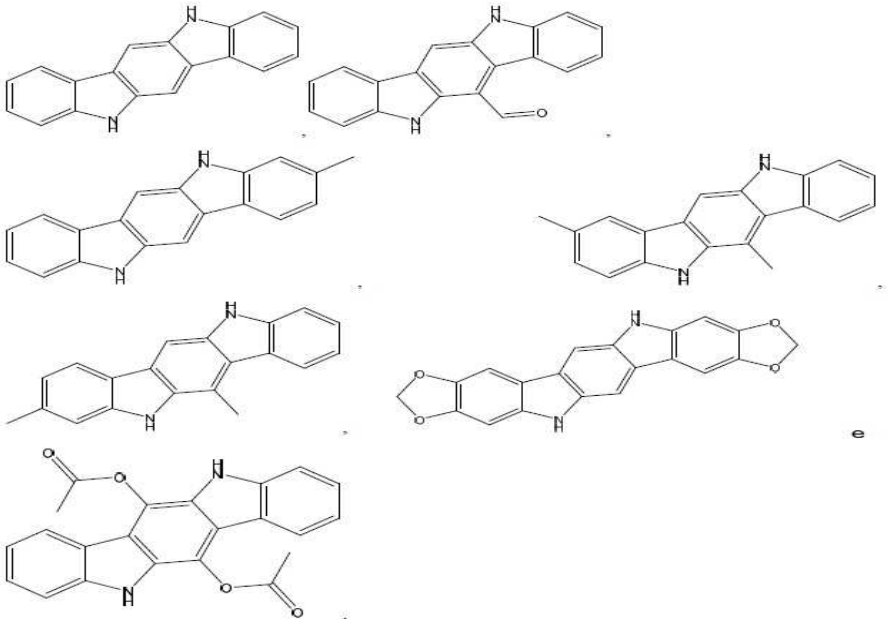
[580] De preferência, um ou dois de $R_1$, $R_2$, $R_3$, $R_4$, $R_5$, $R_6$, $R_7$, $R_8$, $R_9$ e $R_{10}$ são $C_{1-4}$ alquil, e os grupos restantes são hidrogênio.

[581] Em um aspecto adicional dessa modalidade, um de $R_5$ e $R_{10}$ é $C_{1-4}$ alquil, e o outro é hidrogênio.

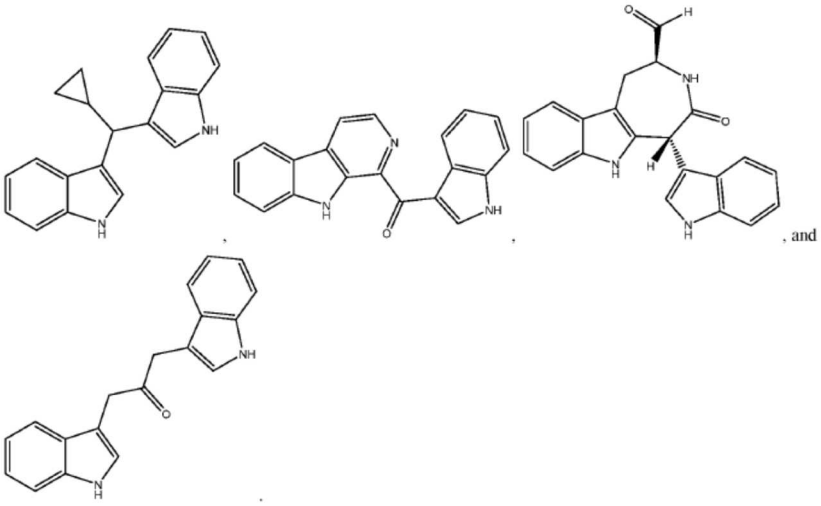
[582] Em um aspecto adicional dessa modalidade, um de $R_1$, $R_2$, $R_3$, $R_4$, $R_6$, $R_7$, $R_8$ e $R_9$ é $C_{1-4}$ alquil, e os grupos restantes são hidrogênio.

[583] Em outro aspecto dessa modalidade, $R_{11}$ e $R_{12}$ são, cada um, hidrogênio; e um, dois, três ou quatro de $R_1$, $R_2$, $R_3$, $R_4$, $R_5$, $R_6$, $R_7$, $R_8$, $R_9$ e $R_{10}$ são metil, e os grupos restantes são hidrogênio.

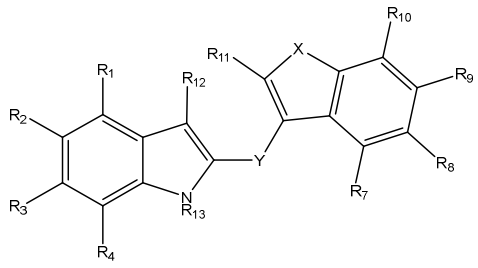
[584] Em um aspecto adicional dessa modalidade, o composto é selecionado do grupo que consiste em:



[585] Outra modalidade da presente invenção é um método para a modulação da melanogênese em um indivíduo. O método compreende o contato do indivíduo com um composto, o composto selecionado do grupo que consiste em:



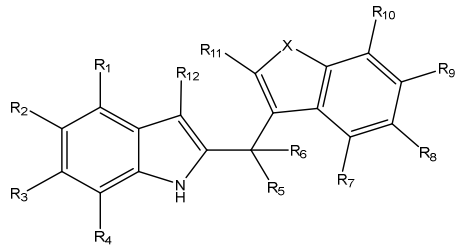

[586] Uma modalidade adicional da presente invenção é um método para a modulação da concentração de melanina em um indivíduo. O método compreende o contato do indivíduo com um composto, o composto possuindo a estrutura da seguinte fórmula:




em que: X é selecionado do grupo que consiste em $NR_{14}$ e O; Y é uma ligação covalente, $CR_5R_6$, O ou $NR_{15}$; $R_1$, $R_2$, $R_3$, $R_4$, $R_7$, $R_8$, $R_9$, $R_{10}$ e $R_{11}$ são selecionados independentemente do grupo que consiste em hidrogênio, halogênio, CN, hidroxil, $R_{16}$ ou $OR_{16}$; $R_{13}$, $R_{14}$ e $R_{15}$ são independentemente hidrogênio ou $R_{16}$; $R_5$ e $R_6$ são selecionados independentemente do grupo que consiste em hidrogênio, hidroxil, $OR_{16}$, $R_{16}$ e $C_{3-6}$ cicloalquil,

ou $R_5$ e $R_6$ combinam para formar um grupo oxo (=O) ou um $C_{3-6}$ cicloalquil; $R_{12}$ é selecionado do grupo que consiste em hidrogênio, -$COR^a$ e $R_{16}$; cada $R_{16}$ é independentemente formil, $C_{1-9}$ alquil, $C_{2-9}$ alquenil ou $C_{2-9}$ alquinil; e, $R^a$ é selecionado do grupo que consiste em hidrogênio, hidroxil e $OR_{16}$; ou uma forma cristalina, hidrato ou sal cosmeticamente ou farmaceuticamente aceitável deste.

[587] Em um aspecto dessa modalidade, o composto possui a seguinte estrutura:




(I)

ou uma forma cristalina, hidrato ou sal cosmeticamente ou farmaceuticamente aceitável deste.

[588] Em outro aspecto dessa modalidade, X é NH.

[589] Em um aspecto adicional dessa modalidade, Y é $CR_5R_6$; $R_5$ é hidrogênio e $R_6$ é hidrogênio, $C_{1-4}$ alquil, $C_{3-6}$ cicloalquil ou O-($C_{1-4}$ alquil); ou $R_5$ e $R_6$ combinam para formar um grupo oxo (=O).

[590] De preferência, $CR_5R_6$ é $CH_2$, $CHCH_3$, $CHOCH_3$, C=O ou $CH(C_3H_5)$.

[591] Em um aspecto adicional dessa modalidade, pelo menos um de $R_1$, $R_2$, $R_3$, $R_4$, $R_7$, $R_8$, $R_9$, $R_{10}$ e $R_{11}$ é $C_{1-4}$ alquil.

[592] De preferência, $R_2$ é $C_{1-4}$ alquil.

[593] Mais preferivelmente, $R_2$ é metil.

[594] Em outro aspecto dessa modalidade, cada um de $R_1$, $R_2$, $R_3$, $R_4$, $R_7$, $R_8$, $R_9$, $R_{10}$ e $R_{11}$ é hidrogênio.

[595] Em um aspecto adicional dessa modalidade, $R_{12}$ é -

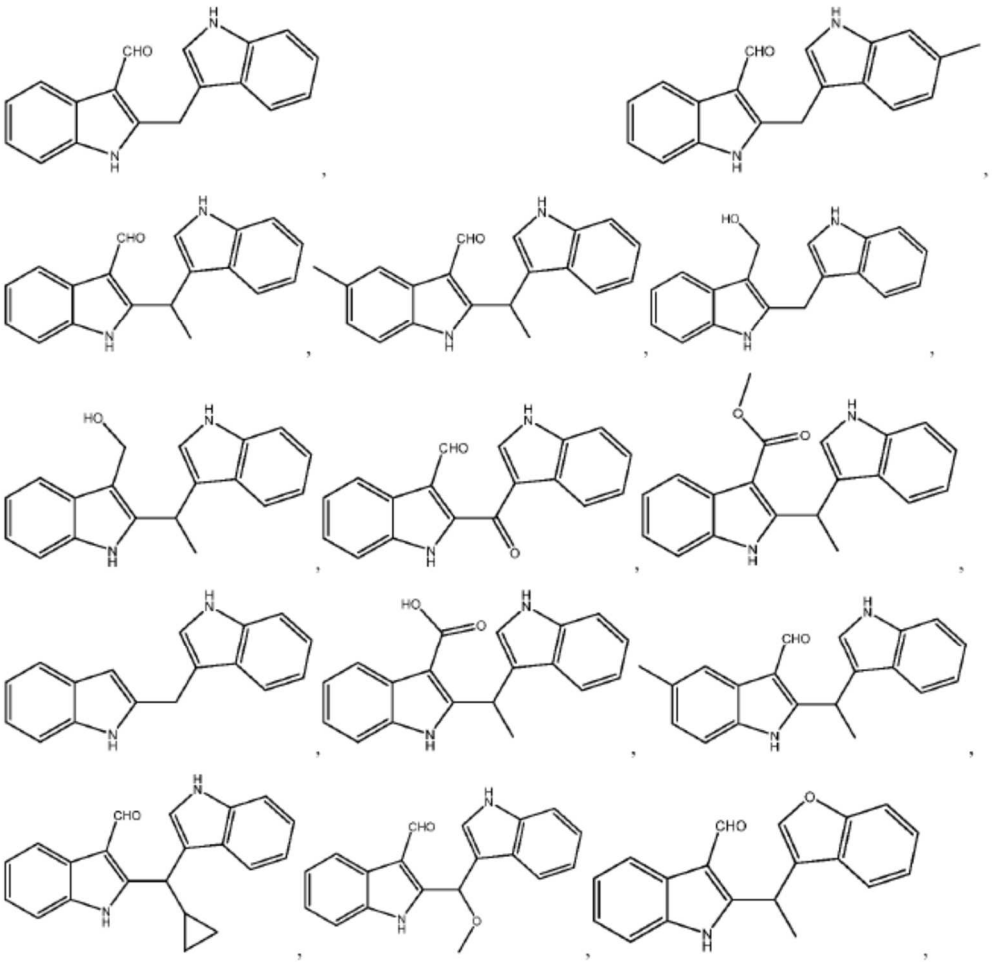
$COR^a$ ou $C_{1-4}$ hidroxialquil; e $R^a$ é hidrogênio ou $C_{1-4}$ alquil.

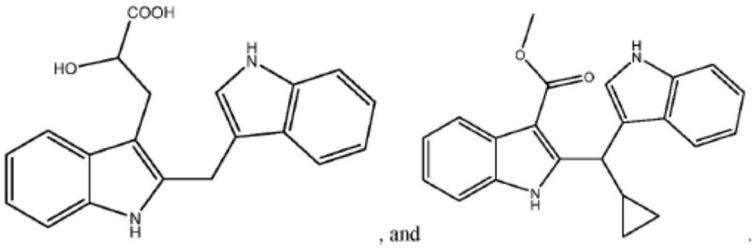
[596] De preferência, $R_{12}$ é CHO, $CH_2OH$ ou C(=O)-O-($C_{1-4}$ alquil).

[597] Mais preferivelmente, $R_{12}$ é CHO, $CH_2OH$ ou $CO_2CH_3$.

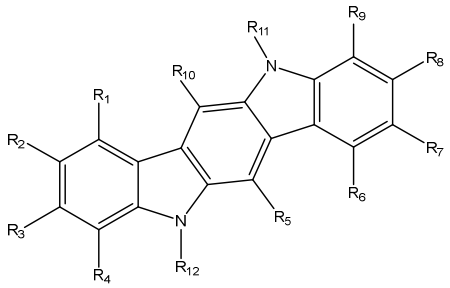
[598] Em um aspecto adicional dessa modalidade, X é NH; Y é $CR_5R_6$; cada um de $R_1$, $R_3$, $R_4$, $R_7$, $R_8$, $R_9$, $R_{10}$, $R_{11}$ e $R_{13}$ é hidrogênio; $R_2$ é hidrogênio ou $C_{1-4}$ alquil; $R_5$ é hidrogênio e $R_6$ é hidrogênio, $C_{1-4}$ alquil, $C_{3-6}$ cicloalquil ou O-($C_{1-4}$ alquil); ou $R_5$ e $R_6$ combinam para formar um grupo oxo (=O); $R_{12}$ é -$COR^a$ ou $C_{1-4}$ hidroxialquil; e $R^a$ é hidrogênio ou $C_{1-4}$ alquil.

[599] Em outro aspecto dessa modalidade, o composto é selecionado do grupo que consiste em:



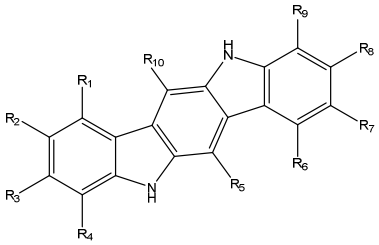



[600] Uma modalidade adicional da presente invenção é um método para a modulação da concentração de melanina em um indivíduo. O método compreende o contato do indivíduo com um composto, o composto possuindo a seguinte fórmula:




em que: $R_1$, $R_4$, $R_5$, $R_6$, $R_9$ e $R_{10}$ são selecionados independentemente do grupo que consiste em hidrogênio, hidroxil, halogênio, CN, $R_{13}$, $OR_{13}$, $OCOR_{13}$ e -CHO; $R_2$ e $R_3$ são selecionados independentemente do grupo que consiste em hidrogênio, hidroxil, halogênio, CN, $R_{13}$, $OR_{13}$, $OCOR_{13}$ e -CHO, ou $R_2$ e $R_3$ combinam para formar um heterociclil de 5 ou 6 membros; $R_7$ e $R_8$ são selecionados independentemente do grupo que consiste em hidrogênio, hidroxil, halogênio, CN, $R_{13}$, $OR_{13}$, $OCOR_{13}$ e -CHO, ou $R_7$ e $R_8$ combinam para formar um heterociclil de 5 ou 6 membros; $R_{11}$ e $R_{12}$ são independentemente hidrogênio ou $R_{13}$; e, cada $R_{13}$ é independentemente $C_{1-9}$ alquil, $C_{2-9}$ alquenil ou $C_{2-9}$ alquinil; ou uma forma cristalina, hidrato ou sal cosmeticamente ou farmaceuticamente aceitável deste.

[601] Em um aspecto dessa modalidade, o composto possui uma estrutura de acordo com a fórmula (II),



(II)

ou uma forma cristalina, hidrato ou sal cosmeticamente ou farmaceuticamente aceitável deste.

[602] Em outro aspecto dessa modalidade, $R_1$, $R_2$, $R_3$, $R_4$, $R_5$, $R_6$, $R_7$, $R_8$, $R_9$ e $R_{10}$ são selecionados independentemente do grupo que consiste em hidrogênio e $C_{1-4}$ alquil.

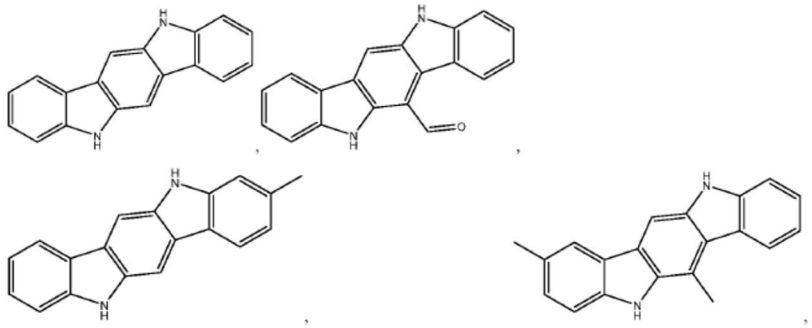
[603] De preferência, um ou dois de $R_1$, $R_2$, $R_3$, $R_4$, $R_5$, $R_6$, $R_7$, $R_8$, $R_9$ e $R_{10}$ são $C_{1-4}$ alquil, e os grupos restantes são hidrogênio.

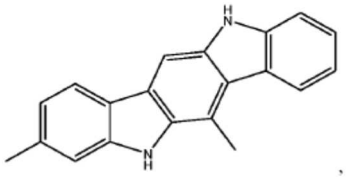
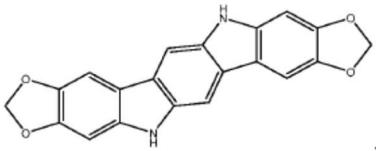
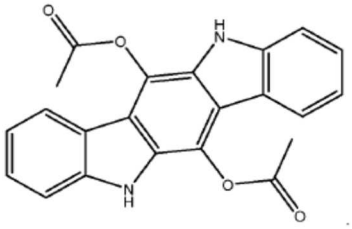
[604] Em um aspecto adicional dessa modalidade, um de $R_5$ e $R_{10}$ é $C_{1-4}$ alquil, e o outro é hidrogênio.

[605] Em um aspecto adicional dessa modalidade, um de $R_1$, $R_2$, $R_3$, $R_4$, $R_6$, $R_7$, $R_8$ e $R_9$ é $C_{1-4}$ alquil, e os grupos restantes são hidrogênio.

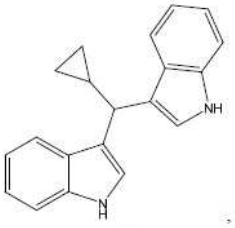
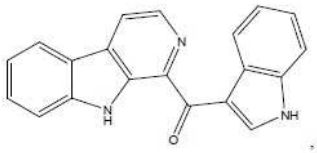
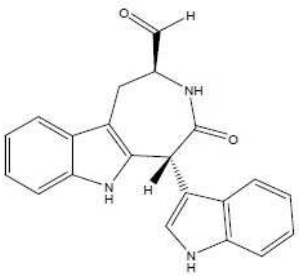
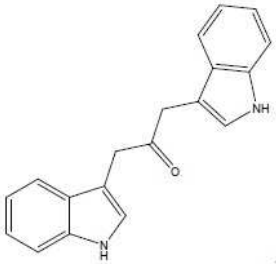
[606] Em outro aspecto dessa modalidade, $R_{11}$ e $R_{12}$ são, cada um, hidrogênio; e um, dois, três ou quatro de $R_1$, $R_2$, $R_3$, $R_4$, $R_5$, $R_6$, $R_7$, $R_8$, $R_9$ e $R_{10}$ são metil, e os grupos restantes são hidrogênio.

[607] Em um aspecto adicional dessa modalidade, o composto é selecionado do grupo que consiste em:

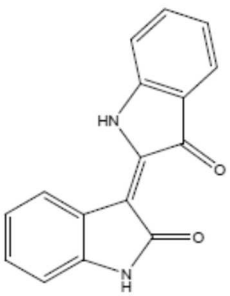



,

, and

.

[608] Outra modalidade da presente invenção é um método para a modulação da concentração de melanina em um indivíduo. O método compreende o contato do indivíduo com um composto, o composto selecionado do grupo que consiste em:


,

,

e

.

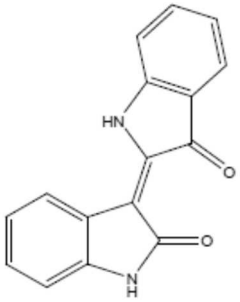
[609] Uma modalidade da presente invenção é um composto para clareamento da pele. O composto possui a estrutura da seguinte fórmula:



ou um análogo químico, forma cristalina, hidrato, ou

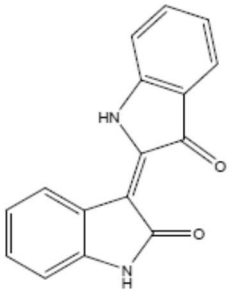
sal farmaceuticamente ou cosmeticamente aceitável deste.

[610] Outra modalidade da presente invenção é um composto para indução de apoptose de melanócitos. O composto possui a estrutura da seguinte fórmula:



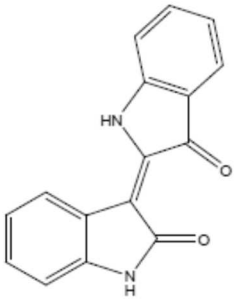

ou um análogo químico, forma cristalina, hidrato, ou sal farmaceuticamente ou cosmeticamente aceitável deste.

[611] Uma modalidade adicional da presente invenção é um composto para a modulação da atividade do receptor de aril-hidrocarboneto (AhR). O composto possui a estrutura da seguinte fórmula:



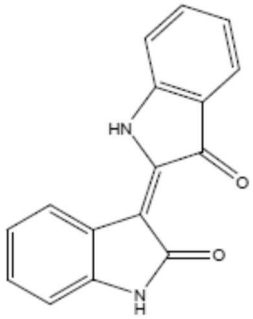

ou um análogo químico, forma cristalina, hidrato, ou sal farmaceuticamente ou cosmeticamente aceitável deste.

[612] Uma modalidade adicional da presente invenção é um composto para a modulação da melanogênese. O composto possui a estrutura da seguinte fórmula:



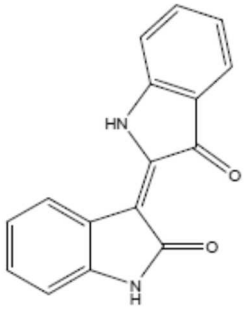
ou um análogo químico, forma cristalina, hidrato, ou sal farmaceuticamente ou cosmeticamente aceitável deste.

[613] Outra modalidade da presente invenção é um composto para a modulação da concentração de melanina. O composto possui a estrutura da seguinte fórmula:



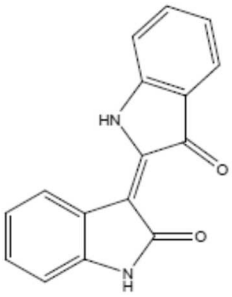

ou um análogo químico, forma cristalina, hidrato, ou sal farmaceuticamente ou cosmeticamente aceitável deste.

[614] Uma modalidade adicional da presente invenção é uma composição que compreende um composto. O composto possui a estrutura da seguinte fórmula:



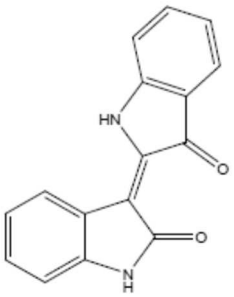

ou um análogo químico, forma cristalina, hidrato, ou sal farmaceuticamente ou cosmeticamente aceitável deste.

[615] Uma modalidade adicional da presente invenção é um método para clareamento da pele em um indivíduo. O método compreende o contato do indivíduo com um composto, o composto possuindo a estrutura da seguinte fórmula:



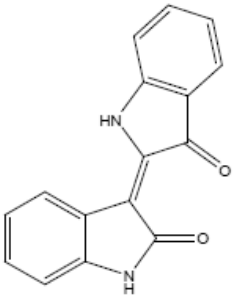
ou um análogo químico, forma cristalina, hidrato, ou sal farmaceuticamente ou cosmeticamente aceitável deste.

[616] Outra modalidade da presente invenção é um método para indução de apoptose de melanócitos em um indivíduo. O método compreende o contato do indivíduo com um composto, o composto possuindo a estrutura da seguinte fórmula:



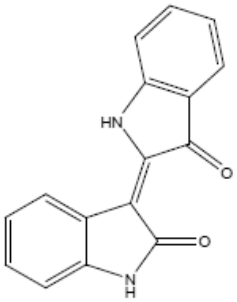
ou um análogo químico, forma cristalina, hidrato, ou sal farmaceuticamente ou cosmeticamente aceitável deste.

[617] Uma modalidade adicional da presente invenção é um método para a modulação da atividade do receptor de aril-hidrocarboneto (AhR) em um indivíduo. O método compreende o contato do indivíduo com um composto, o composto possuindo a estrutura da seguinte fórmula:



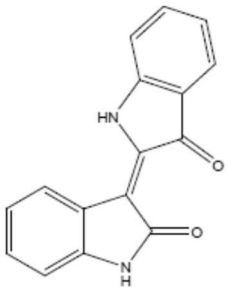
ou um análogo químico, forma cristalina, hidrato, ou sal farmaceuticamente ou cosmeticamente aceitável deste.

[618] Uma modalidade adicional da presente invenção é um método para a modulação da melanogênese em um indivíduo. O método compreende o contato do indivíduo com um composto, o composto possuindo a estrutura da seguinte fórmula:




ou um análogo químico, forma cristalina, hidrato, ou sal farmaceuticamente ou cosmeticamente aceitável deste.

[619] Outra modalidade da presente invenção é um método para a modulação da concentração de melanina em um indivíduo. O método compreende o contato do indivíduo com um composto, o composto possuindo a estrutura da seguinte fórmula:

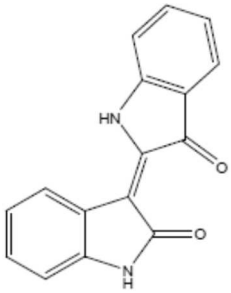



ou um análogo químico, forma cristalina, hidrato, ou sal farmaceuticamente ou cosmeticamente aceitável deste.

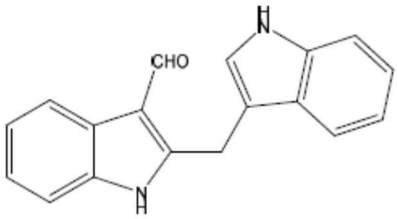
[620] Uma modalidade adicional da presente invenção é uma composição. A composição compreende um ou mais dos compostos listados na Tabela 5 ou Fig. 130, ou um análogo químico, forma cristalina, hidrato, ou sal farmaceuticamente ou cosmeticamente aceitável destes.

[621] Em um aspecto dessa modalidade, a composição compreende um primeiro composto que possui a estrutura da

seguinte fórmula:



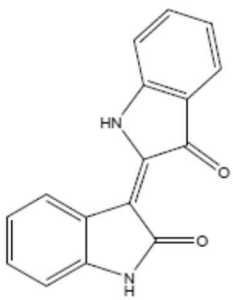
ou um análogo químico, forma cristalina, hidrato, ou sal farmaceuticamente ou cosmeticamente aceitável deste; e, um segundo composto que possui a estrutura da seguinte fórmula:



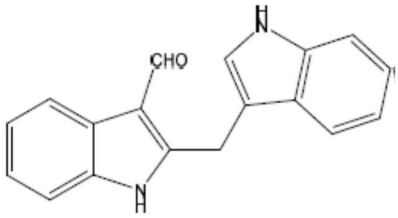
ou um análogo químico, forma cristalina, hidrato, ou sal farmaceuticamente ou cosmeticamente aceitável deste.

[622] Uma modalidade adicional da presente invenção é um método para clareamento da pele em um indivíduo. O método compreende o contato do indivíduo com um ou mais dos compostos listados na Tabela 5 ou Fig. 130, ou um análogo químico, forma cristalina, hidrato, ou sal farmaceuticamente ou cosmeticamente aceitável destes.

[623] Em um aspecto dessa modalidade, o indivíduo é colocado em contato com um primeiro composto que possui a estrutura da seguinte fórmula:



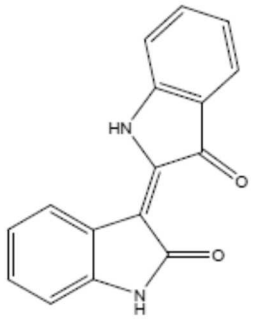
ou um análogo químico, forma cristalina, hidrato, ou sal farmaceuticamente ou cosmeticamente aceitável deste; e, um segundo composto que possui a estrutura da seguinte fórmula:



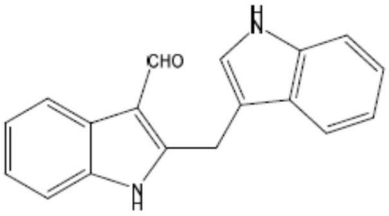

ou um análogo químico, forma cristalina, hidrato, ou sal farmaceuticamente ou cosmeticamente aceitável deste.

[624] Outra modalidade da presente invenção é um método para indução de apoptose de melanócitos em um indivíduo. O método compreende o contato do indivíduo com um ou mais dos compostos listados na Tabela 5 ou Fig. 130, ou um análogo químico, forma cristalina, hidrato, ou sal farmaceuticamente ou cosmeticamente aceitável destes.

[625] Em um aspecto dessa modalidade, o indivíduo é colocado em contato com um primeiro composto que possui a estrutura da seguinte fórmula:



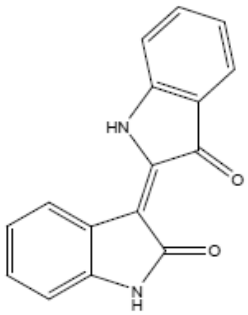

ou um análogo químico, forma cristalina, hidrato, ou sal farmaceuticamente ou cosmeticamente aceitável deste; e, um segundo composto que possui a estrutura da seguinte fórmula:



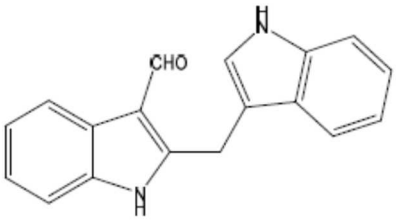

ou um análogo químico, forma cristalina, hidrato, ou sal farmaceuticamente ou cosmeticamente aceitável deste.

[626] Uma modalidade adicional da presente invenção é um método para a modulação da atividade do receptor de aril-hidrocarboneto (AhR) em um indivíduo. O método compreende o contato do indivíduo com um ou mais dos compostos listados na Tabela 5 ou Fig. 130, ou um análogo químico, forma cristalina, hidrato, ou sal farmaceuticamente ou cosmeticamente aceitável destes.

[627] Em um aspecto dessa modalidade, o indivíduo é colocado em contato com um primeiro composto que possui a estrutura da seguinte fórmula:



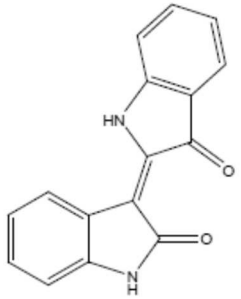

ou um análogo químico, forma cristalina, hidrato, ou sal farmaceuticamente ou cosmeticamente aceitável deste; e, um segundo composto que possui a estrutura da seguinte fórmula:



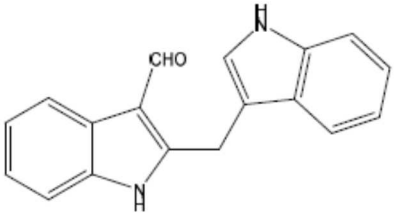
ou um análogo químico, forma cristalina, hidrato, ou sal farmaceuticamente ou cosmeticamente aceitável deste.

[628] Uma modalidade adicional da presente invenção é um método para a modulação da melanogênese em um indivíduo. O método compreende o contato do indivíduo com um ou mais dos compostos listados na Tabela 5 ou Fig. 130, ou um análogo químico, forma cristalina, hidrato, ou sal farmaceuticamente ou cosmeticamente aceitável destes.

[629] Em um aspecto dessa modalidade, o indivíduo é colocado em contato com um primeiro composto que possui a estrutura da seguinte fórmula:




ou um análogo químico, forma cristalina, hidrato, ou sal farmaceuticamente ou cosmeticamente aceitável deste; e, um segundo composto que possui a estrutura da seguinte fórmula:

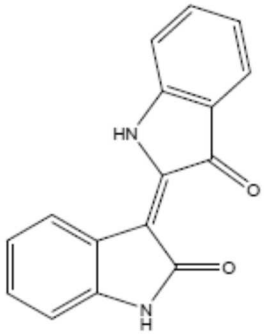



ou um análogo químico, forma cristalina, hidrato, ou sal farmaceuticamente ou cosmeticamente aceitável deste.

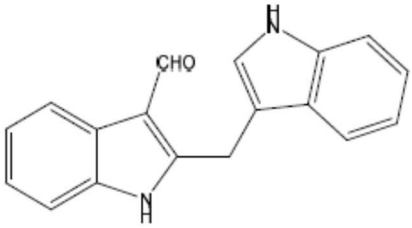
[630] Outra modalidade da presente invenção é um método para a modulação da concentração de melanina em um indivíduo. O método compreende o contato do indivíduo com um ou mais

dos compostos listados na Tabela 5 ou Fig. 130, ou um análogo químico, forma cristalina, hidrato, ou sal farmaceuticamente ou cosmeticamente aceitável destes.

[631] Em um aspecto dessa modalidade, o indivíduo é colocado em contato com um primeiro composto que possui a estrutura da seguinte fórmula:




ou um análogo químico, forma cristalina, hidrato, ou sal farmaceuticamente ou cosmeticamente aceitável deste; e, um segundo composto que possui a estrutura da seguinte fórmula:




ou um análogo químico, forma cristalina, hidrato, ou sal farmaceuticamente ou cosmeticamente aceitável deste.

[632] Uma modalidade adicional da presente invenção é uma composição. A composição compreende um ou mais dos compostos listados na Tabela 5 ou Fig. 130, ou um análogo químico, forma cristalina, hidrato, ou sal farmaceuticamente ou cosmeticamente aceitável destes.

[633] Uma modalidade adicional da presente invenção é uma composição para clareamento da pele. A composição compreende um ou mais dos compostos listados na Tabela 5 ou

Fig. 130, ou um análogo químico, forma cristalina, hidrato, ou sal farmaceuticamente ou cosmeticamente aceitável destes.

[634] Outra modalidade da presente invenção é uma composição para indução de apoptose de melanócitos. A composição compreende um ou mais dos compostos listados na Tabela 5 ou Fig. 130, ou um análogo químico, forma cristalina, hidrato, ou sal farmaceuticamente ou cosmeticamente aceitável destes.

[635] Uma modalidade adicional da presente invenção é uma composição para a modulação da atividade do receptor de aril-hidrocarboneto (AhR). A composição compreende um ou mais dos compostos listados na Tabela 5 ou Fig. 130, ou um análogo químico, forma cristalina, hidrato, ou sal farmaceuticamente ou cosmeticamente aceitável destes.

[636] Uma modalidade adicional da presente invenção é uma composição para a modulação da melanogênese. A composição compreende um ou mais dos compostos listados na Tabela 5 ou Fig. 130, ou um análogo químico, forma cristalina, hidrato, ou sal farmaceuticamente ou cosmeticamente aceitável destes.

[637] Outra modalidade da presente invenção é uma composição para a modulação da concentração de melanina. A composição compreende um ou mais dos compostos listados na Tabela 5 ou Fig. 130, ou um análogo químico, forma cristalina, hidrato, ou sal farmaceuticamente ou cosmeticamente aceitável destes.

[638] Uma modalidade adicional da presente invenção é um método para clareamento da pele em um indivíduo. O método compreende o contato do indivíduo com uma composição, a composição compreendendo um ou mais dos compostos listados na Tabela 5 ou Fig. 130, ou um análogo químico, forma

cristalina, hidrato, ou sal farmaceuticamente ou cosmeticamente aceitável destes.

[639] Uma modalidade adicional da presente invenção é um método para indução de apoptose de melanócitos em um indivíduo. O método compreende o contato do indivíduo com uma composição, a composição compreendendo um ou mais dos compostos listados na Tabela 5 ou Fig. 130, ou um análogo químico, forma cristalina, hidrato, ou sal farmaceuticamente ou cosmeticamente aceitável destes.

[640] Outra modalidade da presente invenção é um método para a modulação da atividade do receptor de aril-hidrocarboneto (AhR) em um indivíduo. O método compreende o contato do indivíduo com uma composição, a composição compreendendo um ou mais dos compostos listados na Tabela 5 ou Fig. 130, ou um análogo químico, forma cristalina, hidrato, ou sal farmaceuticamente ou cosmeticamente aceitável destes.

[641] Uma modalidade adicional da presente invenção é um método para a modulação da melanogênese em um indivíduo. O método compreende o contato do indivíduo com uma composição, a composição compreendendo um ou mais dos compostos listados na Tabela 5 ou Fig. 130, ou um análogo químico, forma cristalina, hidrato, ou sal farmaceuticamente ou cosmeticamente aceitável destes.

[642] Uma modalidade adicional da presente invenção é um método para a modulação da concentração de melanina em um indivíduo. O método compreende o contato do indivíduo com uma composição, a composição compreendendo um ou mais dos compostos listados na Tabela 5 ou Fig. 130, ou um análogo químico, forma cristalina, hidrato, ou sal farmaceuticamente

ou cosmeticamente aceitável destes.

[643] Em modalidades preferidas, as composições da presente invenção compreendem os compostos listados na Tabela 7.

[644] Em outras modalidades preferidas, as composições da presente invenção compreendem os compostos listados na Tabela 8.

[645] Em modalidades adicionais preferidas, as composições da presente invenção compreendem os compostos listados na Tabela 9.

[646] Em modalidades adicionais preferidas, as composições da presente invenção compreendem os compostos listados na Tabela 10.

[647] Em outras modalidades preferidas, as composições da presente invenção compreendem os compostos listados na Tabela 11.

[648] Em modalidades adicionais preferidas, os métodos da presente invenção compreendem o contato de um indivíduo com uma composição que compreende os compostos listados na Tabela 7.

[649] Em modalidades adicionais preferidas, os métodos da presente invenção compreendem o contato de um indivíduo com uma composição que compreende os compostos listados na Tabela 8.

[650] Em outras modalidades preferidas, os métodos da presente invenção compreendem o contato de um indivíduo com uma composição que compreende os compostos listados na Tabela 9.

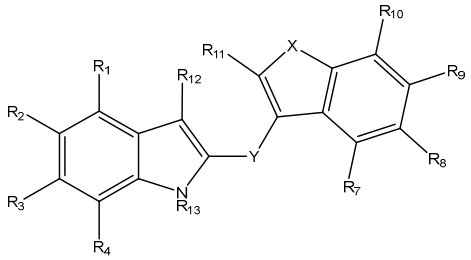
[651] Em modalidades adicionais preferidas, os métodos da presente invenção compreendem o contato de um indivíduo

com uma composição que compreende os compostos listados na Tabela 10.

[652] Em modalidades adicionais preferidas, os métodos da presente invenção compreendem o contato de um indivíduo com uma composição que compreende os compostos listados na Tabela 11.

[653] Outra modalidade da presente invenção é uma composição. A composição compreende uma levedura *Malassezia*, e um veículo, diluente ou carreador cosmeticamente ou farmaceuticamente aceitável.

[654] Uma modalidade adicional da presente invenção é uma composição. A composição compreende um composto que possui a estrutura da seguinte fórmula:




em que:

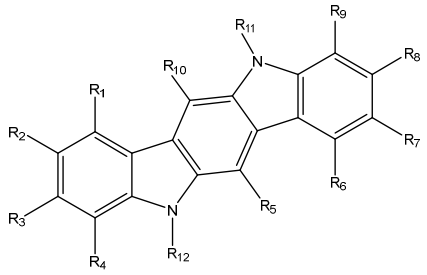
X é selecionado do grupo que consiste em $NR_{14}$ e O; Y é uma ligação covalente, $CR_5R_6$, O ou $NR_{15}$; $R_1$, $R_2$, $R_3$, $R_4$, $R_7$, $R_8$, $R_9$, $R_{10}$ e $R_{11}$ são selecionados independentemente do grupo que consiste em hidrogênio, halogênio, CN, hidroxil, $R_{16}$ ou $OR_{16}$; $R_{13}$, $R_{14}$ e $R_{15}$ são independentemente hidrogênio ou $R_{16}$; $R_5$ e $R_6$ são selecionados independentemente do grupo que consiste em hidrogênio, hidroxil, $OR_{16}$, $R_{16}$ e $C_{3-6}$ cicloalquil, ou $R_5$ e $R_6$ combinam para formar um grupo oxo (=O) ou um $C_{3-6}$ cicloalquil; $R_{12}$ é selecionado do grupo que consiste em hidrogênio, -$COR^a$ e $R_{16}$; cada $R_{16}$ é independentemente formil, $C_{1-9}$ alquil, $C_{2-9}$ alquenil ou $C_{2-9}$ alquinil; e, $R^a$ é selecionado

do grupo que consiste em hidrogênio, hidroxil e $OR_{16}$;

ou uma forma cristalina, hidrato ou sal cosmeticamente ou farmaceuticamente aceitável deste,

e um veículo, diluente ou carreador cosmeticamente ou farmaceuticamente aceitável.

[655] Uma modalidade adicional da presente invenção é uma composição. A composição compreende um composto que possui a estrutura da seguinte fórmula:




em que:

$R_1$, $R_4$, $R_5$, $R_6$, $R_9$ e $R_{10}$ são selecionados independentemente do grupo que consiste em hidrogênio, hidroxil, halogênio, CN, $R_{13}$, $OR_{13}$, $OCOR_{13}$ e -CHO; $R_2$ e $R_3$ são selecionados independentemente do grupo que consiste em hidrogênio, hidroxil, halogênio, CN, $R_{13}$, $OR_{13}$, $OCOR_{13}$ e -CHO, ou $R_2$ e $R_3$ combinam para formar um heterociclil de 5 ou 6 membros; $R_7$ e $R_8$ são selecionados independentemente do grupo que consiste em hidrogênio, hidroxil, halogênio, CN, $R_{13}$, $OR_{13}$, $OCOR_{13}$ e -CHO, ou $R_7$ e $R_8$ combinam para formar um heterociclil de 5 ou 6 membros; $R_{11}$ e $R_{12}$ são independentemente hidrogênio ou $R_{13}$; e, cada $R_{13}$ é independentemente $C_{1-9}$ alquil, $C_{2-9}$ alquenil ou $C_{2-9}$ alquinil;

ou uma forma cristalina, hidrato ou sal cosmeticamente ou farmaceuticamente aceitável deste,

e um veículo, diluente ou carreador cosmeticamente ou farmaceuticamente aceitável.

[656] Outra modalidade da presente invenção é uma composição. A composição compreende um composto listado na Tabela 5 ou Fig. 130, ou um análogo químico, forma cristalina, hidrato ou sal cosmeticamente ou farmaceuticamente aceitável deste,

[657] e um veículo, diluente ou carreador cosmeticamente ou farmaceuticamente aceitável.

[658] Em modalidades preferidas, qualquer uma das composições da presente invenção evita eritema induzido por UV em um indivíduo.

[659] Em modalidades preferidas, qualquer uma das composições da presente invenção reduz melanina epidérmica em um indivíduo.

[660] Em modalidades preferidas, qualquer uma das composições da presente invenção produz um efeito fotoprotetor ou um efeito protetor contra UV em um indivíduo.

[661] Em modalidades preferidas, qualquer uma das composições da presente invenção filtra, absorve ou reflete UV.

[662] Em modalidades preferidas, qualquer uma das composições da presente invenção evita hiperpigmentação e/ou promove hipopigmentação.

[663] Em modalidades preferidas, qualquer uma das composições da presente invenção é um agente de proteção solar, um agente fotoprotetor, e/ou um agente protetor contra UV.

[664] Uma modalidade adicional da presente invenção é um método de tratamento ou prevenção de dano à pele induzido por UV em um indivíduo. O método compreende o contato do indivíduo com qualquer uma das composições reveladas nesse

relatório descritivo.

[665] Uma modalidade adicional da presente invenção é um método de tratamento ou prevenção de eritema induzido por UV em um indivíduo. O método compreende o contato do indivíduo com qualquer uma das composições reveladas nesse relatório descritivo.

[666] Outra modalidade da presente invenção é um método de tratamento ou prevenção de envelhecimento da pele induzido por UV em um indivíduo. O método compreende o contato do indivíduo com qualquer uma das composições reveladas nesse relatório descritivo.

[667] Uma modalidade adicional da presente invenção é um método de tratamento ou prevenção de queimadura solar em um indivíduo. O método compreende o contato do indivíduo com qualquer uma das composições reveladas nesse relatório descritivo.

[668] Uma modalidade adicional da presente invenção é um método de tratamento ou prevenção de hiperpigmentação induzida por UV em um indivíduo. O método compreende o contato do indivíduo com qualquer uma das composições reveladas nesse relatório descritivo.

[669] Outra modalidade da presente invenção é um método para clareamento da pele em um indivíduo. O método compreende o contato do indivíduo com qualquer uma das composições reveladas nesse relatório descritivo.

[670] Uma modalidade adicional da presente invenção é um método para indução de apoptose de melanócitos em um indivíduo. O método compreende o contato do indivíduo com qualquer uma das composições reveladas nesse relatório descritivo.

[671] Uma modalidade adicional da presente invenção é um método para a modulação da atividade do receptor de aril-hidrocarboneto (AhR) em um indivíduo. O método compreende o contato do indivíduo com qualquer uma das composições reveladas nesse relatório descritivo.

[672] Outra modalidade da presente invenção é um método para a modulação da melanogênese em um indivíduo. O método compreende o contato do indivíduo com qualquer uma das composições reveladas nesse relatório descritivo.

[673] Uma modalidade adicional da presente invenção é um método para a modulação da concentração de melanina em um indivíduo. O método compreende o contato do indivíduo com qualquer uma das composições reveladas nesse relatório descritivo.

**Definições**

[674] Como usado nesse relatório descritivo, o termo “composto” se refere a dois ou mais átomos que estão conectados por uma ou mais ligações químicas. Na presente invenção, ligações químicas incluem, sem limitação, ligações covalentes, ligações iônicas, ligações hidrogênio e interações de van der Waals. As ligações covalentes da presente invenção incluem ligações simples, duplas e triplas. Os compostos da presente invenção incluem, sem limitação, moléculas orgânicas.

[675] Compostos/moléculas orgânicas da presente invenção incluem hidrocarbonetos lineares, ramificados e cíclicos com ou sem grupos funcionais. O termo “$C_{x-y}$”, quando usado em conjunto com a porção química, por exemplo, alquil, alquenil, alquinil ou alcóxi, visa incluir grupos que contêm de x a y carbonos na cadeia. Por exemplo, o termo “$C_{x-y}$ alquil”

significa grupos hidrocarboneto saturados substituídos ou não substituídos, incluindo grupos alquil de cadeia linear e grupos alquil de cadeia ramificada que contêm de x a y carbonos na cadeia, incluindo grupos haloalquil como, por exemplo, trifluormetil e 2,2,2-trifluoretil e semelhantes. Os termos "$C_{x-y}$ alquenil" e "$C_{x-y}$ alquinil" se referem aos grupos alifáticos insaturados substituídos ou não substituídos análogos em comprimento e possível substituição dos alquis descritos acima, mas que contêm pelo menos uma ligação dupla ou tripla, respectivamente.

[676] O termo "alifático", como usado nesse relatório descritivo, significa um grupo formado por átomos de carbono e de hidrogênio que não contém anéis aromáticos. Conseqüentemente, grupos alifáticos incluem grupos alquil, alquenil, alquinil e carbociclil.

[677] Como usado nesse relatório descritivo, o termo "alquil" significa grupos hidrocarboneto acíclicos lineares e ramificados, por exemplo, "$C_1$-$C_{20}$ alquil" se refere aos grupos alquil que possuem 1-20 carbonos. Um grupo alquil pode ser linear ou ramificado. Exemplos de grupos alquil incluem, sem limitação, metil, etil, n-propil, isopropil, butil, isobutil, sec-butil, terc-butil, pentil, isopentil terc-pentil-hexil, isohexil e semelhantes. Outros grupos alquil serão prontamente evidentes para aqueles habilitados na técnica considerando o benefício da presente revelação. Um grupo alquil pode ser não substituído ou substituído com um ou mais grupos substituintes como descritos nesse relatório descritivo. Por exemplo, um grupo alquil pode ser substituído com um ou mais (por exemplo, 1, 2, 3, 4, 5 ou 6 substituintes selecionados independentemente) de halogênio,

-$CO_2R'$, -COOH, -CN, -OH, -OR', -$NH_2$, -NHR', -$N(R')_2$, -SR' ou -$SO_2R'$, em que cada caso de R' é independentemente $C_1$-$C_3$ alquil. Em modalidades, o alquil é não substituído. Em modalidades, o alquil é substituído (por exemplo, com 1, 2, 3, 4, 5 ou 6 grupos substituintes como descritos nesse relatório descritivo). Por exemplo, o termo "hidroxialquil" se refere a um grupo alquil como descrito nesse relatório descritivo que compreende um substituinte hidroxil (-OH) e inclui grupos como, por exemplo, -$CH_2OH$.

[678] Como usado nesse relatório descritivo, "alquenil" significa quaisquer cadeias hidrocarboneto lineares ou ramificadas que possuem uma ou mais ligações duplas carbono-carbono insaturadas que podem ocorrer em qualquer ponto estável ao longo da cadeia, por exemplo, "$C_2$-$C_{20}$ alquenil" se refere a um grupo alquenil que possui 2-20 carbonos. Por exemplo, um grupo alquenil inclui prop-2-enil, but-2-enil, but-3-enil, 2-metilprop-2-enil, hex-2-enil, hex-5-enil, 2,3-dimetilbut-2-enil e semelhantes. Em modalidades, o alquenil compreende 1, 2 ou 3 ligações duplas carbono-carbono. Em modalidades, o alquenil compreende uma única ligação dupla carbono-carbono. Em modalidades, múltiplas ligações duplas (por exemplo, 2 ou 3) estão conjugadas. Um grupo alquenil pode ser não substituído ou substituído com um ou mais grupos substituintes como descritos nesse relatório descritivo. Por exemplo, um grupo alquenil pode ser substituído com um ou mais (por exemplo, 1, 2, 3, 4, 5 ou 6 substituintes selecionados independentemente) de halogênio,-$CO_2R'$, -CN, -OH, -OR', -$NH_2$, -NHR', -$N(R')_2$, -SR' ou -$SO_2R'$, em que cada caso de R' é independentemente $C_1$-$C_3$ alquil. Em modalidades, o alquenil é não substituído. Em modalidades, o alquenil é

substituído (por exemplo, com 1, 2, 3, 4, 5 ou 6 grupos substituintes como descritos nesse relatório descritivo).

[679] Como usado nesse relatório descritivo, “alquinil” significa qualquer cadeia hidrocarboneto de configuração linear ou ramificada, que possui uma ou mais ligações triplas carbono-carbono que ocorrem em qualquer ponto estável ao longo da cadeia; por exemplo, “$C_2$-$C_{20}$ alquinil” se refere a um grupo alquinil que possui 2-20 carbonos. Exemplos de um grupo alquinil incluem prop-2-inil, but-2-inil, but-3-inil, pent-2-inil, 3-metilpent-4-inil, hex-2-inil, hex-5-inil e semelhantes. Em modalidades, um alquinil compreende uma ligação tripla carbono-carbono. Um grupo alquinil pode ser não substituído ou substituído com um ou mais grupos substituintes como descritos nesse relatório descritivo. Por exemplo, um grupo alquinil pode ser substituído com um ou mais (por exemplo, 1, 2, 3, 4, 5 ou 6 substituintes selecionados independentemente) de halogênio,-$CO_2R'$, -CN, -OH, -OR’, -$NH_2$, -NHR’, -$N(R')_2$, -SR’ ou -$SO_2R'$, em que cada caso de R’ é independentemente $C_1$-$C_3$ alquil. Em modalidades, o alquinil é não substituído. Em modalidades, o alquinil é substituído (por exemplo, com 1, 2, 3, 4, 5 ou 6 grupos substituintes como descritos nesse relatório descritivo).

[680] Como usado nesse relatório descritivo, o termo “cicloalquil” significa um grupo não aromático, saturado, cíclico, por exemplo, “$C_3$-$C_{10}$ cicloalquil”. Em modalidades, um cicloalquil é monocíclico. Em modalidades, um cicloalquil é policíclico (por exemplo, bicíclico ou tricíclico). Em grupos cicloalquil policíclicos, os anéis individuais podem ser fundidos, em ponte ou espirocíclicos. Exemplos de um grupo cicloalquil incluem ciclopropil, ciclobutil,

ciclopentil, ciclohexil, norbornanil, biciclo[3.2.1]octanil, octahidro-pentalenil e espiro[4.5]decanil e semelhantes. O termo “cicloalquil” pode ser usado de forma intercambiável com o termo “carbociclo”. Um grupo cicloalquil pode ser não substituído ou substituído com um ou mais grupos substituintes como descritos nesse relatório descritivo. Por exemplo, um grupo cicloalquil pode ser substituído com um ou mais (por exemplo, 1, 2, 3, 4, 5 ou 6 substituintes selecionados independentemente) de halogênio, $-CO_2R'$, -CN, -OH, $-OR'$, $-NH_2$, $-NHR'$, $-N(R')_2$, $-SR'$ ou $-SO_2R'$, em que cada caso de R’ é independentemente $C_1$-$C_3$ alquil. Em modalidades, o cicloalquil é não substituído. Em modalidades, o cicloalquil é substituído (por exemplo, com 1, 2, 3, 4, 5 ou 6 grupos substituintes como descritos nesse relatório descritivo).

[681] Como usado nesse relatório descritivo, o termo “halogênio” significa flúor, cloro, bromo ou iodo.

[682] Como usado nesse relatório descritivo, um “composto aromático”, “aromático” ou um composto que contém um “anel aromático” é um aril ou um composto heteroaril. O termo “aril”, como usado nesse relatório descritivo, inclui grupos aromáticos de anel único substituídos ou não substituídos nos quais cada átomo do anel é carbono. De preferência o anel é um anel de 3 a 8 membros, mais preferivelmente um anel de 6 membros. O termo “aril” também inclui sistemas de anel policíclicos que possuem dois ou mais anéis cíclicos nos quais dois ou mais carbonos são comuns a dois anéis adjacentes, em que pelo menos um dos anéis é aromático, por exemplo, os outros anéis cíclicos podem ser cicloalquis, cicloalquenis, cicloalquinis, aris,

heteroaris e/ou heterociclis. Grupos aril incluem benzeno, naftaleno, fenantreno, fenol, anilina e semelhantes. O termo “heteroaril” inclui estruturas de anel aromático único substituído ou não substituído, preferivelmente anéis de 3 a 8 membros, mais preferivelmente anéis de 5 a 7 membros, ainda mais preferivelmente anéis de 5 a 6 membros, cujas estruturas de anel incluem pelo menos um heteroátomo, preferivelmente um a quatro heteroátomos, mais preferivelmente um ou dois heteroátomos. O termo “heteroaril” também inclui sistemas de anel policíclicos que possuem dois ou mais anéis cíclicos nos quais dois ou mais carbonos são comuns a dois anéis adjacentes, em que pelo menos um dos anéis é heteroaromático, por exemplo, os outros anéis cíclicos podem ser cicloalquis, cicloalquenis, cicloalquinis, aris, heteroaris, e/ou heterociclis. Grupos heteroaril incluem, por exemplo, pirrol, furano, tiofeno, indol, imidazol, oxazol, tiazol, pirazol, piridina, pirazina, piridazina e pirimidina e semelhantes. De preferência, certos compostos da presente invenção incluem pelo menos um, preferivelmente dois, grupos indol, bem como pelo menos um grupo aldeído.

[683] O termo “substituído” significa porções que possuem pelo menos um substituinte que substitui um átomo de hidrogênio em um ou mais carbonos do arcabouço. Será subentendido que o termo “substituição” ou “substituído com” inclui a condicionante implícita de que essa substituição está de acordo com a valência permitida do átomo substituído e do substituinte, e que a substituição resulta em um composto estável, por exemplo, que não passa espontaneamente por transformação como, por exemplo, por rearranjo,

ciclização, eliminação e semelhantes. Os substituintes permissíveis podem ser um ou mais e os mesmos ou diferentes para compostos orgânicos apropriados.

[684] Como usado nesse relatório descritivo, o termo “heterociclo” ou “heterocíclico” significa um sistema de anel monocíclico, bicíclico ou tricíclico que contém pelo menos um heteroátomo. Heteroátomos incluem, sem limitação, oxigênio, nitrogênio e enxofre.

[685] Um anel heterocíclico monocíclico consiste, por exemplo, em um anel de 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 ou 10 membros que contém pelo menos um heteroátomo. Exemplos representativos de anéis heterocíclicos monocíclicos incluem, sem limitação, azetidinil, azepanil, aziridinil, diazepanil, 1,3-dioxanil, 1,3-dioxolanil, 1,3-ditiolanil, 1,3-ditianil, imidazolinil, imidazolidinil, isotiazolinil, isotiazolidinil, isoxazolinil, isoxazolidinil, morfolinil, oxadiazolinil, oxadiazolidinil, oxazolinil, oxazolidinil, piperazinil, piperidinil, piranil, pirazolinil, pirazolidinil, pirrolinil, pirrolidinil, tetrahidrofuranil, tetrahidrotienil, tiadiazolinil, tiadiazolidinil, tiazolinil, tiazolidinil, tiomorfolinil, 1,1-dioxidotiomorfolinil (tiomorfolino sulfona), tiopiranil e tritianil.

[686] Um anel heterocíclico bicíclico é, por exemplo, sem limitação, um anel heterocíclico monocíclico fundido a um anel aril distal ou o anel heterocíclico monocíclico fundido a um anel cicloalquil distal ou o anel heterocíclico monocíclico fundido a um anel cicloalquenil distal ou o anel heterocíclico monocíclico fundido a um anel heterocíclico monocíclico distal, ou o anel heterocíclico monocíclico

fundido a um anel heteroaril monocíclico distal. Exemplos representativos de anéis heterocíclicos bicíclicos incluem, sem limitação, 1,3-benzodioxolil, 1,3-benzoditiolil, 2,3-diidro-1,4-benzodioxinil, 2,3-diidro-1-benzofuranil, 2,3-diidro-1-benzotienil, 2,3-diidro-1H-indolil e 1,2,3,4-tetrahidroquinolinil.

[687] Um anel heterocíclico tricíclico é, por exemplo, sem limitação, um anel heterocíclico bicíclico fundido a um grupo fenil ou o anel heterocíclico bicíclico fundido a um grupo cicloalquil ou o anel heterocíclico bicíclico fundido a um grupo cicloalquenil ou o anel heterocíclico bicíclico fundido a outro anel heterocíclico monocíclico. Exemplos representativos de anéis heterocíclicos tricíclicos incluem, sem limitação, 2,3,4,4a,9,9a-hexahidro-1H-carbazolil, 5a,6,7,8,9,9a-hexahidrodibenzo[b,d]furanil, e 5a,6,7,8,9,9a-hexahidrodibenzo[b,d]tienil.

[688] Os heterociclos da presente invenção podem ser substituídos com substituintes selecionados independentemente, por exemplo, sem limitação, de alquenil, alcóxi, alcoxialquil, alcoxialquinil, alcoxicarbonil, alcoxicarbonilalquil, alcóxi-NH=C(alquil)-, alquil, alquilcarbonil, alquilcarbonilalquil, alquilcarboniloxi, alquisulfonil, alquiltio, alquinil, aril, arilalcoxi, arilalquil, arilcarbonil, ariloxi, carbóxi, carboxialquil, ciano, cianoalquil, cicloalquil, carbonil, cicloalquilalquil, formil, halogênio, haloalquil, hidroxi, hidroxialquil, hidroxicicloalquil, mercapto, nitro, oxo e fenil.

[689] Como usado nesse relatório descritivo, o termo “modulação da pigmentação da pele” e variações gramaticais

deste, se referem geralmente ao clareamento da pele, bem como aos efeitos de escurecimento da pele dos compostos e composições da presente invenção.

[690] Como usado nesse relatório descritivo, o termo “clareamento da pele” e variações gramaticais deste, se refere geralmente a qualquer redução real ou percebida na pigmentação da pele. Métodos de clareamento da pele têm sido usados para reduzir a pigmentação de áreas de pele hiperpigmentadas que resultam da idade, exposição solar, ou de um distúrbio de hiperpigmentação. A aplicação dos compostos e composições da presente invenção, por exemplo, à pele de um indivíduo, pode reduzir a pigmentação de tal modo que a pele parece mais clara ou mais branca do que antes da referida aplicação. A pigmentação da pele pode ser avaliada de várias formas incluindo, sem limitação, avaliações visuais usando, por exemplo, a escala cromática de von Luschan, o teste de tipagem da pele da Fitzpatrick (Fitzpatrick *e cols.*, 1988) e a Escala de Hiperpigmentação de Taylor (Taylor *e cols.*, 2005) e métodos por espectrofotometria de refletância (Zonios, *e cols.*, 2001). Por exemplo, o teste de tipagem da pele da Fitzpatrick inclui seis tipos de pele (I-VI), e pele Tipo VI que se tornou Tipo V ou menos foi “clareada”, como o termo é usado nesse relatório descritivo. Como discutido adicionalmente abaixo, o clareamento da pele pode resultar de diversos fenômenos incluindo, sem limitação, modulação da atividade de melanócitos, indução de apoptose de melanócitos ou modulação da atividade do receptor de aril-hidrocarboneto (AhR), melanogênese, biogênese de melanossoma, transferência de melanossoma ou concentração de melanina.

[691] Da mesma forma, como usado nesse relatório descritivo, o termo “escurecimento da pele” e variações gramaticais deste, se refere geralmente a qualquer aumento real ou percebido na pigmentação da pele. Métodos de escurecimento da pele têm sido usados para aumentar a pigmentação de áreas hipopigmentadas da pele que resultam, por exemplo, de um distúrbio de hipopigmentação. A aplicação dos compostos e composições da presente invenção, por exemplo, à pele de um indivíduo, pode aumentar a pigmentação de modo que a pele parece mais escura do que antes da referida aplicação.

[692] Certos compostos da presente invenção são produzidos por, derivados de, isolados de ou passíveis de isolamento de uma levedura Malassezia. Leveduras Malassezia são leveduras do gênero Malassezia e incluem, sem limitação, 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, e Malassezia cuniculi. (Guého, e cols., 1996; Gaitanis, e cols., 2013). Leveduras Malassezia são parte da flora cutânea humana normal e tipicamente não produzem efeitos patogênicos. No entanto, a levedura Malassezia pode causar diversas doenças incluindo, sem limitação, pitiríase versicolor (tanto as variedades hiperpigmentadas quanto as hipopigmentadas), dermatite seborréica, caspa, dermatite atópica, foliculite por Malassezia, psoríase, e papilomatose confluente e reticulada (Gaitanis, e cols., 2013).

[693] Como usado nesse relatório descritivo, o termo

“análogo químico” se refere a um composto que é estruturalmente relacionado a um composto parente e contém grupos funcionais ou substituintes diferentes. Por exemplo, os compostos parentes da presente invenção incluem malassezina e indirrubina, e análogos químicos de malassezina e indirrubina contêm certos grupos funcionais e substituintes que são distintos de malassezina e indirrubina, respectivamente. Os análogos químicos da presente invenção podem ter vantagens significantes em relação a certo composto parente, incluindo um perfil farmacocinético adequado para uso cosmético ou farmacêutico. Em algumas modalidades, um análogo químico é gerado a partir de uma molécula parente por uma ou mais reações químicas. Em outras modalidades, esquemas de síntese alternativos que não se originam com um composto parente podem ser usados para gerar análogos químicos da presente invenção.

[694] Um composto da presente invenção é produzido por uma levedura Malassezia se, ao longo de seu ciclo de vida, uma levedura Malassezia sintetizasse, secretasse, acumulasse ou de algum outro modo gerasse o composto sob condições de crescimento apropriadas. Leveduras Malassezia secretam compostos diferentes dependendo daquilo com que seu meio de crescimento é suplementado (Nazzaro-Porro, e cols., 1978). A presente invenção inclui qualquer composto produzido por uma levedura Malassezia sob qualquer condição de crescimento, mas compostos preferidos incluem, por exemplo, malassezina, indirrubina, e análogos químicos destas.

[695] Um composto da presente invenção é derivado de uma levedura Malassezia se, em qualquer momento ao longo do ciclo de vida da levedura, o composto existisse na levedura.

[696] Malassezina é um exemplo de um composto produzido por uma levedura Malassezia da presente invenção. Malassezina, também conhecida como 2-(1H-indol-3-ilmetil)-1H-indol-3-carbaldeído, é um metabólito de triptofano originalmente isolada de Malassezia furfur. Malassezina é um agonista conhecido do receptor de aril-hidrocarboneto (AhR), um receptor implicado no crescimento, diferenciação e expressão gênica celulares (Wille e cols., 2001). Malassezina também induz apoptose em melanócitos humanos primários (Krämer, e cols., 2005). Recentemente, certos análogos químicos de malassezina foram sintetizados por Winston-McPherson e colaboradores, que examinaram a atividade agonista de AhR dos análogos (Winston-McPherson, e cols., 2014).

[697] Indirrubina é outro exemplo de um composto produzido por uma levedura Malassezia da presente invenção. Indirrubina é um metabólito isolado de Malassezia furfur. Indirrubina é um agonista conhecido do receptor de aril-hidrocarboneto (AhR), a receptor implicado no crescimento, diferenciação e expressão gênica celulares.

[698] Como usado nesse relatório descritivo, o termo “melanócito” se refere a uma célula dendrítica da epiderme que normalmente sintetiza tirosinase e, dentro de melanossomas, o pigmento melanina. Os melanócitos da presente invenção exibem supra-regulação de certos genes incluindo, sem limitação, um ou mais dos seguintes: tirosinase (albinismo óculo-cutâneo IA), fator de transcrição associado à microftalmia, alfa-2-macroglobulina, proteína relacionada à tirosinase 1, família de carreador de soluto 16, proteína GS3955, sarcoma felino v-kit de Hardy-

Zuckerman 4, albinismo ocular 1, proteína Rag D, glicogenina 2, receptor acoplado à Proteína-G, família C, albinismo óculo-cutâneo II, deletado no câncer esofágico 1, melana-A, SRY-box 10, ATPase, Classe V, tipo 10C, metaloproteinase de matriz 1, fator de transformação do crescimento latente beta b, cassete de ligação de ATP, subfamília C, hidróxi-prostaglandina desidrogenase 15, membro 1 da superfamília transmembrana 7, glutaminil-peptídeo ciclotransferase, e outros genes identificados por Lee e colaboradores. (Lee, e cols., 2013).

[699] Os melanócitos, como muitos outros tipos de células, passam por morte celular programada, ou apoptose. As vias de apoptose de melanócitos são conhecidas por aqueles habilitados na técnica (Wang, e cols., 2014), e as vias de apoptose geralmente foram revisadas por Elmore (Elmore, 2007). Um composto ou composição da presente invenção “induz” apoptose de melanócitos, por exemplo, por causar a ativação de certas vias de transdução de sinal pró-apoptóticas ou causar a repressão de certas vias antiapoptóticas em ium melanócito. É previsto que os compostos ou composições da presente invenção possam ativar/reprimir diretamente uma via relacionada à apoptose por interagir diretamente com uma molécula de sinalização da via ou por interagir indiretamente com uma molécula a via por meio de interação direta com uma ou mais moléculas intermediárias que tipicamente não funcionam dentro da via.

[700] A atividade de melanócitos pode ser modulada de várias formas contempladas na presente invenção incluindo, sem limitação, indução de apoptose de melanócitos ou alteração da expressão gênica melanócitos, motilidade da

célula, crescimento celular, produção de melanina, biogênese de melanossoma ou transferência de melanossoma.

[701] Como usados nesse relatório descritivo, os termos “modular”, “modulação”, e variações gramaticais destes, se referem a um ajuste de uma atividade ou fenômeno biológico até um nível desejado. É previsto que a “modulação” da presente invenção inclua ajustes que aumentam ou diminuem os níveis da atividade ou fenômeno biológico.

[702] Como usados nesse relatório descritivo, os termos “agonista”, “agonismo”, e variações gramaticais destes, se referem a uma molécula que desencadeia (por exemplo, inicia ou promove), aumenta, estimula ou ativa parcialmente ou totalmente uma ou mais atividades biológicas. Os agonistas da presente invenção podem interagir com e ativar um receptor iniciando, dessa forma, uma resposta fisiológica ou farmacológica característica daquele receptor. Os agonistas da presente invenção incluem substâncias de ocorrência natural, bem como substâncias sintéticas.

[703] Como usados nesse relatório descritivo, os termos “antagonista”, “antagonismo”, e variações gramaticais destes, se referem a uma molécula que suprime, inibe ou desativa parcialmente ou totalmente uma ou mais atividades biológicas. Os antagonistas da presente invenção podem se ligar competitivamente a um receptor no mesmo local que um agonista, mas não ativa a resposta intracelular iniciada pela forma ativa do receptor. Os antagonistas da presente invenção podem inibir respostas intracelulares de um agonista ou agonista parcial.

[704] Um receptor de aril-hidrocarboneto (AhR) da presente invenção é qualquer receptor de aril-hidrocarboneto

que existe naturalmente em um indivíduo, como descrito nesse relatório descritivo. Receptores de aril-hidrocarboneto são conhecidos por aqueles habilitados na técnica (Noakes, 2015). Agonistas de receptores de aril-hidrocarboneto incluem, sem limitação, compostos relacionados ao triptofano como, por exemplo, quinurenina, ácido quinurênico, ácido cinabarínico e 6-formilindolo [3,2-b]carbazol (FICZ). Malassezina também é conhecida como um agonista do receptor de aril-hidrocarboneto (Wille, *e cols.*, 2001).

[705] Como usado nesse relatório descritivo, os compostos, composições e métodos da presente invenção podem ser usados para melhorar a hiperpigmentação causada por um distúrbio de hiperpigmentação, por exemplo, por redução do nível de hiperpigmentação em áreas afetadas por um distúrbio de hiperpigmentação, tornar ainda mais lenta a hiperpigmentação, ou prevenção a ocorrência de hiperpigmentação adicional. No entanto, como cada indivíduo pode não responder a um protocolo, regime ou processo de dosagem particular, a melhora da hiperpigmentação causada por um distúrbio de hiperpigmentação não exige que a resposta fisiológica ou desfecho desejado seja obtido em cada um e em todos os indivíduos ou população de indivíduos. Conseqüentemente, certo indivíduo ou população de indivíduos pode não responder ou responder inadequadamente à dosagem, mas outros indivíduos ou populações de indivíduos podem responder e, portanto, apresentar melhora em seu distúrbio de hiperpigmentação.

[706] Como usado nesse relatório descritivo, o termo “hiperpigmentação” é um distúrbio da pele real ou percebido de cor escura excessiva. A alteração da pele pode ser real,

por exemplo, atribuída à idade, exposição solar excessiva, ou a uma doença ou condição que leva a áreas de pele escuras. As áreas de pele escuras podem estar na forma de manchas, marcas, ou áreas relativamente grandes de cor escura. A alteração de pele também pode ser percebida, por exemplo, uma percepção por um indivíduo de que seu tom de pele está muito escuro. O indivíduo pode ter um desejo cosmético par clarear o tom de pele.

[707] Distúrbios de hiperpigmentação são distúrbios nos quais a hiperpigmentação é o sintoma primário, bem como distúrbios nos quais a hiperpigmentação ocorre como um sintoma secundário. Os distúrbios de hiperpigmentação da presente invenção incluem, sem limitação, distúrbios de hiperpigmentação congênitos e distúrbios de hiperpigmentação adquiridos. Os distúrbios de hiperpigmentação congênitos da presente invenção incluem, sem limitação, aqueles que envolvem hiperpigmentação epidérmica (nevo de célula de nevo, nevo de Spitz e nevo Spilus), hiperpigmentação dérmica (nevo azul, nevo de Ohta, melanose dérmica, nevo de Ito e mancha mongol), efélides, acropigmentação reticulada, pigmento de Spitzen/acropigmentação e lentiginose (lentiginose generalizada, síndrome de LEOPARD, lentiginose padronizada herdada, complexo de Carney, síndrome de Peutz-Jeghers, síndrome de Laugier-Hunziker-Baran e síndrome de Cronkhite-Canadá) (Yamaguchi, *e cols.*, 2014). Os distúrbios de hiperpigmentação adquiridos da presente invenção incluem, sem limitação, sardas/lentigo senis, melasma/cloasma, melanose de Riehl, mácula melanótica labial, melanose do pênis/vulvovaginal, eritromelanose folicular da face de Kitamura, pigmentação induzida por UV (bronzeamento e

pigmentação petalóide actínica), pigmentação pós-inflamatória (melanose por fricção e dermatose cinzenta), pigmentação induzida por substância química/fármacos (bifenil policlorado, arsênico, 5-FU, bleomicina, ciclofosfamida, metotrexato, clorpromazina, fenitoína, tetraciclina e cloroquina), linhas de demarcação pigmentárias e deposição de material estranho (por exemplo, caroteno, prata, ouro, mercúrio, bismuto e tatuagens). Hiperpigmentação relacionada com distúrbios sistêmicos inclui distúrbios do metabolismo/enzimáticos (hemocromatose, doença de Wilson, doença de Gaucher, doença de Niemann-Pick, amiloidose, ocronose, acantose nigricans e porfiria cutânea tardia), distúrbios endócrinos (doença de Addison, síndrome de Cushing e hipertireoidismo), distúrbios nutricionais (pelagra, deficiência de vitamina B12, deficiência de ácido fólico, doença do vagabundo e prurigo pigmentoso), mastocitose, doenças do colágeno, disfunção hepática e disfunção renal. A hiperpigmentação também pode estar relacionada com doenças infecciosas (sarampo, sífilis e *Malassezia* furfur) e síndromes (doença de von Recklinghausen, síndrome de Sotos, síndrome POEMS, síndrome de Naegeli, síndrome de Cantu, síndrome de McCune-Albright, síndrome de Watson e síndrome de Bloom) (Yamaguchi, *e cols.*, 2014).

[708] A melanina é um pigmento produzido naturalmente que dá cor à pele e aos cabelos. Um diagrama esquemático da pele é mostrado na Fig. 1A. A melanina é produzida por melanócitos em organelas conhecidas como melanossomas por um processo conhecido como melanogênese. Um composto ou composição da presente invenção modula a produção de melanina

(também conhecida como melanogênese) em um indivíduo, por exemplo, por modulação da biogênese de melanossoma e inibição direta ou indireta da síntese de melanina no nível enzimático.

[709] A biogênese do melanossoma ocorre por meio de quatro estágios: Estágio I é caracterizado por pré-melanossomas, que são basicamente vacúolos não pigmentados. No estágio II, pré-melanossomas desenvolvem estriações nas quais melanina é depositada no Estágio III. O Estágio IV resulta em melanossomas maduros que são ricos no teor de melanina. Compostos e composições da presente invenção modulam a biogênese de melanossoma por inibição ou atenuação dos processos biológicos que normalmente promovem qualquer um ou todos esses estágios (Wasmeier, *e cols.*, 2008).

[710] A síntese de melanina primariamente envolve três enzimas: tirosinase, proteína relacionada à tirosinase-1 e dopacromo tautomerase. Fatores adicionais que afetam o tráfego intracelular dessas enzimas incluem, sem limitação, BLOC-1, OA1 e SLC45A2. Os compostos e composições da presente invenção podem modular a produção de melanina, por exemplo, por inibição ou atenuação da atividade de qualquer uma dessas enzimas ou fatores (Yamaguchi, *e cols.*, 2014).

[711] Após os melanossomas serem formados e a melanina ter sido sintetizada, os melanossomas precisam ser transferidos de melanócitos epidérmicos para queratinócitos da pele e do cabelo. Os melanossomas se originam perto do núcleo de melanócitos e são transportados até a periferia de melanócitos ao longo de microtúbulos e filamentos de actina. Os compostos e composições da presente invenção modulam a transferência de melanossoma por interferência com qualquer

um dos processos biológicos que resultam no transporte de melanossomas da região perinuclear para a periferia do melanócito, e para dentro de queratinócitos adjacentes. Um diagrama esquemático da síntese de melanina, transporte de melanina e apoptose de melanócitos é mostrado na Fig. 1B.

[712] A concentração melanina pode ser modulada, por exemplo, por aumento ou diminuição da melanogênese ou promoção da degradação de melanina ou eliminação de um indivíduo.

[713] Um composto isolado de uma levedura *Malassezia* da presente invenção necessariamente existe, antes do isolamento, em uma levedura *Malassezia* ou é produzido por uma levedura *Malassezia*. Portanto, um composto isolado de uma levedura *Malassezia* é derivado de células de leveduras reais. Protocolos padronizados para a extração de compostos de material celular são conhecidos por aqueles habilitados na técnica.

[714] Um composto passível de isolamento de uma levedura *Malassezia* não precisa ser derivado de células de leveduras reais. Ao invés disso, reações sintéticas podem ser usadas para gerar o compostos produzidos em levedura sem o envolvimento de células de leveduras reais. Reações de síntese orgânica são bem conhecidas por aqueles habilitados na técnica e podem ser usadas a esse respeito.

[715] Como usado nesse relatório descritivo, o termo “melanina epidérmica” se refere à melanina que é produzida, transportada ou de algum outro modo na epiderme.

[716] Como usado nesse relatório descritivo, o termo “reduzir”, e variações gramaticais deste, significa causar uma diminuição no nível de certo fenômeno ou espécie

biológica. Por exemplo, os compostos e composições da presente invenção reduzem a melanina epidérmica em um indivíduo, o que significa que os compostos e composições da presente invenção provocam uma diminuição no nível de melanina epidérmica no indivíduo. O termo “reduzir”, e variações gramaticais deste, pode significar, por exemplo, diminuição DO nível de CERTO fenômeno ou espécie por pelo menos 5%, 10%, 25%, 50%, 75% ou 100%.

[717] Como usado nesse relatório descritivo, o termo “contato”, e variações gramaticais deste, se refere à colocação de dois ou mais materiais suficientemente próximos de modo que possam interagir. Dessa forma, apenas para fins ilustrativos, um composto da presente invenção pode fazer contato com um melanócito, por exemplo, por interação com um receptor na superfície do melanócito. Similarmente, uma composição da presente invenção pode fazer contato com um indivíduo humano, por exemplo, por ao ser aplicada diretamente na pele do indivíduo.

[718] Como usado nesse relatório descritivo, o termo “indivíduo” significa uma célula, tecido, organismo mamífero, ou populações destes. Os indivíduos da presente invenção são preferivelmente humanos, incluindo células, tecidos e seres humanos, mas, de outro modo, incluem, primatas, animais de criação, animais domésticos, animais de laboratório e semelhantes. Alguns exemplos de animais agrícolas incluem vacas, porcos, cavalos, cabras e semelhantes. Alguns exemplos de animais domésticos incluem cães, gatos e semelhantes. Alguns exemplos de animais de laboratório incluem primatas, ratos, camundongos, coelhos, porquinhos-da-índia e semelhantes.

[719] Como usado nesse relatório descritivo, o termo “um indivíduo necessitado” de melhora na hiperpigmentação causada por um distúrbio de hiperpigmentação inclui indivíduos com uma necessidade de melhora real ou percebida.

[720] Como usados nesse relatório descritivo, os termos “tratar”, “que trata”, “tratamento”, e variações gramaticais destes, significam a submissão de um indivíduo a um protocolo, regime, processo ou remédio, no qual se deseja obter uma resposta fisiológica ou desfecho naquele indivíduo, por exemplo, um paciente. Em particular, os métodos e composições da presente invenção podem ser usados para tornar mais lento o desenvolvimento de sintomas de doença ou retardar o surgimento da doença ou condição, ou impedir a progressão do desenvolvimento da doença. No entanto, como cada indivíduo tratado pode não responder a um protocolo de tratamento, regime, processo ou remédio particular, o tratamento não exige que a resposta fisiológica ou desfecho desejado seja obtido em cada um e em todos os indivíduos ou população de indivíduos, por exemplo, população de pacientes. Conseqüentemente, certo indivíduo ou população de indivíduos, por exemplo, uma população de pacientes, pode não responder ou responder inadequadamente ao tratamento.

[721] Como usados nesse relatório descritivo, os termos “evitar”, “prevenir”, “prevenção”, e variações gramaticais destes, significam que os compostos da presente invenção são úteis quando administrados a um paciente que não foi diagnosticado como possivelmente tendo o distúrbio ou doença no momento da administração, mas que normalmente seria esperado que desenvolvesse o distúrbio ou doença ou estivesse

em risco para o distúrbio ou doença. Os compostos e composições da invenção, por exemplo, tornam mais lento o desenvolvimento de sintomas do distúrbio ou doença, retardam o surgimento do distúrbio ou doença, ou evitam totalmente que o indivíduo desenvolva o distúrbio ou doença. A prevenção também inclui a administração dos compostos da invenção àqueles indivíduos que supostamente estão predispostos ao distúrbio ou doença em função da idade, história familiar, anormalidades genéticas ou cromossômicas e/ou em função da presença de um ou mais marcadores biológicos para o distúrbio ou doença.

[722] Como usado nesse relatório descritivo, o termo “promover”, e variações gramaticais deste, significa permitir, aumentar, deixar, facilitar, fomentar, encorajar, induzir, ou de algum outro modo ocasionar.

[723] Como usado nesse relatório descritivo, o termo “produzir”, e variações gramaticais deste, significa causar a ocorrência ou existência de um resultado particular. Como exemplo não limitante, os compostos e composições da presente invenção produzem um efeito fotoprotetor ou protetor contra UV em um indivíduo.

[724] Como usado nesse relatório descritivo, o termo “eritema” se refere à vermelhidão da pele. O eritema pode ser causado por dilatação e/ou irritação dos capilares superficiais. O termo “eritema induzido por UV” se refere à vermelhidão da pele que se desenvolve como resultado da exposição ao UV. Como usado nesse relatório descritivo, o termo “queimadura solar”, e variações gramaticais deste, se refere ao eritema induzido por UV causado por exposição à luz do sol ou a fontes artificiais de UV (por exemplo, leitos

de bronzeamento).

[725] Como usado nesse relatório descritivo, o termo “hiperpigmentação” se refere geralmente a uma área de pele na qual a pigmentação é maior do que aquela de uma área de pele adjacente (por exemplo, uma mancha de pigmento, mancha de idade, verruga e semelhantes). A hiperpigmentação da presente invenção inclui, sem limitação, hiperpigmentação regional por hiperatividade melanocítica, outra hiperpigmentação localizada por hiperatividade e proliferação melanocíticas benignas, hiperpigmentação relacionada a doenças, e hiperpigmentações acidentais como, por exemplo, aquelas causadas por fotossensibilização, constituição genética, ingestão de substância química, ou outra exposição (por exemplo, exposição ao UV), idade, e cicatrização pós-lesional. Como usado nesse relatório descritivo, o termo “hiperpigmentação induzida por UV” se refere a qualquer hiperpigmentação causada por exposição ao UV natural ou artificial.

[726] Como usado nesse relatório descritivo, o termo “hipopigmentação” se refere geralmente a uma área de pele na qual a pigmentação é menor do que aquela de uma área de pele adjacente. A hipopigmentação da presente invenção inclui, sem limitação, vitiligo, despigmentação, pitiríase alba, hipopigmentação focal, hipopigmentação pós-inflamatória, piebaldismo, albinismo, tinha versicolor, fotossensibilidade, leucismo, hipomelanose, dermatite atópica, psoríase e semelhantes.

[727] Como usado nesse relatório descritivo, o termo “dano à pele induzido por UV” significa dano à pele resultante de exposição ao UV, incluindo UVA, UVB e UVC. O

dano à pele induzido por UV da presente invenção inclui, sem limitação, rugas, hiperpigmentação, displasias, ceratose actínica e cânceres de pele.

[728] Como usado nesse relatório descritivo, o termo “envelhecimento da pele induzido pelo UV” significa envelhecimento da pele resultante de exposição ao UV, incluindo UVA, UVB e UVC. O envelhecimento da pele induzido pelo UV da presente invenção se manifesta como, por exemplo, rugas, linhas finas, manchas da idade, verrugas, secura, delgadeza ou elasticidade reduzida da pele, tom de pele desigual, e outras reduções no brilho, textura, resiliência, firmeza, frouxidão e claridade da pele causada, no todo ou em parte, por exposição ao UV.

[729] Como usado nesse relatório descritivo, o termo “fotoprotetor”, e variações gramaticais destes, quando usados para descrever os efeitos dos compostos e composições da presente invenção, significam que o composto e composições descritos nesse relatório descritivo evitam e/ou atenuam o dano causado por luz, particularmente luz do sol. Da mesma forma, os “agentes fotoprotetores” da presente invenção são aqueles compostos e composições descritos nesse relatório descritivo que evitam e/ou atenuam o dano causado por luz, particularmente luz do sol.

[730] Como usado nesse relatório descritivo, o termo “protetor contra UV”, e variações gramaticais deste, quando usado para descrever os efeitos dos compostos e composições da presente invenção, significam que o composto e composições descritos nesse relatório descritivo evitam e/ou atenuam o dano causado por luz ultravioleta (“UV”). Da mesma forma, os “agentes protetores contra UV” da presente invenção são

aqueles compostos e composições descritos nesse relatório descritivo que evitam e/ou atenuam o dano causado por UV. A luz ultravioleta da presente invenção inclui, por exemplo, UVA (320-240 nm), UVB (290-320 nm) e UVC (200-290 nm).

[731] Como usado nesse relatório descritivo, o termo “filtro”, e variações gramaticais deste, significa bloquear, refletir, absorver ou espalhar UV. “Agentes de proteção solar” da presente invenção incluem todos os compostos e composições da presente invenção que bloqueiam, refletem, absorvem ou espalham UV.

[732] Como usado nesse relatório descritivo, o termo “absorver”, e variações gramaticais deste, significa captar UV ou converter UV em energia térmica. Por um exemplo não limitante, os compostos e composições da presente invenção podem absorver UV e, como resultado, radiar energia térmica em suas vizinhanças.

[733] Como usado nesse relatório descritivo, o termo “refletir”, e variações gramaticais deste, quando usado no contexto de UV, significa jogar ou rechaçar UV de volta sem absorvê-lo.

[734] Como usado nesse relatório descritivo, o termo “composição” significa uma entidade que compreende um ou mais compostos da presente invenção, bem como qualquer entidade que resulta, diretamente ou indiretamente, de combinações feitas de um mais compostos da presente invenção com outros ingredientes. As composições da presente invenção podem ser usadas como, por exemplo, reagentes de pesquisa *in vitro* ou *in vivo*. As composições da presente invenção também podem ser aplicadas diretamente à pele de um indivíduo humano ou não humano para um efeito cosmético ou farmacêutico.

Adicionalmente, as composições da presente invenção compreendem um ou mais dos compostos listados na Tabela 5 ou Fig. 130, ou um análogo químico, forma cristalina, hidrato, ou sal farmaceuticamente ou cosmeticamente aceitável destes.

[735] Uma composição da presente invenção pode ser administrada em qualquer forma desejada e eficaz para aplicações tanto *in vitro* quanto *in vivo*: para ingestão oral ou para administração parenteral ou outra administração em qualquer forma apropriada como, por exemplo, administração intraperitoneal, subcutânea, tópica, intradérmica, por inalação, por administração intrapulmonar, retal, vaginal, sublingual, intramuscular, intravenosa, intra-arterial, intratecal ou intralinfática. Além disso, uma composição da presente invenção pode ser administrada em conjunto com outras composições. Uma composição da presente invenção pode ser encapsulada ou de algum outro modo protegida contra secreções gástricas ou outras secreções, se desejado.

[736] As composições da invenção compreendem um ou mais ingredientes ativos misturados com um ou mais carreadores cosmeticamente ou farmaceuticamente aceitáveis e, opcionalmente, um ou mais outros compostos, ingredientes e/ou materiais. Independentemente da via de administração selecionada, os compostos e composições da presente invenção são formulados em formas de dosagem cosmeticamente ou farmaceuticamente aceitáveis por métodos convencionais conhecidos por aqueles habilitados na técnica.

[737] Veículos, diluentes e carreadores cosmeticamente ou farmaceuticamente aceitáveis são bem conhecidos na técnica e incluem materiais adequados para contato com os tecidos de humanos e não humanos sem toxicidade

desnecessária, incompatibilidade, instabilidade, irritação, resposta alérgica e semelhantes. Veículos, diluentes e carreadores cosmeticamente ou farmaceuticamente aceitáveis incluem qualquer substância substancialmente atóxica convencionalmente usável, por exemplo, para administração tópica, oral, peritoneal ou subcutânea de produtos cosméticos ou produtos farmacêuticos nos quais os compostos e composições da presente invenção permanecerão estáveis e biodisponíveis quando aplicados, ingeridos, injetados ou de algum outro modo administrados a um humano ou indivíduo não humano. Carreadores cosmeticamente ou farmaceuticamente aceitáveis adequados para aplicação tópica são conhecidos por aqueles habilitados na técnica e incluem líquidos, cremes, óleos, loções, pomadas, géis, ou sólidos cosmeticamente ou farmaceuticamente aceitáveis, por exemplo, cremes noturnos cosméticos convencionais, cremes de base, loções de bronzeamento, protetores solares, loções para as mãos, maquiagem e bases de maquiagem, máscaras e semelhantes. Carreadores adequados para uma forma de dosagem selecionada e via de administração desejada são bem conhecidos na técnica, e carreadores aceitáveis para uma forma de dosagem e método de administração escolhidos podem ser determinados usando conhecimentos comuns na técnica.

[738] As composições da presente invenção podem conter outros ingredientes convencionais em produtos cosméticos incluindo perfumes, estrogênio, Vitaminas A, C e E, alfa-hidróxi ou alfa-ceto ácidos como, por exemplo, ácidos pirúvico, lático ou glicólico, lanolina, vaselina, aloe vera, metil ou propil parabeno, pigmentos e semelhantes. Veículos, diluentes e carreadores cosmeticamente ou

farmaceuticamente aceitáveis não limitantes da presente invenção incluem açúcares (por exemplo, lactose, sacarose, manitol e sorbitol), amidos, preparações de celulose, fosfatos de cálcio (por exemplo, difosfato de cálcio, trifosfato de cálcio e hidrogenofosfato de cálcio), citrato de sódio, água, soluções aquosas (por exemplo, solução salina, injeção de cloreto de sódio, injeção de Ringer, injeção de dextrose, dextrose e injeção de cloreto de sódio, injeção de Ringer-lactato), álcoois (por exemplo, álcool etílico, álcool propílico e álcool benzílico), polióis (por exemplo, glicerol, propilenoglicol, e polietilenoglicol), ésteres orgânicos (por exemplo, oleato de etila e triglicerídeos), polímeros biodegradáveis (por exemplo, polilactida-poliglicolida, poli(ortoésteres), e poli(anidridos)), matrizes elastoméricas, lipossomos, microesferas, óleos (por exemplo, óleo de milho, de germe, azeite de oliva, óleo de mamona, gergelim, de semente de algodão e de amendoim), manteiga de cacau, ceras (por exemplo, ceras de supositório), parafinas, silicones, talco, salicilato e semelhantes.

[739] As composições da invenção podem opcionalmente conter ingredientes e/ou materiais adicionais comumente usados em composições cosméticas. Esses ingredientes e materiais são bem conhecidos na técnica e incluem, por exemplo, (1) enchimentos ou extensores, por exemplo, amidos, lactose, sacarose, glicose, manitol, e ácido silícico; (2) ligantes, por exemplo, carboximetilcelulose, alginatos, gelatina, polivinil pirrolidona, hidroxipropilmetil celulose, sacarose e acácia; (3) umectantes, por exemplo, glicerol; (4) agentes desintegrantes, por exemplo, ágar-

ágar, carbonato de cálcio, amido de batata ou tapioca, ácido algínico, certos silicatos, amido glicolato de sódio, carboximetilcelulose sódica reticulada e carbonato de sódio; (5) agentes de retardo de solução, por exemplo, parafina; (6) aceleradores da absorção, por exemplo, compostos de amônio quaternário; (7) agentes umidificantes, por exemplo, álcool cetílico e monoestearato de glicerol; (8) absorventes, por exemplo, caulim e argila de bentonita; (9) lubrificantes, por exemplo, talco, estearato de cálcio, estearato de magnésio, polietilenoglicóis sólidos, e lauril sulfato de sódio; (10) agentes de suspensão, por exemplo, álcoois isoestearílicos etoxilados, polioxietileno sorbitol e ésteres de sorbitano, celulose microcristalina, metahidróxido de alumínio, bentonita, ágar-ágar e tragacanto; (11) agentes de tamponamento; (12) excipientes, por exemplo, lactose, açúcares de leite, polietilenoglicóis, gorduras animais e vegetais, óleos, ceras, parafinas, manteiga de cacau, amidos, tragacanto, derivados de celulose, polietilenoglicol, silicones, bentonitas, ácido silícico, talco, salicilato, óxido de zinco, hidróxido de alumínio, silicatos de cálcio, e pó de poliamida; (13) diluentes inertes, por exemplo, água ou outros solventes; (14) conservantes; (15) agentes tensoativos; (16) agentes dispersantes; (17) agentes de controle da liberação ou de retardo da absorção, por exemplo, hidroxipropilmetil celulose, outras matrizes de polímero, polímeros biodegradáveis, lipossomos, microesferas, monoestearato de alumínio, gelatina e ceras; (18) agentes opacificantes; (19) adjuvantes; (20) agentes umidificantes; (21) agentes emulsificantes e de suspensão; (22), agentes solubilizantes

e emulsificantes, por exemplo, álcool etílico, álcool isopropílico, carbonato de etila, acetato de etila, álcool benzílico, benzoato de benzila, propilenoglicol, 1,3-butileno glicol, óleos (em particular, óleo de semente de algodão, de amendoim, de milho, de germe, azeite de oliva, de mamona e de gergelim), glicerol, álcool tetrahidrofurílico, polietilenoglicóis e ésteres de ácido graxo de sorbitano; (23) propelentes, por exemplo, clorofluorhidrocarbonetos e hidrocarbonetos voláteis não substituídos, por exemplo, butano e propano; (24) antioxidantes; (25) agentes que tornam a formulação isotônica com o sangue do receptor desejado, por exemplo, açúcares e cloreto de sódio; (26) agentes espessantes; (27) materiais de revestimento, por exemplo, lecitina; e (28) agentes adoçantes, flavorizantes, corantes, perfumantes e conservantes. Cada um desses ingrediente ou material deve ser “aceitável”, no sentido de ser compatível com os outros ingredientes da formulação e não prejudicial ao indivíduo. Ingredientes e materiais adequados para uma forma de dosagem selecionada e via de administração desejada são bem conhecidos na técnica, e ingredientes e materiais aceitáveis para uma forma de dosagem e método de administração escolhidos podem ser determinados com o uso de conhecimentos comuns na técnica.

[740] As composições da presente invenção adequadas para administração oral podem estar na forma de cápsulas, pastilhas, pílulas, comprimidos, pós, grânulos, uma solução ou uma suspensão em um líquido aquoso ou não aquoso, uma emulsão líquida óleo-em-água ou água-em-óleo, um elixir ou xarope, uma pastilha, um bolo, um eletuário ou uma pasta.

Essas formulações podem ser preparadas por métodos conhecidos na técnica, por exemplo, por meio de processos convencionais de pan-revestimento, misturação, granulação ou liofilização.

[741] Formas de dosagem sólidas para administração oral (cápsulas, comprimidos, pílulas, drágeas, pós, grânulos e semelhantes) podem ser preparadas, por exemplo, por misturação do(s) ingrediente(s) ativo(s) com um ou mais carreadores cosmeticamente ou farmaceuticamente aceitáveis e, opcionalmente, um ou mais enchimentos, extensores, ligantes, umectantes, agentes desintegrantes, agentes de retardo de solução, aceleradores da absorção, agentes umidificantes, absorventes, lubrificantes, e/ou agentes corantes. Composições sólidas de um tipo similar podem ser empregadas como enchimentos em cápsulas preenchidas de gelatina macia e dura usando um excipiente adequado. Um comprimido pode ser feito por compressão ou moldagem, opcionalmente com um ou mais ingredientes acessórios. Comprimidos compactados podem ser preparados usando um ligante, lubrificante, diluente inerte, conservante, desintegrante, tensoativo ou agente dispersante adequado. Comprimidos moldados podem ser feitos por moldagem em uma máquina adequada. Os comprimidos, e outras formas de dosagem sólidas, por exemplo, cápsulas, pílulas e grânulos, podem opcionalmente ser riscados ou preparados com revestimentos e cascas, por exemplo, revestimentos entéricos e outros revestimentos bem conhecidos na técnica de formulação cosmética. Eles também podem ser formulados de modo a fornecer liberação lenta ou controlada do ingrediente ativo neles contido. Eles podem ser esterilizados, por exemplo,

por filtração através de um filtro de retenção de bactérias. Essas composições também podem opcionalmente conter agentes opacificantes e podem ser de uma composição tal que liberem somente o ingrediente ativo ou, preferencialmente, em certa porção do trato gastrintestinal, opcionalmente, de forma retardada. O ingrediente ativo também pode estar em forma microencapsulada.

[742] Formas de dosagem líquidas para administração oral incluem emulsões, microemulsões, soluções, suspensões, xaropes e elixires cosmeticamente ou farmaceuticamente aceitáveis. As formas de dosagem líquidas podem conter diluentes inertes adequados comumente usados na técnica. Além de diluentes inertes, as composições orais também podem incluir adjuvantes, por exemplo, agentes umidificantes, agentes emulsificantes e de suspensão, agentes adoçantes, flavorizantes, corantes, perfumantes e conservantes. Suspensões podem conter agentes de suspensão.

[743] As composições da presente invenção para administração retal ou vaginal podem ser apresentadas como um supositório, que pode ser preparado por misturação de um ou mais ingredientes ativos com um ou mais carreadores não irritantes adequados que são sólidos em temperatura ambiente, mas líquidos na temperatura corporal e, portanto, derreterão no reto ou cavidade vaginal e liberam o composto ativo. As composições da presente invenção que são adequadas para administração vaginal também incluem pessários, absorventes internos, cremes, géis, pastas, espumas ou formulações em spray que contêm esses carreadores cosmeticamente ou farmaceuticamente aceitáveis, como considerados adequados na técnica.

[744] As formas de dosagem para a administração tópica ou transdérmica incluem pós, sprays, pomadas, pastas, cremes, loções, géis, soluções, emplastros, gotas, emulsões, suspensões, aerossóis e inalantes. Quaisquer veículos convencionais desejados, assistentes e ingredientes ativos opcionalmente adicionais podem ser adicionados à formulação.

[745] Assistentes preferidos se originam do grupo que compreende conservantes, antioxidantes, estabilizantes, estabilizantes, vitaminas, corantes, melhoradores do odor, formadores de película, espessantes e umectantes.

[746] Soluções e emulsões podem compreender os veículos convencionais, por exemplo, solventes, estabilizantes e emulsificantes, por exemplo, água, etanol, isopropanol, carbonato de etila, acetato de etila, álcool benzílico, benzoato de benzila, propilenoglicol, 1,3-butil glicol, óleos, em particular óleo de semente de algodão, óleo de amendoim, óleo de milho, azeite de oliva, óleo de mamona e óleo de gergelim, ésteres de ácido graxo de glicerol, polietilenoglicóis e ésteres de ácido graxo de sorbitano, ou misturas dessas substâncias.

[747] As emulsões podem existir em várias formas. Dessa forma, elas podem ser, por exemplo, uma emulsão ou microemulsão do tipo água-em-óleo (W/O) ou do tipo óleo-em-água (O/W), ou uma emulsão múltipla, por exemplo, do tipo água-em-óleo-em-água (W/O/W).

[748] As composições de acordo com a invenção também podem estar na forma de preparações dispersas, livres de emulsificantes. Elas podem ser, por exemplo, hidrodispersões ou emulsões de Pickering.

[749] Suspensões podem compreender veículos

convencionais, por exemplo, diluentes líquidos, por exemplo, água, etanol ou propilenoglicol, meios de suspensão, por exemplo, álcoois isoestearílicos etoxilados, ésteres de polioxietileno sorbitol e ésteres de polioxietileno de sorbitano, celulose microcristalina, metahidróxido de alumínio, bentonita, ágar-ágar e tragacanto, ou misturas dessas substâncias.

[750] Pastes, pomadas, géis e cremes podem compreender veículos convencionais, por exemplo, gorduras animais e vegetais, ceras, parafinas, amido, tragacanto, derivados de celulose, polietilenoglicóis, silicones, bentonitas, ácido silícico, talco e óxido de zinco, ou misturas dessas substâncias.

[751] Óleos faciais e corporais podem compreender os veículos convencionais, por exemplo, óleos sintéticos, por exemplo, ésteres de ácido graxo, álcoois graxos, óleos de silicone, óleos naturais, por exemplo, óleos vegetais e extratos oleosos de plantas, óleos de parafina, óleos de lanolina, ou misturas dessas substâncias.

[752] Sprays podem compreender os propelentes convencionais, por exemplo, clorofluorcarbonos, propano/butano ou éter dimetílico.

[753] Composições da presente invenção adequadas para administrações parenterais compreendem um ou mais compostos em combinação com uma ou mais soluções, dispersões, suspensões ou emulsões aquosas ou não aquosas estéreis isotônicas cosmeticamente ou farmaceuticamente aceitáveis, ou pós estéreis que podem ser reconstituídos em soluções ou dispersões injetáveis estéreis imediatamente antes do uso, que podem conter antioxidantes adequados, tampões, solutos

que tornam a formulação isotônica com o sangue do receptor desejado, ou agentes de suspensão ou espessantes. A fluidez adequada pode ser mantida, por exemplo, pelo uso de materiais de revestimento, pela manutenção do tamanho de partícula necessário, no caso de dispersões, e pelo uso de tensoativos. Essas composições também podem conter adjuvantes adequados, por exemplo, agentes umidificantes, agentes emulsificantes e agentes dispersantes. Também pode ser desejável incluir agentes isotônicos. Além disso, a absorção prolongada da forma cosmética injetável pode ser produzida pela inclusão de agentes que retardam a absorção.

[754] Em alguns casos, a fim de prolongar o efeito, é desejável tornar mais lenta a absorção da injeção subcutânea ou intramuscular. Isso pode ser obtido pelo uso de uma suspensão líquida de material cristalino ou amorfo que possui baixa hidrossolubilidade.

[755] A taxa de absorção do agente ativo/fármaco depende então de sua taxa de dissolução que, por sua vez, pode depender do tamanho do cristal e da forma cristalina. Alternativamente, a absorção retardada de uma composição administrada parenteralmente pode ser obtida por dissolução ou suspensão da composição ativa em um veículo oleoso. Formas de depósito injetáveis podem ser feitas por formação de matrizes microencapsuladas do ingrediente ativo em polímeros biodegradáveis. Dependendo da proporção do ingrediente ativo para polímero, e da natureza do polímero particular empregado, a taxa de liberação de ingrediente ativo pode ser controlada. Formulações injetáveis de depósito também podem ser preparadas por captura do fármaco em lipossomos ou microemulsões que são compatíveis com o tecido corporal. Os

materiais injetáveis podem ser esterilizados. por exemplo, por filtração através de um filtro de retenção bacteriana.

[756] As composições da presente invenção podem ser apresentadas em dose unitária ou recipientes lacrados multidoses, por exemplo, ampolas e frascos, e podem ser armazenadas em uma condição liofilizada que necessita apenas da adição do carreador líquido estéril, por exemplo, água para injeção, imediatamente antes do uso. Soluções e suspensões para injeção extemporânea podem ser preparadas a partir de pós estéreis, grânulos e comprimidos do tipo descrito acima.

[757] Na presente invenção, o termo “forma cristalina” significa a estrutura cristal de um composto. Um composto pode existir em uma ou mais formas cristalinas, que podem ter características estruturais, físicas, farmacológicas ou químicas diferentes. Formas cristalinas diferentes podem ser obtidas usando variações na nucleação, cinética de crescimento, aglomeração e quebra. A nucleação resulta quando a barreira de energia de transição de fases é superada permitindo, dessa forma, que uma partícula se forme a partir de uma solução supersaturada. O crescimento do cristal é o aumento de partículas cristais causado por deposição o composto químico em uma superfície existente do cristal. A taxa de nucleação e o crescimento relativos determinam a distribuição de tamanho do cristais que são formados. A força termodinâmica condutora tanto para a nucleação quanto para o crescimento é a supersaturação, que é definida como o desvio do equilíbrio termodinâmico. A aglomeração é a formação de partículas maiores através de duas ou mais partículas (por exemplo, cristais) que se grudam e formam

uma estrutura cristalina maior.

[758] O termo “hidrato”, como usado nesse relatório descritivo, significa uma forma sólida ou semi-sólida de um composto químico que contém água em um complexo molecular. A água está geralmente em uma quantidade estequiométrica com relação ao composto químico.

[759] Como usado nesse relatório descritivo, o termo “sal cosmeticamente ou farmaceuticamente aceitável” se refere a um derivado dos compostos revelados nesse relatório descritivo no qual os compostos são modificados por produção de sais de ácido ou base destes. Exemplos de sais cosmeticamente ou farmaceuticamente aceitáveis incluem, sem limitação, sais minerais ou de ácido orgânico de resíduos básicos como, por exemplo, aminas; sais alcalinos ou orgânicos de resíduos ácidos como, por exemplo, ácidos carboxílicos; e semelhantes. Por exemplo, esses sais incluem sais de amônia, L-arginina, betaína, benetamina, benzatina, hidróxido de cálcio, colina, deanol, dietanolamina (2,2'-iminobis(etanol)), dietilamina, 2-(dietilamino)-etanol, 2-aminoetanol, etilenodiamina, N-etil-glucamina, hidrabamina, 1H-imidazol, lisina, hidróxido de magnésio, 4-(2-hidroxietil)-morfolino, piperazina, hidróxido de potássio, 1-(2-hidróxi-etil)-pirrolidina, hidróxido de sódio, trietanolamina (2,2',2”-nitrilotris(etanol)), trometamina, hidróxido de zinco, ácido acético, ácido 2,2-dicloro-acético, ácido adípico, ácido algínico, ácido ascórbico, ácido L-aspártico, ácido benzenossulfônico, ácido benzóico, ácido 2,5-diidroxibenzóico, ácido 4-acetamido-benzóico, ácido (+)-canfórico, ácido (+)-canfor-10-sulfônico, ácido carbônico, ácido cinâmico, ácido cítrico, ácido ciclâmico,

ácido decanóico, ácido dodecilsulfúrico, ácido etano-1,2-dissulfônico, ácido etanossulfônico, ácido 2-hidróxi-etanossulfônico, ácido etileno-diamino-tetra-acético, ácido fórmico, ácido fumárico, ácido galactárico, ácido gentísico, ácido D-glicoheptônico, ácido D-glucônico, ácido D-glicurônico, ácido glutâmico, ácido glutântico, ácido glutárico, ácido 2-oxo-glutárico, ácido glicero-fosfórico, glicina, ácido glicólico, ácido hexanóico, ácido hipúrico, ácido hidrobrômico, ácido clorídrico, ácido isobutírico, ácido DL-lático, ácido lactobiônico, ácido láurico, lisina, ácido maléico, ácido (-)-L-málico, ácido malônico, ácido DL-mandélico, ácido metanossulfônico, ácido galactárico, ácido naftaleno-1,5-dissulfônico, ácido naftaleno-2-sulfônico, ácido 1-hidróxi-2-naftóico, ácido nicotínico, ácido nítrico, ácido octanóico, ácido oléico, ácido orótico, ácido oxálico, ácido palmítico, ácido pamóico (ácido embônico), ácido fosfórico, ácido propiônico, ácido (-)-L-piroglutâmico, ácido salicílico, ácido 4-amino-salicílico, ácido sebácico, ácido esteárico, ácido succínico, ácido sulfúrico, ácido tânico, ácido (+)-L-tartárico, ácido tiociânico, ácido p-toluenossulfônico e ácido undecilênico. Sais cosmeticamente ou farmaceuticamente aceitáveis adicionais podem ser formados com cátions a partir de metais como, por exemplo, alumínio, cálcio, lítio, magnésio, potássio, sódio, zinco e semelhantes.

[760] Os sais cosmeticamente ou farmaceuticamente aceitáveis da presente invenção podem ser sintetizados a partir de um composto revelado nesse relatório descritivo, que contém uma porção básica ou ácida por métodos químicos convencionais. Geralmente, esses sais podem ser preparados

por reação das formas de ácido ou base livre desses compostos com uma quantidade suficiente da base ou ácido apropriado em água ou em um diluente orgânico como, por exemplo, éter, acetato de etila, etanol, isopropanol ou acetonitrila, ou uma mistura destes.

[761] É previsto que os compostos e composições da presente invenção possam ser incluídos em composições cosméticas ou farmacêuticas para aplicações tanto *in vitro* quanto *in vivo*.

[762] É previsto que os compostos e composições da presente invenção, que incluem um ou mais compostos listados na Tabela 5 ou Fig. 130, ou um análogo químico, forma cristalina, hidrato ou sal farmaceuticamente ou cosmeticamente aceitável deste, possam ser co-administrados a um indivíduo para efetuar os objetivos de modulação de pigmentação da pele da presente invenção.

[763] Também é previsto que as composições da presente invenção possam compreender um ou mais compostos listados na Tabela 5 ou Fig. 130, ou um análogo químico, forma cristalina, hidrato, ou sal farmaceuticamente ou cosmeticamente aceitável destes. Por exemplo, uma composição da presente invenção pode compreender indirrubina ou análogos químicos desta em combinação com malassezina ou análogos químicos desta.

[764] Adicionalmente, é previsto que os compostos da presente invenção incluam compostos produzidos por *Malassezia*, ou um análogo químico, forma cristalina, hidrato, ou sal farmaceuticamente ou cosmeticamente aceitável destes. Além disso, é previsto que as composições e métodos da presente invenção possam envolver um ou mais

compostos produzidos por *Malassezia*, ou um análogo químico, forma cristalina, hidrato, ou sal farmaceuticamente ou cosmeticamente aceitável destes. Por exemplo, compostos produzidos ou derivados de *Malassezia* incluem, sem limitação, os compostos mostrados na Fig. 130.

[765] É ainda previsto que os métodos da presente invenção possam envolver a co-administração de dois ou mais compostos e/ou composições da presente invenção para efetuar os objetivos de modulação de pigmentação da pele descritos nesse relatório descritivo.

[766] Os compostos e composições da presente invenção co-administrados podem, por exemplo, entrar em contato com um indivíduo substancialmente ao mesmo tempo ou um depois do outro.

[767] As composições da presente invenção que contém um ou mais compostos derivados de *Malassezia* ou análogos químicos destes podem demonstrar efeitos sinérgicos em relação aos compostos componentes isoladamente em vários critérios de eficácia que incluem, sem limitação, viabilidade tecidual média, concentração de melanina, clareamento da pele, escurecimento da pele, indução de apoptose de melanócitos, e modulação da atividade de aril-hidrocarboneto (AhR), melanogênese ou concentração de melanina.

[768] A terminologia usada nesse relatório descritivo tem o objetivo único de descrever modalidades particulares e não visa ser limitante. Como usadas no relatório descritivo e nas reivindicações em anexo, as formas no singular “um”, “uma”, “o” e “a” incluem referentes no plural, salvo quando o contexto determinar claramente em contrário.

[769] Para a citação de faixas numéricas nesse relatório descritivo, cada número interveniente entre com o mesmo grau de precisão é explicitamente contemplado. Por exemplo, para uma faixa de 6-9, os números 7 e 8 são contemplados em adição a 6 e 9, e para a faixa 6,0-7,0, os números 6,0, 6,1, 6,2, 6,3, 6,4, 6,5, 6,6, 6,7, 6,8, 6,9 e 7,0 são explicitamente contemplados.

[770] Os exemplos seguintes são fornecidos para ilustrar ainda mais os métodos da presente invenção. Esses exemplos são apenas ilustrativos e não visam limitar o escopo da invenção de modo algum.

**EXEMPLOS**

**Exemplo 1**

**Materiais e métodos**

*Isolamento de compostos produzidos por Malassezia*

[771] Malassezina é isolada usando, por exemplo, os procedimentos descritos em Wille *e cols.*, 2001. O protocolo é descrito brevemente abaixo.

*Meio*

[772] Um meio que consiste em Tween 80 (30 ml), cicloheximida (0,5 g), cloranfenicol (0,05 g), ágar (20 g), e um volume de água suficiente para uma mistura de 1.000 ml é esterilizado e misturado com L-triptofano 0,3% estéril filtrado em uma concentração de 0,3 g% a 50°C. Porções de 10 ml são derramadas em placas de Petri de 10 cm e o pH é ajustado até 5,5 usando 0,1 M de HCl.

*Cultivo de Malassezia furfur* e *isolamento de compostos produzidos por M. furfur*

[773] *Malassezia furfur* é esfregada no meio descrito acima e incubada por 14 dias a 30°C. O conteúdo da placa de

Petri é derramado e extraído com acetato de etila por 12 horas. O extrato é filtrado sobre lã de vidro, evaporado até a secura, e dissolvido em metanol. O extrato é então fracionado por cromatografia em Sefadex LH-20 com metanol como o eluente. Separação adicional é obtida com cromatografia preparativa de camada delgada com tolueno:formato de etila:ácido fórmico (10:5:3). As zonas principais são divididas entre água e acetato de etila. As frações são analisadas quanto à atividade de interesse. Os compostos de frações de interesse são isolados por HPLC.

*Síntese de Malassezina e análogos químicos de Malassezina*

[774] Malassezina é sintetizada de acordo com o he protocolo descrito em Wille *e cols.*, 2001. Os análogos químicos de malassezina são sintetizados de acordo com novos protocolos de síntese, bem como aqueles descritos em Winston-McPherson, *e cols.*, 2014.

*Protocolos de avaliação*

[775] Compostos para o clareamento da pele eficazes são avaliados usando tanto protocolos de avalição conhecidos por aqueles habilitados na técnica quanto novos métodos de avaliação. Por exemplo, malassezina e análogos químicos desta são avaliados por um bioensaio de tirosinase, como descrito acima. Outros protocolos de avaliação que envolvem modelos tanto de célula *in vitro* quanto de tecido *in vivo* são utilizados, incluindo ensaios de ligação do receptor de aril-hidrocarboneto (AhR).

*Bioensaio de tirosinase*

[776] Bioensaios de tirosinases são realizados como descrito em Wille *e cols.*, 2001. Resumidamente, L-DOPA é

misturada com a enzima tirosinase. A extinção é medida ao longo de 1 minuto, indicando a formação de dopaquinona. Usando, por exemplo, as frações discutidas acima, essas frações são dissolvidas em DMSO e adicionadas diretamente à reação de tirosinase, com DMSO puro como um controle. A atividade inibidora de tirosinase é medida como aumento reduzido na extinção, comparado com controle.

*Ensaio de ligação do receptor de aril-hidrocarboneto*

[777] Os ensaios de ligação de AhR são realizados de acordo com o protocolo descrito, por exemplo, em Song, *e cols.*, 2002. Resumidamente, AhRs humanos e murídeos são expressos *in vitro* usando, por exemplo, uma reação “TnT Quick-Coupled Reticulocyte Lysate Systems” (Promega, Madison, WI). estudos de ligação ao ligante do receptor utilizam sedimentação em velocidade em gradientes de sacarose, como descrito em Karchner, *e cols.*, 1999.

*Ensaio de EROD*

[778] Compostos, composições e formulações da presente invenção também são avaliados usando o ensaio de etoxiresorufina-*O*-deetilase (EROD) conhecido por aqueles habilitados na técnica (Donato, *e cols.*, 1993; Whyte, *e cols.*, 2000; Wille *e cols.*, 2001).

*Ensaios de apoptose de melanócito*

[779] Compostos candidatos são avaliados quanto à atividade de indução de apoptose em melanócitos. Melanócitos epidérmicos humanos são cultivados em Meio 254 suplementado com Suplemento de Crescimento de Melanócito Humano (HMGS) (rmo-Fisher Scientific, Waltham, MA) ou Meio Basal de Célula Dérmica (ATCC, Manassas, VA). Componentes adicionais de meios de crescimento de melanócitos humanos podem incluir,

sem limitação, insulina (5 μg/ml), ácido ascórbico (50 μg/ml), L-glutamina (6 mM), epinefrina (1,0 μM) e cloreto de cálcio (0,2 mM). Culturas de melanócitos humanos são mantidas a 37°C em $CO_2$ 5%.

[780] Compostos candidatos são diluídos em DMSO e misturados diretamente em culturas de melanócitos. Volumes equivalentes de DMSO puro são usados como controles. Ensaios de citotoxicidade conhecidos por aqueles habilitados na técnica são realizados de acordo com as instruções do fabricante. Os ensaios de citotoxicidade que são usados na presente invenção incluem, sem limitação, Ensaio de Citotoxicidade CellTox™ Green, ensaios fluorescentes de caspase Apo-ONE, ensaio ApoTox-Glo™ e ensaios Caspase-Glo® (Promega, Madison, WI). A detecção de fluorescência é obtida usando ensaios padronizados FACS ou de microscopia conhecidos na técnica, incluindo aqueles descritos em Krämer, *e cols.*, 2005.

[781] São usados meios adicionais de avaliação de apoptose, incluindo análises por FACS para anexina V e *Western blots* para expressão de caspase-9. *Western blotting* é realizado de acordo com métodos conhecidos por aqueles habilitados na técnica.

*Ensaios de xenoenxerto em camundongo*

[782] Modelos em camundongo de xenoenxerto de pele humana são gerados de acordo com protocolos conhecidos na técnica. (Black, *e cols.*, 1985; Manning *e cols.*, 1973; Reed, *e cols.*, 1973; Plenat, *e cols.*, 1992; Scott *e cols.*, 1998; Otulakowski, *e cols.*, 1994). Uma vez estabelecidos, modelos em camundongo de xenoenxerto são expostos aos compostos da presente invenção e as alterações na pigmentação são

observadas em comparação com controles. As alterações na pigmentação da pele são avaliadas usando várias escalas de pigmentação conhecidas por aqueles habilitados na técnica incluindo, sem limitação, o teste de tipagem da pele da Fitzpatrick e a Escala de Hiperpigmentação de Taylor. (Taylor, *e cols.*, 2005).

*Ensaios humanos*

[783] Compostos, composições e formulações da presente invenção são aplicados a humanos, por exemplo, em pele humana, e comparados com substâncias de controle. As alterações na pigmentação da pele são avaliadas usando várias escalas de pigmentação conhecidas por aqueles habilitados na técnica incluindo, sem limitação, o teste de tipagem da pele da Fitzpatrick e a Escala de Hiperpigmentação de Taylor.

**Exemplo 2**

**Alvo bioquímico de malassezina e seus análogos**

[784] Espera-se que os compostos e composições da presente invenção exibirão, por exemplo, inibição de tirosinase e atividade agonista de AhR comparáveis com malassezina. Espera-se que os compostos e composições da presente invenção exibam, por exemplo, inibição de tirosinase mais potente e agonismo para AhR mais forte comparados com malassezina. Da mesma forma, espera-se que alguns dos compostos e composições da presente invenção sejam inibidores de tirosinase e agonistas de AhR menos eficazes do que malassezina. Esses compostos, composições e formulações podem ter perfis de toxicidade mais favoráveis comparados com compostos mais potentes.

**Exemplo 3**

**Eficácia *in vitro***

[785] Espera-se que os compostos e composições da presente invenção induzirão apoptose de melanócitos e modularão a atividade de melanócitos, produção de melanina, biogênese de melanossoma e/ou transferência de melanossoma pelo menos de forma tão potente quanto malassezina. Também é contemplado que alguns dos compostos e composições da presente invenção efetuarão esses processos biológicos de forma menos potente do que malassezina. Esses compostos e composições podem ter perfis de toxicidade mais favoráveis comparados com espécies mais potentes.

**Exemplo 4**

**Eficácia *in vivo***

[786] Espera-se que os compostos e composições da presente invenção serão pelo menos tão eficazes quanto malassezina para clareamento da pele e melhora da hiperpigmentação causada por distúrbios de hiperpigmentação. Espera-se ainda que os compostos e composições da presente invenção exibirão perfis farmacocinéticos favoráveis em termos de, por exemplo, meia-vida e absorção. Certos compostos exibirão uma meia-vida mais longa, enquanto outros exibirão uma meia-vida mais curta. Similarmente, certos compostos exibirão perfis de absorção diferentes, com alguns compostos levando mais tempo para serem totalmente absorvidos e outros levando menos tempo para serem totalmente absorvidos.

**Exemplo 5**

**Síntese de derivados de malassezina e malassezina**

[787] Malassezina (“CV-8684”) e seu derivado ciclizado indol[3,2-b]carbazol (“CV-8685”) foram sintetizados de acordo com o esquema mostrado na Fig. 2A.

*Síntese de terc-butil (2-iodo-fenil)carbamato, composto* ***1***

[788] A uma solução de 2-iodo-anilina (25,0 g, 0,114 mol) em tetrahidrofurano (250 ml) a 0°C foi adicionado LiHMDS (251,0 ml, 1 M em THF, 0,251 mol) lentamente enquanto se mantinha a temperatura interna abaixo de 5°C ao longo de 40 min. Após agitação por 30 min a 0°C, uma solução de anidrido de BOC (27,0 g, 0,125 mol) em THF (50 ml) foi adicionada lentamente enquanto se mantinha a temperatura interna abaixo de 5°C ao longo de 40 min. A mistura de reação foi aquecida até a temperatura ambiente e agitada por 1 hora. $NH_4Cl$ saturado (250 ml) foi adicionado para extinguir a reação. A camada orgânica foi separada e lavada com água (150 ml). A camada aquosa combinada foi extraída com acetato de etila (2 x 150 ml), as camadas foram separadas. A camada de acetato de etila foi combinada com a camada orgânica original e concentrada em vácuo para gerar um óleo marrom. O composto bruto foi purificado por cromatografia em coluna (acetato de etila 0-5%/hexanos). Composto **1** foi obtido como um líquido amarelo claro (29,0 g, 80%).

*Síntese de composto* ***2***

[789] Iodeto de cobre (0,95 g, 10% mol) e $PdCl_2(PPh_3)_4$ (1,75 g, 5% mol) foi adicionado a uma solução desgaseificada de composto **1** (16,0 g, 0,05 mol), éter metílico de propargila (4,25 g, 0,06 mol) em trietilamina (200 ml) em temperatura ambiente. Após agitação em temperatura ambiente ao longo de 2 horas, a reação estava completa (monitorada por TLC usando acetato de etila 10%/hexanos). A mistura de reação foi diluída com acetato de etila (300 ml), lavada com água, NaCl saturado e seca sobre $Na_2SO_4$. O solvente foi filtrado e

concentrado em vácuo para gerar um óleo marrom. O composto bruto foi purificado por cromatografia em coluna (acetato de etila 10%/hexano). Composto **2** foi obtido como um líquido amarelo claro (13,0 g, 99%).

*Síntese de composto* **3**

[790] A um frasco seco no forno foram adicionados $PtCl_2$ (0,26 g, 0,001 mol), $Na_2CO_3$ (1,6 g, 0,015 mol), indol (2,32 g, 0,02 mol) e composto **2** (2,6 g, 0,01 mol) em dioxano (120 ml). O frasco foi desgaseificado com nitrogênio, lacrado e aquecido até 100°C de um dia para o outro. A seguir, a reação estava completa (monitorada por TLC usando acetato de etila 10%/hexanos). O solvente foi evaporado sob pressão reduzida. A mistura de reação foi diluída com acetato de etila (200 ml), lavada com água, NaCl saturado e seca sobre $Na_2SO_4$. O solvente foi filtrado e concentrado em vácuo para gerar um óleo marrom.

[791] Essa reação foi repetida usando o composto **2** (2,6 g, 0,01 mol) em bateladas diferentes. Os compostos brutos das bateladas foram combinados e purificados por cromatografia em coluna (acetato de etila 10%/hexano). Composto **3** foi obtido como um sólido marrom claro (3,8 g, 55%).

*Síntese de composto* **4**

[792] Carbonato de potássio (4,6 g, 0,0329 mol) foi adicionado a uma solução de composto **3** (3,8 g, 0,0109 mol) em mistura de metanol (150 ml) e água (50 ml) em temperatura ambiente. A suspensão resultante foi aquecida até o refluxo de um dia para o outro. A seguir, a reação estava completa (monitorada por TLC usando acetato de etila 20%/hexanos). A mistura de reação foi resfriada até a temperatura ambiente

e o solvente concentrado em vácuo. O resíduo foi recolhido em acetato de etila (200 ml) e lavado com água e salmoura e depois seco (sulfato de sódio), filtrado, o solvente concentrado em vácuo para gerar como um sólido marrom. O composto bruto foi purificado por cromatografia em coluna (acetato de etila 20%/hexano. Composto **4** foi obtido como um sólido de cor laranja (2,2 g, 81%).

*Síntese de composto* **Malassezina (CV-8684)**

[793] A um frasco de fundo redondo de dois gargalos de 100 ml seco sob argônio a 0°C, dimetilformamida (20 ml) foi adicionada. $POCl_3$ (0,75 g, 0,0048 mol) foi adicionado lentamente enquanto se mantinha a temperatura interna abaixo de 5°C ao longo de 10 min. Após agitação por 30 min a 0°C, uma solução de composto **4** (1,0 g, 0,004 mol) em dimetilformamida (5 ml) foi adicionada lentamente enquanto se mantinha a temperatura interna abaixo de 5°C ao longo de 10 min. A mistura resultante foi agitada em temperatura ambiente de um dia para o outro. A seguir, a reação estava completa (monitorada por TLC usando acetato de etila 20%/hexanos). A mistura de reação foi derramada em bicarbonato de sódio aquoso saturado (150 ml) e agitada por 1 hora. A mistura resultante foi extraída com acetato de etila (2 x 100 ml). As camadas orgânicas foram combinadas e lavadas com água, NaCl saturado e secas sobre $Na_2SO_4$. O solvente foi filtrado e concentrado em vácuo para gerar um sólido marrom. O composto bruto foi purificado por cromatografia em coluna (acetato de etila 0-20%/hexanos). Composto **Malassezina (CV-8684)** foi obtido como um sólido rosa claro (0,82 g, 74%).

[794] Pureza por HPLC: 97,8% (% da área). $^1$H-RMN,

espectro de $^{13}C$ consistente com a estrutura. ESI-MS: Calculado para $C_{18}H_{15}N_2O$ $(M + H)^+$: 275, encontrado: 275,2.

*Síntese de composto* Indol[3,2-b]carbazol (CV-8685).

[795] HCl concentrado (0,25 ml) foi adicionado a uma solução de **malassezina** (0,75 g) em tetrahidrofurano (120 ml) em temperatura ambiente. A mistura resultante foi aquecida até o refluxo de um dia para o outro. A seguir, a reação estava completa (monitorada por TLC usando acetato de etila 40%/hexanos). A mistura de reação foi resfriada até a temperatura ambiente e agitada por 1 hora. O sólido foi filtrado, lavado com tetrahidrofurano (20 ml) e seco para gerar **Indol[3,2-b]carbazol (CV-8685)** como um sólido amarelo claro (0,55 g, 78%).

[796] Pureza por HPLC: 96,22% (% da área). $^1H$-RMN, espectro de $^{13}C$ consistente com a estrutura. ESI-MS: Calculado para $C_{18}H_{13}N_2$ $(M + H)^+$: 257, encontrado: 257,5.

[797] Composto I (“CV-8686”) e composto IV (“CV-8687”) foram sintetizados de acordo com o esquema mostrado na Fig. 2B.

*Síntese de composto* **5**

[798] A um frasco seco no forno foram adicionados $PtCl_2$ (1,0 g, 0,0038 mol), $Na_2CO_3$ (6,1 g, 0,057 mol), 6-metil indol (10,0 g, 0,076 mol) e composto **2** (10,0 g, 0,038 mol) em dioxano (250 ml). O frasco foi desgaseificado com nitrogênio, lacrado e aquecido até 100°C de um dia para o outro. A seguir, a reação estava completa (monitorada por TLC usando acetato de etila 10%/hexanos). O solvente foi evaporado sob pressão reduzida. A mistura de reação foi diluída com acetato de etila (400 ml), lavada com água, NaCl saturado e seca sobre $Na_2SO_4$. O solvente foi filtrado e concentrado em vácuo

para gerar um óleo marrom. O composto bruto foi purificado por cromatografia em coluna (acetato de etila 10%/hexano). Composto **5** foi obtido como um sólido marrom claro (6,5 g, 47%).

*Síntese de composto* **6**

[799] Carbonato de potássio (7,4 g, 0,054 mol) foi adicionado a uma solução de composto **5** (6,5 g, 0,018 mol) em mistura de metanol (150 ml) e água (50 ml) em temperatura ambiente. A suspensão resultante foi aquecida até o refluxo de um dia para o outro. A seguir, a reação estava completa (monitorada por TLC usando acetato de etila 20%/hexanos). A mistura de reação foi resfriada até a temperatura ambiente e o solvente concentrado em vácuo. O resíduo foi recolhido em acetato de etila (200 ml) e lavado com água e salmoura e depois seco (sulfato de sódio), filtrado, o solvente concentrado em vácuo para gerar um sólido marrom. O composto bruto foi purificado por cromatografia em coluna (acetato de etila 20%/hexano). Composto **6** foi obtido como um sólido de cor laranja (3,3 g, 72%).

*Síntese de composto* **composto I (CV-8686)**

[800] A um frasco de fundo redondo de dois gargalos de 100 ml seco sob argônio a 0°C, dimetilformamida (20 ml) foi adicionada. $POCl_3$ (0,6 g, 0,0038 mol) foi adicionado lentamente enquanto se mantinha a temperatura interna abaixo de 5°C ao longo de 10 min. Após agitação por 30 min a 0°C, uma solução de composto **6** (1,0 g, 0,0038 mol) em dimetilformamida (5 ml) foi adicionada lentamente enquanto se mantinha a temperatura interna abaixo de 5°C ao longo de 10 min. A mistura resultante foi agitada em temperatura ambiente de um dia para o outro. A seguir, a reação estava

completa (monitorada por TLC usando acetato de etila 20%/hexanos). A mistura de reação foi derramada em bicarbonato de sódio aquoso saturado (150 ml) e agitada por 1 hora. A mistura resultante foi extraída com acetato de etila (2 x 100 ml). As camadas orgânicas foram combinadas e lavadas com água, NaCl saturado e secas sobre $Na_2SO_4$. O solvente foi filtrado e concentrado em vácuo para gerar um sólido marrom. O composto bruto foi purificado por cromatografia em coluna (acetato de etila 0-20%/hexanos). **Composto I (CV-8686)** foi obtido como um sólido rosa claro (0,84 g, 75%).

[801] Pureza por HPLC: 97,01% (% da área). $^1$H-RMN, espectro de $^{13}$C consistente com a estrutura. ESI-MS: Calculado para $C_{19}H_{17}N_2O$ $(M + H)^+$: 289, encontrado: 289,1.

*Síntese de composto* **composto IV (CV-8687)**

[802] HCl concentrado (0,3 ml) foi adicionado a uma solução de **composto I** (1,0 g) em tetrahidrofurano (125 ml) em temperatura ambiente. A mistura resultante foi aquecida até o refluxo de um dia para o outro. A seguir, a reação estava completa (monitorada por TLC usando acetato de etila 40%/hexanos). A mistura de reação foi resfriada até a temperatura ambiente e agitada por 1 hora. O sólido foi filtrado, lavado com tetrahidrofurano (20 ml) e seco para gerar o compost**o IV (CV-8687)** como um sólido amarelo claro (0,84 g, 89%).

[803] Pureza por HPLC: 98,4% (% da área). $^1$H-RMN, espectro de $^{13}$C consistente com a estrutura. ESI-MS: Calculado para $C_{19}H_{15}N_2$ $(M + H)^+$: 271, encontrado: 271,3.

[804] Composto II (“CV-8688”) foi sintetizado de acordo com o esquema mostrado na Fig. 2C.

*Síntese de composto* **7**

[805] Iodeto de cobre (0,53 g, 10% mol) e $PdCl_2(PPh_3)_4$ (1,0 g, 5% mol) foram adicionados a uma solução desgaseificada de composto **1** (9,0 g, 0,03 mol), 3-metóxi-1-butino (2,8 g, 0,035 mol) em trietilamina (150 ml) em temperatura ambiente. Após agitação em temperatura ambiente ao longo de 2 horas, a reação estava completa (monitorada por TLC usando acetato de etila 10%/hexanos). A mistura de reação foi diluída com acetato de etila (300 ml), lavada com água, NaCl saturado e seca sobre $Na_2SO_4$. O solvente foi filtrado e concentrado em vácuo para gerar um óleo marrom. O composto bruto foi purificado por cromatografia em coluna (acetato de etila 10%/hexano). Composto **7** foi obtido como um líquido amarelo claro (7,0 g, 90%).

*Síntese de composto* **8**

[806] A um frasco seco no forno foram adicionados $PtCl_2$ (0,68 g, 0,0025 mol), $Na_2CO_3$ (4,0 g, 0,038 mol), indol (6,0 g, 0,05 mol) e composto **7** (10,0 g, 0,025 mol) em dioxano (250 ml). O frasco foi desgaseificado com nitrogênio, lacrado e aquecido até 100°C de um dia para o outro. A seguir, a reação estava completa (monitorada por TLC usando acetato de etila 10%/hexanos). O solvente foi evaporado sob pressão reduzida. A mistura de reação foi diluída com acetato de etila (400 ml), lavada com água, NaCl saturado e seca sobre $Na_2SO_4$. O solvente foi filtrado e concentrado em vácuo para gerar um óleo marrom. O composto bruto foi purificado por cromatografia em coluna (acetato de etila 10%/hexano). Composto **8** foi obtido como um sólido marrom claro (3,5 g, 77%).

*Síntese de composto* **9**

[807] Carbonato de potássio (3,8 g, 0,027 mol) foi adicionado a uma solução de composto **8** (3,3 g, 0,0091 mol) em metanol (75 ml) e água (25 ml) mistura em temperatura ambiente. A suspensão resultante foi aquecida até o refluxo de um dia para o outro. A seguir, a reação estava completa (monitorada por TLC usando acetato de etila 20%/hexanos). A mistura de reação foi resfriada até a temperatura ambiente e o solvente concentrado em vácuo. O resíduo foi recolhido em acetato de etila (200 ml) e lavado com água e salmoura e depois seco (sulfato de sódio), filtrado, o solvente concentrado em vácuo para gerar um sólido marrom. O composto bruto foi purificado por cromatografia em coluna (acetato de etila 20%/hexano). Composto **9** foi obtido como um sólido de cor laranja (2,1 g, 88%).

*Síntese de composto* **composto II (CV-8688)**

[808] A um frasco de fundo redondo de dois gargalos de 100 ml seco sob argônio a 0°C, dimetilformamida (20 ml) foi adicionada. $POCl_3$ (0,76 g, 0,005 mol) foi adicionado lentamente enquanto se mantinha a temperatura interna abaixo de 5°C ao longo de 10 min. Após agitação por 30 min a 0°C, uma solução de composto **9** (1,3 g, 0,005 mol) em dimetilformamida (5 ml) foi adicionada lentamente enquanto se mantinha a temperatura interna abaixo de 5°C ao longo de 10 min. A mistura resultante foi agitada em temperatura ambiente de um dia para o outro. A seguir, a reação estava completa (monitorada por TLC usando acetato de etila 20%/hexanos). A mistura de reação foi derramada em bicarbonato de sódio aquoso saturado (150 ml) e agitada por 1 hora. A mistura resultante foi extraída com acetato de etila (2 x 100 ml). As camadas orgânicas foram combinadas e

lavadas com água, NaCl saturado e secas sobre $Na_2SO_4$. O solvente foi filtrado e concentrado em vácuo para gerar um sólido marrom. O composto bruto foi cristalizado em clorofórmio (25 ml). **Composto II (CV-8688)** foi obtido como um sólido rosa claro (0,81 g, 53%).

[809] Pureza por HPLC: 98,94% (% da área). $^1$H-RMN, espectro de $^{13}$C consistente com a estrutura. ESI-MS: Calculado para $C_{19}H_{17}N_2O$ $(M + H)^+$: 289, encontrado: 289,0.

**Exemplo 6**

**Morfologia da célula**

[810] A morfologia típica das células após vários tratamentos é mostrada nas Figs. 5A-5K, 6A-6K, 7A-7K, 8A-8K, 9A-9K, 10A-10K, 11A-11K e 12A-12K. A morfologia de ambas as linhagens de células foi afetada significantemente por 100 µM de CV-8684 e CV-8688, bem como pelo tratamento com estaurosporina em 6 horas. CV-8685 pareceu que só afetou WM115 a 100 µM.

**Exemplo 7**

**Atividade de indução de apoptose de derivados de malassezina e malassezina - Ensaios preliminares de Anexina V**

*Materiais e reagentes*

[811] O kit de ensaio de Anexina V-FITC foi adquirido de Beyotime Biotechnology, meio RPMI 1640 e Meio de Eagle Modificado por Dulbecco (“DMEM”) foram adquiridos de Gibco, soro bovino fetal (“FBS”) foi adquirido de Invitrogen, solução antibiótica antimicótica estabilizada (100x) foi adquirida de Sigma, e tripsina-EDTA 0,25% (1X), vermelho fenol foi adquirido de Invitrogen.

*Cultura de células*

[812] Células MeWo (ATCC® HTB-65™) e WM115 (ATCC® CRL-1675) foram adquiridas de ATCC (Manassas, VA) e mantidas no seguinte: para MeWo: DMEM suplementado com FBS 10%; para WM115: RPMI 1640 suplementado com FBS 10% (FBS 10%, solução antibiótica antimicótica estabilizada 1%).

*Sumário do estudo*

**[813]** Nos estágios intermediários da apoptose, fosfatidilserina (“PS”) é translocada do folheto interno para o externo da membrana celular, expondo PS ao ambiente extracelular, onde pode ser detectada. Conjugados altamente fluorescentes de anexina V fornecem métodos de detecção rápidos e confiáveis para o estudo da externalização de PS.

**[814]** Durante o primeiro conjunto de estudos, tanto células MeWo quanto células WM115 foram tratadas com compostos de teste em 10 doses partindo de 100 µM com diluição de 3 vezes. Estaurosporina foi usada como controle positivo. Após tratamento por 6 horas, a apoptose das células foi avaliada usando um ensaio de anexina V. Os compostos de teste avaliados foram CV-8684, CV-8685, CV-8686, CV-8687 e CV-8688.

*Procedimentos do ensaio*

[815] Para semeadura de células, as células foram coletadas e o número de células foi determinado usando o contador de células Countess®. As células foram então diluídas com meio de cultura até a densidade desejada. Quarenta µl de suspensão de células por poço foram adicionados ao número de poços necessário em uma placa de 384 poços (Corning 3712 - placa de fundo transparente). A densidade de células final foi de 6.000 células / poço. Após plaqueamento, as placas foram incubadas a 37°C e $CO_2$ 5% de

um dia para o outro.

[816] Para a preparação de placa-fonte de composto, cada composto de teste foi dissolvido em DMSO para estoque de 10 mM. A diluição serial de 3 vezes foi realizada usando um manuseador de líquidos EVO200™ (TECAN) para gerar dez concentrações de composto de teste. DMSO 0,1% foi empregado como controle de veículo (negativo). A placa-fonte de composto foi então centrifugada em temperatura ambiente a 1.000 RPM por 1 minuto e agitada usando uma agitadora de placas por 2 minutos.

[817] Para tratamento com composto, 40 nl de composto foram transferidos da placa-fonte de composto para uma placa de cultura de 384 poços usando o manuseador de líquidos Echo550 (LabCyte Inc.). Após incubação de 6 horas, as placas foram removidas da incubadora para detecção.

[818] Para o ensaio preliminar de anexina V, as placas foram removidas da incubadora e foi permitido que equilibrassem em temperatura ambiente por 15 minutos. O meio de cultura foi então removido. Vinte µl de solução de trabalho de anexina V-FITC pré-misturados e corante Hoechst33342 foram adicionados a cada poço. As células foram então incubadas em temperatura ambiente por 20 minutos. As placas foram lacradas e centrifugadas por 1 minuto a 1.000 RPM para remover bolhas. A seguir, a placa foi lida usando uma leitora de placas Acumen eX3. A atividade relativa foi calculada de acordo com a seguinte fórmula: Atividade (%) = 100% x ($Contagem_{Anexina\ V}$ / $Countagem_{Células\ totais}$), e $EC_{50}$ foi calculada usando GraphPad Prism (v. 5.01).

*Resultados*

**[819]** Na avaliação preliminar discutida acima, CV-8688

aumentou acentuadamente a coloração de anexina V de células MeWo, com uma $EC_{50}$ de 908,57 nM. Estaurosporina, o controle positivo, aumentou acentuadamente a coloração de anexina V em ambas as linhagens de células. (Figs. 3A-3M).

Exemplo 8

[820] Atividade de indução de apoptose de derivados de malassezina e malassezina - Avaliação adicional usando ensaios de Anexina V

*Sumário do estudo*

[821] Para investigar ainda mais o impacto de compostos de teste sobre a apoptose, múltiplas leituras, cobrindo diferentes estágios de apoptose, foram feitas em células MeWo e WM115. Ambos os tipos de células foram tratados com compostos de teste em 3 doses (100 µM, 10 µM e 1 µM). Estaurosporina foi usada como um controle positivo. Após o período de tratamento desejado (6, 24, 48 ou 72 horas), apoptose foi avaliada por medição das percentagens de células que demonstram ligação de anexina V após exposição aos compostos de teste. Os compostos de teste avaliados foram CV-8684, CV-8685 e CV-8688.

*Procedimentos do ensaio*

**[822]** A semeadura de células foi realizada como discutido acima com as seguintes exceções: a densidade de células final foi de 4.000 células / poço para detecções em 6 horas e 24 horas, enquanto 2.000 células / poço foram usadas para detecções em 48 horas e 72 horas. Para cada ponto do tempo, placas de fundo transparente de 384 poços (Corning 3712) e placas de fundo branco sólido (Corning 3570) foram preparadas. As placas foram incubadas como discutido acima.

[823] Para a preparação da placa-fonte de composto, cada

composto de teste foi dissolvido em DMSO para o estoque de 10 mM. Duas concentrações adicionais foram geradas por diluição de 10 vezes até 1 mM e 0,1 mM. Estaurosporina foi usada como controle positivo e DMSO 1% foi empregado como controle de veículo (negativo). A placa-fonte de composto foi centrifugada em temperatura ambiente a 1.000 RPM por 1 minuto e agitada usando uma agitadora de placas por 2 minutos.

[824] Quatrocentos nl de composto de teste foram transferidos da placa-fonte de composto para placas de cultura de 384 poços usando um manuseador de líquidos Echo550. Após 6, 24, 48 e 72 horas, as placas foram removidas da incubadora para detecções.

[825] Para o ensaio de anexina V, as placas foram removidas da incubadora e equilibradas em temperatura ambiente por 15 minutos. Meio de cultura foi removido e as células foram lavadas duas vezes com PBS. Vinte µl de anexina V-FITC pré-misturados solução de trabalho foram adicionados a cada poço. As células foram incubadas em temperatura ambiente por 20 minutos. As placas foram lidas usando Acumen eX3 para contar o número de células FITC-positivas. A atividade relativa foi calculada de acordo com a seguinte fórmula: Atividade relativa (%) = 100% x ($Contagem_{Amostra}$ / $Contagem_{Veículo}$).

*Resultados*

[826] CV-8684 induziu apoptose na maior concentração testada após 6 horas de tratamento em células MeWo e WM115. CV-8685 mostrou o efeito de indução com 24 horas de tratamento em WM115, enquanto 48 horas de tratamento pareceram provocar apoptose em ambos os tipos de células.

Finalmente, CV-8688 mostrou o efeito de indução dentro de 6 horas de tratamento de uma forma dose-dependente em ambos os tipos de células. (Figs. 4A-4L).

**Exemplo 9**

**Viabilidade celular após exposição aos derivados de malassezina e malassezina - Ensaios CellTiter-Glo®**

*Procedimentos do ensaio*

[827] Ensaio CellTiter-Glo® 2.0 foi adquirido de Promega. A semeadura de células, preparação da placa-fonte de composto e exposição de células aos compostos de teste foram realizados como descrito no Exemplo 8.

**[828]** Para o ensaio CellTiter-Glo®, as placas foram removidas da incubadora e equilibradas em temperatura ambiente por 15 minutos. Reagentes de CellTiter-Glo® foram descongelados e equilibrados até a temperatura ambiente antes do experimento. Quarenta µl de reagente CellTiter-Glo® foram então adicionados a cada poço para detecção (um proporção de 1:1 para o meio de cultura). As placas foram então incubadas em temperatura ambiente por 30 minutos e lidas usando uma leitora de placas EnSpire (PerkinElmer). A atividade restante foi calculada de acordo com a seguinte fórmula: Atividade restante (%) = 100% x ($Lum_{amostra}$ - $Lum_{bkg}$) / ($Lum_{veículo}$ - $Lum_{bkg}$).

*Resultados*

[829] CV-8684 mostrou inibição dose-dependente da viabilidade celular em ambas as linhagens de células testadas, embora o efeito inibidor pareceu ser mais potente em células MeWo. CV-8685 exibiu o efeito inibidor sobre a viabilidade de células WM115 de uma forma dose-dependente somente após tratamento por 24 horas. CV-8688 inibiu a

viabilidade de ambos os tipos de células de uma forma dose-dependente. Estaurosporina, o controle positivo, exerceu 100% de inibição da viabilidade celular em ambas as linhagens de células após tratamento por 24 horas (Figs. 13A-13K).

**Exemplo 10**

**Citotoxicidade de derivados de malassezina e malassezina - Ensaios de liberação de lactato desidrogenase**

*Sumário do estudo*

[830] O ensaio de LDH mede quantitativamente a lactato desidrogenase (“LDH”) liberada no meio por células danificadas como um biomarcador para citotoxicidade e citólise.

*Procedimentos do ensaio*

[831] O Ensaio de Integridade Homogênea da Membrana CytoTox-ONE™ foi adquirido de Promega. A semeadura de células, preparação da placa-fonte de composto e exposição de células aos compostos de teste foram realizados como descrito no Exemplo 8.

[832] Para o ensaio de liberação de LDH, as placas foram removidas da incubadora e equilibradas em temperatura ambiente por 15 minutos. As placas foram então centrifugadas a 1.000 RPM por 1 minuto. Vinte µl de meio de cultura de células foram transferidos para uma nova placa sólida preta de 384 poços. A seguir, 20 µl de CytoTOX-ONE™ foram adicionados em cada poço e incubados em temperatura ambiente por 10 minutos. A seguir, 10 µl de solução de parada foram adicionados a cada poço, e as placas foram agitadas a 500 rpm por 1 minuto. As placas foram lidas usando um comprimento de onda de excitação de 560 nm e um comprimento de onda de emissão de 590 nm em EnSpire. A atividade relativa foi

calculada de acordo com a seguinte fórmula: Atividade relativa (%) = 100% x ($Lum_{amostra}$ - $Lum_{bkg}$) / ($Lum_{veículo}$ - $Lum_{bkg}$).

*Resultados*

[833] CV-8684 não induziu liberação significante em qualquer uma das linhagens de células após incubação de 72 horas. CV-8685 mostrou um efeito de indução dose-dependente sobre a liberação de LDH por células WM115, mas não MeWo, após tratamento por 24 horas. CV-8688 induziu liberação de LDH na maior concentração testada. (Figs. 14A-14L).

**Exemplo 11**

**Potencial de ativação do receptor de aril-hidrocarboneto de derivados de malassezina e malassezina**

*Procedimentos do ensaio*

**[834]** Células HepG2-AhR-Luc foram adquiridas de Pharmaron, sistema de ensaio One-Glo Luciferase foi adquirido de Promega, DMEM foi adquirido de Hyclone, e penicilina / estreptomicina foi adquirida de Solabio.

**[835]** Meio de cultura para células HepG2 transfectadas estavelmente foi preparado por suplementação de DMEM com glicose elevada e L-glutamina, bem como FBS 10%.

**[836]** Células HepG2-AhR-Luc foram cultivadas em frascos T-75 a 37°C, $CO_2$ 5% e umidade relativa de 95%. Foi permitido que as células alcançassem 80-90% de confluência antes de descolamento e divisão.

**[837]** As células cultivadas foram enxaguadas com 5 ml de PBS. PBS foi removido por aspiração, 1,5 ml de tripsina foi adicionado ao frasco, e as células foram incubadas a 37°C por aproximadamente 5 minutos ou até que as células destacassem e flutuassem. A tripsina foi inativada por adição de meios contendo soro em excesso.

**[838]** A suspensão de células foi transferida para um tubo cônico e centrifugada a 120 g por 10 minutos para peletizar as células. As células foram ressuspensas em meios de semeadura em uma densidade adequada. Quarenta µl de células foram transferidos para uma placa de cultura de 384 poços (5 x $10^3$ células / poço). As placas foram colocadas na incubadora a 37°C por 24 horas.

**[839]** A seguir, soluções de estoque de compostos de teste e controle positivo de omeprazol foram preparadas. Quarenta nl de soluções de composto foram transferidos para a placa de ensaio usando Echo550. A placa foi então colocada de volta na incubadora para tratamento com composto.

[840] Mais tarde, após 24 horas de tratamento, a placa foi removida da incubadora e foi permitido que resfriasse em temperatura ambiente. Trinta µl do reagente One-Glo igual àquele do meio de cultura foram adicionados em cada poço. Foi permitido que as células fossem lisadas por pelo menos 3 minutos, e depois medidas em um luminômetro.

[841] Foram feitos gráficos de dose-respostas usando a análise de regressão não linear em XLfit, e os valores da $EC_{50}$ também foram calculados.

*Resultados*

[842] Os resultados ensaio de AhR-Luciferase são mostrados nas Figs. 15A-15F.

**Exemplo 12**

**Ensaios MelanoDerm™**

*Sumário do estudo*

[843] O objetivo desse estudo é avaliar a irritação dérmica potencial do artigo de teste ao Modelo de Pele MelanoDerm™ após exposições repetidas para seleção de dose

para um estudo subseqüente. A toxicidade será determinada por medição da conversão relativa de MTT (brometo de 3-[4,5-dimetiltiazol-2-il]-2,5-difeniltetrazólio) nos tecidos tratados com o artigo de teste comparados com os tecidos tratados com controle negativo/de solvente.

[844] O Modelo de Pele MelanoDerm™ fornecido por MatTek Corporation (Ashland, MA) será usado nesse estudo. O tecido MelanoDerm™ consiste em queratinócitos (NHEKs) e melanócitos (NHMs) epidérmicos normais, derivados de humanos, que foram cultivados para formar um modelo multicamadas, altamente diferenciado, da epiderme humana. Os NHMs dentro de coculturas passam por melanogênese espontânea que leva a tecidos de níveis variáveis de pigmentação. As culturas são desenvolvidas em inserções de cultura de células na interface ar-líquido, o que permite a aplicação tópica de moduladores da pele. O modelo MelanoDerm™ exibe características morfológicas e ultra-estruturais do tipo *in vivo*. NHMs localizados na camada basal da célula de tecidos MelanoDerm™ são dendríticos e produzem espontaneamente grânulos de melanina que progressivamente populam as camadas do tecido. Dessa forma, o sistema de teste pode ser usado para a avaliação de materiais que podem inibir ou estimular a produção de melanina em relação aos controles negativos.

[845] O design experimental desse estudo consiste na determinação do pH do artigo de teste puro, se possível (e/ou solução de dosagem, como apropriado) e um ensaio final para determinar a viabilidade tecidual relativa após exposições repetidas. O Modelo de Pele MelanoDerm™ será exposto ao artigo de teste por um total de 7 dias. O artigo de teste será aplicado topicamente ao Modelo de Pele MelanoDerm™ a

cada 48 horas (dentro de um intervalo de tempo de 48 ± 2 horas do tratamento prévio). A toxicidade do artigo de teste será determinada pela redução de enzima microssomal NAD(P)H-dependente de MTT (e, em um grau menor, pela redução de succinato desidrogenase de MTT) em tecidos de controle e tratados com o artigo de teste (Berridge e *cols.*, 1996). Os dados serão apresentados na forma de sobrevida relativa (conversão de MTT em relação ao controle negativo).

*Materiais*

[846] Meio de Manutenção MelanoDerm™ (EPI-100-LLMM) e Modelo de Pele MelanoDerm™ (MEL-300-A) foram fornecidos por MatTek Corporation. Ácido kójico 1% (preparado em água deionizada estéril) e MTT (brometo de 3-[4,5-dimetiltiazol-2-il]-2,5-difeniltetrazólio) foram fornecidos por Sigma. Meio de Eagle Modificado por Dulbecco (DMEM) contendo 2 mM de L-glutamina (Meio de Adição de MTT) foi fornecido por Quality Biological. Isopropanol foi fornecido por Aldrich. Solução Salina Tamponada com Fosfato Livre de $Ca^{++}$ e $Mg^{++}$ de Dulbecco Estéril (CMF-DPBS) foi fornecida por Invitrogen ou equivalente. Água Deionizada Estéril foi fornecida por Quality Biological ou equivalente. DMSO foi fornecido por CiVenti Chem.

*Procedimentos do ensaio*

[847] Os artigos de teste geralmente serão testados puros ou como indicado pelo Patrocinador (veja Anexo do Protocolo 1). Dez microlitros (10 μl) ou 25 μl de cada artigo de teste serão aplicados diretamente no tecido de modo a cobrir a superfície superior. Dependendo da natureza do artigo de teste (líquidos, géis, cremes, espumas etc.), o uso de um dispositivo de dosagem, malha ou outro auxílio

para permitir o espalhamento uniforme do artigo de teste sobre a superfície do tecido pode ser necessário.

[848] Nos dias de dosagem, cada artigo de teste será diluído pelo menos 200 vezes usando o volume apropriado de EPI-100-LLMM (ou solvente alternativo, como determinado durante a testagem de solubilidade). Uma diluição fresca em EPI-100-LLMM será preparada para cada dosagem. A diluição final será realizada para preparação da solução de dosagem será determinada a partir da avaliação da solubilidade acima e documentada no manual do estudo.

[849] DMSO diluído como 0,5% (v/v) em EPI-100-LLMM será usado como controle de veículo e dosado sobre os tecidos (doses de 10 μl e 25 μl) com base no mesmo procedimento usado para os artigos de teste e controles do ensaio.

[850] Os artigos de teste serão aplicados topicamente ao tecido MelanoDerm™ a cada 48 horas (dentro de um intervalo de tempo de 48 ± 2 horas do tratamento prévio) durante um experimento de 7 dias. Dez e 25 microlitros, respectivamente, de cada artigo de teste serão aplicados a cada tecido. Vinte e cinco microlitros dos controles positivos e negativos, respectivamente, serão aplicados a cada tecido.

[851] O pH do artigo de teste líquido puro (e/ou solução de dosagem, como apropriado) será determinado, se possível. O pH será determinado usando um papel de pH (por exemplo, com uma faixa de pH de 0 - 14 para estimar, e/ou uma faixa de pH de 5 - 10 para determinar um valor mais preciso). Os incrementos de pH típicos no papel de pH de faixa mais estreita são de aproximadamente 0,3 a 0,5 unidade de pH. O incremento máximo no papel de pH é de 1,0 unidade de pH.

[852] O ensaio final incluirá um controle negativo e um

controle positivo. Os tecidos MelanoDerm™ designados para o controle negativo do ensaio serão tratados com 25 µl de água deionizada estéril. Vinte e cinco microlitros de ácido kójico 1% (preparado em água deionizada estéril e filtrado no momento da preparação) serão usados para dosar os tecidos designados para o controle positivo do ensaio. O ácido kójico 1% será armazenado em um tubo coberto com folha de alumínio até ser usado dentro do prazo de 2 horas de preparação. Os tempos de exposição aos controles negativo e positivo serão idênticos àqueles usados para os artigos de teste.

[853] É necessário avaliar a habilidade de cada artigo de teste para reduzir diretamente MTT. Uma solução de MTT a 1,0 mg/ml será preparada em Meio de Adição de MTT como descrito abaixo. Aproximadamente 25 µl do artigo de teste serão adicionados a 1 ml da solução de MTT e a mistura incubada no escuro a 37°C ± 1°C por uma a três horas. Um controle negativo, 25 µl de água deionizada estéril, será testado concomitantemente. Se a cor da solução de MTT fica azul/violeta, supõe-se que o artigo de teste reduziu o MTT. Materiais de teste insolúveis em água podem exibir redução direta (escurecimento) somente na interface entre o artigo de teste e o meio.

[854] O teste de redução direta de MTT para o(s) artigo(s) de teste pode ter sido realizado previamente em um estudo independente. Nesses casos, os resultados do teste de redução direta de MTT pode ser usado para esse estudo específico e o estudo inicial será referenciado.

[855] Exposição de tecido: Pelo menos 16 horas após início das culturas, dois tecidos MelanoDerm™ (considerados não tratados no Dia 0) serão fotografados usando uma câmera

digital para ajudar na avaliação visual do grau de pigmentação dos tecidos no tempo zero do ensaio. Os procedimentos exatos usados para coletar imagens dos tecidos serão especificados no manual e relatório do estudo. Os tecidos MelanoDerm™ serão enxaguados com CMF-DPBS, serão blotados secos em papel absorvente estéril e limpos de líquido em excesso. Os tecidos MelanoDerm™ serão transferidos para os poços contendo MTT apropriados após enxágüe e processados no ensaio de MTT como descrito na seção “Ensaio de MTT”.

[856] Pelo menos 16 horas após início das culturas, os tecidos serão movidos para uma nova placa de 6 poços contendo 0,9 ml de EPI-100-LLMM fresco, pré-aquecido. O experimento será realizado ao longo de um intervalo de tempo de 7 dias. Dois tecidos serão tratados topicamente no primeiro dia, e a cada 48 horas (dentro de um intervalo de tempo de 48 +/- 2 horas do tratamento prévio) com 10 e 25 microlitros, respectivamente, de cada artigo de teste. O meio será renovado diariamente (dentro de um intervalo de tempo de 24 +/- 2 horas desde a troca prévia); os tecidos serão movidos para uma nova placa de 6 poços contendo 0,9 ml de EPI-100-LLMM fresco, pré-aquecido.

[857] Dois tecidos serão tratados topicamente no primeiro dia, e a cada 48 horas (dentro de um intervalo de tempo de 48 +/- 2 horas do tratamento prévio) com 25 μl de controles positivos e negativos, respectivamente. O meio será renovado diariamente (dentro de um intervalo de tempo de 24 +/- 2 horas desde a troca prévia); os tecidos serão movidos para uma nova placa de 6 poços contendo 0,9 ml de EPI-100-LLMM fresco, pré-aquecido. Os tecidos serão

incubados a 37 ± 1°C em uma atmosfera umidificada de $CO_2$ 5 ± 1% no ar (condições de cultura padronizadas) pelos tempos de exposição apropriados.

[858] Nos dias de dosagem, o tecido MelanoDerm™ será primeiro gentilmente enxaguado três vezes usando aproximadamente 500 µl de CMF-DPBS para remover qualquer artigo de teste residual. Os tecidos serão então movidos para uma nova placa de 6 poços contendo 0,9 ml de EPI-100-LLMM fresco, pré-aquecido e dosado com o artigo de teste, controle negativo ou positivo apropriado. Os tecidos serão incubados a 37 ± 1°C em uma atmosfera umidificada de $CO_2$ 5 ± 1% no ar (condições de cultura padronizadas) pelos tempos de exposição apropriados. O procedimento de enxágüe exato será documentado no manual do estudo.

[859] Ao final do experimento de 7 dias, os tecidos MelanoDerm™ dosados com o controle negativo ou positivo, e com cada artigo de teste serão fotografados usando uma câmera digital para ajudar na avaliação visual do grau de pigmentação dos tecidos ao final do ensaio (Dia 7). Os procedimentos exatos usados para coletar imagens dos tecidos serão especificados no manual e relatório do estudo. A seguir, a viabilidade dos tecidos será determinada por redução de MTT como indicado abaixo.

[860] Ensaio de MTT: Um estoque de 10X de MTT preparado em PBS (filtrado no momento da preparação da batelada) será descongelado e diluído em Meio de Adição de MTT aquecido para produzir a solução de 1,0 mg/ml no máximo duas horas antes do uso. Trezentos µl da solução de MTT serão adicionados a cada poço designado de uma placa de 24 poços pré-rotulada.

[861] Após o tempo de exposição, cada tecido MelanoDerm™ designado para o ensaio de MTT será enxaguado com CMF-DPBS, blotado seco em papel absorvente estéril, e limpo de líquido em excesso. Os tecidos MelanoDerm™ serão transferidos para os poços contendo MTT apropriados após enxágüe. As placas de 24 poços serão incubadas em condições-padrão por 3 ± 0,1 horas.

[862] Após 3 ± 0,1 horas, os tecidos MelanoDerm™ serão blotados em papel absorvente estéril, limpos de líquido em excesso, e transferidos para uma placa de 24 poços pré-rotulada contendo 2,0 ml de isopropanol em cada poço designado. As placas serão cobertas com parafilme e armazenadas no refrigerador (2-8°C) até o último tempo de exposição ser colhido. Se necessário, as placas podem ser armazenadas de um dia para o outro (ou até 24 horas após o último tempo de exposição ser colhido) no refrigerador antes da extração do MTT. A seguir, as placas serão agitadas por pelo menos 2 horas em temperatura ambiente. Ao final do período de extração, o líquido dentro das inserções de cultura de células será decantado para dentro do poço do qual a inserção de cultura de células foi retirada. A solução de extrato será misturada e 200 µl transferidos para os poços apropriados da placa de 96 poços. Duzentos µl de isopropanol serão adicionados aos poços designados como brancos. A absorbância a 550 nm ($OD_{550}$) de cada poço será medida com uma leitora de placas Vmax de Molecular Devices (com a função AUTOMIX acionada).

[863] Em casos nos quais o artigo de teste comprovadamente reduz MTT, somente artigos de teste que permanecem ligados ao tecido após enxágüe, resultando em um

sinal de redução de MTT falso, apresentam um problema. Para demonstrar que possível artigo de teste residual não está atuando para reduzir diretamente o MTT, é feita uma verificação funcional no ensaio final para mostrar que o material de teste não está se ligando ao tecido e levando a um sinal de redução de MTT falso.

[864] Para determinar se artigo de teste residual está atuando para reduzir diretamente o MTT, é usado um tecido de controle morto por congelamento. Tecido morto por congelamento é preparado em IIVS por colocação de tecidos MelanoDerm™/EpiDerm™ (MelanoDerm™ sem melanócitos) não tratados no congelador a -20°C pelo menos de um dia para o outro, descongelamento até a temperatura ambiente, e depois recongelamento. Uma vez morto, o tecido pode ser armazenado indefinidamente no congelador. Tecidos mortos por congelamento podem ser recebidos já preparados de MatTek Corporation, e armazenados no congelador a -20°C até o uso. Para testar quanto à redução de artigo de teste residual, tecidos mortos são tratados com o artigo de teste da forma normal. Todos os procedimentos do ensaio serão realizados da mesma forma que para o tecido viável. Pelo menos um controle morto tratado com água deionizada estéril (controle morto negativo) será testado em paralelo, na medida em que é esperada uma pequena quantidade de redução de MTT pelo NADH residual e enzimas associadas dentro do tecido morto.

[865] Se pouca ou nenhuma redução de MTT é observada no controle morto tratado com artigo de teste, a redução de MTT observada no tecido viável tratado com artigo de teste pode estar relacionada às células viáveis. Caso haja redução de MTT apreciável no controle morto tratado (em relação à

quantidade no tecido viável tratado), etapas adicionais devem ser levadas em conta para a redução química ou o artigo de teste pode ser considerado instável nesse sistema. Os valores da $OD_{550}$ dos controles mortos serão analisados como descrito abaixo

[866] Os dados brutos de absorbância serão capturados e salvos como um arquivo para impressão e importados para uma planilha Excel. O valor médio da $OD_{550}$ dos poços em branco será calculado. O valor médio corrigido da $OD_{550}$ do(s) controle(s) negativo(s) será determinado por subtração do valor médio da $OD_{550}$ dos poços em branco de seus valores médios da $OD_{550}$. Os valores corrigidos da $OD_{550}$ das exposições individuais ao artigo de teste e das exposições ao controle positivo serão determinados por subtração de cada um dos valores médios da $OD_{550}$ para os poços em branco. Todos os cálculos serão realizados usando uma planilha Excel. Embora os algoritmos discutidos sejam utilizados para calcular a análise final do ponto final no nível do grupo de tratamento, os mesmos cálculos podem ser aplicados às réplicas individuais.

$OD_{550}$ da exposição corrigida ao artigo de teste = $OD_{550}$ da exposição ao artigo de teste - $OD_{550}$ média do branco

[867] Se os controles mortos (KC) são usados, os seguintes cálculos adicionais serão realizados para corrigir para a quantidade de MTT reduzida diretamente por resíduos do artigo de teste. O valor bruto da $OD_{550}$ para o controle morto do controle negativo será subtraído dos valores brutos da $OD_{550}$ para cada um dos controles mortos tratados com artigo de teste, para determinar os valores líquidos da $OD_{550}$ dos controles mortos tratados com artigo de teste.

$OD_{550}$ líquida para cada artigo de teste e KC = $OD_{550}$ bruta do KC do artigo de teste - $OD_{550}$ bruta do KC do controle negativo

[868] Os valores líquidos da $OD_{550}$ representam a quantidade de MTT reduzido em conseqüência da redução direta por resíduos do artigo de teste em tempos de exposição específicos. Em geral, se o valor líquido da $OD_{550}$ é maior do que 0,150, a quantidade líquida de redução de MTT será subtraída dos valores corrigidos da $OD_{550}$ dos tecidos viáveis tratados para obter um valor corrigido final da $OD_{550}$. Esses valores corrigidos finais da $OD_{550}$ serão então usados para determinar o % de Viabilidades de controle.

$OD_{550}$ final corrigida = $OD_{550}$ corrigida do artigo de teste (viável) - $OD_{550}$ líquida do artigo de teste (KC)

[869] Finalmente, os seguintes % de Cálculos de controle serão feitos:

% de viabilidade = [($OD_{550}$ final corrigida do Artigo de teste ou Controle positivo) / ($OD_{550}$ média corrigida de Controle negativo)] x 100

*Resultados*

[870] Os resultados do ensaio MelanoDerm™ são mostrados nas Figs. 16A-16K. Tecidos tratados com malassezina, composto I e composto II demonstraram pigmentação reduzida no dia 7 do experimento. As Figs. 17A-17K mostram imagens com ampliação de 15X de amostras de MelanoDerm™ expostas ao tratamento listado.

**Exemplo 13**

**Ensaios em peixe-zebra**

*Procedimentos do ensaio*

[871] Compostos: Os compostos serão fornecidos pelo

Patrocinador do Estudo como solução de Estoque Principal (MS) na maior concentração solúvel em água/PBS ou DMSO.

[872] Procedimentos-padrão para coleta de embrião: peixe-zebra Phylonix AB será gerado por cruzamento natural ou com o uso de um Sistema de Produção em Massa de Embriões (MEPS, Aquatic Habitats). Aproximadamente 50 peixes-zebras serão gerados por peixe-zebra-fêmea. Os peixes-zebras serão mantidos a 28°C em água para peixes. Os peixes-zebras serão limpos (peixes-zebras mortos removidos) e separados por estágio do desenvolvimento. Como os peixes-zebras recebem nutrientes de um saco vitelino anexado, não é necessária nenhuma ração por 6 dias pós-fertilização (dpf).

[873] Solubilidade do composto: Estoque Principal (MS) (usando a maior **concentração**) será diluído em DMSO puro em subsoluções de estoque (SS), ou seja: 10, 50, 100, 200, 300 mM etc. Água para peixes [200 mg de “Instant Ocean Sea Salt” (Aquarium Systems) por litro de água deionizada; pH 6,6 - 7,0 mantido com 2,5 mg/litro de Regulador Neutro (Seachem Laboratories Inc.); condutividade 850 - 950 μS], fornecido por Phylonix, será dispensada em um vaso de testagem, 4 ml/vaso.

[874] Para gerar a solução de composto de teste (TS), 4 μl de cada SS serão adicionados diretamente à água para peixes. Exemplo: 4 μl de 10 mM SS adicionados à água para peixes gerarão 10 μM de TS; a concentração final de DMSO será de 0,1%. Alternativamente, para obter as mesmas concentrações finais de TS e DMSO, 10 μl SS podem ser adicionados a 10 ml/vaso de água para peixes. Para ensaios que podem tolerar DMSO até 1%, 40 μl de SS podem ser usados para gerar 100 μM de TS. Se 10 ml de água para peixes são

usados, o volume de SS deve ser aumentado proporcionalmente para obter as mesmas concentrações finais de TS e DMSO. A solução será incubada a 28°C pela duração de tempo especificada para cada ensaio e examinada visualmente diariamente quanto à presença de precipitação.

[875] Concentração Máxima Tolerável (MTC): A MTC (LC10) será usada como o critério-padrão para letalidade do composto, determinada usando 10 concentrações de composto. Após determinação da maior concentração de composto solúvel, o Patrocinador do Estudo irá selecionar 10 concentrações.

[876] Trinta peixes-zebras do tipo selvagem AB Phylonix de aproximadamente dois dpf corionados serão distribuídos em poços de microplacas de 6 poços contendo 4 ml/poço de água para peixes e DMSO em uma concentração que varia de 0,1-1% dependendo da solubilidade do composto.

[877] Dez concentrações (ou seja: 0,01, 0,05, 0,1, 0,5, 1, 5, 10, 50, 100 e 500 µM (ou até a concentração permitida pela solubilidade do composto) serão testadas inicialmente. Se necessário, concentrações adicionais maiores (até 2.000 µM) ou menores (até 0,001 µM) serão testadas.

[878] O peixe-zebra será incubado com cada concentração de composto de teste no escuro a 28°C por 3 dias. Peixes-zebras não tratados e tratados com DMSO 0,1-1% serão usados como controles de ensaio e de veículo. Para calcular o % de letalidade, após tratamento, o número de peixes-zebras mortos será contado diariamente e removido. Em 5 dpf, os animais mortos serão contados para calcular o % de letalidade (= número total de peixes-zebras mortos/30). Observe que, se os peixes-zebras mortos se desintegram, o número de peixes-zebras mortos será deduzido por contagem do número de peixes-

zebras vivos.

[879] Para estimar a MTC, serão geradas curvas de letalidade por plotagem do % de letalidade vs. concentração usando o software EXCEL. Para obter a média e DP de MTC, os experimentos serão realizados 3 vezes.

[880] Avaliação visual do efeito do composto sobre a pigmentação da pele de peixes-zebras: Células de pigmento da pele de peixes-zebras incluindo xantóforos, iridóforos e melanóforos (melanócitos) se originam de células da crista neural. No peixe-zebra, células precursores diferenciadas de pigmento da pele expressam pigmento em aproximadamente 24 hpf. O foco desse estudo consiste nos melanócitos, que expressam melanina, o pigmento preto na superfície da pele. Os melanócitos inicialmente aparecem como pequenas manchas de cor preta na região dorsal da cabeça. À medida que o peixe-zebra se desenvolve, o número de manchas aumenta e se fundem para formar bandas que se estendem até a região da cauda. Em contraste, peixes-zebras albinos mutantes exibem pigmentação da pele esparsa. Os compostos serão administrados em 2 dpf, para avaliar se os compostos interrompem o processo contínuo de pigmentação embrionária, que está completo por volta de 5 dpf. Três concentrações, MTC, 50% da MTC e 25% da MTC, serão testadas para cada composto.

[881] Trinta peixes-zebras Phylonix AB do tipo selvagem em 2 dpf autoeclodidos serão tratados com cada concentração de composto por 3 dias. Peixes-zebras não tratados e tratados com DMSO 0,1% serão usados como controles. Controle positivo: feniltiouréia (PTU, 0,03%).

[882] Os peixes-zebras serão examinados visualmente

diariamente usando um microscópio óptico de dissecção; peixes-zebras tratados com composto e com PTU serão comparados com peixes-zebras não tratados e de controle tratados com veículo. O número de peixes-zebras que exibem pigmentação diminuída será contado diariamente e expresso como % de animais de teste; uma imagem representativa será fornecida. Para identificar a concentração ótima de composto e o tempo de tratamento para pigmentação diminuída, uma curva cinética será gerada por plotagem do % de peixes-zebras que exibem pigmentação da pele diminuída vs. tempo (dpf). O teste exato de Fisher será usado para determinar se o efeito do composto é significante ($P < 0,05$).

[883] Uma avaliação visual adicional do efeito do composto sobre a pigmentação da pele de peixes-zebras será realizada após tratamento com: 0,1, 1 e 3 μM. Trinta peixes-zebras Phylonix AB do tipo selvagem auto-eclodidos em 2 dpf serão tratados com cada concentração de composto por 3 dias. Peixes-zebras não tratados e tratados com DMSO 0,1% serão usados como controles. Controle positivo: feniltiouréia (PTU, 0,003%). Os peixes-zebras serão examinados visualmente diariamente usando um microscópio óptico de dissecção; peixes-zebras tratados com composto e com PTU serão comparados com peixes-zebras não tratados e de controle tratados com veículo.

[884] Em 5 dpf, o número de peixes-zebras que exibem pigmentação diminuída será contado e expresso como % de animais de teste; uma imagem representativa será fornecida. Para identificar a concentração ótima de composto e o tempo de tratamento para pigmentação diminuída, uma curva cinética será gerada por plotagem do % de peixes-zebras que exibem

pigmentação da pele diminuída vs. concentração. O teste exato de Fisher será usado para determinar se o efeito do composto é significante ($P < 0,05$).

[885] Quantificação do efeito do composto sobre a pigmentação da pele de peixes-zebras: Com base nos resultados da avaliação visual, utilizaremos as condições ótimas (concentração, tempo de tratamento com composto) para quantificar o efeito do composto sobre a pigmentação da pele de peixes-zebras.

[886] Vinte peixes-zebras AB Phylonix do tipo selvagem no estágio ótimo determinado pelos resultados da avaliação visual serão tratados com a concentração ótima de composto. Peixes-zebras não tratados e tratados com DMSO 0,1% serão usados como controles. Controle positivo: feniltiouréia (PTU, 0,03%).

[887] Uma imagem da visão dorsal do peixe-zebra inteiro será capturada usando uma câmera SPOT em 2X. A região dorsal da cabeça e tronco será definida como a região de interesse (ROI) usando a função de seleção do Photoshop da Adobe. A pigmentação preta da pele na ROI será realçada usando a função de realce do Photoshop. O sinal de pigmento total (PS) em pixels será determinado usando a função histograma do Photoshop.

[888] Se o composto afeta o crescimento do peixe-zebra, o comprimento do corpo (L) e a largura do tronco (W) serão menores, o que afetará a área de ROI e PS final. Portanto, normalizaremos a medição do sinal final (FS) usando $FS = PS/L \times W$.

[889] Espera-se que peixes-zebras não tratados e tratados com veículo exibam FS similar para demonstrar que

o veículo não possui um efeito. Espera-se que peixes-zebras tratados com PTU exibam FS baixo para validar o ensaio. Peixes-zebras tratados com composto serão comparados com peixes-zebras de controle tratados com veículo.

[890] Para determinar se o efeito do composto é significante ($P < 0,05$), o FS médio para peixes-zebras tratados com composto será comparado com FS médio de peixes-zebras tratados com veículo usando o Teste-t de Student.

[891] Quantificação adicional do efeito do composto sobre a pigmentação da pele de peixes-zebras será realizada após tratamento com: concentração de 0,5 e 1,5 μM de composto.

[892] Vinte peixes-zebras Phylonix AB do tipo selvagem em 2 dpf serão tratados com concentração de 0,5 e 1,5 μM de composto. Peixes-zebras não tratados e tratados com DMSO 0,1% serão usados como controles. Controle positivo: feniltiouréia (PTU, 0,003%).

[893] Imagem da visão dorsal de peixe-zebra inteiro será capturada usando uma câmera SPOT em 2X. A região da cabeça dorsal será definida como a região de interesse (ROI) usando a função de seleção do Photoshop da Adobe. A pigmentação preta da pele na ROI será realçada usando a função de realce do Photoshop. O sinal de pigmento total (PS) em pixels será determinado usando a função histograma do Photoshop.

[894] Se o composto afeta o crescimento do peixe-zebra, o comprimento do corpo (L) será mais curto e a largura do tronco (W) será menor, o que afetará a área de ROI e PS final. Portanto, normalizaremos a medição do sinal final (FS) usando FS = PS/ L x W.

[895] Espera-se que peixes-zebras não tratados e

tratados com veículo exibam FS similar para confirmar a ausência de efeito do veículo. Espera-se que peixes-zebras tratados com PTU exibam low FS, validando o ensaio. Peixes-zebras tratados com composto serão comparados com peixes-zebras de controle tratados com veículo.

[896] Para determinar se o efeito do composto é significante ($P < 0,05$), o FS médio para peixes-zebras tratados com composto será comparado com FS médio de peixes-zebras tratados com veículo usando o Teste-t de Student.

*Resultados*

[897] Resultados da avaliação visual para peixes-zebras expostos ao composto II são mostrados nas Figs. 18A-18F e Figs. 19A-19F. Um gráfico que resume os resultados da porção de avaliação visual do estudo é mostrado na Fig. 20.

[898] Regiões de interesse da avaliação quantitativa e resultados para peixes-zebras expostos ao composto II são mostrados nas Figs. 21A-21E e Figs. 22A-22B.

**Exemplo 14**

**Estabilidade de derivados de malassezina e malassezina em DMSO e meios de cultura de células**

[899] Os compostos testados foram preparados a 100 μM em DMSO e meio de cultura. As soluções foram incubadas em temperatura ambiente por 2 horas e analisadas usando LC-MS. A área de pico foi usada para avaliar o composto restante no solvente.

*Resultados*

[900] Ao resultados de LC-MS são mostrados nas Figs. 23A-23J. Os resultados indicam que os compostos são estáveis em meio de cultura após incubação de 2 horas.

**Exemplo 15**

**Síntese de derivados de malassezina e malassezina**

[901] Malassezina (CV-8684), seu derivado ciclizado indol[3,2-b]carbazol (CV-8685), Composto I (CV-8686), Composto IV (CV-8687), Composto II (CV-8688) e Precursor de Malassezina foram sintetizados de acordo com os protocolos descritos em Pedido de Patente U.S. Nº 15/455.932, publicado como Publicação de Patente U.S. Nº 2017/0260133 A1, ambos incorporados por referência em sua totalidade nesse relatório descritivo.

*Síntese de Composto C (CV-8802)*

Síntese de composto **10**

[902] Como mostrado na Fig. 24A, a uma solução de 2-iodo-4-metilanilina (10 g, 0,0429 mol) em tetrahidrofurano (200 ml) a 0°C foi adicionado NaHMDS (94,42 ml, 1 M em THF, 0,0944 mol) lentamente enquanto se mantinha a temperatura interna abaixo de 5°C ao longo de 30 min. Após agitação por 30 min a 0°C, uma solução de anidrido de BOC (10,29 g, 0,0472 mol) em THF (50 ml) foi adicionada lentamente enquanto se mantinha a temperatura interna abaixo de 5°C ao longo de 30 min. A mistura de reação foi aquecida até a temperatura ambiente e agitada por 1 hora. $NH_4Cl$ saturado (200 ml) foi adicionado para extinguir a reação. A camada orgânica foi separada e lavada com água (200 ml). A camada aquosa combinada foi extraída com acetato de etila (2 x 150 ml), as camadas foram separadas. A camada de acetato de etila foi combinada com a camada orgânica e concentrada em vácuo para gerar um óleo marrom. O composto bruto foi purificado por cromatografia em coluna (acetato de etila 0-5%/hexanos). Composto **10** foi obtido como um líquido amarelo claro (13,1 g, 91%).

Síntese de composto **11**

[903] But-3-in-2-ol (25 ml, 0,319 mol) dissolvido em DMF (100 ml) foi adicionado a NaH (19,2 g, 0,478 mol) em DMF (100 ml) a 0°C. DMS (45,2 ml, 0,478 mol) foi adicionado à mistura de reação ao longo de um período de 30 minutos e agitada a 0°C por 30 minutos. A mistura de reação foi aquecida até a temperatura ambiente e agitada por 1 hora, e mais tarde resfriada até 10°C e ácido acético (19,2 ml, 0,319 mol) foi adicionado ao longo de um período de 10 minutos e agitado por 1 hora. A mistura de reação foi diluída com água (600 ml) e extraído com éter dietílico (400 ml). As camadas orgânicas foram separadas e secas sobre sulfato de sódio anidro, filtradas e concentradas. O composto desejado foi retirado por destilação a 64-68°C para obter 7 g de composto **11** puro (23% de rendimento).

Síntese de composto **12**

[904] Iodeto de cobre (0,34 g, 0,0018 mol) e $PdCl_2(PPh_3)_4$ (0,6323 g, 0,0009 mol) foram adicionados a uma solução desgaseificada de composto **10** (6,0 g, 0,018 mol), composto **11** (1,81 g, 0,0216 mol) em trietilamina (100 ml) em temperatura ambiente e agitada por 6 horas. A reação estava completa (monitorada por TLC usando acetato de etila 10%/hexanos). A mistura de reação foi diluída com acetato de etila (200 ml), lavada com água, NaCl saturado (100 ml) e seca sobre $Na_2SO_4$. O solvente foi filtrado e concentrado em vácuo para gerar um óleo marrom. O composto bruto foi purificado por cromatografia em coluna (acetato de etila 10%/hexano). Composto **12** foi obtido como um líquido amarelo claro (4,8 g, 96%).

Síntese de composto **13**

[905] Um frasco de fundo redondo foi carregado com $PtCl_2$ (0,44 g, 0,00166 mol), $Na_2CO_3$ (2,64 g, 0,0249 mol), indol (3,89 g, 0,0332 mol) e composto **12** (4,8 g, 0,0166 mol) em dioxano (200 ml). O frasco foi desgaseificado com nitrogênio, lacrado e aquecido até 100°C de um dia para o outro. O solvente foi evaporado sob pressão reduzida. A mistura de reação foi diluída com acetato de etila (300 ml), lavada com água (200 ml), NaCl saturado (200 ml) e seca sobre $Na_2SO_4$. O solvente foi filtrado e concentrado em vácuo para gerar um óleo marrom. O composto bruto foi purificado por cromatografia em coluna (acetato de etila 10%/hexano). Composto **13** foi obtido como um sólido marrom claro (2,04 g, 34%).

Síntese de composto **14**

[906] Carbonato de potássio (2,3 g, 0,0166 mol) foi adicionado a uma solução de composto **13** (2,0 g, 0,0055 mol) em uma mistura de metanol (30 ml) e água (10 ml) em temperatura ambiente. A suspensão resultante foi aquecida até o refluxo de um dia para o outro. A mistura de reação foi resfriada até a temperatura ambiente e o solvente concentrado em vácuo. O resíduo foi recolhido em acetato de etila (100 ml) e lavado com água (100 ml) e salmoura (100 ml), e depois seco (sobre sulfato de sódio), filtrado, o solvente concentrado em vácuo para gerar um sólido marrom. O composto bruto foi purificado por cromatografia em coluna (acetato de etila 20%/hexano). Composto **14** foi obtido como um sólido esbranquiçado (0,8 g, 54%).

Síntese de **Composto C**

**[907]** A um frasco de fundo redondo de dois gargalos de 100 ml seco sob argônio a 0°C, dimetilformamida (5 ml) foi

adicionada. $POCl_3$ (246 mg, 1,6058 mmol) foi adicionado lentamente enquanto se mantinha a temperatura interna abaixo de 5°C ao longo de 10 min. Após agitação por 30 min a 0°C, uma solução de composto **14** (400 mg, 1,459 mmol) em dimetilformamida (2 ml) foi adicionada lentamente enquanto se mantinha a temperatura interna abaixo de 5°C ao longo de 10 min. A mistura resultante foi agitada em temperatura ambiente de um dia para o outro. A seguir, a reação estava completa (monitorada por TLC usando acetato de etila 20%/hexanos). A mistura de reação foi derramada em bicarbonato de sódio aquoso saturado (100 ml) e agitada por 1 hora. A mistura resultante foi extraída com acetato de etila (2 x 100 ml). As camadas orgânicas foram combinadas e lavadas com água (100 ml), NaCl saturado (100 ml) e secas sobre $Na_2SO_4$. O solvente foi filtrado e concentrado em vácuo para gerar um sólido marrom. O composto bruto foi purificado por cromatografia em coluna (acetato de etila 0-20%/hexanos).

**[908]** Em alguns experimentos, o resultado desse protocolo foi uma composição que compreende um ou mais de Composto C, Composto C1 e Composto C2 (“uma composição desconhecida”).

*Síntese de Composto K (CV-8803)*

*[909]* Como mostrado na Fig. 24B, a solução de Malassezina (40 mg, 0,146 mmol) em MeOH (5 ml) foi resfriada até 0°C. A essa solução foi adicionado $NaBH_4$ (27,6 mg, 0,729 mmol) a 0°C e agitado vigorosamente. Após 3 horas, a mistura de reação é aquecida até a temperatura ambiente e metanol removido por Rotavapor. A mistura de reação foi diluída com DCM (20 ml) e lavada com ácido acético 20% em água (20 ml)

e salmoura (20 ml). As camadas orgânicas foram separadas e secas e sobre sulfato de sódio anidro. Os sólidos foram removidos por filtração e o filtrado foi concentrado para obter 34 mg de **Composto K**.

*Síntese de Composto A (CV-8804)*

[910] Como mostrado na Fig. 24C, a solução de Composto II (120 mg, 0,417 mmol) em MeOH (5 ml) foi resfriada até 0°C. A essa solução foi adicionado $NaBH_4$ (78,75 mg, 2,083 mmol) a 0°C e agitado vigorosamente. Após 3 horas, a mistura de reação é aquecida até a temperatura ambiente e metanol removido por Rotavapor. A mistura de reação foi diluída com DCM (20 ml) e lavada com ácido acético 20% em água (20 ml) e salmoura (20 ml). As camadas orgânicas foram separadas e secas e sobre sulfato de sódio anidro. Os sólidos foram removidos por filtração e o filtrado foi concentrado para obter 101 mg de **Composto A**.

*Síntese de Composto E (AB12508)*

[911] Como mostrado na Fig. 24D, ao indol **1** (10 g, 85,4 mmol) em MeOH (350 ml) foi adicionado ciclopropil aldeído **2** (2,5 g, 35,6 mmol), seguido por uma solução aquosa a 1 N de HCl (178 ml) e aquecido até 70°C por 1 hora. O solvente foi removido e extraído com DCM (2x), seco sobre $Na_2SO_4$, e concentrado. O isolamento do material por meio de FCC resultou em 2,47 g de um sólido laranja claro como uma mistura isomérica 1,0:0,73 (2:3’:3:3’).

[912] A mistura prévia (1,44 g, 5,0 mmol) em DMF (10 ml) foi adicionada a $POCl_3$ (947 mg, 6,0 mmol) em DMF (15 ml) a 0°C. A mistura de reação foi aquecida até a temperatura ambiente e agitada de um dia para o outro. Ela foi então extinta com $NaHCO_3$ (saturado), extraída com EtOAc (2x), seca

sobre $Na_2SO_4$ e purificada por meio de FCC e depois HPLC preparativa. Um sólido verde claro (286 mg) foi obtido após liofilização.

[913] [M+H]+ = 315; [M-H]-= 313. $^1$H-RMN ($CDCl_3$): 10,34 (s, 1H), 8,37 (bs, 1H), 8,33 (d, *J* = 7,5 Hz, 1H), 8,23 (bs, 1H), 7,47 (m, 1H), 7,40 (d, *J* = 8,4 Hz, 1H), 7,24-7,29 (m, 2H), 7,16-7,23 (m, 3H), 6,97 (t, *J* = 7,5 Hz, 1H), 4,45 (d, *J* = 8,7 Hz, 1H), 1,48-1,59 (m, 1H), 0,84-0,93 (m, 1H), 0,62-0,71 (m, 1H), 0,47-0,60 (m, 2H).

*Síntese de Composto A5 (CV-8819)*

Síntese de composto **3**

[914] Como mostrado na Fig. 24E, a solução de 1-(fenil-sulfonil) Indol (**1**, 1 g, 0,00389 mol) em THF (20 ml) foi resfriada até -78°C. A esta foi adicionado *t*-BuLi (2,52 ml, 0,00428 mol) e agitado por 30 minutos. A mistura de reação foi lentamente aquecida até 0°C. Após alcançar 0°C, a mistura de reação foi resfriada de volta até -78°C. A essa mistura foi adicionada uma solução de N-BOC-3-Formil indol (0,953 g, 0,00389 mol) em THF (5 ml) ao longo de um período de 30 minutos. A mistura de reação foi aquecida até 0°C e extinta com água (5 ml) a 0°C. A mistura de reação foi lavada com água (100 ml) e salmoura (100 ml) e extraída com acetato de etila (250 ml). As camadas orgânicas foram separadas e secas sobre sulfato de sódio anidro, filtradas e concentradas. A mistura de reação bruta foi purificada por cromatografia em coluna (acetato de etila 0-15% em hexanos). As frações desejadas foram reunidas em pool e concentradas para obter 1,7 g de composto **3** puro como um sólido esbranquiçado (rendimento de 87%).

Síntese de composto **4**

[915] À solução de composto **3** (500 mg, 0,996 mmol) em DMSO (5 ml) foi adicionado IBX (334,6 mg, 1,195 mmol) em temperatura ambiente e agitada por 18 horas. A mistura de reação foi diluída com acetato de etila (25 ml) e lavada com água (2 x 25 ml) e salmoura (25 ml). As camadas orgânicas foram separadas e secas sobre sulfato de sódio anidro, filtradas e concentradas (obtidos 444 mg, rendimento de 89%). A mistura de reação bruta é suficientemente pura e foi levada até a etapa seguinte sem purificação.

Síntese de composto **5**

[916] A solução de composto **4** (110 mg, 0,22 mmol), TBAF (1M em THF) (220 µl, 0,22 mmol) e THF (3 ml) foi refluída por 1 hora e resfriada até a temperatura ambiente. Os voláteis foram removidos por Rotavapor e diluídos com acetato de etila (25 ml) e lavados com água (25 ml) e salmoura (25 ml). As camadas orgânicas foram separadas e secas sobre sulfato de sódio anidro, filtradas e concentradas. A mistura de reação bruta foi purificada por cromatografia em coluna (acetato de etila 0-10% em hexanos). As frações desejadas foram reunidas em pool e concentradas para obter 60 mg de composto **5** puro como um sólido esbranquiçado (rendimento de 75%).

Síntese de composto **6**

[917] A solução de Composto **5** (500 mg, 1,388 mmol), CMMC (472,2 mg, 2,79 mmol) em dicloroetano (10 ml) foi aquecida até 50°C por 30 minutos. A mistura de reação foi resfriada até a temperatura ambiente e derramada água gelada (50 ml), lavada com 0,5 M de NaOH (15 ml) e salmoura (25 ml) e extraída com diclorometano (25 ml). As camadas orgânicas foram separadas e secas sobre sulfato de sódio anidro, filtradas

e concentradas. A mistura de reação bruta foi purificada por cromatografia em coluna (acetato de etila 0-20% em hexanos). As frações desejadas foram reunidas em pool e concentradas para obter 198 mg de composto **6** puro como um sólido esbranquiçado (rendimento de 36,5%).

Síntese de **Composto A5**

[918] Composto **6** (198 mg, 0,5103 mmol) foi dissolvido em metanol (5 ml). A essa solução foi adicionado $K_3PO_4$ (216.37 mg, 1,021 mmol) e refluído por 30 minutos. A mistura de reação foi resfriada até a temperatura ambiente e os voláteis foram removidos por Rotavapor. O resíduo foi dissolvido em acetato de etila (25 ml) e lavado com água (2 x 25 ml). As camadas orgânicas foram separadas e secas sobre sulfato de sódio anidro, filtradas e concentradas. Os sólidos obtidos foram agitados em éter dietílico (10 ml) vigorosamente por 1 hora e retirados por filtração para obter o **Composto A5** (97 mg, rendimento de 66%).

*Síntese de Composto H (AB12509)*

[919] Como mostrado na Fig. 24F, *n*-Butillítio (2,5 M em hexano, 5,5 ml, 13,7 mmol) foi adicionado gota-a-gota a uma solução de 1-fenisulfonilindol **2** (3,05 g, 11,9 mmol) em THF seco (75 ml) a -78°C. Após agitação da solução por 1 hora em temperatura ambiente, a solução foi resfriada novamente até -78°C e 3-Formil indol **1** (3,35 g, 13,7 mmol) em THF seco (45 ml) foi adicionado lentamente. A reação foi aquecida até a temperatura ambiente de um dia para o outro. A seguir, MeI (15 eq, 11,1 ml) foi adicionado e a mistura de reação foi aquecida até 50°C por 9 horas, extinta com $H_2O$, extraída com EtOAc, seca sobre $Na_2SO_4$, e concentrada. FCC ($SiO_2$, EtOAc 5%/hexanos) forneceu 4,02 g de **3** como um sólido branco

felpudo.

[920] A uma solução de bis-indol **3** (2 g, 3,9 mmol) em THF (20 ml) foi adicionado TBAF (1 M em THF, 5,9 ml, 1,5 eq) e ela foi aquecida até 70°C por 14 horas, extinta com $NH_4Cl$ saturado, extraída com EtOAc (2x), lavada com $H_2O$, e salmoura. Nesse ponto, 22 ml de DMF foram adicionados e a maior parte do EtOAc removida sob pressão reduzida. A mistura bruta foi usada na etapa seguinte.

[921] O bruto prévio foi adicionado lentamente ao longo de 1,5 hora a uma solução de $POCl_3$ (3,6 ml, 10 equivalentes) em DMF (20 ml) em temperatura ambiente. Após o término da adição, a reação foi agitada por mais 30 min, e então extinta com $NaHCO_3$ saturado a 0°C, extraída com EtOAc (3x), lavada com salmoura e concentrada. FCC ($SiO_2$, EtOAc 15%/hexano) gerou 881 mg de bis-indol **5** como um sólido amarelo brilhante.

[922] A uma solução de bis-indol **5** (350 mg) em MeOH:$H_2O$ (9:1, 17,4 ml) foi adicionado $K_2CO_3$ (456 mg, 3,5 equivalentes) e ela foi aquecida até 75°C por 1 hora. O solvente foi removido, o material foi diluído com água, extraído com DCM (2x) e concentrado. A mistura bruta foi purificada por meio de HPLC Preparativa ($H_2O$ 10-100%/$CH_3CN$, 20 ml/min, 30 min) e liofilizada para gerar 134 mg de **AB12509** como um sólido branco.

*Síntese de Composto B (CV-8877)*

Síntese de composto **7**

[923] Como mostrado na Fig. 24G, a solução de composto **II** (1 g, 0,0034 mol) em THF (10 ml) foi resfriada até 0°C. A essa solução foi adicionado anidrido de BOC (1,51 g, 0,0069 mol) e DMAP (848 mg, 0,0069 mol) e agitada a 0°C. A mistura de reação foi aquecida até a temperatura ambiente e agitada

por 15 horas. Os voláteis foram removidos por Rotavapor. O resíduo foi diluído com acetato de etila (100 ml) e lavado com 1 N HCl (50 ml), bicarbonato de sódio aquoso saturado (50 ml) e salmoura (50 ml). As camadas orgânicas foram separadas e secas sobre sulfato de sódio anidro, filtradas e concentradas. A mistura de reação bruta foi purificada por cromatografia em coluna (acetato de etila 0-10% em hexanos). As frações desejadas foram reunidas em pool e concentradas para obter 1,4 g de puro composto **7 como um sólido esbranquiçado** (rendimento de 83%).

Síntese de composto **8**

[924] Uma solução de composto **7** (250 mg, 0,512 mmol) em *t*-BuOH (10 ml) foi resfriada até 0°C. A essa solução foi adicionado 2-metil-2-buteno (10 ml) seguido por adição de $NaClO_2$ (1,5 g), $NaH_2PO_4$ (1,5 g) e água (10 ml). A mistura de reação foi lentamente aquecida até a temperatura ambiente e agitada vigorosamente em temperatura ambiente por 15 horas. A mistura de reação foi diluída com $CH_2Cl_2$ (25 ml) e lavada com água (50 ml) e salmoura (25 ml). As camadas orgânicas foram separadas e secas sobre sulfato de sódio anidro, filtradas e concentradas para obter 235 mg de composto **8** (91% de rendimento). A mistura de reação bruta é suficientemente pura e foi levada até a etapa seguinte sem purificação.

Síntese de composto **9**

[925] A uma solução de composto **8** (100 mg, 0,198 mmol) em acetona (10 ml) a 0°C, foram adicionados $K_2CO_3$ (83 mg, 0,595 mmol) e iodeto de metila (30,97 mg, 0,218 mmol). A mistura de reação foi aquecida até a temperatura ambiente e agitada por 5 horas. A mistura de reação foi diluída com

acetato de etila (25 ml) e lavada com água (25 ml) e salmoura (25 ml). As camadas orgânicas foram separadas e secas sobre sulfato de sódio anidro, filtradas e concentradas para obter 91 mg de composto **9** (89% de rendimento). A mistura de reação bruta é suficientemente pura e foi levada até a etapa seguinte sem purificação.

Síntese de **Composto B**

[926] Composto **9** (70 mg, 0,135 mmol) foi dissolvido em metanol (5 ml). A essa solução foi adicionado $K_3PO_4$ (57,3 mg, 0,27 mmol) e refluída por 30 minutos. A mistura de reação foi resfriada até a temperatura ambiente e os voláteis foram removidos por Rotavapor. O resíduo foi dissolvido em acetato de etila (25 ml) e lavado com água (2 x 25 ml). As camadas orgânicas foram separadas e secas sobre sulfato de sódio anidro, filtradas e concentradas. Os sólidos obtidos foram agitados em éter dietílico (10 ml) vigorosamente por 1 hora e retirados por filtração para obter **Composto B** (25 mg, rendimento de 58%).

*Síntese de Composto B10*

[927] Como mostrado na Fig. 24H, composto **8** (21 mg, 0,041 mmol) foi dissolvido em metanol (3 ml). A essa solução foi adicionado $K_3PO_4$ (17,6 mg, 0,083 mmol) e refluída por 30 minutos. A mistura de reação foi resfriada até a temperatura ambiente e os voláteis foram removidos por Rotavapor. O resíduo foi dissolvido em acetato de etila (25 ml) e lavado com água (2 x 25 ml). As camadas orgânicas foram separadas e secas sobre sulfato de sódio anidro, filtradas e concentradas. O resíduo obtido foi purificado por cromatografia em coluna (acetato de etila 70-100% em hexanos) e obtidos 7 mg de **Composto B10** (rendimento de 55%).

*Síntese de AB11644*

[928] Como mostrado na Fig. 24I, a uma solução de indol **1** (1,0 g, 8,54 mmol) em $CH_3CN$ (11,5 ml) e aldeído **2** (294 mg, 4,16 mmol), foi adicionado $I_2$ (210 mg, 0,85 mmol) e a mistura de reação foi agitada por 17 horas em temperatura ambiente. A reação foi extinta com $Na_2SO_3$, extraída com EtOAc (2x), seca sobre $Na_2SO_4$, purificada por meio de FCC ($SiO_2$, EtOAc 10%/hexanos), e então HPLC Preparativa, e liofilizada para gerar 106 mg de bis-indol simétrico **3** como um sólido branco.

**[929]** $[M-H]^-$ = 385. $^1$H-RMN ($CDCl_3$): 7,90 (bs, 2H), 7,49 (d, *J* = 7,6 Hz, 2H), 7,33 (d, *J* = 7,6 Hz, 2H), 7,15 (t, *J* = 7,0 Hz, 2H), 7,09 (d, *J* = 2,3 Hz, 2H), 7,00 (t, *J* = 7,0 Hz, 2H), 3,98 (d, *J* = 8,0 Hz, 1H), 1,52-2,00 (m, 1H), 0,60-0,66 (m, 2H), 0,36-0,41 (m, 2H).

*Síntese de O52 (AB12976)*

**[930]** Como mostrado na Fig. 24J, a uma solução de composto **1** (3,8 g) em DCM (38 ml) foram adicionados TEA, DMAP, e então $Boc_2O$ a 0°C. A mistura foi aquecida até a temperatura ambiente (18-23°C) e agitada por 4 h. A mistura foi concentrada e purificada por cromatografia em sílica gel (PE:EA = 30:1-20:1-10:1-5:1) para gerar o composto **2** (6 g, 96%) como um óleo amarelo.

[931] A uma solução de composto **2** (6,6 g, 25,7 mmol, 1,0 equivalente) em acetona/$H_2O$ (264 ml/64 ml) foi adicionado NMO (4,5 g, 38,6 mmol, 1,5 equivalente), $OsO_4$ (0,197 g, 2,57 mmol, 0,03 equivalente). A mistura foi agitada de um dia para o outro em temperatura ambiente (18-23°C). A mistura foi extinta com $Na_2S_2O_3$ (200 ml) e agitada por 10 min em temperatura ambiente. A mistura foi extraída com EA (300 ml x 3). As fases orgânicas foram combinadas, secas com $Na_2SO_4$

e concentradas para gerar o composto **3** bruto (9 g) como um óleo marrom, que foi usado na etapa seguinte sem purificação adicional.

[932] A uma solução de composto **3** (9,3 g, 31,9 mmol, 1,0 equivalente) em MeCN (80 ml) foi adicionado TEA (9,68 g, 95,9 mmol, 3,0 equivalentes), e então n-$C_4F_9SO_2F$ (14,45 g, 47,9 mmol, 1,5 equivalente) a 0°C. A mistura foi aquecida até a temperatura ambiente (20-25°C) e agitada por 2 h em temperatura ambiente. À mistura foi adicionada água (80 ml) e extraída com EA (150 ml x 3). As fases orgânicas foram combinadas e secas com $Na_2SO_4$. A fase orgânica foi concentrada e o resíduo foi purificado por cromatografia em sílica gel (PE:EA = 10:1-5:1-3:1) para gerar o composto **4** (5 g, 57%) como um óleo amarelo.

[933] A uma solução de composto **5** (1,84 g, 15,7 mmol, 1,0 equivalente) em DCM (18 ml) foi adicionado MeMgBr (3M) (10,47 ml, 31,4 mmol, 2,0 equivalentes) gota-a-gota a 0°C e a solução foi agitada por 30 min. A seguir, a solução foi resfriada até -20°C e composto **4** (3 g, 10,99 mmol, 0,7 equivalentes) em DCM (18 ml) foi adicionado. A mistura foi agitada por 3 h a -20°C, e então aquecida até a temperatura ambiente e agitada por 1 hora. A reação foi extinta com $NH_4Cl$ (aquoso) (50 ml) e extraída com DCM (50 ml x 2). As fases orgânicas foram combinadas e secas com $Na_2SO_4$. A fase orgânica foi concentrada e o resíduo foi purificado por cromatografia em sílica gel (PE:EA = 10:1-5:1-3:1) para gerar o composto **6** (3,2 g, 74%) como um óleo ligeiramente amarelo.

[934] A uma solução de composto **6** (3,2 g, 8,21 mmol, 1,0 equivalente) em DCM (300 ml) foi adicionado Dess-Martin (9,05 g, 21,33 mmol, 2,6 equivalentes). A mistura foi aquecida até

45°C e agitada de um dia para o outro. A mistura de reação foi extinta com $NaHCO_3$ saturado (60 ml) e $Na_2S_2O_3$ (60 ml). A fase orgânica e camada aquosa foram separadas e a camada aquosa foi extraída com $Et_2O$ (100 ml x 2). As fases orgânicas foram combinadas e secas com $Na_2SO_4$. A fase orgânica foi concentrada e o resíduo foi purificado por cromatografia em sílica gel (PE:EA = 10:1-5:1-3:1) para gerar o composto **7** (2,3 g, 71%) como um sólido laranja-amarelo.

[935] A uma solução de composto **7** (830 mg, 2,14 mmol, 1,0 equivalente) em DCM (16 ml) foi adicionado TFA (4,876 g, 42,8 mmol, 20 equivalentes) a 0°C. A mistura foi aquecida até a temperatura ambiente e agitada por 1,5 h em temperatura ambiente. O solvente foi removido por vácuo e o resíduo foi dissolvido com DCM (15 ml). Adicionar solução aquosa de bicarbonato de sódio à solução até que não apareça nenhuma bolha. A solução foi extraída com DCM (30 ml x 3). As fases orgânicas foram combinadas e secas com $Na_2SO_4$. A fase orgânica foi concentrada e o resíduo foi purificado por cromatografia em sílica gel (PE:EA = 20:1-10:1-5:1-3:1-2:1) para gerar o composto **AB12976** (140 mg, 22%) como um sólido marrom.

[936] TLC: PE:EA, Rf (7) = 0,4, Rf (AB12976) = 0,1; $^1$H-RMN (400 MHz, $CDCl_3$) δ 8,08 (s, 2H), 7,47 (d, *J* = 7,8 Hz, 2H), 7,31 (d, *J* = 8,1 Hz, 2H), 7,20 (t, *J* = 7,5 Hz, 2H), 7,11 (dd, *J* = 7,8, 7,1 Hz, 2H), 6,97 (d, *J* = 1,8 Hz, 2H), 3,90 (s, 4H). $^{13}$C-RMN (101 MHz, $CDCl_3$) δ 207,34, 136,12, 127,30, 123,33, 122,17, 119,67, 118,69, 111,25, 108,57, 38,58.

*Síntese de Indol de Malassezia A (AB17011)*

**[937]** Como mostrado na Fig. 24K, a uma solução de

composto **1** (20 g, 0,106 mol, 1,0 equivalente) em DCM (20 ml) foram adicionados sucessivamente $Boc_2O$ (24,4 g, 0,112 mol, 1,056 equivalente), DMAP (646 mg, 5,29 mmol, 0,05 equivalente) e TEA (534 mg, 5,29 mmol, 0,05 equivalente). A mistura foi agitada em temperatura ambiente por 16 h. A análise por TLC da mistura de reação mostrou conversão completa no produto desejado. A seguir, a mistura foi concentrada sob pressão reduzida e o resíduo foi purificado por cromatografia em sílica gel para gerar o composto **2** (24 g, 78%).

[938] A uma solução de composto **2** (5 g, 17,30 mmol, 1,0 equivalente) e DBU (13,17 g, 86,51 mmol, 5,0 equivalentes) em MeCN (50 ml) foi adicionado P-ABSA (8,3 g, 34,60 mmol, 2,0 equivalentes) a 0°C. Foi permitido que a mistura se aquecesse até a temperatura ambiente e ela foi agitada em temperatura ambiente por 100 min. A análise por TLC da mistura de reação mostrou conversão completa no produto desejado. A seguir, a mistura foi concentrada sob pressão reduzida e o resíduo foi purificado por cromatografia em sílica gel para gerar o composto **3** (3,5 g, 63%).

[939] A uma solução de composto **3** (100 mg, 0,316 mmol, 1,0 equivalente) em MeOH (6 ml) foi adicionada uma solução de LiOH (7 mg, 0,316 mmol, 1,0 equivalente) em $H_2O$ (0,32 ml). A mistura foi agitada em temperatura ambiente por 1 hora. A análise por TLC da mistura de reação mostrou conversão completa no produto desejado. A seguir, a mistura foi concentrada sob pressão reduzida para gerar o composto **4** bruto, que foi usado para a etapa seguinte diretamente.

[940] A uma solução de composto **4** bruto da etapa prévia em DMSO (2 ml) foi adicionado HATU (156 mg, 0,410 mmol, 1,3

equivalente) sob atmosfera de nitrogênio. A seguir, o composto **4a** (81 mg, 0,316 mmol, 1,0 equivalente) e DIEA (123 mg, 0,950 mmol, 3,0 equivalentes) foram adicionados. A mistura foi agitada em temperatura ambiente por 15 horas. A análise por TLC da mistura de reação mostrou conversão completa no produto desejado. A seguir, a mistura foi diluída com água e extraída com acetato de etila. A camada orgânica foi seca sobre $Na_2SO_4$ anidro e concentrada sob pressão reduzida. O resíduo foi purificado por cromatografia em sílica gel para gerar o composto **AB10758** (58 mg, 49%).

[941] A uma solução agitada de composto **AB10758** (161,3 mg, 0,432 mmol, 1,0 equivalente) em MeOH (5 ml) foi adicionada uma solução de $LiOH \cdot H_2O$ (90,6 mg, 2,16 mmol, 5,0 equivalentes) em $H_2O$ (1 ml). A mistura foi agitada em temperatura ambiente por 3 horas. A análise por TLC da mistura de reação mostrou conversão completa no produto desejado. A seguir, a mistura foi concentrada sob pressão reduzida e o resíduo foi liofilizado para gerar o composto **AB17011** (forma de sal de Li, 108 mg, quantitativo) como um sólido amarelo claro.

*Síntese de pitiriacitrina (AB17014)*

[942] Como mostrado na Fig. 24L, a uma solução de composto **1** (5 g, 42,74 mmol, 1,0 equivalente) em $Et_2O$ anidro (20 ml) foi adicionado lentamente $COCl_2$ (6,5 g, 0,201 mol, 2,2 equivalentes) a 0°C sob atmosfera de nitrogênio. Após ser agitada por 1 h a 0°C, foi permitido que a mistura se aquecesse até a temperatura ambiente e ela foi agitada em temperatura ambiente por 0,5 hora. A análise por TLC da mistura de reação mostrou conversão completa no produto desejado. A seguir, a mistura foi concentrada sob pressão

reduzida para gerar o composto **2** bruto (9 g, 100%).

[943] A uma solução de composto **2** bruto (8 g, 38,28 mmol, 1,0 equivalente) em EA anidro (30 ml) foi adicionada uma solução de $Bu_3SnH$ (11,1 g, 38,28 mmol, 1,0 equivalente) em EA anidro (30 ml) a 0°C sob atmosfera de nitrogênio. Após ser agitada por 0,5 h a 0°C, foi permitido que a mistura se aquecesse até a temperatura ambiente e ela foi agitada em temperatura ambiente por 1 hora. A análise por TLC da mistura de reação mostrou conversão completa no produto desejado. A seguir, a mistura foi diluída com PE (80 ml) e filtrada. A torta do filtro foi lavada com PE para gerar o composto **3** (3 g, 45%).

[944] A uma solução de composto **3a** (1,53 g, 7,51 mmol, 1,3 equivalente) e TsOH (1,29 g, 7,51 mmol, 1,3 equivalente) em MeOH (10 ml) foi adicionado composto **3** (1 g, 5,78 mmol, 1,0 equivalente). A mistura foi agitada a 50°C por 2 h. Análise por LCMS da mistura de reação mostrou conversão completa no produto desejado. A seguir, a mistura foi concentrada sob pressão reduzida. O resíduo foi purificado por cromatografia em sílica gel e TLC preparativa (PE: acetona = 4:1) para gerar o composto **AB17014** (261 mg, 9%) como um sólido amarelo.

[945] $^1$H-RMN (400 MHz, DMSO) $\delta$ 12,05 (d, *J* = 52,6 Hz, 1H), 9,24 (s, 1H), 8,55 (d, *J* = 4,7 Hz, 2H), 8,39 (d, *J* = 4,7 Hz, 1H), 8,29 (d, *J* = 8,0 Hz, 1H), 7,82 (d, *J* = 8,1 Hz, 1H), 7,61 - 7,50 (m, 2H), 7,28 (dd, *J* = 9,3, 5,1 Hz, 4H).

*Síntese de AB17151*

**[946]** Como mostrado na Fig. 24M, a uma mistura de composto **1** (40,0 g, 341 mmol, 1,0 equivalente) em MeOH (1400 ml) foi adicionado composto **2** (9,95 g, 142 mmol, 0,417

equivalente), seguido por uma solução aquosa a 1 N de HCl (712 ml) e a mistura foi aquecida até 70°C por 1 hora. A seguir, MeOH foi removido por vácuo e o resíduo foi dissolvido com DCM. A mistura foi lavada com água e a água foi extraída com DCM. A fase orgânica combinada foi seca com $Na_2SO_4$ e concentrada. O resíduo foi purificado por cromatografia em uma coluna de sílica gel (PE/EA, 20:1-5:1) para gerar o composto **3** (7 g, 72%) como um sólido ligeiramente laranja.

[947] A uma mistura de composto **3** (7,0 g, 24,5 mmol, 1,0 equivalente) em DMF (48,6 ml) foi adicionada uma solução de $POCl_3$ (3,78 g, 24,5 mmol, 1,0 equivalente) em DMF (59,8 ml) a 0°C. A mistura de reação foi aquecida até a temperatura ambiente (13-18°C) e agitada de um dia para o outro. A seguir, a mistura foi extinta com $NaHCO_3$ (saturado), extraída com EtOAc (2 x 110 ml), seca sobre $Na_2SO_4$ e concentrada sob pressão reduzida. O resíduo foi purificado por cromatografia em uma coluna de sílica gel (PE/EA, 7:1), e depois HPLC preparativa para gerar **AB12508** (4,4 g, 57%) com um sólido verde claro.

[948] Uma mistura de **AB12508** (4,5 g, 14,33 mmol, 1,0 equivalente), $Boc_2O$ (14,06 g, 64,5 mmol, 4,5 equivalentes), DMAP (388,5 mg, 1,433 mmol, 0,1 equivalente) e TEA (7,24 g, 71,65 mmol, 5,0 equivalentes) em DCM (100 ml) foi aquecida até 50°C por 3 h. A seguir, a mistura foi resfriada até a temperatura ambiente (13-18°C) e concentrada. O resíduo foi purificado por cromatografia em uma coluna de sílica gel (PE/EA, 100:1-30:1) para gerar o composto **4** (5,4 g, 73%).

**[949]** A uma mistura de composto **4** (5,4 g, 10,5 mmol, 1,0 equivalente) em THF (50 ml) foram adicionados $H_2O$ (20 ml),

$NaH_2PO_4$ (4,586 g, 29,4 mmol, 2,8 equivalentes) e $NaClO_2$ (2,85 g, 31,5 mmol, 3,0 equivalentes) em temperatura ambiente (13-18°C). A mistura foi agitada em temperatura ambiente por 3 horas. A reação foi monitorada por TLC. A seguir, a mistura foi extraída com EA (3 x 50 ml), seca sobre $Na_2SO_4$ e concentrada. O resíduo foi purificado por cromatografia em uma coluna de sílica gel (PE/EA, 50:1-10:1) para gerar o composto **5** (2,5 g, 45%).

[950] A uma mistura de composto **5** (2,5 g, 4,717 mmol, 1,0 equivalente) e $K_2CO_3$ (0,976 g, 7,075 mmol, 1,5 equivalente) em DMF (20 ml) foi adicionado $CH_3I$ (1,0 g, 7,075 mmol, 1,5 equivalente) em temperatura ambiente (13-18°C). A mistura foi agitada a 60°C por 1 h. A reação foi monitorada por TLC. A seguir, a mistura foi diluída com água (20 ml). A mistura foi extraída com EA (3 x 50 ml), seca sobre $Na_2SO_4$ e concentrada. O resíduo foi purificado por cromatografia em uma coluna de sílica gel (PE/EA, 100:1-10:1) para gerar o composto **6** (1,8 g, 70%).

**[951]** Uma mistura de composto **6** (1,8 g, 3,3 mmol, 1,0 equivalente) em 3,0 M de HCl/MeOH (20 ml) foi agitada a 60°C por 2 h. A reação foi monitorada por TLC. A seguir, MeOH foi removido por vácuo e o resíduo foi dissolvido com DCM. A mistura foi lavada com água e a água foi extraída com DCM. A fase orgânica combinada foi seca com $Na_2SO_4$ e concentrada. O resíduo foi purificado por cromatografia em uma coluna de sílica gel (PE/EA, 20:1-5:1) para gerar o composto **AB17151** (810 mg, impuro), que foi triturado com PE/EA (5 ml) para gerar o composto **AB17151** (680 mg, 60%) como um sólido esbranquiçado.

[952] $^1$H-RMN (400 MHz, DMSO) $\delta$ 11,56 (s, 1H), 10,98 (s,

1H), 7,92 (dd, *J* = 6,2, 3,1 Hz, 1H), 7,47 (d, *J* = 1,6 Hz, 1H), 7,30 (ddd, *J* = 8,0, 4,7, 3,1 Hz, 2H), 7,19 (d, *J* = 7,7 Hz, 1H), 7,11 - 7,05 (m, 2H), 7,00 - 6,95 (m, 1H), 6,80 (ddd, *J* = 8,0, 7,0, 1,0 Hz, 1H), 4,74 (d, *J* = 9,9 Hz, 1H), 3,84 (s, 3H), 1,71 - 1,62 (m, 1H), 0,73 (t, *J* = 6,9 Hz, 1H), 0,44 (t, *J* = 9,3 Hz, 1H), 0,38 - 0,26 (m, 2H).

*Síntese de Composto VI (AB17225)*

**[953]** Como mostrado na Fig. 24N, a uma solução agitada de composto **1** (600 mg, 2,308 mmol, 1,0 equivalente) em MeOH (10 ml) foram adicionados sucessivamente $MeSO_3H$ (27 mg, 0,281 mmol, 0,12 equivalente) e ortoacetato de trietila (935 mg, 5,772 mmol, 2,5 equivalentes) sob atmosfera de nitrogênio. A mistura foi agitada em temperatura ambiente por 16 horas. Análise por LCMS da mistura de reação mostrou conversão completa no produto desejado. A seguir, a mistura foi filtrada e a torta do filtro foi lavada com MeOH duas vezes para gerar o composto **AB17225** (500 mg, 76%) como um sólido branco.

[954] $^1$H-RMN (400 MHz, DMSO) δ 11,03 (s, 1H), 10,81 (s, 1H), 8,20 (d, *J* = 7,8 Hz, 1H), 8,02 (d, *J* = 7,8 Hz, 1H), 7,88 (s, 1H), 7,44 (d, *J* = 7,5 Hz, 1H), 7,34 (t, *J* = 7,6 Hz, 1H), 7,25 (s, 1H), 7,11 (t, *J* = 7,5 Hz, 1H), 6,92 (d, *J* = 8,1 Hz, 1H), 3,35 (d, *J* = 2,3 Hz, 3H), 3,00 (s, 3H).

*Ácido malassezialático (AB17227)*

[955] Como mostrado na Fig. 24O, à mistura de composto **1** (15,0 g, 57,5 mmol, 1,0 equivalente) em dioxano (200 ml) foi adicionado indol (13,5 g, 115,0 mol, 2,0 equivalentes), Tris (pentafluorfenil) fosfino (6,1 g, 11,4 mmol, 0,2 equivalente), $Na_2CO_3$ (9,1 g, 86,2 mmol, 1,5 equivalente) e $PtCl_2$ (1,5 g, 5,7 mmol, 0,1 equivalente). O frasco foi

desgaseificado com nitrogênio, lacrado e aquecido até 100°C de um dia para o outro. A reação foi monitorada por TLC. O solvente foi evaporado sob pressão reduzida. O resíduo foi diluído com acetato de etila (200 ml) e lavado com água, NaCl saturado. A solução foi concentrada em vácuo. O composto bruto foi purificado por cromatografia em coluna (PE:EA, 200:1-100:1) para gerar o composto **2** (8,3 g, 46,7%) com um sólido marrom.

[956] A uma solução de composto **2** (7,4 g, 21,4 mmol, 1,0 equivalente) em MeOH (350 ml) e água (125 ml) foi adicionado $K_2CO_3$ (11,8 g, 85,6 mmol, 4,0 equivalentes) em temperatura ambiente. A mistura foi agitada a 90°C de um dia para o outro. A reação foi monitorada por TLC. A mistura de reação foi resfriada até a temperatura ambiente e o solvente concentrado em vácuo. A seguir, o resíduo foi dissolvido em acetato de etila (500 ml) e lavado com água, salmoura. A solução foi concentrada em vácuo. O composto bruto foi purificado por cromatografia em coluna (P:E, 50:1- 20:1-PE:EA:DCM, 10:1:1) para gerar o composto **3** (4,1 g, 77,9%) com um sólido amarelo.

[957] A uma solução de composto **3** (2,8 g, 11,4 mmol, 1,0 equivalente) e $Yb(CF_3SO_2)_3$ (2,1 g, 3,4 mmol, 0,3 equivalente) em DCE (40 ml) sob $N_2$. À mistura foi adicionado composto **4** (1,4 g, 13,7 mmol, 1,2 equivalente) sob $N_2$. A mistura foi agitada a 80°C por 2 horas. A reação foi monitorada por TLC. A reação foi extinta com $Na_2CO_3$ saturado (40 ml) e a solução foi acidificada com 2 M de HCl. A solução foi extraída com DCM (3 x 40 ml) e as camadas orgânicas combinadas foram lavadas com salmoura (40 ml), secas ($Na_2SO_4$), e concentrada para gerar o composto bruto **5** (2,45 g, 90,7%) como um sólido

rosa.

[958] A uma solução de composto **5** (690 mg, 1,95 mmol, 1,0 equivalente) em MeOH (40 ml) e água (10 ml) foi adicionado NaOH (0,15 g, 3,9 mmol, 2,0 equivalentes). A mistura foi agitada em temperatura ambiente por 2,5 horas. A reação foi monitorada por TLC. A reação foi seca ($Na_2SO_4$), e concentrada. O resíduo foi acidificado com 2 M de HCl. A solução foi extraída com DCM (3 x 150 ml) e as camadas orgânicas combinadas foram lavadas com salmoura (150 ml), secas ($Na_2SO_4$), e concentradas. O resíduo foi purificado por HPLC Preparativa para gerar **AB17227** (330 mg, 51%) como um sólido violeta.

[959] TLC: DCM:MeOH = 10:1, $Rf_{(5)}$= 0,9, Rf (**AB17227**) = 0,2

[960] $^1$H-RMN (400 MHz, DMSO) δ 10,84 (s, 1H), 10,57 (s, 1H), 7,49-7,43 (dd, $J_1$ = 8,0 Hz, $J_2$ = 7,2 Hz, 2H), 7,32-7,30 (d, $J$ = 8,0 Hz, 1H), 7,20-7,18 (d, $J$ = 7,6 Hz, 1H), 7,10-7,09 (m, 1H), 7,05-7,01 (m, 1H), 6,95-6,87 (m, 3H), 4,19-4,10 (m, 3H), 3,17-3,12 (m, 1H), 2,98-2,94 (m, 1H).

*Síntese de AB12507*

**[961]** Como mostrado na Fig. 24P, a uma solução de composto **1** (25 g, 357 mmol, 1,0 equivalente) em THF (250 ml) foi adicionado NaH (17 g, 428,4 mmol, 1,2 equivalente) em DMF (200 ml) a 0°C sob uma atmosfera de nitrogênio. Após 30 minutos, à mistura foi adicionado sulfato de dimetila (81 g, 642 mmol, 1,8 equivalente) a 0°C. Após a adição, a mistura de reação foi agitada por 30 minutos em temperatura ambiente, e depois ácido acético foi adicionado lentamente. O produto foi destilado diretamente da mistura de reação. Foi obtido o composto **2** (25 g, 83%).

[962] A uma solução de composto **3** (20 g, 86 mmol, 1,0 equivalente) em THF (200 ml) foram adicionados 2 M de NaHMDS (94,6 ml, 189,2 mmol, 2,2 equivalentes) a 0°C. A mistura foi agitada a 0°C por 30 minutos. À mistura foi adicionado $Boc_2O$ (21 g, 94,6 mmol, 1,1 equivalente) em THF (200 ml) a 0°C por 40 min. A mistura foi agitada em temperatura ambiente por 1 hora. A seguir, à mistura foi adicionado $NH_4Cl$ saturado, extraído com EA (3 x 200 ml), a mistura de reação foi lavada com água. A camada orgânica foi lavada com salmoura. O resíduo foi seco sobre $Na_2SO_4$ e concentrado sob pressão reduzida. O resíduo foi purificado por cromatografia em uma coluna de sílica gel (PE/EA, 60:1-50:1) para gerar o composto **4** (18 g, 83%).

[963] CuI (57 mg, 0,3 mmol, 0,1 equivalente) e $PdCl_2(PPh_3)_4$ (105 g, 0,15 mmol, 0,05 equivalente) foram adicionados a uma solução desgaseificada de composto **4** (1,0 g, 3 mmol, 1,0 equivalente) em TEA (10 ml). A mistura foi agitada em temperatura ambiente por 2 horas sob atmosfera de nitrogênio. A reação foi monitorada por TLC. A mistura de reação foi diluída com EA (3 x 10 ml), e foi lavada com água, NaCl saturado e seca sobre $Na_2SO_4$. O solvente foi filtrado e concentrado em vácuo para gerar um óleo marrom. O composto bruto foi purificado por cromatografia em coluna (PE/EA, 60:1-50:1) para gerar o composto **5** (900 mg, 100%).

[964] Uma solução de composto **5** (5 g, 17 mmol, 1,0 equivalente), $PtCl_2$ (900 mg, 1,7 mmol, 0,1 equivalente), $Na_2CO_3$ (2,7 g, 25,5 mmol, 1,5 equivalente) e indol (4,0 g, 34 mmol, 2,0 equivalentes) em dioxano (50 ml) foi refluída a 100°C por 12 horas sob atmosfera de nitrogênio. A reação foi monitorada por TLC. O solvente foi evaporado sob pressão

reduzida. A mistura de reação foi diluída com EA (3 x 50 ml), lavada com água, NaCl saturado e seca sobre $Na_2SO_4$. O solvente foi filtrado e concentrado em vácuo. O composto bruto foi purificado por cromatografia em coluna (PE/EA, 50:1-40:1) para gerar o composto **6** (3 g, 80%).

[965] A uma solução de composto **6** (3 g, 8 mmol, 1,0 equivalente) em metanol (75 ml) e água (25 ml) foi adicionado $K_2CO_3$ (3,8 g, 0,027 mol) em temperatura ambiente. A suspensão resultante foi aquecida até o refluxo de um dia para o outro. A reação foi monitorada por TLC. A mistura de reação foi resfriada até a temperatura ambiente e o solvente concentrado em vácuo. O resíduo foi recolhido em acetato de etila (200 ml) e lavado com água e salmoura e depois seco (sulfato de sódio), filtrado, o solvente concentrado em vácuo. O composto bruto foi purificado por cromatografia em coluna (PE/EA, 50:1-20:1) para gerar o composto **7** (1,5 g, 75%).

[966] Uma solução de $POCl_3$ (73 mg, 0,48 mmol, 1,2 equivalente) em DMF (1 ml) foi agitada a 0°C por 30 min. À mistura foi adicionado composto **7** (100 mg, 0,4 mmol, 1,0 equivalente) em DMF (1 ml). A mistura foi agitada em temperatura ambiente por 12 horas. A reação foi monitorada por TLC. A mistura de reação foi derramada em bicarbonato de sódio aquoso saturado (2 ml) e agitada por 1 hora. A mistura resultante foi extraída com EA (2 x 2 ml). As camadas orgânicas foram combinadas e lavadas com água, NaCl saturado e secas sobre $Na_2SO_4$. O solvente foi filtrado e concentrado em vácuo. O resíduo foi purificado por TLC Preparativa para gerar **AB12507** (60 mg, 50%).

*Síntese de Composto V (AB17219)*

[967] Como mostrado na Fig. 24Q, a uma solução de

composto **1** (20 g, 91,32 mmol, 1,0 equivalente) em THF (200 ml) foi adicionado lentamente NaHMDS (2 M em THF, 94,6 ml, 0,201 mol, 2,2 equivalentes) a 0°C sob atmosfera de nitrogênio. Após ser agitada por 0,5 hora a 0°C, uma solução de $(Boc)_2O$ (21 g, 0,100 mol, 1,1 equivalente) em THF (40 ml) foi adicionada lentamente a 0°C. Foi permitido que a mistura resfriasse até a temperatura ambiente e ela foi agitada em temperatura ambiente por 1 hora. A análise por TLC da mistura de reação mostrou conversão completa no produto desejado. A seguir, a mistura foi extinta com $NH_4Cl$ saturado (200 ml) e extraída com acetato de etila. A camada orgânica foi seca sobre $Na_2SO_4$ anidro e concentrada sob pressão reduzida. O resíduo foi purificado por cromatografia em sílica gel (PE: EA = 100%-30:1) para gerar o composto **2** (18 g, 62%) como um óleo amarelo.

[968] A uma solução de composto **2** (1 g, 3,13 mmol, 1,0 equivalente) e composto **2a** (0,24 g, 3,43 mmol, 1,1 equivalente) em TEA (10 ml) foram adicionados sucessivamente CuI (60 mg, 0,316 mmol, 0,1 equivalente) e $Pd(PPh_3)_2Cl_2$ (44 mg, 0,0627 mmol, 0,02 equivalente) em temperatura ambiente sob atmosfera de nitrogênio. A mistura foi agitada em temperatura ambiente por 2 horas. A análise por TLC da mistura de reação mostrou conversão completa no produto desejado. A seguir, a mistura foi diluída com água e extraída com acetato de etila. A camada orgânica foi seca sobre $Na_2SO_4$ anidro e concentrada sob pressão reduzida. O resíduo foi purificado por cromatografia em sílica gel (PE: EA = 100%-50:1) para gerar o composto **3** (720 mg, 93%) como um óleo amarelo.

[969] A uma solução de composto **3** (1 g, 3,83 mmol, 1,0

equivalente) em dioxano (25 ml) foram adicionados $PtCl_2$ 10% (0,1 g, 0,376 mmol, 0,1 equivalente), 5-metil indol (1 g, 7,63 mmol, 2,0 equivalentes), Tris (pentafluorfenil) fosfino (407 mg, 0,765 mmol, 0,2 equivalente) e $Na_2CO_3$ (0,61 g, 5,75 mmol, 1,5 equivalente) sob atmosfera de nitrogênio. A mistura foi agitada a 100°C por 16 horas. A análise por TLC da mistura de reação mostrou conversão completa no produto desejado. A seguir, a mistura foi diluída com água e extraída com acetato de etila. A camada orgânica foi seca sobre $Na_2SO_4$ anidro e concentrada sob pressão reduzida. O resíduo foi purificado por cromatografia em sílica gel (PE: EA = 100%-6:1) para gerar o composto **4** (500 mg, 93%) como um óleo amarelo.

[970] A uma solução de composto **4** (785 mg, 2,18 mmol, 1,0 equivalente) em MeOH/ $H_2O$ (20 ml / 10 ml) foi adicionado $K_2CO_3$ (1,2 g, 8,70 mmol, 4,0 equivalentes). A mistura foi agitada a 90°C por 16 horas. A análise por TLC da mistura de reação mostrou conversão completa no produto desejado. A seguir, a mistura foi diluída com água e extraída com acetato de etila. A camada orgânica foi seca sobre $Na_2SO_4$ anidro e concentrada sob pressão reduzida. O resíduo foi purificado por cromatografia em sílica gel (PE: EA = 100%-6:1) para gerar o composto **5** (360 mg, 93%).

[971] A uma solução agitada de composto **5** (0,85 g, 3,27 mmol, 1,0 equivalente) em MeOH (10 ml) foram adicionados sucessivamente $MeSO_3H$ (38 mg, 0,39 mmol, 0,12 equivalente) e ortoacetato de trietila (1,32 g, 8,18 mmol, 2,5 equivalentes) sob atmosfera de nitrogênio. A mistura foi agitada em temperatura ambiente por 4 horas. A análise por TLC da mistura de reação mostrou conversão completa no produto

desejado. A seguir, a mistura foi filtrada e a torta do filtro foi lavada com MeOH para gerar o composto **AB17219** (700 mg, 75%) como um sólido amarelo claro.

[972] $^1$H-RMN (400 MHz, DMSO) δ 11,01 (s, 1H), 10,76 (s, 1H), 8,21 (d, *J* = 7,8 Hz, 1H), 7,92 (d, *J* = 19,3 Hz, 2H), 7,44 (d, *J* = 8,0 Hz, 1H), 7,35 (d, *J* = 8,0 Hz, 2H), 7,18 (d, *J* = 8,2 Hz, 1H), 7,12 (s, 1H), 3,00 (s, 3H), 2,47 (s, 3H).

*Síntese de Composto VIII (AB17220)*

[973] Como mostrado na Fig. 24R, a uma solução de $CrO_3$ (39 g, 0,39 mol, 20,0 equivalentes) em $H_2O$ (58 ml) foi adicionada lentamente uma solução de composto **1** (5,0 g, 19,53 mmol, 1,0 equivalente) em AcOH (58 ml) a -5°C. A mistura foi agitada a 0-5°C por 2 h. A análise por TLC da mistura de reação mostrou conversão completa no produto desejado. A mistura foi filtrada e a torta do filtro foi lavada com EtOH e $H_2O$. A seguir, a mistura foi filtrada para gerar composto **2** impuro (1,652 g, 29%).

[974] A uma solução de composto **2** impuro (1,9 g, 6,64 mmol, 1,0 equivalente) em $Ac_2O$ (160 ml) foram adicionados pó de Zn (4,34 g, 66,77 mmol, 10,0 equivalentes) e AcONa (1,35 g, 9,96 mmol, 1,5 equivalente). A mistura foi agitada a 160°C por 0,5 h. A mistura foi filtrada e sucessivamente lavada com $Ac_2O$ em ebulição e acetona. A seguir, a mistura foi filtrada para gerar o composto **AB17220** (417 mg, 16%).

[975] $^1$H-RMN (400 MHz, DMSO) δ 11,35 (s, 2H), 8,00 (d, *J* = 7,9 Hz, 2H), 7,47 (dd, *J* = 20,4, 7,7 Hz, 4H), 7,17 (s, 2H), 2,64 (s, 6H).

*Síntese de Composto VII (AB17221)*

[976] Como mostrado na Fig. 24S, uma mistura de composto **1** (348 mg, 2,1 mmol, 2,1 equivalentes), composto **2** (246 mg,

1 mmol, 1 equivalentes), Aliquat (20 mg, 0,05 equivalente), carbonato de potássio aquoso (773 mg, 5,6 mg, 2 M), $Pd(PPh_3)_4$ (23 mg, 0,02 mmol, 0,02 equivalente) e dioxano (7 ml) foi desgaseificada três vezes. A mistura de reação foi aquecida até o refluxo de um dia para o outro. Após resfriamento, a mistura de reação foi extinta por 1 N HCl aquoso (15 ml). As precipitações resultantes foram centrifugadas e lavadas com $MeOH/H_2O$ (1:1, 10 ml x 2). O produto resultante foi seco sob vácuo.

[977] A seguir, uma mistura de composto **3** (30 mg, 0,073 mmol) e trietilfosfito (122 mg, 0,73 mmol, 10 equivalentes), foi desgaseificada três vezes e aquecida até 152°C por 48 horas. Após resfriamento, a mistura de reação foi adicionada em uma solução de 0,5 ml de EtOH e 0,2 ml de $H_2O$. As precipitações resultantes foram centrifugadas e lavadas com $EtOH/H_2O$ (1:1, 0,3 ml x 2). O produto resultante foi seco sob vácuo, e purificado por HPLC preparativa para gerar **AB17221** (9,4 mg).

## Exemplo 16

## Atividade de indução de apoptose de derivados de malassezina e malassezina

*Reagentes*

**[978]** Alexa Flúor 488 Anexina V / Kit de Apoptose de Célula Morta, Soro Bovino Fetal (FBS) e Tripsina-EDTA 0,25% (1x), Vermelho Fenol foram adquiridos de Invitrogen. O Ensaio de Caspase-Glo 3/7 foi adquirido de Promega. Meio RPMI 1640 e Meio de Eagle Modificado por Dulbecco foram adquiridos de Gibco. Solução Antibiótica Antimicótica (100x) foi adquirida de Sigma.

[979] As linhagens de células MeWo (ATCC® HTB-65™),

WM115 (ATCC® CRL-1675) e B16F1 (ATCC® CRL-6323) foram adquiridas de ATCC e mantidas nos seguintes meios de cultura: meio de cultura para MeWo e B16F1: DMEM suplementado com FBS 10%; meio de cultura para WM115: RPMI 1640 suplementado com FBS 10%.

*Métodos experimentais*

[980] As células foram coletadas e o número de células foi determinado usando um Contador de Células Countess. As células foram diluídas com meio de cultura até a densidade desejada. A densidade de células final foi de 4.000 células / poço por tratamento de 6 horas e 24 horas, e 2.000 células / poço por tratamento de 48 horas e 72 horas. Para o ensaio de Anexina V, placas de fundo transparente de 384 poços (Corning 3712) foram empregadas, enquanto placas de fundo branco sólidas de 384 poços (Corning 3570) foram usadas para os ensaios de Caspase-Glo. Todas as placas foram cobertas com uma tampa e colocadas a 37°C e $CO_2$ 5% de um dia para o outro para adesão de células.

[981] Os compostos de teste foram dissolvidos em DMSO para um estoque de 30 mM. Foram realizadas diluições de 10 vezes para gerar concentrações de 3 mM e 0,3 mM. 0,9 mM de Estaurosporina foi empregado como controle positivo, e DMSO foi empregado como controle negativo (NC). 132,5 nl de compostos foram transferidos da placa-fonte de composto para a(s) placa(s) de cultura de células de 384 poços usando manuseador de líquidos Echo550. Após o tempo de incubação indicado, as placas foram removidas da incubadora para detecção.

[982] Para o ensaio de Anexina V, as placas foram removidas da incubadora e o meio de cultura foi removido. As

células foram lavadas duas vezes com 40 µl de PBS e 15 µl de solução de trabalho pré-misturada de Anexina V-FITC e corante Hoechst 33342 foram adicionados por poço. As placas foram incubadas em temperatura ambiente por 20 minutos, lacradas, e centrifugadas por 1 minuto a 1.000 rpm para remover bolhas. As placas foram lidas usando ImageXpress Nano.

[983] Para o ensaio de Caspase-Glo, as placas foram removidas da incubadora e equilibradas em temperatura ambiente por 15 minutos. Reagentes Caspase-Glo 3/7 também foram descongelados e equilibrados até a temperatura ambiente antes do experimento. Reagente Caspase-Glo foi adicionado aos poços necessários na proporção de 1:1 ao meio de cultura. As placas foram incubadas em temperatura ambiente por 15 minutos e lidas usando uma leitora de placas EnSpire™. A razão de aumento da indução foi calculada de acordo com a seguinte fórmula: Razão de aumento da indução = $Lum_{Amosrta}$ / $Lum_{NC}$.

*Resultados do ensaio de Anexina V*

[984] Tabelas de dados que contêm as percentagens de células Anexina V-positivas em 6, 24, 48 e 72 horas após exposição aos tratamentos são mostradas nas Figs. 25A-25D. Dados de um conjunto separado de experimentos são mostrados nas Figs. 90A-108F.

[985] Dados de coloração de Anexina V mostraram que 100 µM Malassezina induziram morte celular em todas as três linhagens de células. Malassezina foi um indutor de apoptose mais potente em células WM115 e B16F1 comparadas com MeWo, embora a resposta em células WM115 fosse mais lentas do que em células MeWo e B16F1.

*Resultados do ensaio de Caspase 3/7*

[986] Tabelas de dados que contêm a razão de aumento da indução de Caspase 3/7 em 6, 24, 48 e 72 horas após exposição aos tratamentos são mostradas nas Figs. 26A-26D. Dados de um conjunto separado de experimentos são mostrados nas Figs. 109A-127C.

[987] Malassezina ativou Caspase 3/7 em células WM115 e MeWo a 100 μM. Malassezina desencadeou a via de Caspase 3/7 mais rapidamente em células WM115 do que em células MeWo, o que estava em concordância com os dados de coloração de Anexina V.

**Exemplo 17**

**Viabilidade celular após exposição aos derivados de malassezina e malassezina**

*Reagentes*

[988] Ensaio CellTiter-Glo® 2.0 foi adquirido de Promega.

*Métodos experimentais*

[989] Para o ensaio CellTiter-Glo, compostos de teste foram preparados em solução de DMSO de 10 mM. Os compostos foram diluídos serialmente em 12 concentrações. Quarenta µl de células de uma suspensão de 100.000 célula/ml foram dispensados em cada poço de uma placa de 384 poços (Corning 3570). As placas foram incubadas de um dia para o outro a 37°C, $CO_2$ 5%, e 95% de umidade. Os compostos de teste foram adicionados, com DMSO como controle de veículo. As placas foram incubadas a 37°C, $CO_2$ 5%, e 95% de umidade por 6, 24, ou 48 horas, e 40 µl de reagente CellTiter-Glo foram adicionados aos poços para avaliar a viabilidade celular.

*Resultados*

[990] As percentagens de viabilidade celular para

células MeWo e WM115 após exposição a AB12508 (composto E), uma composição desconhecida, CV-8803 (composto K), CV-8804 (composto A), CV-8684 (malassezina), CV-8685 (indol[3,2-b]carbazol), CV-8686 (composto I), CV-8688 (composto II), e estaurosporina são mostradas nas Figs. 27A-27B, Figs. 28A-28B, Figs. 29A-29B, Figs. 30A-30B, Figs. 31A-31B, Figs. 32A-32B, Figs. 33A-33B, Figs. 34A-34B e Figs. 35A-35B, respectivamente. Todos os dados de amostras expostas a compostos de teste foram normalizados para o controle de veículo correspondente com o mesmo tempo de incubação.

**Exemplo 18**

**Potencial de ativação do receptor de aril-hidrocarboneto de derivados de malassezina e malassezina**

*Procedimentos do ensaio*

**[991]** Células HepG2-AhR-Luc foram adquiridas de Pharmaron, sistema de ensaio One-Glo Luciferase foi adquirido de Promega, DMEM foi adquirido de Hyclone e penicilina / estreptomicina foi adquirido de Solabio.

**[992]** Meio de cultura para células HepG2 transfectadas estavelmente foi preparado por suplementação de DMEM com glicose elevada e L-glutamina, bem como FBS 10%.

**[993]** Células HepG2-AhR-Luc foram cultivadas em frascos T-75 a 37°C, $CO_2$ 5% e umidade relativa de 95%. Foi permitido que as células alcançassem 80-90% de confluência antes de descolamento e divisão.

[994] As células cultivadas foram enxaguadas com 5 ml de PBS. PBS foi removido por aspiração, 1,5 ml de tripsina foi adicionado ao frasco, e células foram incubadas a 37°C por aproximadamente 5 minutos ou até que as células destacassem e flutuassem. A tripsina foi inativada por adição de meios

contendo soro em excesso.

[995] A suspensão de células foi transferida para um tubo cônico e centrifugada a 120 g por 10 minutos para peletizar as células. As células foram ressuspensas em meios de semeadura em uma densidade adequada. Quarenta µl de células foram transferidos para uma placa de cultura de 384 poços (5 x $10^3$ células / poço). As placas foram colocadas na incubadora a 37°C por 24 horas.

**[996]** A seguir, soluções de estoque de compostos de teste e controle positivo de omeprazol foram preparadas. As soluções de composto foram transferidas para a placa de ensaio usando Echo550. A placa foi então colocada de volta na incubadora para tratamento com composto.

[997] Mais tarde, após 24 horas de tratamento, a placa foi removida da incubadora e foi permitido que resfriasse em temperatura ambiente. Trinta µl do reagente One-Glo igual àquele do meio de cultura foram adicionados em cada poço. Foi permitido que as células fossem lisadas por pelo menos 3 minutos, e depois medidas em um luminômetro.

[998] Foram feitos gráficos de dose-respostas usando a análise de regressão não linear em XLfit, e os valores da $EC_{50}$ também foram calculados.

*Resultados*

[999] Leituras da atividade de AhR por ensaios de HepG2-AhR-Luciferase mediante exposição a várias concentrações de omeprazol, CV-8684 (malassezina), CV-8685 (indol[3,2-b]carbazol), CV-8686 (composto I), uma composição desconhecida, CV-8803 (composto K), CV-8804 (composto A), AB12508 (composto E) e CV-8688 (composto II) são mostradas nas Figs. 36A-36B, 37A-37B, 38A-38B, 39A-39B, 40A-40B, 41A-

41B, 42A-42B, 43A-43B e 44A-44B, respectivamente.

[1000]Leituras da atividade de AhR por ensaios de HepG2-AhR-Luciferase mediante exposição a várias concentrações de omeprazol, uma composição desconhecida, 2,3,7,8-tetraclorodibenzodioxina (TCDD), CV-8819 (composto A5), CV-8684 (malassezina), AB12508 (composto E), CV-8686 (composto I), AB12509 (composto H), CV-8688 (composto II), CV-8877 (composto B), CV-8685 (indol[3,2-b]carbazol), composto B10 e CV-8687 (composto IV) são mostradas nas Figs. 45A-45B, 46A-46B, 47A-47B, 48A-48B, 49A-49B, 50A-50B, 51A-51B, 52A-52B, 53A-53B, 54A-54B, 55A-55B, 56A-56B e 57A-57B, respectivamente.

[1001]Leituras da atividade de AhR por ensaios de HepG2-AhR-Luciferase mediante exposição a várias concentrações de omeprazol, TCDD, precursor de Malassezina, AB11644, 3-metilcolantreno (3-MC), AB12976 (O52), AB17011 (*Malassezia* indol A), pitiriacitrina, AB17151 e AB17225 são mostrados nas Figs. 58A-58B, 59A-59B, 60A-60B, 61A-61B, 62A-62B, 63A-63B, 64A-64B, 65A-65B, 66A-66B e 67A-67B, respectivamente. Resultados de dois conjuntos de experimentos estão resumidos nas Tabelas 1 e 2 abaixo.

**Tabela 1**

| **ID do Composto** | **$EC_{50}$ (µM)** |
|---|---|
| Omeprazol | 21,36 |
| CV-8684 | 4,19 |
| CV-8685 | 6,60 |
| CV-8686 | 3,17 |
| Composição desconhecida | 15,72 |
| CV-8803 | 13,88 |
| CV-8804 | 15,70 |

| | |
|---|---|
| AB12508 | 15,44 |
| CV-8688 | 19,86 |

**Tabela 2**

| **ID do Composto** | **$EC_{50}$ (µM)** |
|---|---|
| Omeprazol | 39,78 |
| Composição desconhecida | 9,90 |
| TCDD | 0,0031 |
| Composto A5 (CV-8819) | 4,11 |
| Malassezina | 13,39 |
| Composto E (AB12508) | 14,24 |
| Composto I (CV-8686) | 5,45 |
| Composto H (AB12509) | 11,58 |
| Composto II (CV-8688 | 13,37 |
| Composto B (CV-8877) | 13,81 |
| Indol Carbazol (CV-8685) | 15,18 |
| Composto B10 | 4,29 |
| Composto IV (CV-8687) | 33,55 |
| Omeprazol | 42,29 |
| TCDD | 0,0018 |
| Precursor de malassezina | 37,28 |
| AB11644 | 14,88 |
| 3-MC | 4,34 |
| AB12976 | 16,50 |
| AB17011 | 35,78 |
| AB17014 | 3,46 |
| AB17151 | 13,72 |
| AB17225 | 3,93 |

**Exemplo 19**

**Ensaios MelanoDerm™**

*Sumário do estudo 1*

[1002]O objetivo desse estudo foi avaliar a ação potencial dos artigos de teste como moduladores da melanogênese da pele no Modelo de Pele MelanoDerm™ após exposições repetidas. Os tratamento foram os seguintes: 7 dias de tratamento em dias alternados (7TD); 7 dias de tratamento em dias alternados, seguidos por 7 dias sem tratamento (recuperação) (7TD+7NTD); e 14 dias de tratamento em dias alternados (14TD). O estudo também avaliou a irritação dérmica potencial induzida por cada artigo de teste, como medida pela conversão de MTT por tecidos MelanoDerm™ após exposições repetidas aos artigos de teste, ao longo dos períodos de tratamento especificados no protocolo.

[1003]O ensaio de conversão de MTT (brometo de 3-[4,5-dimetiltiazol-2-il]-2,5-difeniltetrazólio), que mede a redução de enzima microssomal NAD(P)H-dependente de MTT (e em um grau menor, a redução de succinato desidrogenase de MTT) em um precipitado de azul formazan, foi usado para avaliar o metabolismo celular após exposição a um artigo de teste (Berridge e *cols.*, 1996). A toxicidade dos artigos de teste para os tecido, o que é uma evidência para irritação dérmica potencial, foi determinada por medição da sobrevida relativa - a conversão de MTT em relação aos tecidos tratados com controle negativo.

*Materiais e métodos*

*Recebimento do Modelo de Pele MelanoDerm™*

[1004]Mediante recebimento do Kit de Pele MelanoDerm™ (MatTek Corporation), as soluções foram armazenadas como indicado pelo fabricante. Os tecidos MelanoDerm™ foram

armazenados a 2-8°C até o uso. No dia da recepção (o dia anterior à dosagem), Meio de Manutenção MelanoDerm™ (EPI-100-LLMM) foi aquecido até aproximadamente 37°C. Nove décimos de ml de EPI-100-LLMM foram divididos em alíquotas nos poços apropriados de placas de 6 poços. As placas de 6 poços foram rotuladas para indicar artigos de teste ou controles e seus volumes de dose e condições de exposição (planejadas para pontos finais de MTT e Melanina). Cada tecido MelanoDerm™ foi inspecionado quanto a bolhas de ar entre o gel de agarose e a inserção de cultura de células antes da abertura da embalagem lacrada. Tecidos com bolhas de ar que cobrem mais do que 50% da área da inserção de cultura de células não foram usados. Os recipientes de remessa de 24 poços foram removidos da bolsa plástica e suas superfícies foram desinfectadas com etanol 70%. Os tecidos MelanoDerm™ foram transferidos assepticamente para dentro das placas de 6 poços. Os tecidos MelanoDerm™ foram então incubados a 37 ± 1°C em uma atmosfera umidificada de $CO_2$ 5 ± 1% no ar (condições de cultura padronizadas) de um dia para o outro (pelo menos 16 horas).

[1005]Pelo menos 16 horas após incubação dos tecidos a partir da data de recebimento, os oito tecidos MelanoDerm™ designados para o MTT (2 tecidos - denominados “Dia Não-Tratado” 0 para os objetivos desse relatório), e Ensaios de melanina (3 tecidos), respectivamente, foram fotografados usando uma câmera digital (câmera CANON, PowerShot SX130IS, zoom óptico de 12x, ajuste manual) para ajudar na avaliação visual do grau de pigmentação dos tecidos no começo do ensaio. Essas fotografias foram feitas da parte inferior dos tecidos MelanoDerm™, que foram invertidos para exibirem

melhor a melanina. Também foram tiradas fotografias usando uma câmera Infinity 2 conectada a um microscópio invertido Nikon Eclipse TE 2000U (ampliação 15x e 60x, respectivamente).

[1006]Os tecidos MelanoDerm™ não tratados foram então gentilmente enxaguados com Solução Salina Tamponada com Fosfato Livre de $Ca^{++}$ e $Mg^{++}$ de Dulbecco estéril (CMF-DPBS), engarrafados secos em papel absorvente estéril e limpos de líquido em excesso. Dois tecidos foram então transferidos para os poços apropriados contendo MTT por 3 ± 0,1 horas para o ponto final de viabilidade por MTT (veja a seção “Ensaio de MTT”). Três tecidos MelanoDerm™ não tratados foram removidos da inserção de cultura de células usando um bisturi estéril, colocados em um tubo de microcentrífuga de 1,5 ml rotulado, e armazenados a <-60°C para análise de melanina subseqüente (veja a seção “Ensaio de Melanina”).

*Preparação do artigo de teste*

[1007]Os artigos de teste, CV-8686 e AB11644, foram fornecidos como soluções de estoque (aproximadamente 100 mM cada) em DMSO. Os artigos de teste foram administrados ao sistema de teste como uma diluição de 50 μM e 200 μM em EPI-100-LLMM estéril. O artigo de teste DMSO (controle de veículo) foi administrado ao sistema de teste como uma diluição de 0,2% em EPI-100-LLMM estéril.

[1008]Cada um dos artigos de teste foi preparado usando o seguinte procedimento: partindo das concentrações de estoque fornecidas, 2 μl de cada artigo de teste primeiramente foram diluídos com o volume apropriado de EPI-100-LLMM até uma concentração final de 200 μM. Duzentos e cinqüenta μl da diluição de 200 μM (que corresponde a cada

artigo de teste) foram adicionados a 750 μl de EPI-100-LLMM para preparar a diluição de 50 μl usada no estudo. As diluições do artigo de teste foram turbilhonadas por pelo menos 1 minuto, aquecidas a 37° ± 1°C (em um banho-maria) por 15 minutos e turbilhonadas novamente por pelo menos 1 minuto antes da aplicação sobre os tecidos em um volume de 25 μl.

[1009]O controle de solvente, DMSO, foi diluído (v/v) com EPI-100-LLMM até uma concentração final de 0,2%. O controle de solvente diluído foi turbilhonado por pelo menos 1 minuto antes da aplicação sobre os tecidos em um volume de 25 μl.

*Avaliação da redução direta pelo artigo de teste por MTT*

[1010]Cada diluição do artigo de teste foi adicionado a uma solução a 1,0 mg/ml de MTT (Sigma) em Meio de Eagle Modificado por Dulbecco (DMEM) aquecido contendo 2 mM de L-glutamina (Meio de Adição de MTT) para avaliar sua habilidade para reduzir diretamente MTT. Aproximadamente 25 μl de cada artigo de teste foram adicionados a 1 ml da solução de MTT, e as misturas foram incubadas em condições de cultura padronizadas por aproximadamente uma hora. Um controle negativo, 25 μl de água deionizada estéril (Quality Biological) foi testado concomitantemente. Se a cor da solução de MTT ficasse azul/violeta, presumíamos que o artigo de teste tinha reduzido o MTT.

[1011]Foi observado que os artigos de teste, CV-8686, AB11644 e DMSO não reduziam MTT diretamente na ausência de células viáveis.

*Determinação do pH*

[1012]O pH de cada artigo de teste foi medido usando

papel de pH (EMD Millipore Corporation). Inicialmente, cada artigo de teste foi adicionado ao papel de pH com uma faixa de pH de 0-14 em incrementos de unidade de pH de 1,0 para se aproximar de uma faixa de pH estreita. A seguir, cada artigo de teste foi adicionado ao papel de pH com uma faixa mais estreita de 5-10 unidades de pH com incrementos de unidade de pH de 0,5, para obter um valor do pH mais preciso. O pH de cada artigo de teste foi medido para cada dose aplicada sobre os tecidos (dias 0, 2, 4, 6, 10, 12, 14 - como apropriado).

*Ensaio final*

[1013]Tratamento com artigo de teste: Grupo 7TD = ensaio de 7 dias (tratamento em dias alternados)

[1014]Oito tecidos MelanoDerm™ foram tratados topicamente a cada 48 ± 2 horas com o artigo de teste (CV-8686 e AB11644 nas concentrações especificadas) em um volume de dosagem de 25 µl, ao longo de um período de 7 dias. Dois tecidos MelanoDerm™ foram tratados topicamente a cada 48 ± 2 horas com cada um de controle negativo, 25 µl de água deionizada estéril (Quality Biological) e controle positivo (ácido kójico 1% preparado em água deionizada estéril), respectivamente, para um experimento de 7 dias. A solução de ácido kójico foi filtrada no momento da preparação e armazenada em um tubo coberto com folha de alumínio até o uso (2 horas da preparação). Os tecidos foram tratados com os artigos de teste e controles do ensaio, respectivamente, a cada 48 ± 2 horas ao longo de um período de 7 dias. Os tecidos expostos foram então incubados em condições de cultura padronizadas.

[1015]Tratamento com artigo de teste: 7TD+7NTD = 7 dias

de tratamento em dias alternados, seguidos por 7 dias sem tratamento (recuperação)

[1016]Oito tecidos MelanoDerm™ foram tratados topicamente a cada 48 ± 2 horas com o artigo de teste (CV-8686 nas concentrações especificadas no protocolo) em um volume de dosagem de 25 µl, ao longo de um período de 7 dias. Os tecidos foram tratados com o artigo de teste a cada 48 ± 2 horas ao longo de um período de 7 dias. Após os primeiros 7 dias de tratamento em dias alternados, os tecidos foram cultivados por mais período de 7 dias sem tratamento adicionado topicamente. Os tecidos foram “realimentados” diariamente, como detalhado abaixo. Os tecidos expostos foram então incubados em condições de cultura padronizadas.

[1017]Tratamento com artigo de teste: Grupo 14TD = 14 dias de tratamento em dias alternados

[1018]Oito tecidos MelanoDerm™ foram tratados topicamente a cada 48 ± 2 horas com o artigo de teste (CV-8686 e DMSO nas concentrações especificadas no protocolo) em um volume de dosagem de 25 µl, ao longo de um período de 7 dias. Dois tecidos MelanoDerm™ foram tratados topicamente a cada 48 ± 2 horas com cada um de controle negativo, 25 µl de água deionizada estéril (Quality Biological) e controle positivo (ácido kójico 1% preparado em água deionizada estéril), respectivamente, para um experimento de 14 dias. A solução de ácido kójico foi filtrada no momento da preparação e armazenada em um tubo coberto com folha de alumínio até o uso (2 horas da preparação). Os tecidos foram tratados com os artigos de teste e controles do ensaio, respectivamente, a cada 48 ± 2 horas ao longo de um período de 14 dias. Os tecidos expostos foram então incubados em

condições de cultura padronizadas.

[1019]Os tecidos MelanoDerm™ tratados foram “realimentados” diariamente. Os tecidos receberam pequenas pancadas para assegurar o reespalhamento por igual dos controles aplicados topicamente. Os tecidos tratados foram então colocados em novas placas de 6 poços pré-rotuladas contendo 0,9 ml de EPI-100-LLMM pré-aquecido (aproximadamente 37°C) e foram retornados à incubadora e permaneceram em condições de cultura padronizadas.

[1020]Após cada tempo de exposição de 48 ± 2 horas, os tecidos MelanoDerm™ foram gentilmente enxaguados três vezes com aproximadamente 500 µl de DPBS livre de $Ca^{++}$ e $Mg^{++}$ para remover qualquer artigo de teste residual. Os tecidos primeiramente foram colocados em novas placas de 6 poços pré-rotuladas contendo 0,9 ml de EPI-100-LLMM pré-aquecido (aproximadamente 37°C) e depois dosados com o artigo de teste apropriado, controle negativo ou positivo, como discutido acima.

[1021]Ao final de cada experimento individual (7TD; 7TD+7NTD; e 14TD, respectivamente), os tecidos de cada grupo de tratamento (artigo de teste, controle negativo e controle positivo), foram gentilmente enxaguados com DPBS livre de $Ca^{++}$ e $Mg^{++}$, engarrafados secos em papel absorvente estéril, e limpos de líquido em excesso. Os tecidos foram então fotografados usando uma câmera digital (câmera CANON, PowerShot SX130IS, zoom óptico de 12x, ajuste manual) para ajudar na avaliação visual do grau de pigmentação dos tecidos no começo do ensaio. Essas fotografias macroscópicas foram feitas da parte inferior dos tecidos MelanoDerm™, que foram invertidos para exibirem melhor a melanina. Fotografias

microscópicas foram feitas usando uma câmera Infinity 2 conectada a um microscópio invertido Nikon Eclipse TE 2000U (ampliação 15x e 60x, respectivamente).

[1022]Três tecidos de cada grupo de tratamento foram então enxaguados com CMF-DPBS, engarrafados secos em papel absorvente estéril, e limpos de líquido em excesso. Os tecidos foram removidos da inserção usando bisturis estéreis, colocados em um tubo de microcentrífuga de 1,5 ml rotulado e armazenados a <-60°C de um dia para o outro para análise de melanina subseqüente, como descrito na seção “Ensaio de Melanina”. Dois tecidos MelanoDerm™ de cada grupo de tratamento (artigo de teste, controle negativo e controle positivo) foram então gentilmente enxaguados com Solução Salina Tamponada com Fosfato Livre de $Ca^{++}$ e $Mg^{++}$ de Dulbecco estéril (CMF-DPBS), engarrafados secos em papel absorvente estéril e limpos de líquido em excesso. Os tecidos foram então transferidos para os poços apropriados contendo MTT por aproximadamente 3 horas para o ponto final de viabilidade por MTT (veja a seção “Ensaio de MTT”).

*Ensaio de MTT*

[1023]Uma solução de MTT a 1,0 mg/ml em Meio de Adição de MTT aquecido foi preparada no máximo 2 horas antes do uso. Após o tempo de exposição apropriado, os tecidos MelanoDerm™ projetados para o ponto final de MTT foram enxaguados intensamente com CMF-DPBS e o meio de lavagem foi decantado. 0,3 ml de reagente de MTT foi adicionado aos poços designados em uma placa de 24 poços pré-rotulada. Os tecidos MelanoDerm™ foram transferidos para os poços apropriados após enxágüe. As placas foram incubadas por aproximadamente três horas em condições de cultura padronizadas.

[1024]Após o período de incubação com solução de MTT, os tecidos MelanoDerm™ foram blotados em papel absorvente estéril, limpos de líquido em excesso, e transferidos para uma placa de 24 poços pré-rotulada contendo 2,0 ml de isopropanol em cada poço designado. As placas foram então agitadas por pelo menos duas horas em temperatura ambiente.

[1025]Ao final do período de extração, o líquido dentro das inserções de cultura de células foi decantado dentro do poço do qual a inserção de cultura de células foi retirada. A solução de extrato foi misturada e 200 µl foram transferidos para dois poços de uma placa de 96 poços designados para cada amostra e 200 µl de isopropanol foram colocados nos dois poços designados como os brancos. A absorbância a 550 nm ($OD_{550}$) de cada poço foi medida com uma leitora de placas Vmax de Molecular Devices.

*Ensaio de Melanina*

[1026]No dia da extração de melanina, os tecidos excisados foram descongelados em temperatura ambiente por aproximadamente 20 minutos. Duzentos e cinqüenta µl de Solvable foram adicionados a cada tubo de microcentrífuga e os tubos foram incubados por pelo menos 16 horas a 60 ± 2°C, juntamente com os padrões de melanina em um banho seco. Juntamente com as amostras, 25 µl de cada uma das diluições do artigo de teste preparadas no mesmo dia foram misturados com 250 µl de Solvable e incubados por pelo menos 16 horas a 60 ± 2°C em um banho seco (somente para fins de R&D). Uma solução de estoque de padrão de melanina de 1 mg/ml foi preparada por dissolução da melanina em Solvable. Uma série de padrões de melanina foi preparada a partir da solução de 1 mg/ml. A série de padrões foi preparada por adição de 0,6

ml da solução de estoque de padrão de melanina de 1 mg/ml a 1,2 ml de Solvable, e depois produção de uma série de mais cinco diluições (fator de diluição de 3). Solvable foi usado como o padrão-zero.

[1027]Pelo menos 16 horas após o início da extração de melanina, os tubos que contêm as amostras (que representam a melanina extraída dos tecidos MelanoDerm™), diluições do artigo de teste misturadas com Solvable, e os padrões foram resfriados até a temperatura ambiente e depois centrifugados a 13.000 rpm por 5 minutos em temperatura ambiente. Duzentos μl de amostras foram transferidos para os poços apropriados de uma placa de 96 poços. Duzentos μl de padrões e brancos foram transferidos para os poços apropriados de uma placa de 96 poços em duplicata. Duzentos μl de diluições do artigo de teste e meios EPI-100-LLMM foram transferidos para os poços apropriados de uma placa de 96 poços somente em um único poço. A absorbância a 490 nm ($OD_{490}$) de cada poço foi medida com uma leitora de placas Vmax de Molecular Devices.

*Apresentação de dados*

Dados de MTT - Dia 0

[1028]Os dados brutos de absorbância foram capturados. O valor médio da $OD_{550}$ dos poços em branco foi calculado. O valor corrigido da $OD_{550}$ do tecido não tratado foi determinado por subtração do valor médio da $OD_{550}$ dos poços em branco dos valores da $OD_{550}$ do tecido não tratado. Os valores individuais do % de viabilidade foram tabulados para cada tecido individual por divisão do valor individual corrigido da $OD_{550}$ pela média de todos os valores da $OD_{550}$ calculados para o tecido não tratado. Um % de viabilidade médio global foi calculado. Finalmente, o valor médio da viabilidade dos

tecidos não tratados foi plotado em um gráfico de barras (com ± barra de erro de 1 desvio-padrão).

Dados de MTT - Dia 7, Dia 14

[1029]Os dados brutos de absorbância foram capturados. O valor médio da $OD_{550}$ dos poços em branco foi calculado. O valor médio corrigido da $OD_{550}$ do controle negativo foi determinado por subtração do valor médio da $OD_{550}$ dos poços em branco de seus valores médios da $OD_{550}$. Os valores corrigidos da $OD_{550}$ da exposição ao artigo de teste individual, exposições ao controle positivo e exposições ao controle negativo foram determinados por subtração de cada um dos valores médios da $OD_{550}$ para os poços em branco.

Tempo de exposição ao artigo de teste corrigido $OD_{550}$ = Tempo de exposição ao artigo de teste $OD_{550}$ - $OD_{550}$ média do branco

[1030]Os seguintes cálculos do percentual de controle foram feitos para os tecidos tratados com artigo de teste e tecidos tratados com controle positivo:

% de viabilidade = [($OD_{550}$ final corrigida do Artigo de teste ou Controle positivo) / ($OD_{550}$ média corrigida do Controle Negativo/de Solvente)] x 100

[1031]Os seguintes cálculos do percentual de controle foram feitos para os tecidos tratados com o artigo de teste, em que o artigo de teste foi DMSO (controle de solvente):

% de viabilidade = [($OD_{550}$ final corrigida do Artigo de teste (Controle de Solvente)) / ($OD_{550}$ média corrigida do Controle negativo)] x 100

[1032]Os valores individuais do % de Controle foram ponderados para calcular o % médio de Controle por cada artigo de teste ou controle positivo. Uma média global da

viabilidade por MTT foi calculada. Finalmente, os valores médios da viabilidade foram plotados em um gráfico de barras (com ± barra de erro de 1 desvio-padrão).

*Dados de Melanina*

[1033]Os dados brutos de absorbância foram capturados. O valor da $OD_{490}$ de cada padrão de melanina foi determinado. O valor médio da $OD_{490}$ de cada padrão de melanina foi usado para preparar uma curva-padrão. O valor corrigido da $OD_{490}$ de cada concentração de padrão de melanina foi determinado por subtração do valor da $OD_{490}$ do poço em branco do valor da $OD_{490}$ da concentração de padrão de melanina. A curva-padrão foi plotada como a concentração dos padrões em mg/ml (eixo-y) versus a absorbância corrigida correspondente (valor da $OD_{490}$). A quantidade de melanina no artigo de teste ou tecidos tratados com controle positivo foi interpolada matematicamente a partir da curva-padrão (quadrática).

*Resultados e discussão*

[1034]Os artigos de teste, CV-8686, DMSO e AB11644 foram testados em um ensaio de avaliação de modulador da melanogênese usando o modelo de tecido MelanoDerm™ Asiático para avaliar sua irritação dérmica potencial e o impacto sobre a melanogênese após exposições repetidas. Os seguintes períodos de tratamento foram testados: 7 dias de tratamento em dias alternados (7TD); 7 dias de tratamento em dias alternados, seguidos por 7 dias sem tratamento (recuperação) (7TD+7NTD); e 14 dias de tratamento em dias alternados (14TD).

[1035]Os artigos de teste foram administrados ao sistema de teste como diluições v/v preparadas em EPI-100-LLMM estéril. Os artigos de teste CV-8686 e AB11644, foram

administrados ao sistema de teste como diluições de 200 μM e 50 μM. O artigo de teste, DMSO (controle de veículo), foi administrado ao sistema de teste como diluição de 0,2% (v/v). Cada diluição dos artigos de teste foi aplicada topicamente a cinco tecidos MelanoDerm™ (dois projetados para o ponto final de MTT e três para o ponto final de melanina). Os tecidos foram tratados com 25 μl de cada artigo de teste a cada 48 ± 2 horas ao longo de cada período de testagem individual. O controle negativo (água deionizada estéril) e controle positivo (ácido kójico 1% preparado em água deionizada estéril) foram aplicados topicamente a cinco tecidos MelanoDerm™ cada (dois projetados para o ponto final de MTT e três para o ponto final de melanina) e tratados com 25 μl a cada 48 ± 2 horas ao longo de um período de 7 dias e de 14 dias, respectivamente.

[1036]As Figs. 68-69 resumem os resultados da viabilidade tecidual e concentração de melanina médias para os artigos de teste, controle negativo e controle positivo. As Figs. 70-74 contêm fotos macroscópicas e microscópicas representativas (somente ampliação de 15x) dos tecidos tiradas para ajudar na avaliação visual do grau de pigmentação dos tecidos no dia 0, dia 7 e dia 14. Elas são consideradas representativas dos tecidos replicados dentro de cada grupo de tratamento e relevantes para interpretação de dados subseqüente. As fotografias macroscópicas são indicativas da produção global de melanina nos tecidos e sua distribuição na superfície dos tecidos. As fotografias microscópicas fornecem uma visão geral do estado fisiológico dos melanócitos em relação à produção de melanina, presença de dendritos ou quaisquer alterações morfológicas associadas

ao tratamento com artigo de teste/controles.

[1037]A avaliação da viabilidade tecidual foi usada para avaliar a irritação dérmica potencial dos artigos de teste para os tecidos MelanoDerm™ após exposições repetidas ao longo dos períodos especificados no protocolo. A viabilidade dos tecidos tratados com os artigos de teste foi relativamente alta (>75% em todos os casos, para o período de tratamento 7TD) indicando citotoxicidade mínima ou ausente induzida pelos artigos de teste ao modelo de tecido. Uma dose-resposta foi observada para os artigos de teste CV-8686 e AB11644, em que o tecido tratado com a concentração maior (200 μM) teve uma viabilidade ligeiramente menor, comparado com os tecidos tratados com os compostos preparados como diluições de 50 μM. A viabilidade dos tecidos diminuía progressivamente com tempos de exposição mais longos (período de tratamento 7TD+7NTD; e 14TD); além disso, a viabilidade dos tecidos tratados com o controle positivo do ensaio, ácido kójico 1%, foi de 119,0% para o período de testagem 7TD e diminuiu para 48,8% para o período de testagem 14TD. Esses resultados indicam que o modelo de tecido é capaz de discriminar as ações de várias concentrações dos artigos de teste sobre a viabilidade.

[1038]A avaliação da produção de melanina pelos tecidos tratados com os artigos de teste após exposições repetidas ao longo dos períodos de tempo especificados no protocolo foi usada para avaliar o potencial dos artigos de teste como moduladores da melanogênese da pele. O controle positivo, ácido kójico 1%, reduziu a concentração de melanina para 23,3 μg/ml nos tecidos tratados com controle positivo (7TD), comparados com os tecidos tratados com controle negativo

(55,8 μg/ml). O controle positivo, ácido kójico 1%, reduziu a concentração de melanina para 29,1 μg/ml nos tecidos tratados com controle positivo (14TD), comparados com os tecidos tratados com controle negativo (174,0 μg/ml). A concentração de melanina determinada para os tecidos tratados com DMSO foi de 135,8 μg/ml (14TD) indicando, dessa forma, que o controle de veículo não afeta a produção de melanina sozinho. A concentração de melanina nos tecidos tratados com o artigo de teste foi menor, comparados com os tecidos tratados com controle negativo (acentuada para o período 14TD). Em geral, os resultados objetivos obtidos por realização do ensaio de melanina são suportados pelas observações subjetivas com base na análise das fotografias macroscópicas e microscópicas tiradas durante o estudo.

[1039]Os artigos de teste, CV-8686, DMSO e AB11644, não reduziram MTT diretamente na ausência de células viáveis. Portanto, um experimento de controle morto não foi realizado.

*Sumário do estudo 2*

[1040]O objetivo desse estudo foi avaliar a ação potencial dos artigos de teste como moduladores da melanogênese da pele no Modelo de Pele MelanoDerm™ após exposições repetidas, ao longo de 7 dias de tratamento. O estudo também avaliou a irritação dérmica potencial induzida por cada artigo de teste, como medida pela conversão de MTT por tecidos MelanoDerm™ após exposições repetidas aos artigos de teste, ao longo do período de tratamento de 7 dias.

[1041]O ensaio de conversão de MTT (brometo de 3-[4,5-dimetiltiazol-2-il]-2,5-difeniltetrazólio), que mede a redução de enzima microssomal NAD(P)H-dependente de MTT (e

em um grau menor, a redução de succinato desidrogenase de MTT) em um precipitado de azul formazan, foi usado para avaliar o metabolismo celular após exposição a um artigo de teste 1. A toxicidade dos artigos de teste para o tecido, o que é uma evidência para irritação dérmica potencial, foi determinada por medição da sobrevida relativa – a conversão de MTT em relação aos tecidos tratados com controle negativo.

*Materiais e métodos*

Recebimento do Modelo de Pele MelanoDerm™

[1042]Mediante recebimento do Kit de Pele MelanoDerm™ (MatTek Corporation), as soluções foram armazenadas como indicado pelo fabricante. Os tecidos MelanoDerm™ foram armazenados a 2-8°C até o uso. No dia da recepção (o dia anterior à dosagem), Meio de Manutenção MelanoDerm™ (EPI-100-LLMM) foi aquecido até aproximadamente 37°C. 0,9 ml de EPI-100-LLMM foram divididos em alíquotas dentro dos poços apropriados de placas de 6 poços. As placas de 6 poços foram rotuladas para indicar artigos de teste ou controles e seus volumes de dose e condições de exposição (planejadas para pontos finais de MTT e Melanina). Cada tecido MelanoDerm™ foi inspecionado quanto a bolhas de ar entre o gel de agarose e a inserção de cultura de células antes da abertura da embalagem lacrada. Tecidos com bolhas de ar que cobrem mais do que 50% da área da inserção de cultura de células não foram usados. Os recipientes de remessa de 24 poços foram removidos da bolsa plástica e suas superfícies foram desinfectadas com etanol 70%. Os tecidos MelanoDerm™ foram transferidos assepticamente para dentro das placas de 6 poços. Os tecidos MelanoDerm™ foram então incubados a 37 ± 1°C em uma atmosfera umidificada de $CO_2$ 5 ± 1% no ar

(condições de cultura padronizadas) de um dia para o outro (pelo menos 16 horas).

[1043]Pelo menos 16 horas após incubação dos tecidos a partir da data de recebimento, cinco tecidos MelanoDerm™ designados para os pontos finais de MTT (2 tecidos - denominados “Dia Não-Tratado” 0 para os objetivos desse relatório), e Melanina (3 tecidos), respectivamente, foram gentilmente enxaguados com Solução Salina Tamponada com Fosfato Livre de $Ca^{++}$ e $Mg^{++}$ de Dulbecco estéril (CMF-DPBS), engarrafados secos em papel absorvente estéril e limpos de líquido em excesso. A seguir, os tecidos foram fotografados usando uma câmera digital (câmera CANON, PowerShot SX130IS, zoom óptico de 12x, ajuste manual, e um modo de microscópio Ricoh WG-50, zoom de 1 cm) para ajudar na avaliação visual do grau de pigmentação dos tecidos no começo do ensaio. Essas fotografias foram feitas da parte inferior dos tecidos MelanoDerm™, que foram invertidos para exibirem melhor a melanina. Também foram tiradas fotografias usando uma câmera Infinity 2 conectada a um microscópio invertido Nikon Eclipse TE 2000U (ampliação 15x e 60x, respectivamente).

[1044]Dois tecidos MelanoDerm™ não tratados foram então transferidos para os poços apropriados contendo MTT por 3 ± 0,1 horas para o ponto final de viabilidade por MTT. Três tecidos MelanoDerm™ não tratados foram removidos da inserção de cultura de células usando um bisturi estéril, colocados em um tubo de microcentrífuga de 1,5 ml rotulado, e armazenados a <-60°C para análise de melanina subseqüente (veja a seção Ensaio de Melanina).

*Preparação do artigo de teste*

[1045]Os artigos de teste, Malassezina (CV-8684),

Composto B (CV-8877), Composto E (AB12508), Composto H (AB12509), uma composição desconhecida, Composto A5 (CV-8819), e O52 (AB12976), foram preparados por diluição das concentrações de estoque com EPI-100-LLMM até concentrações finais de 200 μM e 500 μM. O artigo de teste, Composto I (CV-8686), foi preparado por diluição da concentração de estoque até 500 μM. Todas as diluições foram turbilhonadas por pelo menos 1 minuto, e depois aquecidas em um banho-maria a 37º ± 1°C por 15 minutos. As diluições foram então turbilhonadas novamente por pelo menos 1 minuto antes de serem dosadas nos tecidos. O artigo de teste e controle de solvente, DMSO, preparado como uma diluição de 0,5% (v/v) em EPI-100-LLMM. A diluição do artigo de teste foi turbilhonada por pelo menos 1 minuto e depois novamente por pelo menos 1 minuto prior antes de ser aplicada nos tecidos. O artigo de teste, Formulação de Composto I, foi testado sem diluição (puro).

**Avaliação da redução direta pelo artigo de teste por MTT**

[1046]A maior concentração de cada artigo de teste que foi diluída foi adicionada a uma solução a 1,0 mg/ml de MTT (Sigma) em Meio de Eagle Modificado por Dulbecco (DMEM) aquecido contendo 2 mM de L-glutamina (Meio de Adição de MTT) para avaliar sua habilidade para reduzir diretamente MTT. Aproximadamente 25 μl de cada artigo de teste foram adicionados a 1 ml da solução de MTT, e as misturas foram incubadas em condições de cultura padronizadas por aproximadamente uma hora. Um controle negativo, 25 μl de água deionizada estéril (Quality Biological) foi testado concomitantemente. Se a cor da solução de MTT ficasse

azul/violeta, presumíamos que o artigo de teste tinha reduzido o MTT.

[1047]Foi observado que os artigos de teste, DMSO, Composto I (CV-8686), Malassezina (CV-8684), Composto B (CV-8877), Composto E (AB12508), Composto H (AB12509), uma composição desconhecida, Composto A5 (CV-8819), O52 (AB12976) e Formulação de Composto I não reduzem MTT diretamente na ausência de células viáveis.

*Determinação do pH*

[1048]O pH de cada artigo de teste e do controle positivo foi medido usando papel de pH (EMD Millipore Corporation). Inicialmente, cada artigo de teste ou o controle positivo foi adicionado ao papel de pH com uma faixa de pH de 0-14 em incrementos de unidade de pH de 1,0 para se aproximar de uma faixa de pH estreita. A seguir, cada artigo de teste ou o controle positivo foi adicionado ao papel de pH com uma faixa mais estreita de 0-6 ou 5-10 unidades de pH com incrementos de unidade de pH de 0,5, para obter um valor do pH mais preciso. O pH de cada artigo de teste ou o controle positivo foi medida para cada dose aplicada sobre os tecidos (dias 0, 2, 4, 6) como apropriado.

*Ensaio final*

Tratamento com artigo de teste

[1049]Cinco tecidos MelanoDerm™ foram tratados topicamente a cada 48 ± 2 horas com os artigos de teste, controle de solvente (DMSO), Composto I (CV-8686), Malassezina (CV-8684), Composto B (CV-8877), Composto E (AB12508), Composto H (AB12509), uma composição desconhecida, Composto A5 (CV-8819), O52 (AB12976) e Formulação de Composto I, nas concentrações especificadas em

um volume de dosagem de 25 µl, ao longo de um período de 7 dias.

[1050]Um tecido MelanoDerm™ foi tratado topicamente a cada 48 ± 2 horas com o controle negativo, 25 µl de água deionizada estéril (Quality Biological). Cinco tecidos MelanoDerm™ foram tratados topicamente a cada 48 ± 2 horas com o controle positivo (ácido kójico 1% preparado em água deionizada estéril) para um experimento de 7 dias. A solução de ácido kójico foi filtrada no momento da preparação e armazenada em um tubo coberto com folha de alumínio até o uso (2 horas da preparação). Os tecidos foram tratados com os artigos de teste e controles do ensaio, respectivamente, a cada 48 ± 2 horas ao longo de um período de 7 dias. Os tecidos expostos foram então incubados em condições de cultura padronizadas.

[1051]Os tecidos MelanoDerm™ tratados foram “realimentados” diariamente. Os tecidos receberam pequenas pancadas para assegurar o reespalhamento por igual dos controles aplicados topicamente. Os tecidos tratados foram então colocados em novas placas de 6 poços pré-rotuladas contendo 0,9 ml de EPI-100-LLMM pré-aquecido (aproximadamente 37°C) e foram retornados à incubadora e permaneceram em condições de cultura padronizadas.

[1052]Após cada tempo de exposição de 48 ± 2 horas, os tecidos MelanoDerm™ foram gentilmente enxaguados três vezes com aproximadamente 500 µl de DPBS livre de $Ca^{++}$ e $Mg^{++}$ para remover qualquer artigo de teste residual. Os tecidos foram então colocados em novas placas de 6 poços pré-rotuladas contendo 0,9 ml de EPI-100-LLMM pré-aquecido (aproximadamente 37°C) e depois dosados com o artigo de teste

apropriado, controle negativo ou positivo, como discutido acima.

[1053]Ao final do período de exposição de 7 dias, os tecidos de cada grupo de tratamento (artigo de teste, controle negativo, controle positivo, e controle de solvente), foram gentilmente enxaguados com DPBS livre de $Ca^{++}$ e $Mg^{++}$, engarrafados secos em papel absorvente estéril, e limpos de líquido em excesso. Os tecidos foram então fotografados usando uma câmera digital (câmera CANON, PowerShot SX130IS, zoom óptico de 12x, ajuste manual, e um modo de microscópio Ricoh WG-50, zoom de 1 cm) para ajudar na avaliação visual do grau de pigmentação dos tecidos no começo do ensaio. Essas fotografias macroscópicas foram feitas da parte inferior dos tecidos MelanoDerm™, que foram invertidos para exibirem melhor a melanina. Fotografias microscópicas foram feitas usando uma câmera Infinity 2 conectada a um microscópio invertido Nikon Eclipse TE 2000U (ampliação 15x).

[1054]Para cada concentração de artigo de teste, do controle positivo e controle de solvente, dois tecidos foram então enxaguados com CMF-DPBS, engarrafados secos em papel absorvente estéril, e limpos de líquido em excesso. Para o controle negativo, o único tecido foi enxaguado com CMF-DPBS, engarrafado seco em papel absorvente estéril, e limpo de líquido em excesso. Os tecidos foram removidos da inserção usando bisturis estéreis, colocados em um tubo de microcentrífuga de 1,5 ml rotulado e armazenados a <-60°C de um dia para o outro para análise de melanina subseqüente.

[1055]Dois tecidos MelanoDerm™ dos artigos de teste, DMSO, Composto I (CV-8686), Malassezina (CV-8684), Composto

B (CV-8877), Composto E (AB12508), Composto H (AB12509), uma composição desconhecida, Composto A5 (CV-8819) (500 μM), O52 (AB12976) (500 μM), Formulação de Composto I, e controle positivo, e três tecidos MelanoDerm™ para os artigos de teste, Composto A5 (CV-8819) (200 μM) e O52 (AB12976) (200 μM), foram então gentilmente enxaguados com Solução Salina Tamponada com Fosfato Livre de $Ca^{++}$ e $Mg^{++}$ de Dulbecco estéril (CMF-DPBS), engarrafados secos em papel absorvente estéril e limpos de líquido em excesso. Os tecidos foram então transferidos para os poços apropriados contendo MTT por aproximadamente 3 horas para o ponto final de viabilidade por MTT.

*Ensaio de MTT*

[1056]Uma solução de MTT a 1,0 mg/ml em Meio de Adição de MTT aquecido foi preparada no máximo 2 horas antes do uso. Após o tempo de exposição apropriado, os tecidos MelanoDerm™ projetados para o ponto final de MTT foram enxaguados intensamente com CMF-DPBS e o meio de lavagem foi decantado. 0,3 ml de reagente de MTT foi adicionado aos poços designados em uma placa de 24 poços pré-rotulada. Os tecidos MelanoDerm™ foram transferidos para os poços apropriados após enxágüe. As placas foram incubadas por aproximadamente três horas em condições de cultura padronizadas.

[1057]Após o período de incubação com solução de MTT, os tecidos MelanoDerm™ foram blotados em papel absorvente estéril, limpos de líquido em excesso, e transferidos para uma placa de 24 poços pré-rotulada contendo 2,0 ml de isopropanol em cada poço designado. A seguir, as placas foram agitadas por pelo menos duas horas em temperatura ambiente.

[1058]Ao final do período de extração, o líquido dentro

das inserções de cultura de células foi decantado dentro do poço do qual a inserção de cultura de células foi retirada. A solução de extrato foi misturada e 200 µl foram transferidos para dois poços de uma placa de 96 poços designados para cada amostra e 200 µl de isopropanol foram colocados nos dois poços designados como os brancos. A absorbância a 550 nm ($OD_{550}$) de cada poço foi medida com uma leitora de placas Vmax de Molecular Devices.

*Ensaio de Melanina*

[1059]No dia da extração de melanina, os tecidos excisados foram descongelados em temperatura ambiente por aproximadamente 15 minutos. Duzentos e cinqüenta µl de Solvable foram adicionados a cada tubo de microcentrífuga e os tubos foram incubados por pelo menos 16 horas a 60 ± 2°C, juntamente com os padrões de melanina em um banho seco. Uma solução de estoque de padrão de melanina de 1 mg/ml foi preparada por dissolução da melanina em Solvable. Uma série de padrões de melanina foi preparada a partir da solução de 1 mg/ml solução de estoque. A série de padrões foi preparada por adição de 0,6 ml da solução de estoque de padrão de melanina de 1 mg/ml a 1,2 ml de Solvable, e depois produção de uma série de mais cinco diluições (fator de diluição de 3). Solvable foi usado como o padrão-zero.

[1060]Pelo menos 16 horas após o início da extração de melanina, os tubos que contêm as amostras (que representam a melanina extraída dos tecidos MelanoDerm™) e os padrões foram resfriados até a temperatura ambiente e depois centrifugados a 13.000 rpm por 5 minutos em temperatura ambiente. Duzentos µl de amostras foram transferidos para os poços apropriados de uma placa de 96 poços. Duzentos µl de

padrões e brancos foram transferidos para os poços apropriados de uma placa de 96 poços em duplicata. A absorbância a 490 nm ($OD_{490}$) de cada poço foi medida com uma leitora de placas Vmax de Molecular Devices.

*Apresentação de dados*

Dados de MTT - Dia 0

[1061]Os dados brutos de absorbância foram capturados. O valor médio da $OD_{550}$ dos poços em branco foi calculado. O valor corrigido da $OD_{550}$ de cada tecido não tratado foi determinado por subtração do valor médio da $OD_{550}$ dos poços em branco dos valores da $OD_{550}$ do tecido não tratado. Os valores individuais do % de viabilidade foram tabulados para cada tecido individual por divisão do valor individual corrigido da $OD_{550}$ pela média de todos os valores da $OD_{550}$ calculados para os tecidos não tratados. Um % de viabilidade médio global foi calculado. Finalmente, o valor médio da viabilidade dos tecidos não tratados foi plotado em um gráfico de barras (com ± barra de erro de 1 desvio-padrão).

MTT - Dia 7

[1062]Os dados brutos de absorbância foram capturados. Todos os cálculos foram realizados usando uma planilha Excel®. O valor médio da $OD_{550}$ dos poços em branco foi calculado. O valor médio corrigido da $OD_{550}$ do controle negativo foi determinado por subtração do valor médio da $OD_{550}$ dos poços em branco de seus valores médios da $OD_{550}$. Os valores corrigidos da $OD_{550}$ da exposição ao artigo de teste individual, exposições ao controle positivo, e exposição ao controle negativo foram determinados por subtração de cada um dos valores médios da $OD_{550}$ para os poços em branco.

Tempo de exposição ao artigo de teste corrigido $OD_{550}$ =

O artigo de teste tempo de exposição $OD_{550}$ - $OD_{550}$ média do branco

[1063]Os seguintes cálculos do percentual de controle foram feitos para os tecidos tratados com artigo de teste e tecidos tratados com controle positivo:

% de viabilidade = [($OD_{550}$ final corrigida do Artigo de teste ou Controle positivo) / ($OD_{550}$ média corrigida do Controle Negativo/de Solvente)] x 100

[1064]Os valores individuais do % de Controle foram ponderados para calcular o % médio de Controle por cada artigo de teste ou controle positivo. Uma média global da viabilidade por MTT foi calculada. Finalmente, os valores médios da viabilidade foram plotados em um gráfico de barras (com ± barra de erro de 1 desvio-padrão).

*Dados de Melanina*

[1065]Os dados brutos de absorbância foram capturados. O valor da $OD_{490}$ de cada padrão de melanina foi determinado. O valor médio da $OD_{490}$ de cada padrão de melanina foi usado para preparar uma curva-padrão. O valor corrigido da OD490 de cada concentração de padrão de melanina foi determinado por subtração do valor da $OD_{490}$ do poço em branco do valor da $OD_{490}$ da concentração de padrão de melanina. A curva-padrão foi plotada como a concentração dos padrões em mg/ml (eixo-y) versus a absorbância corrigida correspondente (valor da $OD_{490}$). A quantidade de melanina no tecidos tratados com artigo de teste, tecidos tratados com controle positivo ou tecido tratado com controle negativo foi interpolada matematicamente a partir da curva-padrão (quadrática).

*Resultados e discussão*

[1066]Os artigos de teste, DMSO, Composto I (CV-8686),

Malassezina (CV-8684), Composto B (CV-8877), Composto E (AB12508), Composto H (AB12509), uma composição desconhecida, Composto A5 (CV-8819), O52 (AB12976) e Formulação de Composto I foram testados em um ensaio de avaliação de modulador da melanogênese usando o modelo de tecido MelanoDerm™ Asiático para avaliar sua irritação dérmica potencial e o impacto sobre a melanogênese após exposições repetidas, over a período de exposição de 7 dias.

[1067]Os artigos de teste foram administrados ao sistema de teste puros ou como diluições v/v preparadas em EPI-100-LLMM estéril. Os artigos de teste Malassezina (CV-8684), Composto B (CV-8877), Composto E (AB12508), Composto H (AB12509), uma composição desconhecida, Composto A5 (CV-8819), e O52 (AB12976) foram administrados ao sistema de teste como diluições de 500 μM e 200 μM. O artigo de teste, Composto I (CV-8686), foi administrado ao sistema de teste como uma diluição de 500 μM. O artigo de teste, DMSO (controle de veículo), foi administrado ao sistema de teste como diluição de 0,5% (v/v). O artigo de teste, Formulação de Composto I, foi testado puro. Cada diluição dos artigos de teste foi aplicada topicamente a cinco tecidos MelanoDerm™, com dois (ou três para o Composto A5 (CV-8819) (200 μM) e O52 (AB12976) (200 μM)) projetados para o ponto final de MTT, e dois para o ponto final de melanina, com a exceção do Composto A5 (CV-8819) (200 μM) e O52 (AB12976) (200 μM)). Os tecidos foram tratados com 25 μl de cada artigo de teste a cada 48 ± 2 horas ao longo de cada período de testagem individual. O controle positivo (ácido kójico 1% preparado em água deionizada estéril) foi aplicado topicamente a cinco tecidos MelanoDerm™ cada (dois

projetados para o ponto final de MTT, e dois para o ponto final de melanina) e tratados com 25 μl a cada 48 ± 2 horas ao longo de um período de 7 dias.

[1068]A Fig. 75 resume os resultados da viabilidade tecidual e concentração de melanina médias para os artigos de teste, controle negativo e controle positivo. As Figs. 76-87 contêm fotos macroscópicas e microscópicas representativas (somente ampliação de 15x) dos tecidos tiradas para ajudar na avaliação visual do grau de pigmentação dos tecidos no dia 0 e dia 7. Elas são consideradas representativas dos tecidos replicados dentro de cada grupo de tratamento e relevantes para interpretação de dados subseqüente. As fotografias macroscópicas são indicativas da produção global de melanina nos tecidos e sua distribuição na superfície dos tecidos. As fotografias microscópicas fornecem uma visão geral do estado fisiológico dos melanócitos em relação à produção de melanina, presença de dendritos ou quaisquer alterações morfológicas associadas ao tratamento com artigo de teste/controles.

[1069]A avaliação da produção de melanina pelos tecidos tratados com os artigos de teste após exposições repetidas over o período de 7 dias de tempo foi usada para avaliar o potencial dos artigos de teste como moduladores da melanogênese da pele. O controle positivo, ácido kójico 1%, reduziu a concentração de melanina para 22,01 μg/ml nos tecidos tratados com controle positivo, comparado com os tecidos tratados com controle de solvente (53,82 μg/ml). Em geral, os resultados objetivos obtidos por realização do ensaio de melanina são suportados pelas observações subjetivas com base na análise das fotografias macroscópicas

e microscópicas tiradas durante a realização do estudo.

[1070]Os artigos de teste, DMSO, Composto I (CV-8686), Malassezina (CV-8684), Composto B (CV-8877), Composto E (AB12508), Composto H (AB12509), uma composição desconhecida, Composto A5 (CV-8819), O52 (AB12976) e Formulação de Composto I não reduziram MTT diretamente na ausência de células viáveis. Portanto, um experimento de controle morto não foi realizado.

[1071]Os artigos de teste reduziram a concentração de melanina em seus respectivos tecidos, comparados com os tecidos tratados com DMSO para níveis comparáveis com aqueles obtidos para os tecidos tratados com controle positivo. Por exemplo, a concentração de melanina nos tecidos tratados com artigo de teste, Composto B (CV-8877) (500 μM) foi de 25,99 μg/ml e a concentração nos tecidos tratados com artigo de teste, Composto E (AB12508) (500 μM) foi de 25,26 μg/ml, comparada com a concentração nos tecidos tratados com controle positivo do ensaio (22,01 μg/ml).

*Estudos adicionais*

[1072]Os resultados de MelanoDerm™ para AB17151, Composto B10, Precursor de Malassezina, AB17011, AB17014, DMSO, CV-8484, Composto E e ácido kójico são mostrados na Fig. 88.

**Exemplo 20**

**Potencial de melanogênese de derivados de malassezina e malassezina**

[1073]O objetivo desse estudo foi observar e relatar melanogênese e viabilidade de melanócitos B16 expostos à malassezina e derivados de malassezina.

*Materiais e reagentes*

[1074]Os meios de plaqueamento incluíram DMEM sem L-glutamina, FBS, penicilina / estreptomicina e L-glutamina. Os meios de ensaio incluíram DMEM sem vermelho fenol e L-glutamina, FBS, penicilina / estreptomicina, L-glutamina e aMSH. Outros reagentes incluíram ácido kójico, DMSO e MTT. As células testadas foram células B16 (ATCC CRL-6475).

*Protocolo*

[1075]Melanócitos B16 foram cultivados até 70% confluentes e colhidos. As células foram semeadas em placas de 96 poços em uma densidade de 4000 células/poço e foi permitido que aderissem de um dia para o outro. No dia seguinte, artigos de teste e controles foram diluídos em Meio de Ensaio de B16. O meio de um dia par o outro foi aspirado e 200 μl de artigos de teste e controles foram aplicados. As células foram incubadas a 37°C e $CO_2$ 10% por 72 horas. Após incubação de 72 horas, a absorbância foi lida a 540 nm. O meio foi removido e substituído com 100 μl de meio de plaqueamento contendo 1 mg/ml de MTT e incubado por 2 horas a 37°C e $CO_2$ 10%. Meio de MTT foi removido e substituído com 200 μl de Etanol 95% / Isopropanol 5% e ficou em agitação por 15 minutos. A absorbância de MTT foi então lida a 570 nm.

*Resultados*

[1076]Os resultados da alteração percentual na melanina e viabilidade são mostrados nas Figs. 89A-89X.

**Exemplo 21**

**Formulações de derivados de malassezina e malassezina**

*Formulação de malassezina 0,1%*

[1077]Uma composição de Malassezina 0,1% foi formulada usando os seguintes ingredientes: água, triglicerídeo

caprílico/cáprico, glicerina, manteiga de Butyrospermum parkii (karité), undecilenato de heptila, olivato de cetearila, álcool cetílico, dimetil isossorbida, dimeticona, olivato de sorbitano, Malassezina, esqualeno, glicirrizato dipotássico, dissuccinato trissódico de etilenodiamina, goma de esclerócio, goma xantana, caprilil glicol, clorfenesina e fenoxietanol.

[1078]A composição resultante era um creme esbranquiçado opaco, viscoso, com pH 5,72 e viscosidade de 14.000 cps.

*Formulação de Composto I 0,1%*

[1079]Uma composição de Composto I 0,1% foi formulada usando os mesmos ingredientes descritos acima para a Formulação de malassezina 0,1% com Composto I no lugar de Malassezina.

[1080]A composição resultante era um creme esbranquiçado opaco, viscoso, com pH 5,66 e viscosidade de 14.000 cps.

*Formulação de malassezina 1%*

[1081]Uma composição de Malassezina 1% foi formulada usando os seguintes ingredientes: água, dimetil isossorbida, ésteres de Glycereth-8 de azeite de oliva, glicerina, alcanos de coco, copolímero de acrilato de hidroxietila / acriloildimetil taurato de sódio, Malassezina, tocoferol, pentileno glicol, coco-caprilato/caprato, hidróxido de sódio, EDTA dissódico, caprilil glicol, clorfenesina e fenoxietanol.

[1082]A composição resultante era um creme esbranquiçado opaco, viscoso, com pH 6,27 e viscosidade de 2.000 cps.

*Formulação de Composto I 1%*

[1083]Uma composição de Composto I 1% foi formulada usando os mesmos ingredientes descritos acima ara a

Formulação de malassezina 1%, com Composto I no lugar de Malassezina.

[1084]A composição resultante era um creme esbranquiçado opaco, viscoso, com pH 6,00 e viscosidade de 30.000 cps.

*Formulação de Composto II*

[1085]Uma composição de Composto II foi formulada usando os seguintes ingredientes: água, triglicerídeo caprílico/cáprico, glicerina, manteiga de Butyrospermum parkii (karité), undecilenato de heptila, pentileno glicol, olivato de cetearila, álcool cetílico, dimeticona, olivato de sorbitano, Composto II, glicirrizato dipotássico, esqualeno, goma de esclerócio, goma xantana, dissuccinato trissódico de etilenodiamina, hidróxido de sódio, caprilil glicol, clorfenesina e fenoxietanol.

[1086]A composição resultante era um semiviscoso líquido, opaco, com uma cor esbranquiçada, pH de 5,80, e viscosidade de 8.000 cps.

**Exemplo 22**

**Atividade de indução de apoptose de indirrubina e derivados de indirrubina**

*Reagentes*

**[1087]**Alexa Flúor 488 Anexina V / Kit de Apoptose de Célula Morta, Soro Bovino Fetal (FBS), Tripsina-EDTA 0,25% (1x), Ensaio de Caspase-Glo 3/7, Meio RPMI 1640, Meio de Eagle Modificado por Dulbecco e Solução Antibiótica Antimicótica (100x).

[1088]As linhagens de células MeWo (ATCC® HTB-65™), WM115 (ATCC® CRL-1675) e B16F1 (ATCC® CRL-6323) são mantidas nos seguintes meios de cultura: meio de cultura para MeWo e B16F1: DMEM suplementado com FBS 10%; meio de cultura para

WM115: RPMI 1640 suplementado com FBS 10%.

*Métodos experimentais*

[1089]As células são colhidas e o número de células determinado usando um Contador de Células Countess. As células são diluídas com meio de cultura até a densidade desejada. A densidade de células final pode ser, por exemplo, 4.000 células / poço por tratamento de 6 horas e 24 horas, e 2.000 células / poço por tratamento de 48 horas e 72 horas. Para o ensaio de Anexina V, placas de fundo transparente de 384 poços (Corning 3712) são empregadas, enquanto placas de fundo branco sólidas de 384 poços (Corning 3570) são usadas para os ensaios de Caspase-Glo. Todas as placas são cobertas com uma tampa e colocadas a 37°C e $CO_2$ 5% de um dia para o outro para adesão de células.

[1090]Os compostos de teste são dissolvidos em DMSO para um estoque de 30 mM. Diluições de 10 vezes são realizadas para gerar concentrações de 3 mM e 0,3 mM. 0,9 mM de Estaurosporina é empregado como controle positivo, e DMSO é empregado como controle negativo (NC). 132,5 nl de compostos são transferidos da placa-fonte de composto para placa(s) de cultura de células de 384 poços usando manuseador de líquidos Echo550. Após o tempo de incubação indicado, as placas são removidas da incubadora para detecção.

[1091]Para o ensaio de Anexina V, as placas são removidas da incubadora e meio de cultura é removido. As células são lavadas duas vezes com 40 µl de PBS e 15 µl de solução de trabalho pré-misturada de Anexina V-FITC e corante Hoechst 33342 são adicionados por poço. As placas são incubadas em temperatura ambiente por 20 minutos, lacradas, e centrifugadas por 1 minuto a 1.000 rpm para remover bolhas.

As placas são lidas usando ImageXpress Nano.

[1092]Para o ensaio de Caspase-Glo, as placas são removidas da incubadora e equilibradas em temperatura ambiente por 15 minutos. Reagentes Caspase-Glo 3/7 também são descongelados e equilibrados até a temperatura ambiente antes do experimento. Reagente Caspase-Glo é adicionado aos poços necessários na proporção de 1:1 ao meio de cultura. As placas são incubadas em temperatura ambiente por 15 minutos e lidas usando uma leitora de placas EnSpire™. A razão de aumento da indução é calculada de acordo com a seguinte fórmula: Razão de aumento da indução = $Lum_{Amosrta}$ / $Lum_{NC}$.

Ensaio de Anexina V e *Resultados do ensaio de Caspase 3/7*

[1093]Espera-se que os compostos e composições da presente invenção, incluindo indirrubina e análogos químicos desta, induzirão morte celular. Espera-se que os análogos químicos de indirrubina exibam, por exemplo, atividade de indução de apoptose mais potente, comparados com indirrubina. Da mesma forma, espera-se que certos análogos químicos de indirrubina demonstrem, por exemplo, atividade de indução de apoptose menos eficaz, comparados com indirrubina. Esses compostos podem ter perfis de toxicidade mais favoráveis comparados com compostos mais potentes.

**Exemplo 23**

**Viabilidade celular após exposição à indirrubina e derivados de indirrubina**

*Re*agentes

Ensaio CellTiter-Glo® 2.0.

*Métodos experimentais*

[1094]Para o ensaio CellTiter-Glo, os compostos de teste

são preparados em solução de DMSO de 10 mM. Os compostos foram diluídos serialmente em 12 concentrações. Quarenta µl de células de uma suspensão de 100.000 célula/ml são dispensados em cada poço de uma placa de 384 poços (Corning 3570). As placas são incubadas de um dia para o outro a 37°C, $CO_2$ 5%, e 95% de umidade. Os compostos de teste são adicionados, com DMSO como controle de veículo. As placas são incubadas a 37°C, $CO_2$ 5%, e 95% de umidade por 6, 24, ou 48 horas, e 40 µl de reagente CellTiter-Glo são adicionados aos poços para avaliar a viabilidade celular.

*Resultados*

[1095]Espera-se que os compostos e composições da presente invenção, incluindo indirrubina e análogos químicos desta, induzirão morte celular. Espera-se que os análogos químicos de indirrubina exibam, por exemplo, atividade de indução de apoptose mais potente, comparados com indirrubina. Da mesma forma, espera-se que certos análogos químicos de indirrubina demonstrem, por exemplo, atividade de indução de apoptose menos eficaz, comparados com indirrubina. Esses compostos podem ter perfis de toxicidade mais favoráveis comparados com compostos mais potentes.

**Exemplo 24**

**Potencial de ativação do receptor de aril-hidrocarboneto de indirrubina e derivados de indirrubina**

*Procedimentos do ensaio*

**[1096]**Meio de cultura para células HepG2 transfectadas estavelmente é preparado por suplementação de DMEM com glicose elevada e L-glutamina, bem como FBS 10%.

**[1097]**Células HepG2-AhR-Luc são cultivadas em frascos T-75 a 37°C, $CO_2$ 5% e umidade relativa de 95%. Permite-se que

as células alcancem 80-90% de confluência antes de descolamento e divisão.

[1098]As células cultivadas são enxaguados com 5 ml de PBS. PBS é removido por aspiração, 1,5 ml de tripsina é adicionado ao frasco, e as células são incubadas a 37°C por aproximadamente 5 minutos ou até que as células se destaquem e flutuem. Tripsina é inativada por adição de meios contendo soro em excesso.

**[1099]**A suspensão de células é transferida para um tubo cônico e centrifugada a 120 g por 10 minutos para peletizar as células. As células são ressuspensas em meios de semeadura em uma densidade adequada. Quarenta µl de células são transferidos para uma placa de cultura de 384 poços (5 x $10^3$ células / poço). As placas são colocadas na incubadora a 37°C por 24 horas.

**[1100]**A seguir, soluções de estoque de compostos de teste e controle positivo de omeprazol são preparadas. As soluções de composto são transferidas para dentro da placa de ensaio usando Echo550. A placa é então colocada de volta na incubadora para tratamento com composto.

[1101]Mais tarde, após 24 horas de tratamento, a placa é removida da incubadora e foi permitido que resfriasse em temperatura ambiente. Trinta µl do reagente One-Glo igual àquele do meio de cultura são adicionados em cada poço. Permite-se que as células sofram lise por pelo menos 3 minutos, e depois medidas em um luminômetro.

**[1102]**São feitos gráficos de dose-resposta usando a análise de regressão não linear em XLfit, e os valores da $EC_{50}$ também são calculados.

*Resultados*

[1103]Espera-se que os compostos e composições da presente invenção, incluindo indirrubina e análogos químicos desta, modularão a atividade de AhR. Espera-se que os análogos químicos de indirrubina exibam, por exemplo, atividade agonista de AhR mais potente, comparados com indirrubina. Da mesma forma, espera-se que certos análogos químicos de indirrubina demonstrem, por exemplo, atividade agonista de AhR menos eficaz, comparados com indirrubina.

**Exemplo 25**

**Ensaios MelanoDerm™**

[1104]O objetivo desse estudo foi avaliar a ação potencial dos artigos de teste como um modulador da melanogênese da pele no Modelo de Pele MelanoDerm™ após exposições repetidas ao artigo de teste. Secundariamente, o objetivo desse estudo foi avaliar a irritação dérmica potencial do artigo de teste ao Modelo de Pele MelanoDerm™ após exposições repetidas. A toxicidade foi determinada por medição da conversão relativa de MTT (brometo de 3-[4,5-dimetiltiazol-2-il]-2,5-difeniltetrazólio) nos tecidos tratados com o artigo de teste comparados com os tecidos tratados com controle negativo/de solvente. O impacto potencial sobre a produção de melanina foi determinado por medição da concentração de melanina produzida pelos tecidos tratados com o artigo de teste comparados com os tecidos tratados com controle negativo/de solvente.

*Identificação de substâncias de teste e controles do ensaio*

**Tabela 3**

**Artigos de teste testados em forma diluída.**

| Designação | Designação | Concentra- | Instruções de preparação |
|---|---|---|---|

| do artigo de teste | do Patrocinador | ção da dosagem | |
|---|---|---|---|
| 17AA70 | DMSO (controle de solvente) | 0,5% (v/v) | O artigo de teste foi diluído (v/v) com EPI-100-LLMM até uma concentração final de 0,5%; o artigo de teste diluído foi turbilhonado por pelo menos 1 minuto e dosado sobre os tecidos usando um volume de dosagem de 25 µl. Um volume total de aproximadamente 0,5 ml foi preparado para cada tratamento de tecido. |
| 17AD45 | Composto K (CV-8803) | 500 µM | Partindo da concentração de estoque fornecida, o artigo de teste foi diluído (v/v) com EPI-100-LLMM até a concentração final de 500 µM. A diluição do artigo de teste foi turbilhonada por pelo menos 1 minuto, aquecida a 37° ± 1°C (em um banho-maria) por 15 minutos, turbilhonada novamente por pelo menos 1 minuto e dosada nos tecidos usando um volume de dosagem de 25 µl. Um volume total de aproximadamente 0,5 ml foi preparado para cada tratamento de tecido. |
| 17AJ41 | Malassezina (CV-8684) | 500 µM | |
| 17AJ43 | Composto B (CV-8877) | 500 µM | |
| 17AJ44 | Composto E (AB12508) | 500 µM | |
| 18AA14 | AB17151 | 500 µM | |
| 18AD42 | Indirrubina | 500 µM | Partindo do material sólido fornecido, uma solução de estoque de aproximadamente 100 mM foi preparada em DMSO. A diluição de estoque foi armazenada a -15°C até -25°C. A partir das concentrações de estoque assim |

| | | | |
|---|---|---|---|
| | | | preparadas, o artigo de teste foi adicionalmente diluído com EPI-100-LLMM até a concentração final de 500 µM. A diluição do artigo de teste foi turbilhonada por pelo menos 1 minuto, aquecida a 37° ± 1°C (em um banho-maria) por 15 minutos, turbilhonada novamente por pelo menos 1 minuto e dosada nos tecidos usando um volume de dosagem de 25 µl. Um volume total de aproximadamente 0,5 ml foi preparado para cada tratamento de tecido. |

**Tabela 4**

**Artigos de teste testados como combinações.**

| **Designação do artigo de teste** | **Designação do Patrocinador** | **Concentra-ção da dosagem** | **Instruções de preparação** |
|---|---|---|---|
| 17AJ41 | Malassezina (CV-8684) | 250 µM | Um volume total de aproximadamente 1,0 ml do artigo de teste combinado foi preparado para cada tratamento de tecido da seguinte forma:<br>2 µl de 17AJ41 (100 mM)<br>2 µl de 18AD42 (100 mM)<br>796 µl de EPI-100-LLMM<br>A combinação do artigo de teste foi turbilhonada por pelo menos 1 minuto, aquecida a 37° ± 1°C (em um banho-maria) por 15 minutos, turbilhonada novamente por pelo menos 1 minuto e dosada nos tecidos usando um volume |
| 18AD42 | Indirrubina | 250 µM | |

| | | | |
|---|---|---|---|
| | | | de dosagem de 25 µl. |
| 18AD42 | Indirrubina | 250 µM | Um volume total de aproximadamente 1,0 ml do artigo de teste combinado foi preparado para cada tratamento de tecido da seguinte forma:<br>2 µl de 18AD42 (100 mM)<br>2 µl de 18AA14 (100 mM)<br>796 µl de EPI-100-LLMM<br>A combinação do artigo de teste foi turbilhonada por pelo menos 1 minuto, aquecida a 37° ± 1°C (em um banho-maria) por 15 minutos, turbilhonada novamente por pelo menos 1 minuto e dosada nos tecidos usando um volume de dosagem de 25 µl. |
| 18AA14 | AB17151 | 250 µM | |
| 17AJ44 | Composto E (AB12508) | 100 µM | Um volume total de aproximadamente 1,0 ml do artigo de teste combinado foi preparado para cada tratamento de tecido da seguinte forma:<br>1 µl de 17AJ44 (100 mM)<br>1 µl de 17AJ43 (100 mM)<br>998 µl de EPI-100-LLMM<br>A combinação do artigo de teste foi turbilhonada por pelo menos 1 minuto, aquecida a 37° ± 1°C (em um banho-maria) por 15 minutos, turbilhonada novamente por pelo menos 1 minuto e dosada nos tecidos usando um volume de dosagem de 25 µl. |
| 17AJ43 | Composto B (CV-8877) | 100 µM | |
| 17AJ43 | Composto B | 100 µM | Um volume total de aproximadamente |

| | | | |
|---|---|---|---|
| | (CV-8877) | | 1,0 ml do artigo de teste combinado foi preparado para cada tratamento de tecido da seguinte forma:<br>1 µl de 17AJ43 (100 mM)<br>1 µl de 18AA14 (100 mM)<br>998 µl de EPI-100-LLMM<br>A combinação do artigo de teste foi turbilhonada por pelo menos 1 minuto, aquecida a 37° ± 1°C (em um banho-maria) por 15 minutos, turbilhonada novamente por pelo menos 1 minuto e dosada nos tecidos usando um volume de dosagem de 25 µl. |
| 18AA14 | AB17151 | 100 µM | |

[1105]Os controles do ensaio incluem: controle positivo - Ácido kójico 1%; controle negativo - água deionizada estéril; e controle de solvente - DMSO (dimetil sulfóxido) preparado em EPI-100-LLMM.

[1106]Para esse estudo, um controle negativo não foi usado. Ao invés disso, o controle de solvente (17AA70) foi usado para corrigir os dados que pertencem aos tecidos tratados controle positivo e tecidos tratados com o artigo de teste, respectivamente.

[1107]Adicionalmente, o artigo de teste e controles foram aplicados aos grupos de 4 tecidos, dos quais 2 foram usados para o ponto final da Viabilidade de Tecido (MTT) e 2 para o ponto final de Melanina, respectivamente.

*Sistema de teste*

[1108]O Modelo de Pele MelanoDerm™ fornecido por MatTek Corporation (Ashland, MA) foi usado nesse estudo. O tecido MelanoDerm™ consiste em queratinócitos (NHEK) e melanócitos

(NHM) epidérmicos de origem humana normais que foram cultivados para formar um modelo multicamadas, altamente diferenciado, da epiderme humana. Os NHMs dentro de coculturas passam por melanogênese espontânea que leva a tecidos de níveis variáveis de pigmentação. As culturas foram desenvolvidas em inserções de cultura de células na interface ar-líquido, o que permite a aplicação tópica de moduladores da pele. O modelo MelanoDerm™ exibe características morfológicas e ultra-estruturais do tipo *in vivo*. NHM localizados na camada basal da célula de tecido MelanoDerm™ são dendríticos e produzem espontaneamente grânulos de melanina que progressivamente populam as camadas do tecido. Dessa forma, o sistema de teste é usado para a avaliação de materiais que podem inibir ou estimular a produção de melanina em relação aos controles negativos.

*Design experimental e metodologia*

[1109]O design experimental desse estudo consistiu na determinação do pH do artigo de teste puro, se possível (e/ou solução de dosagem, como apropriado) e um ensaio final para determinar a viabilidade tecidual relativa e a ação potencial do artigo de teste como um modulador da melanogênese da pele para o Modelo de Pele MelanoDerm™ após exposições repetidas. Os artigos de teste foram expostos ao Modelo de Pele MelanoDerm™ por um total de 7 dias. Os artigos de teste foram aplicados topicamente ao Modelo de Pele MelanoDerm™ a cada 48 horas (dentro de um intervalo de tempo de 48 ± 2 horas do tratamento prévio). A toxicidade dos artigos de teste foi determinada pela redução de enzima microssomal NAD(P)H-dependente de MTT (e, em um grau menor, pela redução de succinato desidrogenase de MTT) em tecidos de controle e

tratados com o artigo de teste. Os dados foram apresentados na forma de sobrevida relativa (conversão de MTT em relação ao controle negativo/de solvente). O impacto potencial sobre a produção de melanina foi avaliado por determinação da concentração de melanina produzida nos tecidos tratados com o artigo de teste comparados com os tecidos tratados com controle negativo/de solvente. Os dados foram apresentados na forma de concentração de melanina produzida pelos tecidos tratados com o artigo de teste determinada com o uso de um padrão de melanina curva. Alternativamente, os dados podem ser apresentados como alteração percentual na concentração de melanina em relação aos tecidos tratados com controle negativo/de solvente.

[1110]Os métodos usados são uma modificação dos procedimentos fornecidos por MatTek Corporation.

*Meios e reagentes*

[1111]Meio de Manutenção MelanoDerm™ (EPI-100-LLMM) foi adquirido de MatTek Corporation. Modelo de Pele MelanoDerm™ (MEL-300-A) foi adquirido de MatTek Corporation. Ácido kójico 1% (preparado em água deionizada estéril) foi adquirido de Sigma. MTT (brometo de 3-[4,5-dimetiltiazol-2-il]-2,5-difeniltetrazólio) foi adquirido de Sigma. Meio de Eagle Modificado por Dulbecco (DMEM) contendo 2 mM de L-glutamina (Meio de Adição de MTT) foi adquirido de Quality Biological. Solvente de Extração (Isopropanol) foi adquirido de Aldrich. Solução Salina Tamponada com Fosfato Livre de $Ca^{++}$ e $Mg^{++}$ de Dulbecco Estéril (CMF-DPBS) foi adquirida de Invitrogen. Melanina foi adquirida de Sigma. Água deionizada estéril foi adquirida de Quality Biological. Solvable foi adquirido de Perkin Elmer.

*Preparação e liberação de artigo de teste*

[1112]Salvo especificação em contrário dentro desse protocolo, vinte e cinco microlitros de cada artigo de teste foram aplicados diretamente no tecido de modo a cobrir a superfície superior. Dependendo da natureza do artigo de teste (líquidos, géis, cremes, espumas etc.), o uso de um dispositivo de dosagem, malha ou outro auxílio para permitir o espalhamento uniforme do artigo de teste sobre a superfície do tecido pode ter sido necessário.

*Via de administração*

[1113]Os artigos de teste foram aplicados topicamente ao tecido MelanoDerm™ a cada 48 horas (dentro de um intervalo de tempo de 48 ± 2 horas do tratamento prévio) durante um experimento de 7 dias. Vinte e cinco microlitros de cada artigo de teste foram aplicados a cada tecido. Vinte e cinco microlitros dos controles positivo e negativo/de solvente, respectivamente, foram aplicados a cada tecido.

*Determinação do pH*

[1114]O pH do artigo de teste líquido puro (e/ou solução de dosagem, como apropriado) foi determinado, se possível. O pH foi determinado usando papel de pH (por exemplo, com uma faixa de pH de 0 - 14 para estimar, e/ou uma faixa de pH de 5 - 10 para determinar um valor mais preciso). Os incrementos de pH típicos no papel de pH de faixa mais estreita foram aproximadamente de 0,3 a 0,5 unidade de pH. O incremento máximo no papel de pH foi de 1,0 unidade de pH.

*Controles*

[1115]O ensaio final incluiu um controle negativo, um controle positivo e um controle de solvente (DMSO). Os tecidos MelanoDerm™ designados para o controle negativo do

ensaio foram tratados com 25 µl de água deionizada estéril. Vinte e cinco microlitros de ácido kójico 1% (preparado em água deionizada estéril e filtrado no momento da preparação) foram usados para dosar os tecidos designados para o controle positivo do ensaio. O ácido kójico 1% foi armazenado em um tubo coberto com folha de alumínio até ser usado dentro do prazo de 2 horas de preparação. Os tempos de exposição do controle negativo/de solvente e positivo foram idênticos àqueles usados para os artigos de teste. Tecidos não tratados também foram usados como controles.

*Avaliação da redução direta pelo artigo de teste por MTT*

[1116]Foi necessário avaliar a habilidade de cada artigo de teste para reduzir diretamente MTT. Uma solução de MTT a 1,0 mg/ml foi preparada em Meio de Adição de MTT. Aproximadamente 25 µl do artigo de teste foram adicionados a 1 ml da solução de MTT e a mistura foi incubada no escuro a 37 ± 1°C por uma a três horas. Um controle negativo, 25 µl de água deionizada estéril, foi testado concomitantemente. Se a cor da solução de MTT ficasse azul/violeta, presumíamos que o artigo de teste tinha reduzido o MTT. Materiais de teste insolúveis em água podem ter demonstrado redução direta (escurecimento) somente na interface entre o artigo de teste e o meio.

*Recebimento de MelanoDerm™*

[1117]Mediante recebimento do Kit de Pele MelanoDerm™, as soluções foram armazenadas como indicado pelo fabricante. Os tecidos MelanoDerm™ foram armazenados a 2-8°C até o uso.

[1118]No dia da recepção (o dia anterior à dosagem), um volume apropriado de Meio de Manutenção MelanoDerm™ (EPI-

100-LLMM) foi removido e aquecido até 37° ± 1°C. Nove décimos (0,9) de 1 ml de EPI-100-LLMM/poço foram divididos em alíquotas dentro dos poços apropriados de placas de 6 poços. Cada tecido MelanoDerm™ foi inspecionado quanto a bolhas de ar entre o gel de agarose e a inserção de cultura de células antes da abertura da embalagem lacrada. Tecidos com bolhas de ar maiores do que 50% da área da inserção de cultura de células não foram usados. Os recipientes de remessa de 24 poços foram removidos da bolsa plástica e a superfície desinfectada com etanol 70%. Um número apropriado de tecidos MelanoDerm™ foi transferido assepticamente dos recipientes de remessa de 24 poços para dentro das placas de 6 poços. Os tecidos MelanoDerm™ foram incubados a 37 ± 1°C em uma atmosfera umidificada de $CO_2$ 5 ± 1% no ar (condições de cultura padronizadas) de um dia para o outro (pelo menos 16 horas) para aclimar os tecidos. Mediante abertura da bolsa, quaisquer tecidos não usados restantes no ágar de remessa no momento da transferência de tecido foram brevemente gaseificados com uma atmosfera de $CO_2$ 5%/ar 95%, e a bolsa foi lacrada e armazenada a 2-8°C para uso subseqüente.

*Ensaio final*

[1119]Exposição de tecido: Pelo menos 16 horas após início das culturas, cinco tecidos MelanoDerm™ (considerados não tratados no Dia 0) foram fotografados usando uma câmera digital para ajudar na avaliação visual do grau de pigmentação dos tecidos no tempo zero do ensaio. Dois tecidos MelanoDerm™ foram enxaguados com CMF-DPBS, blotados secos em papel absorvente estéril e limpos de líquido em excesso. Os tecidos MelanoDerm™ foram transferidos para os poços apropriados contendo MTT após enxágüe e processados no ensaio

de MTT. Três tecidos MelanoDerm™ foram enxaguados com CMF-DPBS, blotados secos em papel absorvente estéril e limpos de líquido em excesso. Os tecidos MelanoDerm™ foram removidos da inserção de cultura de células usando bisturis estéreis, colocados em um tubo de microcentrífuga de 1,5 ml rotulado, e armazenados a <-60°C para análise de melanina subseqüente.

[1120]Pelo menos 16 horas após início das culturas, o resto dos tecidos foi transferido em uma nova placa de 6 poços contendo 0,9 ml/poço de EPI-100-LLMM fresco, pré-aquecido. O experimento foi realizado ao longo de um intervalo de tempo de 7 dias. Cinco tecidos foram tratados topicamente no primeiro dia, e a cada 48 horas (dentro de um intervalo de tempo de 48 ± 2 horas do tratamento prévio) com 25 µl de cada artigo de teste. O meio era renovado diariamente (dentro de um intervalo de tempo de 24 ± 2 horas desde a troca prévia); os tecidos foram transferidos para uma nova placa de 6 poços contendo 0,9 ml/poço de EPI-100-LLMM fresco, pré-aquecido.

[1121]Cinco tecidos foram tratados topicamente no primeiro dia, e a cada 48 horas (dentro de um intervalo de tempo de 48 ± 2 horas do tratamento prévio) com 25 µl de controles positivo e negativo/de solvente, respectivamente. O meio era renovado diariamente (dentro de um intervalo de tempo de 24 ± 2 horas desde a troca prévia); os tecidos foram transferidos para uma nova placa de 6 poços contendo 0,9 ml/poço de EPI-100-LLMM fresco, pré-aquecido. Os tecidos foram incubados a 37 ± 1°C em uma atmosfera umidificada de $CO_2$ 5 ± 1% no ar (condições de cultura padronizadas) pelos tempos de exposição apropriados.

[1122]Nos dias de dosagem, o tecido MelanoDerm™

primeiramente foi gentilmente enxaguado três vezes usando aproximadamente 500 µl de CMF-DPBS por enxágüe para remover qualquer artigo de teste residual. O CMF-DPBS era gentilmente pipetado para dentro do poço e depois puxado com um aspirador estéril. Os tecidos foram transferidos para uma nova placa de 6 poços contendo 0,9 ml de EPI-100-LLMM fresco, pré-aquecido, e dosados com o artigo de teste apropriado, controle negativo/de solvente ou positivo. Os tecidos foram incubados a 37 ± 1°C em uma atmosfera umidificada de $CO_2$ 5 ± 1% no ar (condições de cultura padronizadas) pelos tempos de exposição apropriados.

[1123]Ao final do experimento de 7 dias, os tecidos MelanoDerm™ tratados com o controle negativo/de solvente ou positivo, e com cada artigo de teste foram fotografados usando uma câmera digital para ajudar na avaliação visual do grau de pigmentação dos tecidos ao final do ensaio (Dia 7). A seguir, a viabilidade de dois tecidos tratados com os controles positivo e negativo, respectivamente, e com cada artigo de teste, foi determinada por redução de MTT. Ao final do experimento de 7 dias, a melanina produzida por três tecidos tratados com cada artigo de teste, os controles positivo e negativo/de solvente, respectivamente, foi determinada.

[1124]Ensaio de MTT: Um estoque de 10X de MTT preparado em PBS (filtrado no momento da preparação da batelada) foi descongelado e diluído em Meio de Adição de MTT aquecido para produzir a solução de 1,0 mg/ml no máximo duas horas antes do uso. Trezentos µl da solução de MTT foram adicionados a cada poço designado de uma placa de 24 poços pré-rotulada.

[1125]Após o tempo de exposição, cada tecido MelanoDerm™ designado para o ensaio de MTT foi enxaguado com CMF-DPBS (uso de garrafa de spray é aceitável para essa etapa), blotado seco em papel absorvente estéril, e limpo de líquido em excesso. Os tecidos MelanoDerm™ foram transferidos para os poços apropriados contendo MTT após enxágüe. As placas de 24 poços foram incubadas em condições-padrão por 3 ± 0,1 horas.

[1126]Após 3 ± 0,1 horas, os tecidos MelanoDerm™ foram blotados em papel absorvente estéril, limpos de líquido em excesso, e transferidos para uma placa de 24 poços pré-rotulada contendo 2,0 ml de isopropanol em cada poço designado. As placas foram cobertas com parafilme e armazenadas no refrigerador (2-8°C) até o último tempo de exposição ter sido coletado. Se necessário, as placas foram armazenadas de um dia para o outro (ou até 24 horas após o último tempo de exposição ser colhido) no refrigerador antes da extração do MTT. A seguir, as placas foram agitadas por pelo menos 2 horas em temperatura ambiente. Ao final do período de extração, o líquido dentro das inserções de cultura de células foi decantado dentro do poço do qual a inserção de cultura de células foi retirada. A solução de extrato foi misturada e 200 µl transferidos para os poços apropriados de uma placa de 96 poços. Duzentos µl de isopropanol foram adicionados aos poços designados como brancos. A absorbância a 550 nm ($OD_{550}$) de cada poço foi medida com uma leitora de placas Vmax de Molecular Devices.

[1127]Ensaio de Melanina: Ao final do número de vezes de exposição apropriado, os tecidos MelanoDerm™ designados para o ensaio de melanina foram gentilmente enxaguados pelo menos

três vezes usando aproximadamente 500 µl de CMF-DPBS por enxágüe para remover qualquer artigo de teste residual ou excesso de vermelho fenol do meio de cultura, blotados secos em papel absorvente estéril e limpos de líquido em excesso. Os tecidos MelanoDerm™ foram fotografados usando uma câmera digital ao final do ensaio. Os tecidos MelanoDerm™ foram removidos da inserção de cultura de células usando bisturis estéreis ou um furador estéril (ou furadores), colocados em um tubo de microcentrífuga de 1,5 ml rotulado, e armazenados a <-60°C para análise de melanina subseqüente.

[1128]No dia do ensaio de extração de melanina, os tecidos excisados foram descongelados em temperatura ambiente por aproximadamente 10 minutos. Duzentos e cinqüenta µl de Solvable foram adicionados a cada tubo de microcentrífuga e os tubos foram incubados por pelo menos 16 horas a 60 ± 2°C. Uma solução de estoque de padrão de Melanina a 1 mg/ml foi preparada por dissolução da Melanina em Solvable. Uma série de padrões de Melanina foi preparada a partir da solução do estoque de 1 mg/ml variando de 0 mg/ml a 0,33 mg/ml. A série de padrões foi preparada por adição de 0,6 ml da solução de estoque de padrão de Melanina a 1 mg/ml a 1,2 ml de Solvable, e depois produção de uma série de mais cinco diluições (fator de diluição de 3). Solvable foi usado como o padrão-zero. A série de padrões de Melanina e o Solvable foram incubados por pelo menos 16 horas a 60 ± 2°C.

[1129]Pelo menos 16 horas após o início da extração de melanina, os tubos que contêm as amostras (que representam a melanina extraída dos tecidos MelanoDerm™) e os padrões foram resfriados em temperatura ambiente e centrifugados a 13.000 rpm por 5 minutos em temperatura ambiente. Duzentos

μl de amostras (poços únicos) ou padrões (poços em duplicata) foram transferidos para os poços apropriados de uma placa de 96 poços. Duzentos μl de Solvable foram adicionados aos poços designados como brancos em poços em duplicata. A absorbância a 490 nm ($OD_{490}$) de cada poço foi medida com uma leitora de placas Vmax de Molecular Devices (com função Automix selecionada).

*Controles mortos para avaliação de redução de MTT por artigo de teste residual*

[1130]Para demonstrar que possível artigo de teste residual não estava atuando para reduzir diretamente o MTT, foi realizada uma verificação funcional no ensaio final para mostrar que o material de teste não estava se ligando ao tecido e levando a um sinal de redução de MTT falso.

[1131]Para determinar se artigo de teste residual estava agindo para reduzir diretamente o MTT, um tecido de controle morto por congelamento foi usado. Tecido morto congelado foi preparado por colocação de tecidos MelanoDerm™/EpiDerm™ (MelanoDerm™ sem melanócitos) não tratados no congelador a -20°C pelo menos de um dia para o outro, descongelamento até a temperatura ambiente, e depois recongelamento. Uma vez morto, o tecido pode ser armazenado indefinidamente no congelador. Tecidos mortos por congelamento podem ser recebidos já preparados de MatTek Corporation, e armazenados no congelador a -20°C até o uso. Para testar quanto à redução de artigo de teste residual, tecidos mortos foram tratados com o artigo de teste da forma normal. Todos os procedimentos do ensaio foram realizados da mesma forma que para o tecido viável. Pelo menos um controle morto tratado com água deionizada estéril (controle morto negativo) foi testado em

paralelo, na medida em que é esperada uma pequena quantidade de redução de MTT pelo NADH residual e enzimas associadas dentro do tecido morto.

[1132]Se pouca ou nenhuma redução de MTT fosse observada no controle morto tratado com artigo de teste, a redução de MTT observada no tecido viável tratado com artigo de teste pode estar relacionada às células viáveis. Caso houvesse redução de MTT apreciável no controle morto tratado (em relação à quantidade no tecido viável tratado), etapas adicionais devem ser levadas em conta para a redução química ou o artigo de teste pode ser considerado instável nesse sistema.

*Análise de dados*

[1133]O valor médio da $OD_{550}$ dos poços em branco foi calculado. O valor médio corrigido da $OD_{550}$ do controle (ou controles) negativo(s)/de solvente foi determinado por subtração do valor médio da $OD_{550}$ dos poços em branco de seus valores médios da $OD_{550}$. Os valores corrigidos da $OD_{550}$ das exposições individuais ao artigo de teste e das exposições ao controle positivo foram determinados por subtração de cada um dos valores médios da $OD_{550}$ para os poços em branco. Todos os cálculos foram realizados usando uma planilha Excel. Embora os algoritmos discutidos sejam utilizados para calcular a análise final do ponto final no nível do grupo de tratamento, os mesmos cálculos podem ser aplicados às réplicas individuais.

$OD_{550}$ corrigida da exposição ao artigo de teste = $OD_{550}$ da exposição ao artigo de teste - $OD_{550}$ média do branco

[1134]Caso tenham sido usados controles mortos (KC), os seguintes cálculos adicionais eram realizados para corrigir

para a quantidade de MTT reduzida diretamente por resíduos do artigo de teste. O valor bruto da $OD_{550}$ para o controle morto do controle negativo foi subtraído dos valores brutos da $OD_{550}$ para cada um dos controles mortos tratados com artigo de teste, para determinar os valores líquidos da $OD_{550}$ dos controles mortos tratados com artigo de teste.

$OD_{550}$ líquida para cada artigo de teste e KC = $OD_{550}$ bruta do KC do artigo de teste - $OD_{550}$ bruta do controle negativo/de solvente KC

[1135]Os valores líquidos da $OD_{550}$ representam a quantidade de MTT reduzido em conseqüência da redução direta por resíduos do artigo de teste em tempos de exposição específicos. Em geral, se o valor líquido da $OD_{550}$ é maior do que 0,150, a quantidade líquida de redução de MTT será subtraída dos valores corrigidos da $OD_{550}$ dos tecidos viáveis tratados para obter um valor corrigido final da $OD_{550}$. Esses valores corrigidos finais da $OD_{550}$ serão então usados para determinar o % de Viabilidades de controle.

$OD_{550}$ final corrigida = $OD_{550}$ corrigida do artigo de teste (viável) - $OD_{550}$ líquida do artigo de teste (KC)

[1136]Finalmente, os seguintes % de Cálculos de controle serão feitos:

% de Viabilidade = [($OD_{550}$ final corrigida do Artigo de teste ou Controle positivo) / ($OD_{550}$ média corrigida do Controle (ou controles) Negativo/de Solvente)] x 100

[1137]Análise de Melanina: Os dados brutos de absorbância foram capturados, salvos como um arquivo para impressão e importados para uma planilha Excel. O valor da $OD_{490}$ de cada amostra de teste (que representa a melanina extraída de tecidos MelanoDerm™ não tratados no Dia 0,

tecidos MelanoDerm™ tratados com cada artigo de teste, controles negativos/de solvente ou positivos no Dia 7) e dos padrões de melanina, foi determinado. O valor corrigido da $OD_{490}$ para as amostras de teste e para cada padrão de melanina foi determinado por subtração do valor médio da $OD_{490}$ dos poços em branco. A curva-padrão foi plotada como a concentração dos padrões em mg/ml (eixo-y) versus a absorbância corrigida correspondente. A quantidade de melanina em cada tecido individual foi interpolada a partir da curva-padrão (linear). Finalmente, a média de concentração de melanina para cada artigo de teste ou grupos de tratamento de controle, respectivamente, foi calculada.

*Resultados*

[1138]A Fig. 128 resume os resultados da viabilidade tecidual e concentração de melanina médias para os artigos de teste, controle positivo e tecidos não tratados. Resultados preliminares sugerem que certas formulações aplicadas aos compostos de carbazol da presente invenção podem exibir independentemente efeitos moderados de clareamento da pele que atenuam a atividade de escurecimento da pele dos carbazóis.

[1139]A Fig. 129 resume os resultados da viabilidade tecidual e concentração de melanina médias para os artigos de teste e tecidos não tratados observados em um experimento separado. Tratamentos combinados que compreendem, por exemplo, malassezina e indirrubina, exibiram efeitos de clareamento da pele mais eficazes do que um dos compostos isoladamente.

**Exemplo 26**

**Potencial de melanogênese de indirrubina e derivados de**

**indirrubina**

[1140]O objetivo desse estudo é observar e relatar melanogênese e viabilidade de melanócitos B16 expostos à indirrubina e derivados de indirrubina.

*Materiais e reagentes*

[1141]Os meios de plaqueamento incluirão DMEM sem L-glutamina, FBS, penicilina / estreptomicina e L-glutamina. Os meios de ensaio incluirão DMEM sem vermelho fenol e L-glutamina, FBS, penicilina / estreptomicina, L-glutamina e aMSH. Outros reagentes incluirão ácido kójico, DMSO e MTT. As células testadas serão células B16 (ATCC CRL-6475).

*Protocolo*

[1142]Melanócitos B16 são cultivados até 70% confluentes e colhidos. As células são semeadas em placas de 96 poços em uma densidade de 4000 células/poço e foi permitido que aderissem de um dia para o outro. No dia seguinte, os artigos de teste e os controles são diluídos em Meio de Ensaio de B16. O meio de um dia para o outro é aspirado e 200 μl de artigos de teste e controles são aplicados. As células são incubadas a 37°C e $CO_2$ 10% por 72 horas. Após incubação de 72 horas, a absorbância é lida a 540 nm. Meio é removido e substituído com 100 μl de meio de plaqueamento contendo 1 mg/ml de MTT e incubado por 2 horas a 37°C e $CO_2$ 10%. Meio de MTT é removido e substituído com 200 μl de Etanol 95% / Isopropanol 5% e é agitado por 15 minutos. A absorbância de MTT é então lida a 570 nm.

*Resultados*

[1143]Espera-se que os compostos e composições da presente invenção, incluindo indirrubina e análogos químicos desta, inibirão a melanogênese. Espera-se que os análogos

químicos de indirrubina exibam, por exemplo, atividade de inibição da melanogênese mais potente, comparados com indirrubina. Da mesma forma, espera-se que certos análogos químicos de indirrubina demonstrem, por exemplo, atividade de inibição da melanogênese menos eficaz, comparados com indirrubina.

**Exemplo 27**

**Eficácia *in vitro***

[1144]Espera-se que os compostos e composições da presente invenção induzirão apoptose de melanócitos e modularão a atividade de melanócitos, produção de melanina, biogênese de melanossoma e/ou transferência de melanossoma pelo menos de forma tão potente quanto indirrubina. Também é contemplado que alguns dos compostos e composições da presente invenção afetarão esses processos biológicos de forma menos potente do que indirrubina. Esses compostos e composições podem ter perfis de toxicidade mais favoráveis comparados com espécies mais potentes.

**Exemplo 28**

**Eficácia *in vivo***

[1145]Espera-se que os compostos e composições da presente invenção serão pelo menos tão eficazes quanto indirrubina para a modulação da pigmentação da pele, incluindo clareamento da pele, e melhora da hiperpigmentação/hipopigmentação causada por vários distúrbios. Espera-se ainda que os compostos e composições da presente invenção exibirão perfis farmacocinéticos favoráveis em termos de, por exemplo, meia-vida e absorção. Certos compostos exibirão uma meia-vida mais longa, enquanto outros exibirão uma meia-vida mais curta. Similarmente,

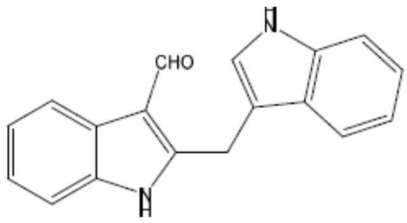
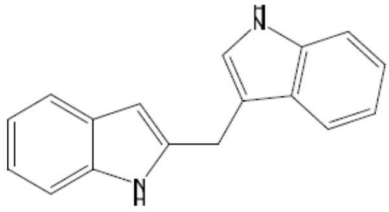
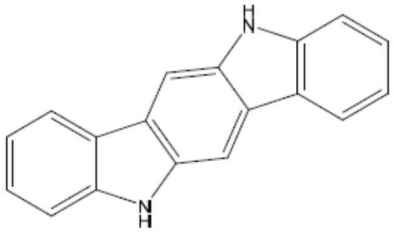
certos compostos exibirão perfis de absorção diferentes, com alguns compostos levando mais tempo para serem totalmente absorvidos e outros levando menos tempo para serem totalmente absorvidos.

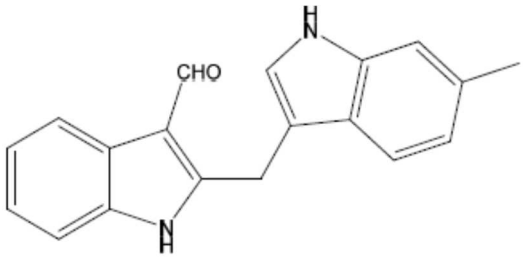
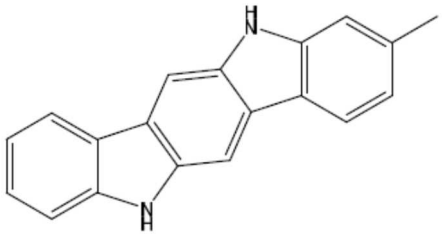
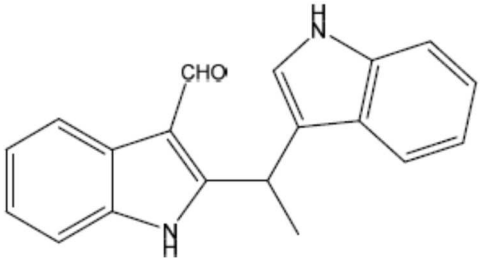
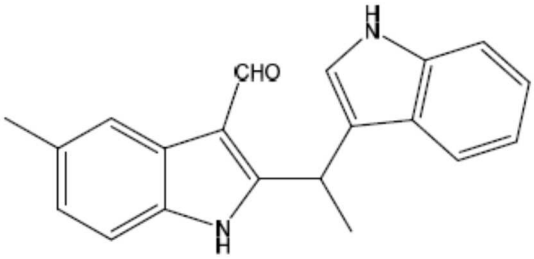
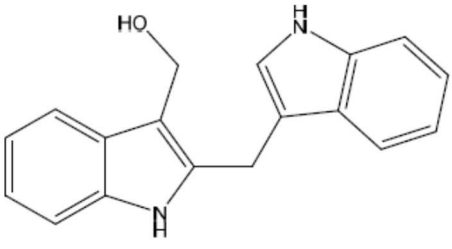
**Exemplo 29**

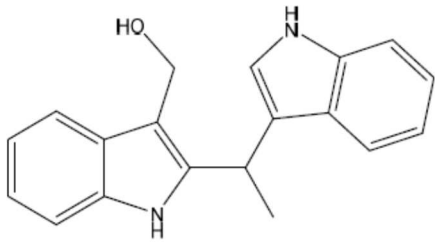
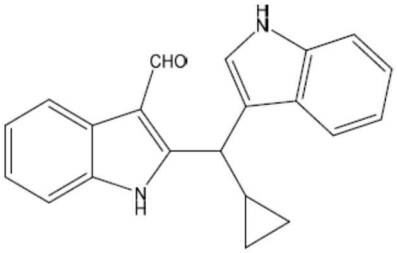
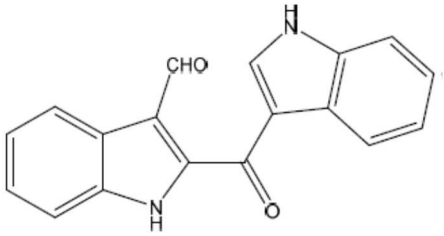
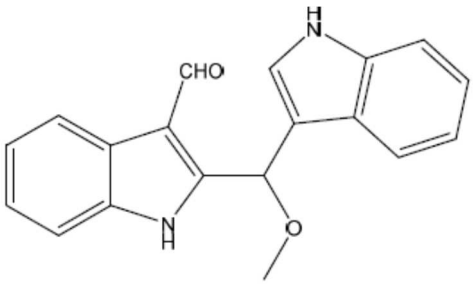
**Designações de compostos**

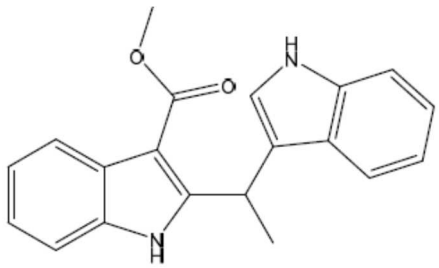
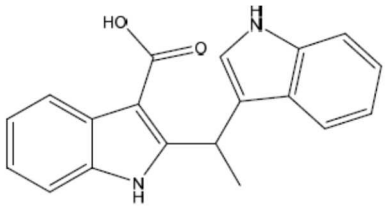
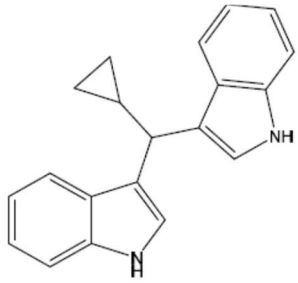
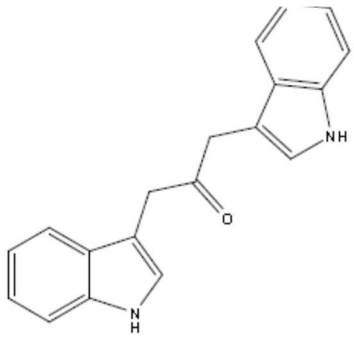
**[1146]**A Tabela 5 abaixo mostra estruturas e nomes para compostos da presente invenção.

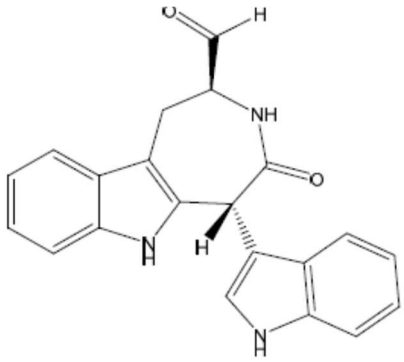
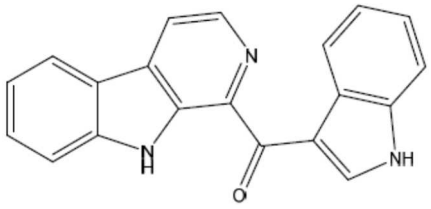
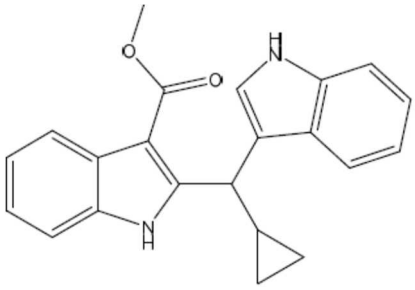
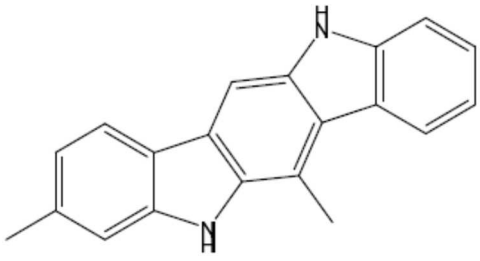
**Tabela 5**

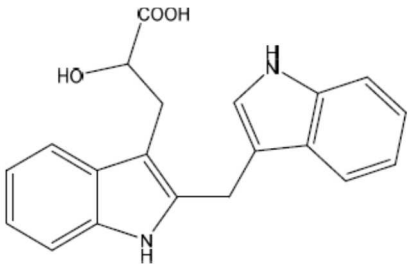
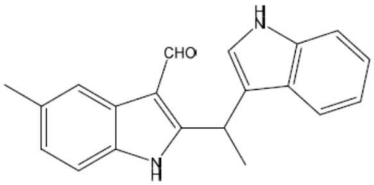
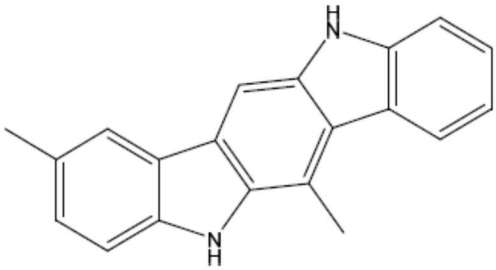
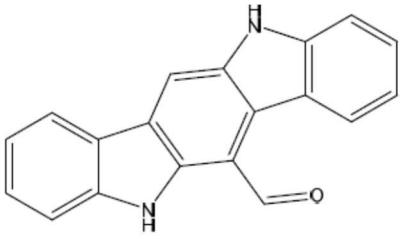
| **Código do composto** | **Nome do composto** | **Estrutura** |
|---|---|---|
| CV-8684 | Malassezina |  |
| N/A | Precursor de malassezina |  |
| CV-8685 | Indol[3,2-b]carbazol |  |

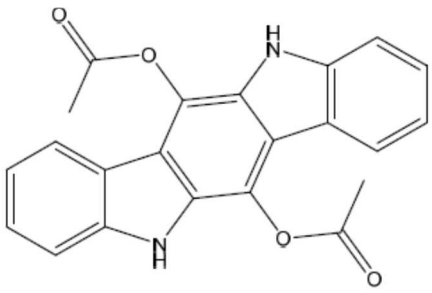
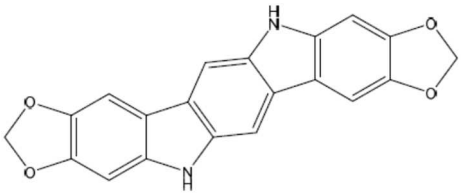
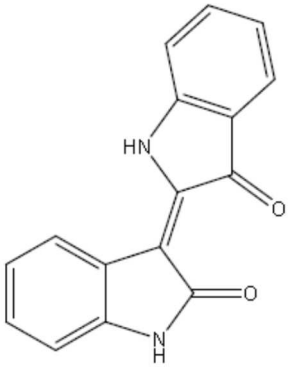
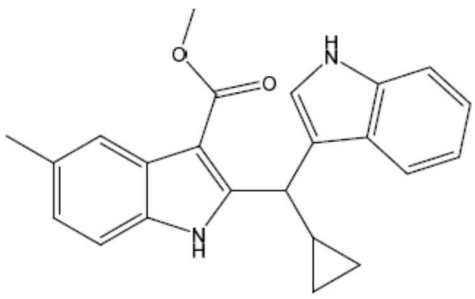
| | | |
|---|---|---|
| CV-8686 | Composto I |  |
| CV-8687 | Composto IV |  |
| CV-8688 | Composto II |  |
| CV-8802 | Composto C |  |
| CV-8803 | Composto K |  |

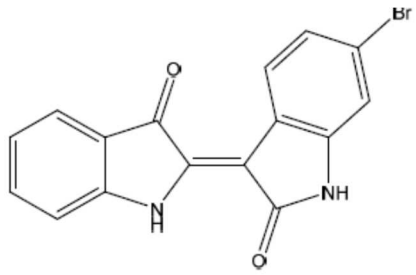
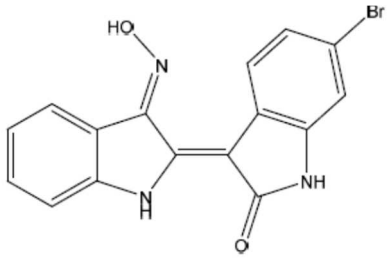
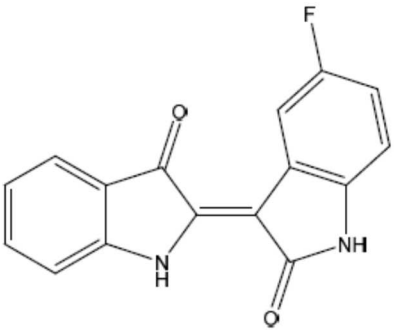
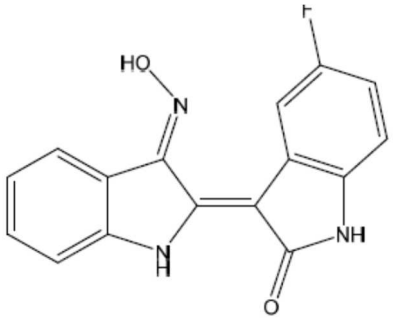
| | | |
|---|---|---|
| CV-8804 | Composto A |  |
| AB12508 | Composto E |  |
| CV-8819 | Composto A5 |  |
| AB12509 | Composto H |  |

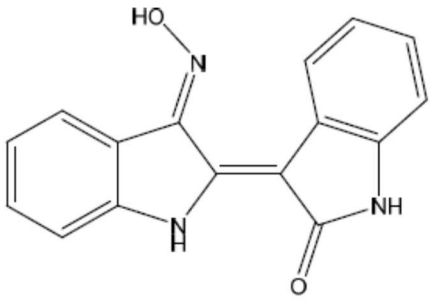
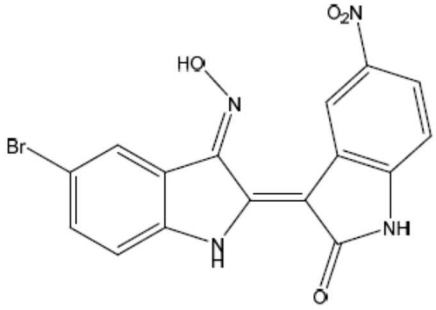
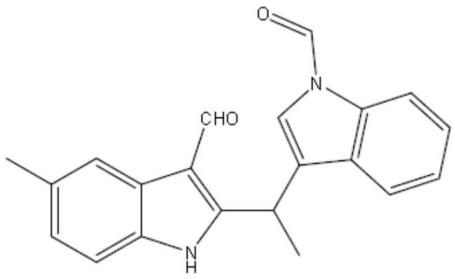
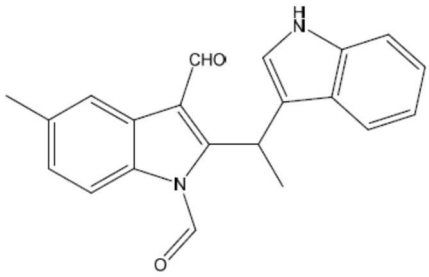
| | | |
|---|---|---|
| CV-8877 | Composto B |  |
| N/A | Composto B10 |  |
| AB11644 | N/A |  |
| AB12976 | O52 |  |

| | | |
|---|---|---|
| AB17011 | Indol de *Malassezia* A |  |
| AB17014 | Pitiriacitrina |  |
| AB17151 | N/A |  |
| AB17225 | Composto VI |  |

| | | |
|---|---|---|
| AB17227 | Ácido malassezialático |  |
| AB12507 | N/A |  |
| AB17219 | Composto V |  |
| N/A | FICZ |  |

| | | |
|---|---|---|
| AB17220 | Composto VIII |  |
| AB17221 | Composto VII |  |
| N/A | Indirrubina |  |
| AB17590 | N/A |  |

| | | |
|---|---|---|
| AB17653 | N/A |  |
| AB17654 | N/A |  |
| AB17655 | N/A |  |
| AB17656 | N/A |  |

| | | |
|---|---|---|
| AB17657 | N/A |  |
| AB17658 | N/A |  |
| N/A | Composto C1 |  |
| N/A | Composto C2 |  |

**Exemplo 30**

**Atividade de indução de apoptose de composições que contêm compostos derivados de *Malassezia* e/ou análogos químicos destes**

***Reagentes***

**[1147]**Alexa Flúor 488 Anexina V / Kit de Apoptose de Célula Morta, Soro Bovino Fetal (FBS), Tripsina-EDTA 0,25% (1x), Ensaio de Caspase-Glo 3/7, Meio RPMI 1640, Meio de Eagle Modificado por Dulbecco e Solução Antibiótica Antimicótica (100x).

[1148]As linhagens de células MeWo (ATCC® HTB-65™), WM115 (ATCC® CRL-1675) e B16F1 (ATCC® CRL-6323) são mantidas nos seguintes meios de cultura: meio de cultura para MeWo e B16F1: DMEM suplementado com FBS 10%; meio de cultura para WM115: RPMI 1640 suplementado com FBS 10%.

*Métodos experimentais*

[1149]As células são colhidas e o número de células determinado usando um Contador de Células Countess. As células são diluídas com meio de cultura até a densidade desejada. A densidade de células final pode ser, por exemplo, 4.000 células / poço por tratamento de 6 horas e 24 horas, e 2.000 células / poço por tratamento de 48 horas e 72 horas. Para o ensaio de Anexina V, placas de fundo transparente de 384 poços (Corning 3712) são empregadas, enquanto placas de fundo branco sólidas de 384 poços (Corning 3570) são usadas para os ensaios de Caspase-Glo. Todas as placas são cobertas com uma tampa e colocadas a 37°C e $CO_2$ 5% de um dia para o outro para adesão de células.

[1150]Os compostos de teste são dissolvidos em DMSO para um estoque de 30 mM. Diluições de 10 vezes são realizadas para gerar concentrações de 3 mM e 0,3 mM. 0,9 mM de Estaurosporina é empregado como controle positivo, e DMSO é empregado como controle negativo (NC). 132,5 nl de compostos são transferidos da placa-fonte de composto para placa(s) de cultura de células de 384 poços usando manuseador de líquidos

Echo550. Após o tempo de incubação indicado, as placas são removidas da incubadora para detecção.

[1151]As composições de teste são dissolvidas em DMSO, EPI-100-LLMM, ou qualquer solvente apropriado, e podem ser preparadas de acordo com as instruções nas Tabelas 2-7 abaixo. Solventes apropriados são bem conhecidos por aqueles habilitados na técnica.

[1152]Para o ensaio de Anexina V, as placas são removidas da incubadora e meio de cultura é removido. As células são lavadas duas vezes com 40 µl de PBS e 15 µl de solução de trabalho pré-misturada de Anexina V-FITC e corante Hoechst 33342 são adicionados por poço. As placas são incubadas em temperatura ambiente por 20 minutos, lacradas, e centrifugadas por 1 minuto a 1.000 rpm para remover bolhas. As placas são lidas usando ImageXpress Nano.

[1153]Para o ensaio de Caspase-Glo, as placas são removidas da incubadora e equilibradas em temperatura ambiente por 15 minutos. Reagentes Caspase-Glo 3/7 também são descongelados e equilibrados até a temperatura ambiente antes do experimento. Reagente Caspase-Glo é adicionado aos poços necessários na proporção de 1:1 ao meio de cultura. As placas são incubadas em temperatura ambiente por 15 minutos e lidas usando uma leitora de placas EnSpire™. A razão de aumento da indução é calculada de acordo com a seguinte fórmula: Razão de aumento da indução = $Lum_{Amosrta}$ / $Lum_{NC}$.

Ensaio de Anexina V e *Resultados do ensaio de Caspase 3/7*

[1154]Espera-se que os compostos e composições da presente invenção, incluindo Composições #1-5, induzirão morte celular. Espera-se que as composições da presente

invenção exibam, por exemplo, atividade de indução de apoptose mais potente, comparadas com pelo menos um composto componente isoladamente. Da mesma forma, espera-se que as composições da presente invenção demonstrem, por exemplo, atividade de indução de apoptose menos eficaz, comparadas com pelo menos um composto componente isoladamente. Essas composições podem ter perfis de toxicidade mais favoráveis comparadas com composições mais potentes.

**Exemplo 31**

**Viabilidade celular após exposição às composições que contêm compostos derivados de *Malassezia* e/ou análogos químicos destes**

*Reagentes*

[1155]Ensaio CellTiter-Glo® 2.0.

*Métodos experimentais*

[1156]Para o ensaio CellTiter-Glo, os compostos de teste são preparados em solução de DMSO de 10 mM. Os compostos foram diluídos serialmente em 12 concentrações. Quarenta µl de células de uma suspensão de 100.000 célula/ml são dispensados em cada poço de uma placa de 384 poços (Corning 3570). As placas são incubadas de um dia para o outro a 37°C, $CO_2$ 5%, e 95% de umidade. Os compostos de teste são adicionados, com DMSO como controle de veículo. As placas são incubadas a 37°C, $CO_2$ 5%, e 95% de umidade por 6, 24, ou 48 horas, e 40 µl de reagente CellTiter-Glo são adicionados aos poços para avaliar a viabilidade celular.

[1157]As composições de teste são dissolvidas em DMSO, EPI-100-LLMM, ou qualquer solvente apropriado, e podem ser preparadas de acordo com as instruções nas Tabelas 2-7 abaixo. Solventes apropriados são bem conhecidos por aqueles

habilitados na técnica.

*Resultados*

[1158]Espera-se que os compostos e composições da presente invenção, incluindo Composições #1-5, induzirão morte celular. Espera-se que as composições da presente invenção exibam, por exemplo, atividade de indução de apoptose mais potente, comparadas com pelo menos um composto componente isoladamente. Da mesma forma, espera-se que as composições da presente invenção demonstrem, por exemplo, atividade de indução de apoptose menos eficaz, comparadas com pelo menos um composto componente isoladamente. Essas composições podem ter perfis de toxicidade mais favoráveis comparadas com composições mais potentes.

**Exemplo 32**

**Potencial de ativação do receptor de aril-hidrocarboneto de composições que contêm compostos derivados de *Malassezia* e/ou análogos químicos destes**

*Procedimentos do ensaio*

[1159]Meio de cultura para células HepG2 transfectadas estavelmente é preparado por suplementação de DMEM com glicose elevada e L-glutamina, bem como FBS 10%.

**[1160]**Células HepG2-AhR-Luc são cultivadas em frascos T-75 a 37°C, $CO_2$ 5% e umidade relativa de 95%. Permite-se que as células alcancem 80-90% de confluência antes de descolamento e divisão.

[1161]As células cultivadas são enxaguados com 5 ml de PBS. PBS é removido por aspiração, 1,5 ml de tripsina é adicionado ao frasco, e as células são incubadas a 37°C por aproximadamente 5 minutos ou até que as células se destaquem e flutuem. Tripsina é inativada por adição de meios contendo

soro em excesso.

[1162]A suspensão de células é transferida para um tubo cônico e centrifugada a 120 g por 10 minutos para peletizar as células. As células são ressuspensas em meios de semeadura em uma densidade adequada. Quarenta µl de células são transferidos para uma placa de cultura de 384 poços (5 x $10^3$ células / poço). As placas são colocadas na incubadora a 37°C por 24 horas.

[1163]A seguir, soluções de estoque de compostos de teste, composições de teste e controle positivo de omeprazol são preparados. Composto e composições soluções são transferidos para dentro da placa de ensaio usando Echo550. A placa é então colocada de volta na incubadora para tratamento com composto/composição.

**[1164]**Mais tarde, após 24 horas de tratamento, a placa é removida da incubadora e foi permitido que resfriasse em temperatura ambiente. Trinta µl do reagente One-Glo igual àquele do meio de cultura são adicionados em cada poço. Permite-se que as células sofram lise por pelo menos 3 minutos, e depois medidas em um luminômetro.

[1165]São feitos gráficos de dose-resposta usando a análise de regressão não linear em XLfit, e os valores da $EC_{50}$ também são calculados.

*Resultados*

[1166]Espera-se que os compostos e composições da presente invenção, incluindo Composições #1-5, modularão a atividade de AhR. Espera-se que as composições da presente invenção exibam, por exemplo, atividade agonista de AhR mais potente comparadas com pelo menos um composto componente isoladamente. Da mesma forma, espera-se que as composições

da presente invenção demonstrem, por exemplo, atividade agonista de AhR menos eficaz comparadas com pelo menos um composto componente isoladamente. Espera-se que as composições da presente invenção também exibam, por exemplo, atividade antagonista de AhR mais potente comparadas com pelo menos um composto componente isoladamente. Da mesma forma, espera-se que as composições da presente invenção também demonstrem, por exemplo, atividade antagonista de AhR menos eficaz comparadas com pelo menos um composto componente isoladamente.

**Exemplo 33**

**Ensaios MelanoDerm™**

[1167]O objetivo desse estudo foi avaliar a ação potencial dos artigos de teste como um modulador da melanogênese da pele no Modelo de Pele MelanoDerm™ após exposições repetidas ao artigo de teste. Secundariamente, o objetivo desse estudo foi avaliar a irritação dérmica potencial do artigo de teste ao Modelo de Pele MelanoDerm™ após exposições repetidas. A toxicidade foi determinada por medição da conversão relativa de MTT (brometo de 3-[4,5-dimetiltiazol-2-il]-2,5-difeniltetrazólio) nos tecidos tratados com o artigo de teste comparados com os tecidos tratados com controle negativo/de solvente. O impacto potencial sobre a produção de melanina foi determinado por medição da concentração de melanina produzida pelos tecidos tratados com o artigo de teste comparados com os tecidos tratados com controle negativo/de solvente.

*Identificação de substâncias de teste* e *controles do ensaio*

**Tabela 6**

**Artigos de teste testados em forma diluída.**

| Designação do artigo de teste | Designação do Patrocinador | Concentração da dosagem | Instruções de preparação |
|---|---|---|---|
| 18AH47 | DMSO (controle de solvente) | 0,5 % (v/v) | O controle de solvente foi diluído (v/v) com EPI-100-LLMM até uma concentração final de 0,5%; o controle de solvente diluído foi turbilhonado por pelo menos 1 minuto e dosado sobre os tecidos usando um volume de dosagem de 25 µl. Um volume total de até 0,5 ml foi preparado para cada tratamento de tecido. |
| 17AJ41 | Malassezina (CV-8684) (Controle positivo) | 500 µM | Partindo da concentração de estoque fornecida pelo Patrocinador/preparada a partir do material sólido fornecido pelo Patrocinador, o artigo de teste/controle foi diluído (v/v) com EPI-100-LLMM até a concentração de dosagem listada. A diluição do artigo de teste foi turbilhonada por pelo menos 1 minuto, aquecida a 37° ± 1°C (em um banho-maria) por 15 minutos, turbilhonada |
| 17AJ55 | O52 | 650 µM | |
| 18AA21 | Indol de *Malassezia* A | 650 µM | |

| | | | |
|---|---|---|---|
| 18AF50 | AB17151 | 300 μM | novamente por pelo menos 1 minuto e dosada nos tecidos usando um volume de dosagem de 25 μl. Um volume total de até aproximadamente 0,5 ml foi preparado para cada tratamento de tecido. |
| 18AH15 | AB17590 | 300 μM | |
| 18AH21 | AB11644 | 650 μM | |
| 18AH38 | Indol-3-carbaldeído | 500 μM | |
| 18AH39 | Ácido D-indol-3-lático | 500 μM | |

**Tabela 7**

**Composição #1**

| **Designação do artigo de teste** | **Designação do Patrocinador** | **Instruções de preparação para soluções de estoque de trabalho** | **Concentração da dosagem** | **Instruções de preparação para diluições usadas para dosagem dos tecidos** |
|---|---|---|---|---|
| 17AD42 | Indol-carbazol (ICZ) | Uma solução de estoque de trabalho de 360 μM foi preparada a partir da | A concentração de dosagem de cada um dos | Cinqüenta (50) μl de cada solução de estoque de trabalho foram transferidos para um novo |
| 17AJ41 | Malassezina (CV-8684) | | | |

| | | | | |
|---|---|---|---|---|
| | (Controle positivo) | solução de estoque principal em DMSO da seguinte forma: A solução de estoque foi descongelada em temperatura ambiente e turbilhonada por aproximadamente 1 minuto. O volume apropriado necessário para preparar até aproximadamente 0,5 ml/1,0 ml de solução de estoque de trabalho foi transferido para um novo frasco e diluído com EPI-100-LLMM até | componentes foi de 18 µM. | frasco (volume combinado de 700 µl) e misturados com 300 µl de EPI-100-LLMM para gerar um volume total de 1.000 µl. A diluição foi turbilhonada por pelo menos 1 minuto antes de ser aplicada sobre os tecidos. |
| 17AJ47 | Composto A5 (também conhecido como ceto-Malassezina) | | | |
| 17AJ55 | O52 | | | |
| 18AA21 | Indol de *Malassezia* A | | | |
| 18AA22 | Pitiriacitrina | | | |
| 18AA24 | FICZ | | | |
| 18AD42 | Indirrubina | | | |
| 18AH16 | Triptantrina | | | |
| 18AH20 | Ácido *Malassezia*-lático | | | |
| 18AH24 | 2-hidróxi-1- | | | |

| | | | | |
|---|---|---|---|---|
| | (1H-indol-3-il)etanona | 360 μM. A diluição foi turbilhonada por pelo menos 1 minuto, aquecida a 37° ± 1°C (em um banho-maria) por 15 minutos e turbilhonada novamente por pelo menos 1 minuto antes de ser subseqüentemente diluída. | | |
| 18AH38 | Indol-3-carbaldeído | | | |
| 18AH39 | Ácido D-indol-3-lático | | | |
| 18AH44 | Ácido (indol-3-il)pirúvico | | | |

**Tabela 8**

**Composição #2**

| **Designação do artigo de teste** | **Designação do Patrocinador** | **Instruções de preparação para soluções de estoque de** | **Concentração da dosagem** | **Volume necessário (µl)** | **Instruções de preparação para diluições usadas para dosagem dos tecidos** |
|---|---|---|---|---|---|

| | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| | | **trabalho** | | | |
| 17AD42 | Indol-carbazol (ICZ) | Uma solução de estoque de trabalho de 360 μM foi preparada a partir da solução de estoque principal em DMSO da seguinte forma: A solução de estoque foi descongelada em temperatura ambiente e turbilhonada por aproximadamente 1 minuto. O | 12,6 μM | 35 | O volume da concentração de dosagem listada para cada componente foi transferido para um novo frasco e misturado com 297 μl de EPI-100-LLMM. A diluição foi turbilhonada por pelo menos 1 minuto antes de ser aplicada sobre os tecidos. |
| 17AJ41 | Malassezina (CV-8684) (Controle positivo) | | 50,4 μM | 140 | |
| 17AJ47 | Composto A5 (também conhecido como ceto-Malassezina) | | 10,1 μM | 28 | |
| 17AJ55 | O52 | | 10,1 μM | 28 | |
| 18AA21 | Indol de *Malassezia* A | | 10,1 μM | 28 | |
| 18AA22 | Pitiriacitrina | | 50,4 μM | 140 | |
| 18AA24 | FICZ | | 10,1 μM | 28 | |
| 18AD42 | Indirrubina | | 24,5 μM | 68 | |

| | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| 18AH16 | Triptantrina | volume apropriado necessário para preparar até aproximadamente 0,5 ml/1,0 ml de solução de estoque de trabalho foi transferido para um novo frasco e diluído com EPI-100-LLMM até 360 µM. A diluição foi turbilhonada por pelo menos 1 minuto, aquecida a 37° ± 1°C (em | 24,5 µM | 68 | |
| 18AH20 | Ácido *Malassezia*-lático | | 10,1 µM | 28 | |
| 18AH24 | 2-hidróxi-1-(1H-indol-3-il)etanona | | 10,1 µM | 28 | |
| 18AH38 | Indol-3-carbaldeído | | 10,1 µM | 28 | |
| 18AH39 | Ácido D-indol-3-lático | | 10,1 µM | 28 | |
| 18AH44 | Ácido (indol-3-il)pirúvico | | 10,1 µM | 28 | |

| | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| | | um banho-maria) por 15 minutos e turbilhonada novamente por pelo menos 1 minuto antes de ser subseqüentemente diluída. | | | |

**Tabela 9**

**Composição #3**

| **Designação do artigo de teste** | **Designação do Patrocinador** | **Instruções de preparação para soluções de estoque de trabalho** | **Concentração da dosagem (µM)** | **Volume necessário (µl)** | **Instruções de preparação para diluições usadas para dosagem dos tecidos** |
|---|---|---|---|---|---|
| 17AJ41 | Malassezina (CV-8684) | Uma solução de estoque de | 50,4 | 140 | O volume da concentração de |

| | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| | (Controle positivo) | trabalho de 360 μM foi preparada a partir da solução de estoque principal em DMSO da seguinte forma: A solução de estoque foi descongelada em temperatura ambiente e turbilhonada por aproximadamente 1 minuto. O | | | dosagem listada para cada componente foi transferido para um novo frasco e misturado com 568 μl de EPI-100-LLMM. A diluição foi turbilhonada por pelo menos 1 minuto antes de ser aplicada sobre os tecidos. |
| 17AD46 | Composto A5 (CV-8819) (também conhecido como ceto-Malassezina) | | 10,1 | 28 | |
| 17AJ55 | O52 (AB12976) | | 10,1 | 28 | |
| 18AA21 | Indol de *Malassezia* A (AB17011) | | 10,1 | 28 | |
| 18AD42 | Indirrubina | | 24,5 | 68 | |
| 18AH20 | AB17227 (também conhecido como Ácido | | 10,1 | 28 | |

| | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| | *Malassezia*-lático) | volume apropriado necessário para preparar até aproximadamente 0,5 ml/1,0 ml de solução de estoque de trabalho foi transferido para um novo frasco e diluído com EPI-100-LLMM até 360 μM. A diluição foi turbilhonada por pelo menos | | | |
| 18AH24 | 2-hidróxi-1-(1H-indol-3-il)etanona | | 10,1 | 28 | |
| 18AH38 | Indol-3-carbaldeído | | 10,1 | 28 | |
| 18AH39 | Ácido D-indol-3-lático | | 10,1 | 28 | |
| 18AH44 | Ácido (indol-3-il)pirúvico | | 10,1 | 28 | |

| | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| | | 1 minuto, aquecida a 37° ± 1°C (em um banho-maria) por 15 minutos e turbilhonada novamente por pelo menos 1 minuto antes de ser subseqüentemente diluída. | | | |

**Tabela 10**

**Composição #4**

| **Designação do artigo de teste** | **Designação do Patrocinador** | **Instruções de preparação para soluções de estoque de** | **Concentração da dosagem (µM)** | **Volume necessário (µl)** | **Instruções de preparação para diluições usadas para dosagem dos** |
|---|---|---|---|---|---|

| | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| | | **trabalho** | | | **tecidos** |
| 17AD42 | CV-8685 (também conhecido como Indol-carbazol ou ICZ) | Uma solução de estoque de trabalho de 360 μM foi preparada a partir da solução de estoque principal em DMSO da seguinte forma: A solução de estoque foi descongelada em temperatura ambiente e turbilhonada por aproximadamente 1 minuto. O | 12,6 | 35 | O volume da concentração de dosagem listada para cada componente foi transferido para um novo frasco e misturado com 505 μl de EPI-100-LLMM. A diluição foi turbilhonada por pelo menos 1 minuto antes de ser aplicada sobre os tecidos. |
| 17AJ41 | Malassezina (CV-8684) (Controle positivo) | | 50,4 | 140 | |
| 17AD46 | Composto A5 (CV-8819) (também conhecido como ceto-Malassezina) | | 10,1 | 28 | |
| 17AJ55 | O52 (AB12976) | | 10,1 | 28 | |
| 18AA21 | Indol de | | 10,1 | 28 | |

| | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| | *Malassezia* A (AB17011) | volume apropriado necessário para preparar até aproximadamente 0,5 ml/1,0 ml de solução de estoque de trabalho foi transferido para um novo frasco e diluído com EPI-100-LLMM até 360 µM. A diluição foi turbilhonada por pelo menos 1 minuto, aquecida a 37° ± 1°C (em | | | |
| 18AA24 | FICZ | | 10,1 | 28 | |
| 18AD42 | Indirrubina | | 24,5 | 68 | |
| 18AH20 | AB17227 (também conhecido como Ácido *Malassezia*-lático) | | 10,1 | 28 | |
| 18AH24 | 2-hidróxi-1-(1H-indol-3-il)etanona | | 10,1 | 28 | |
| 18AH38 | Indol-3-carbaldeído | | 10,1 | 28 | |
| 18AH39 | Ácido D-indol-3-lático | | 10,1 | 28 | |
| 18AH44 | Ácido (indol- | | 10,1 | 28 | |

| | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| | 3-il)pirúvico | um banho-maria) por 15 minutos e turbilhonada novamente por pelo menos 1 minuto antes de ser subseqüentemente diluída. | | | |

**Tabela 11**

**Composição #5**

| **Designação do artigo de teste** | **Designação do Patrocinador** | **Instruções de preparação para soluções de estoque de trabalho** | **Concentração da dosagem (µM)** | **Volume necessário (µl)** | **Instruções de preparação para diluições usadas para dosagem dos tecidos** |
|---|---|---|---|---|---|
| 17AD42 | CV-8685 (também | Uma solução de estoque de | 74,9 | 208 | O volume da concentração de |

| | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| | conhecido como Indol-carbazol ou ICZ) | trabalho de 360 μM foi preparada a partir da solução de estoque principal em DMSO da seguinte forma: A solução de estoque foi descongelada em temperatura ambiente e turbilhonada por aproximadamente 1 minuto. O volume apropriado necessário para | | | dosagem listada para cada componente foi transferido para um novo frasco e misturado com 306 μl de EPI-100-LLMM. A diluição foi turbilhonada por pelo menos 1 minuto antes de ser aplicada sobre os tecidos. |
| 17AJ41 | Malassezina (CV-8684) (Controle positivo) | | 10,1 | 28 | |
| 18AA22 | Pitiriacitrina (AB17014) | | 10,1 | 28 | |
| 18AA24 | FICZ | | 74,9 | 208 | |
| 18AD42 | Indirrubina | | 24,8 | 69 | |
| 18AH16 | Triptantrina | | 10,1 | 28 | |
| 18AH24 | 2-hidróxi-1-(1H-indol-3-il)etanona | | 10,1 | 28 | |
| 18AH39 | Ácido D-indol-3-lático | | 24,8 | 69 | |
| 18AH44 | Ácido (indol- | | 10,1 | 28 | |

| | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| | 3-il)pirúvico | preparar até aproximadamente 0,5 ml/1,0 ml de solução de estoque de trabalho foi transferido para um novo frasco e diluído com EPI-100-LLMM até 360 μM. A diluição foi turbilhonada por pelo menos 1 minuto, aquecida a 37° ± 1°C (em um banho-maria) por 15 minutos e turbilhonada | | | |

| | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| | | novamente por pelo menos 1 minuto antes de ser subseqüentemente diluída. | | | |

Os controles do ensaio incluem: controle positivo - malassezina (CV-8684) (500 µM) (17AJ41) e controle de solvente - DMSO (dimetil sulfóxido) preparado em EPI-100-LLMM.

[1168]Adicionalmente, o artigo de teste e controles foram aplicados aos grupos de 4 tecidos dos quais 2 foram usados para o ponto final da Viabilidade de Tecido (MTT) e 2 para o ponto final de Melanina, respectivamente.

*Sistema de teste*

[1169]O Modelo de Pele MelanoDerm™ fornecido por MatTek Corporation (Ashland, MA) foi usado nesse estudo. O tecido MelanoDerm™ consiste em queratinócitos (NHEK) e melanócitos (NHM) epidérmicos de origem humana normais que foram cultivados para formar um modelo multicamadas, altamente diferenciado, da epiderme humana. Os NHMs dentro de coculturas passam por melanogênese espontânea que leva a tecidos de níveis variáveis de pigmentação. As culturas foram desenvolvidas em inserções de cultura de células na interface ar-líquido, o que permite a aplicação tópica de moduladores da pele. O modelo MelanoDerm™ exibe características morfológicas e ultra-estruturais do tipo *in vivo*. NHM localizados na camada basal da célula de tecido MelanoDerm™ são dendríticos e produzem espontaneamente grânulos de melanina que progressivamente populam as camadas do tecido. Dessa forma, o sistema de teste é usado para a avaliação de materiais que podem inibir ou estimular a produção de melanina em relação aos controles negativos.

*Design experimental e metodologia*

[1170]O design experimental desse estudo consistiu na determinação do pH do artigo de teste puro, se possível (e/ou

solução de dosagem, como apropriado) e um ensaio final para determinar a viabilidade tecidual relativa e a ação potencial do artigo de teste como um modulador da melanogênese da pele para o Modelo de Pele MelanoDerm™ após exposições repetidas. Os artigos de teste foram expostos ao Modelo de Pele MelanoDerm™ por um total de 7 dias. Os artigos de teste foram aplicados topicamente ao Modelo de Pele MelanoDerm™ a cada 48 horas (dentro de um intervalo de tempo de 48 ± 2 horas do tratamento prévio). A toxicidade dos artigos de teste foi determinada pela redução de enzima microssomal NAD(P)H-dependente de MTT (e, em um grau menor, pela redução de succinato desidrogenase de MTT) em tecidos de controle e tratados com o artigo de teste. Os dados foram apresentados na forma de sobrevida relativa (conversão de MTT em relação ao controle negativo/de solvente). O impacto potencial sobre a produção de melanina foi avaliado por determinação da concentração de melanina produzida nos tecidos tratados com o artigo de teste comparados com os tecidos tratados com controle negativo/de solvente. Os dados foram apresentados na forma de concentração de melanina produzida pelos tecidos tratados com o artigo de teste determinada com o uso de um padrão de melanina curva. Alternativamente, os dados podem ser apresentados como alteração percentual na concentração de melanina em relação aos tecidos tratados com controle negativo/de solvente.

[1171]Os métodos usados são uma modificação dos procedimentos fornecidos por MatTek Corporation.

*Meios e reagentes*

[1172]Meio de Manutenção MelanoDerm™ (EPI-100-LLMM) foi adquirido de MatTek Corporation. Modelo de Pele MelanoDerm™

(MEL-300-A) foi adquirido de MatTek Corporation. Ácido kójico 1% (preparado em água deionizada estéril) foi adquirido de Sigma. MTT (brometo de 3-[4,5-dimetiltiazol-2-il]-2,5-difeniltetrazólio) foi adquirido de Sigma. Meio de Eagle Modificado por Dulbecco (DMEM) contendo 2 mM de L-glutamina (Meio de Adição de MTT) foi adquirido de Quality Biological. Solvente de Extração (Isopropanol) foi adquirido de Aldrich. Solução Salina Tamponada com Fosfato Livre de $Ca^{++}$ e $Mg^{++}$ de Dulbecco Estéril (CMF-DPBS) foi adquirida de Invitrogen. Melanina foi adquirida de Sigma. Água deionizada estéril foi adquirida de Quality Biological. Solvable foi adquirido de Perkin Elmer.

*Preparação e liberação de artigo de teste*

[1173]Salvo especificação em contrário dentro desse protocolo, vinte e cinco microlitros de cada artigo de teste foram aplicados diretamente no tecido de modo a cobrir a superfície superior. Dependendo da natureza do artigo de teste (líquidos, géis, cremes, espumas e semelhantes), o uso de um dispositivo de dosagem, malha ou outro auxílio para permitir o espalhamento uniforme do artigo de teste sobre a superfície do tecido pode ter sido necessário.

*Via de administração*

[1174]Os artigos de teste foram aplicados topicamente ao tecido MelanoDerm™ a cada 48 horas (dentro de um intervalo de tempo de 48 ± 2 horas do tratamento prévio) durante um experimento de 7 dias. Vinte e cinco microlitros de cada artigo de teste foram aplicados a cada tecido. Vinte e cinco microlitros dos controles positivo e negativo/de solvente, respectivamente, foram aplicados a cada tecido.

*Determinação do pH*

[1175]O pH do artigo de teste líquido puro (e/ou solução de dosagem, como apropriado) foi determinado, se possível. O pH foi determinado usando papel de pH (por exemplo, com uma faixa de pH de 0 - 14 para estimar, e/ou uma faixa de pH de 5 - 10 para determinar um valor mais preciso). Os incrementos de pH típicos no papel de pH de faixa mais estreita foram aproximadamente de 0,3 a 0,5 unidade de pH. O incremento máximo no papel de pH foi de 1,0 unidade de pH.

*Controles*

[1176]O ensaio final incluiu um controle negativo, um controle positivo e um controle de solvente (DMSO) ou um controle positivo e um controle de solvente (DMSO). Os tecidos MelanoDerm™ designados para o controle negativo/de solvente do ensaio foram tratados com 25 μl de água deionizada estéril ou DMSO. Os tecidos designados para o controle positivo do ensaio foram tratados com 25 μl de Ácido kójico 1%, Malassezina (CV-8684) (17AJ41) 500 μM, ou Composição #2. O ácido kójico 1% foi armazenado em um tubo coberto com folha de alumínio até ser usado dentro do prazo de 2 horas de preparação. Os tempos de exposição do controle negativo/de solvente e positivo foram idênticos àqueles usados para os artigos de teste. Tecidos não tratados também foram usados como controles.

*Avaliação da redução direta pelo artigo de teste por MTT*

[1177]Foi necessário avaliar a habilidade de cada artigo de teste para reduzir diretamente MTT. Uma solução de MTT a 1,0 mg/ml foi preparada em Meio de Adição de MTT. Aproximadamente 25 μl do artigo de teste foram adicionados a 1 ml da solução de MTT e a mistura foi incubada no escuro

a 37 ± 1°C por uma a três horas. Um controle negativo, 25 µl de água deionizada estéril, ou um controle de solvente, 25 µl de DMSO foi testado concomitantemente. Se a cor da solução de MTT ficasse azul/violeta, presumíamos que o artigo de teste tinha reduzido o MTT. Materiais de teste insolúveis em água podem ter demonstrado redução direta (escurecimento) somente na interface entre o artigo de teste e o meio.

*Recebimento de MelanoDerm™*

[1178]Mediante recebimento do Kit de Pele MelanoDerm™, as soluções foram armazenadas como indicado pelo fabricante. Os tecidos MelanoDerm™ foram armazenados a 2-8°C até o uso.

[1179]No dia da recepção (o dia anterior à dosagem), um volume apropriado de Meio de Manutenção MelanoDerm™ (EPI-100-LLMM) foi removido e aquecido até 37° ± 1°C. Nove décimos (0,9) de 1 ml de EPI-100-LLMM/poço foram divididos em alíquotas dentro dos poços apropriados de placas de 6 poços. Cada tecido MelanoDerm™ foi inspecionado quanto a bolhas de ar entre o gel de agarose e a inserção de cultura de células antes da abertura da embalagem lacrada. Tecidos com bolhas de ar maiores do que 50% da área da inserção de cultura de células não foram usados. Os recipientes de remessa de 24 poços foram removidos da bolsa plástica e a superfície desinfectada com etanol 70%. Um número apropriado de tecidos MelanoDerm™ foi transferido assepticamente dos recipientes de remessa de 24 poços para dentro das placas de 6 poços. Os tecidos MelanoDerm™ foram incubados a 37 ± 1°C em uma atmosfera umidificada de $CO_2$ 5 ± 1% no ar (condições de cultura padronizadas) de um dia para o outro (pelo menos 16 horas) para aclimar os tecidos. Mediante abertura da bolsa, quaisquer tecidos não usados restantes no ágar de remessa no

momento da transferência de tecido foram brevemente gaseificados com uma atmosfera de $CO_2$ 5%/ar 95%, e a bolsa foi lacrada e armazenada a 2-8°C para uso subseqüente.

*Ensaio final*

[1180]Exposição de tecido: Pelo menos 16 horas após início das culturas, cinco tecidos MelanoDerm™ (considerados não tratados no Dia 0) foram fotografados usando uma câmera digital para ajudar na avaliação visual do grau de pigmentação dos tecidos no tempo zero do ensaio. Dois tecidos MelanoDerm™ foram enxaguados com CMF-DPBS, blotados secos em papel absorvente estéril e limpos de líquido em excesso. Os tecidos MelanoDerm™ foram transferidos para os poços apropriados contendo MTT após enxágüe e processados no ensaio de MTT. Dois ou três tecidos MelanoDerm™ foram enxaguados com CMF-DPBS, blotados secos em papel absorvente estéril e limpos de líquido em excesso. Os tecidos MelanoDerm™ foram removidos da inserção de cultura de células usando bisturis estéreis, colocados em um tubo de microcentrífuga de 1,5 ml rotulado, e armazenados a <-60°C para análise de melanina subseqüente.

[1181]Pelo menos 16 horas após início das culturas, o resto dos tecidos foi transferido em uma nova placa de 6 poços contendo 0,9 ml/poço de EPI-100-LLMM fresco, pré-aquecido. O experimento foi realizado ao longo de um intervalo de tempo de 7 dias. Quatro ou cinco tecidos foram tratados topicamente no primeiro dia, e a cada 48 horas (dentro de um intervalo de tempo de 48 ± 2 horas do tratamento prévio) com 25 µl de cada artigo de teste. O meio era renovado diariamente (dentro de um intervalo de tempo de 24 ± 2 horas desde a troca prévia); os tecidos foram transferidos para

uma nova placa de 6 poços contendo 0,9 ml/poço de EPI-100-LLMM fresco, pré-aquecido.

[1182]Quatro ou cinco tecidos foram tratados topicamente no primeiro dia, e a cada 48 horas (dentro de um intervalo de tempo de 48 ± 2 horas do tratamento prévio) com 25 µl de controles positivo e negativo/de solvente, respectivamente. O meio era renovado diariamente (dentro de um intervalo de tempo de 24 ± 2 horas desde a troca prévia); os tecidos foram transferidos para uma nova placa de 6 poços contendo 0,9 ml/poço de EPI-100-LLMM fresco, pré-aquecido. Os tecidos foram incubados a 37 ± 1°C em uma atmosfera umidificada de $CO_2$ 5 ± 1% no ar (condições de cultura padronizadas) pelos tempos de exposição apropriados.

[1183]Nos dias de dosagem, o tecido MelanoDerm™ primeiramente foi gentilmente enxaguado três vezes usando aproximadamente 500 µl de CMF-DPBS por enxágüe para remover qualquer artigo de teste residual. O CMF-DPBS era gentilmente pipetado para dentro do poço e depois puxado com um aspirador estéril. Os tecidos foram transferidos para uma nova placa de 6 poços contendo 0,9 ml de EPI-100-LLMM fresco, pré-aquecido, e dosados com o artigo de teste apropriado, controle negativo/de solvente ou positivo. Os tecidos foram incubados a 37 ± 1°C em uma atmosfera umidificada de $CO_2$ 5 ± 1% no ar (condições de cultura padronizadas) pelos tempos de exposição apropriados.

[1184]Ao final do experimento de 7 dias, os tecidos MelanoDerm™ tratados com o controle negativo/de solvente ou positivo, e com cada artigo de teste foram fotografados usando uma câmera digital para ajudar na avaliação visual do grau de pigmentação dos tecidos ao final do ensaio (Dia 7).

A seguir, a viabilidade de dois tecidos tratados com os controles positivo e negativo, respectivamente, e com cada artigo de teste, foi determinada por redução de MTT. Ao final do experimento de 7 dias, a melanina produzida por três tecidos tratados com cada artigo de teste, o controle positivo e negativo/de solvente, respectivamente, foi determinada.

[1185]Ensaio de MTT: Um estoque de 10X de MTT preparado em PBS (filtrado no momento da preparação da batelada) foi descongelado e diluído em Meio de Adição de MTT aquecido para produzir a solução de 1,0 mg/ml no máximo duas horas antes do uso. Trezentos µl da solução de MTT foram adicionados a cada poço designado de uma placa de 24 poços pré-rotulada.

[1186]Após o tempo de exposição, cada tecido MelanoDerm™ designado para o ensaio de MTT foi enxaguado com CMF-DPBS (uso de garrafa de spray é aceitável para essa etapa), blotado seco em papel absorvente estéril, e limpo de líquido em excesso. Os tecidos MelanoDerm™ foram transferidos para os poços apropriados contendo MTT após enxágüe. As placas de 24 poços foram incubadas em condições-padrão por 3 ± 0,1 horas.

[1187]Após 3 ± 0,1 horas, os tecidos MelanoDerm™ foram blotados em papel absorvente estéril, limpos de líquido em excesso, e transferidos para uma placa de 24 poços pré-rotulada contendo 2,0 ml de isopropanol em cada poço designado. As placas foram cobertas com parafilme e armazenadas no refrigerador (2-8°C) até o último tempo de exposição ter sido coletado. Se necessário, as placas foram armazenadas de um dia para o outro (ou até 24 horas após o

último tempo de exposição ser colhido) no refrigerador antes da extração do MTT. A seguir, as placas foram agitadas por pelo menos 2 horas em temperatura ambiente. Ao final do período de extração, o líquido dentro das inserções de cultura de células foi decantado dentro do poço do qual a inserção de cultura de células foi retirada. A solução de extrato foi misturada e 200 µl transferidos para os poços apropriados de uma placa de 96 poços. Duzentos µl de isopropanol foram adicionados aos poços designados como brancos. A absorbância a 550 nm ($OD_{550}$) de cada poço foi medida com uma leitora de placas Vmax de Molecular Devices.

[1188]Ensaio de Melanina: Ao final do número de vezes de exposição apropriado, os tecidos MelanoDerm™ designados para o ensaio de melanina foram gentilmente enxaguados pelo menos três vezes usando aproximadamente 500 µl de CMF-DPBS por enxágüe para remover qualquer artigo de teste residual ou excesso de vermelho fenol do meio de cultura, blotados secos em papel absorvente estéril e limpos de líquido em excesso. Os tecidos MelanoDerm™ foram fotografados usando uma câmera digital ao final do ensaio. Os tecidos MelanoDerm™ foram removidos da inserção de cultura de células usando bisturis estéreis ou um furador estéril (ou furadores), colocados em um tubo de microcentrífuga de 1,5 ml rotulado, e armazenados a <-60°C para análise de melanina subseqüente.

[1189]No dia do ensaio de extração de melanina, os tecidos excisados foram descongelados em temperatura ambiente por aproximadamente 10 minutos. Duzentos e cinqüenta µl de Solvable foram adicionados a cada tubo de microcentrífuga e os tubos foram incubados por pelo menos 16 horas a 60 ± 2°C. Uma solução de estoque de padrão de Melanina

a 1 mg/ml foi preparada por dissolução da Melanina em Solvable. Uma série de padrões de Melanina foi preparada a partir da solução do estoque de 1 mg/ml variando de 0 mg/ml a 0,33 mg/ml. A série de padrões foi preparada por adição de 0,6 ml da solução de estoque de padrão de Melanina a 1 mg/ml a 1,2 ml de Solvable, e depois produção de uma série de mais cinco diluições (fator de diluição de 3). Solvable foi usado como o padrão-zero. A série de padrões de Melanina e o Solvable foram incubados por pelo menos 16 horas a 60 ± 2°C.

[1190]Pelo menos 16 horas após o início da extração de melanina, os tubos que contêm as amostras (que representam a melanina extraída dos tecidos MelanoDerm™) e os padrões foram resfriados em temperatura ambiente e centrifugados a 13.000 rpm por 5 minutos em temperatura ambiente. Duzentos μl de amostras (poços únicos) ou padrões (poços em duplicata) foram transferidos para os poços apropriados de uma placa de 96 poços. Duzentos μl de Solvable foram adicionados aos poços designados como brancos em poços em duplicata. A absorbância a 490 nm ($OD_{490}$) de cada poço foi medida com uma leitora de placas Vmax de Molecular Devices (com função Automix selecionada).

*Controles mortos para avaliação de redução de MTT por artigo de teste residual*

[1191]Para demonstrar que possível artigo de teste residual não estava atuando para reduzir diretamente o MTT, foi realizada uma verificação funcional no ensaio final para mostrar que o material de teste não estava se ligando ao tecido e levando a um sinal de redução de MTT falso.

[1192]Para determinar se artigo de teste residual estava agindo para reduzir diretamente o MTT, um tecido de controle

morto por congelamento foi usado. Tecido morto congelado foi preparado por colocação de tecidos MelanoDerm™/EpiDerm™ (MelanoDerm™ sem melanócitos) não tratados no congelador a -20°C pelo menos de um dia para o outro, descongelamento até a temperatura ambiente, e depois recongelamento. Uma vez morto, o tecido pode ser armazenado indefinidamente no congelador. Tecidos mortos por congelamento podem ser recebidos já preparados de MatTek Corporation, e armazenados no congelador a -20°C até o uso. Para testar quanto à redução de artigo de teste residual, tecidos mortos foram tratados com o artigo de teste da forma normal. Todos os procedimentos do ensaio foram realizados da mesma forma que para o tecido viável. Pelo menos um controle morto tratado com água deionizada estéril (controle morto negativo) foi testado em paralelo, na medida em que é esperada uma pequena quantidade de redução de MTT pelo NADH residual e enzimas associadas dentro do tecido morto.

[1193]Se pouca ou nenhuma redução de MTT fosse observada no controle morto tratado com artigo de teste, a redução de MTT observada no tecido viável tratado com artigo de teste pode estar relacionada às células viáveis. Caso houvesse redução de MTT apreciável no controle morto tratado (em relação à quantidade no tecido viável tratado), etapas adicionais devem ser levadas em conta para a redução química ou o artigo de teste pode ser considerado instável nesse sistema.

*Análise de dados*

[1194]O valor médio da $OD_{550}$ dos poços em branco foi calculado. O valor médio corrigido da $OD_{550}$ do controle (ou controles) negativo(s)/de solvente foi determinado por

subtração do valor médio da $OD_{550}$ dos poços em branco de seus valores médios da $OD_{550}$. Os valores corrigidos da $OD_{550}$ das exposições individuais ao artigo de teste e das exposições ao controle positivo foram determinados por subtração de cada um dos valores médios da $OD_{550}$ para os poços em branco. Todos os cálculos foram realizados usando uma planilha Excel. Embora os algoritmos discutidos sejam utilizados para calcular a análise final do ponto final no nível do grupo de tratamento, os mesmos cálculos podem ser aplicados às réplicas individuais.

*$OD_{550}$ corrigida da exposição ao artigo de teste = $OD_{550}$ da exposição ao artigo de teste - $OD_{550}$ média do branco*

[1195]Caso tenham sido usados controles mortos (KC), os seguintes cálculos adicionais eram realizados para corrigir para a quantidade de MTT reduzida diretamente por resíduos do artigo de teste. O valor bruto da $OD_{550}$ para o controle morto do controle negativo foi subtraído dos valores brutos da $OD_{550}$ para cada um dos controles mortos tratados com artigo de teste, para determinar os valores líquidos da $OD_{550}$ dos controles mortos tratados com artigo de teste.

*$OD_{550}$ líquida para cada artigo de teste e KC = $OD_{550}$ bruta do KC do artigo de teste - $OD_{550}$ bruta do controle negativo/de solvente KC*

[1196]Os valores líquidos da $OD_{550}$ representam a quantidade de MTT reduzido em conseqüência da redução direta por resíduos do artigo de teste em tempos de exposição específicos. Em geral, se o valor líquido da $OD_{550}$ é maior do que 0,150, a quantidade líquida de redução de MTT será subtraída dos valores corrigidos da $OD_{550}$ dos tecidos viáveis tratados para obter um valor corrigido final da $OD_{550}$. Esses

valores corrigidos finais da $OD_{550}$ serão então usados para determinar o % de Viabilidades de controle.

*$OD_{550}$ final corrigida = $OD_{550}$ corrigida do artigo de teste (viável) - $OD_{550}$ líquida do artigo de teste (KC)*

[1197]Finalmente, os seguintes % de Cálculos de controle serão feitos:

% de Viabilidade = [($OD_{550}$ final corrigida do Artigo de teste ou Controle positivo) / ($OD_{550}$ média corrigida do Controle (ou controles) Negativo/de Solvente)] x 100

[1198]Análise de Melanina: Os dados brutos de absorbância foram capturados, salvos como um arquivo para impressão e importados para uma planilha Excel. O valor da $OD_{490}$ de cada amostra de teste (que representa a melanina extraída de tecidos MelanoDerm™ não tratados no Dia 0, tecidos MelanoDerm™ tratados com cada artigo de teste, controles negativos/de solvente ou positivos no Dia 7) e dos padrões de melanina, foi determinado. O valor corrigido da $OD_{490}$ para as amostras de teste e para cada padrão de melanina foi determinado por subtração do valor médio da $OD_{490}$ dos poços em branco. A curva-padrão foi plotada como a concentração dos padrões em mg/ml (eixo-y) versus a absorbância corrigida correspondente. A quantidade de melanina em cada tecido individual foi interpolada a partir da curva-padrão (linear). Finalmente, a média de concentração de melanina para cada artigo de teste ou grupos de tratamento de controle, respectivamente, foi calculada.

*Resultados*

[1199]A Fig. 131 resume os resultados da viabilidade tecidual e concentração de melanina médias para os artigos de teste, composições de teste, controle positivo e controle

de solvente. Os compostos que compreendem composições #1 e #2 demonstraram efeitos sinérgicos quando combinados em uma única composição.

[1200]A Fig. 132 resume os resultados da viabilidade tecidual e concentração de melanina médias para os artigos de teste, composições de teste, controle positivo e controle de solvente. Os compostos que compreendem composições #2, #3, #4 e #5 demonstraram efeitos sinérgicos quando combinados em uma única composição.

**Exemplo 34**

**Potencial de melanogênese de composições que contêm compostos derivados de *Malassezia* e/ou análogos químicos destes**

[1201]O objetivo desse estudo é observar e relatar melanogênese e viabilidade de melanócitos B16 expostos às composições que contêm compostos derivados de *Malassezia* e/ou análogos químicos destes.

*Materiais e reagentes*

[1202]Os meios de plaqueamento incluirão DMEM sem L-glutamina, FBS, penicilina / estreptomicina e L-glutamina. Os meios de ensaio incluirão DMEM sem vermelho fenol e L-glutamina, FBS, penicilina / estreptomicina, L-glutamina e aMSH. Outros reagentes incluirão ácido kójico, DMSO, e MTT. As células testadas serão células B16 (ATCC CRL-6475).

*Protocolo*

[1203]Melanócitos B16 são cultivados até 70% confluentes e colhidos. As células são semeadas em placas de 96 poços em uma densidade de 4000 células/poço e foi permitido que aderissem de um dia para o outro. No dia seguinte, artigos de teste, composições de teste e controles são diluídos em

Meio de Ensaio de B16. O meio de um dia para o outro é aspirado e 200 µl de artigos de teste e controles são aplicados. As células são incubadas a 37°C e $CO_2$ 10% por 72 horas. Após incubação de 72 horas, a absorbância é lida a 540 nm. Meio é removido e substituído com 100 µl de meio de plaqueamento contendo 1 mg/ml de MTT e incubado por 2 horas a 37°C e $CO_2$ 10%. Meio de MTT é removido e substituído com 200 µl de Etanol 95% / Isopropanol 5% e é agitado por 15 minutos. A absorbância de MTT é então lida a 570 nm.

*Resultados*

[1204]Espera-se que os compostos e composições da presente invenção, incluindo Composições #1-5, inibirão a melanogênese. Espera-se que as composições da presente invenção exibam, por exemplo, atividade de inibição da melanogênese mais potente comparadas com pelo menos um componente composto. Da mesma forma, espera-se que certas composições demonstrem, por exemplo, atividade de inibição da melanogênese menos eficaz comparadas com pelo menos um componente composto.

**Exemplo 35**

**Eficácia *in vitro***

[1205]Espera-se que os compostos e composições da presente invenção induzirão apoptose de melanócitos e modularão a atividade de melanócitos, produção de melanina, concentração de melanina, biogênese de melanossoma e/ou transferência de melanossoma. Também é contemplado que alguns dos compostos e composições da presente invenção afetarão esses processos biológicos de forma menos potente. Esses compostos e composições podem ter perfis de toxicidade mais favoráveis comparados com espécies mais potentes.

## Exemplo 36

## Eficácia *in vivo*

[1206]Espera-se que os compostos e composições da presente invenção modularão a pigmentação da pele, incluindo clareamento da pele, e melhora da hiperpigmentação/hipopigmentação causada por vários distúrbios. Espera-se ainda que os compostos e composições da presente invenção exibirão perfis farmacocinéticos favoráveis em termos de, por exemplo, meia-vida e absorção. Certos compostos exibirão uma meia-vida mais longa, enquanto outros exibirão uma meia-vida mais curta. Similarmente, certos compostos exibirão perfis de absorção diferentes, com alguns compostos levando mais tempo para serem totalmente absorvidos e outros levando menos tempo para serem totalmente absorvidos.

## Exemplo 37

## Síntese de análogos químicos de Malassezina e Indirrubina

*Síntese de AB17590*

[1207]Como mostrado na Fig. 133A, a uma solução de composto **1a** (25,0 g, 0,357 mol, 1,0 equivalente) em tetrahidrofurano (250 ml) foi adicionado brometo de etinilmagnésio (0,5 M em THF, 1,07 litro, 0,535 mol, 1,5 equivalente) a 0°C e a mistura de reação foi aquecida até a temperatura ambiente e agitada por 2 h. A seguir, a mistura foi extinta com solução aquosa saturada de cloreto de amônio e extraída com acetato de etila. A camada orgânica foi seca sobre $Na_2SO_4$ anidro e concentrada sob pressão reduzida. O resíduo foi purificado por cromatografia em sílica gel (acetato de etila 0-10% em éter de petróleo) para gerar o composto **1b** (9,5 g, 27%). TLC: PE:EA = 20:1, 254 nm; $R_f$

(Composto **1a**) = 0,3; $R_f$ (Composto **1b**) = 0,7.

[1208]A uma mistura de composto **1b** (9,5 g, 98,96 mmol, 1,0 equivalente) em tetrahidrofurano (100 ml) foi adicionada uma solução de hidreto de sódio 60% (4,7 g, 0,119 mol, 1,2 equivalente) em dimetilformamida (50 ml) a 0°C sob atmosfera de nitrogênio. Após 30 minutos, sulfato de dimetila (22,4 g, 0,178 mol, 1,8 equivalente) foi adicionado a 0°C. Após a adição, foi permitido que a mistura de reação se aquecesse até a temperatura ambiente e ela foi agitada em temperatura ambiente por 30 min e depois ácido acético (1 ml) foi adicionado lentamente. O produto foi destilado diretamente da mistura de reação. Dessa forma, foi obtido o composto **1c** (10,0 g, 91% de rendimento).

[1209]A uma solução de composto **1** (8,0 g, 24,02 mmol, 1,0 equivalente) e composto **1c** (2,9 g, 26,43 mmol, 1,1 equivalente) em trietilamina (80 ml) foram adicionados iodeto cuproso (456 mg, 2,40 mmol, 0,1 equivalente) e $Pd(PPh_3)_2Cl_2$ (337 mg, 0,480 mmol, 0,02 equivalente) em temperatura ambiente sob atmosfera de nitrogênio. A mistura foi agitada em temperatura ambiente por 2 h. O progresso da mistura de reação foi monitorado por TLC. A mistura de reação foi diluída com água e extraída com acetato de etila. A camada orgânica foi seca sobre sulfato de sódio anidro e concentrada sob pressão reduzida. O resíduo foi purificado por cromatografia em sílica gel (acetato de etila 0-10% em éter de petróleo) para gerar o composto **2** (7,0 g, 92%). TLC: PE: EA = 10:1, 254 nm; $R_f$ (composto **1**) = 0,8; $R_f$ (composto **2**) = 0,6.

[1210]A um frasco seco no forno foi adicionada uma mistura de dicloreto de platina (694 mg, 2,06 mmol, 0,1

equivalente), carbonato de sódio (3,3 g, 30,95 mmol, 1,5 equivalente), tris (pentafluorfenil) fosfino (2,2 g, 4,13 mmol, 0,2 equivalente), 6-metil indol (4,8 g, 41,27 mmol, 2,0 equivalentes) e composto **2** (6,5 g, 20,63 mmol, 1,0 equivalente) em dioxano (650 ml). O frasco foi desgaseificado com nitrogênio, lacrado e aquecido até 100°C por 16 h. O progresso da mistura de reação foi monitorado por TLC. O solvente foi concentrado sob pressão reduzida. O resíduo foi diluído com acetato de etila e extraído com água, salmoura saturada. A camada orgânica foi seca sobre sulfato de sódio anidro e concentrada sob pressão reduzida. O resíduo foi purificado por cromatografia em sílica gel (acetato de etila 0-10% em éter de petróleo) para gerar o composto **3** (3,0 g, 36%). TLC: PE: EA = 10:1, 254 nm; $R_f$ (composto **2**) = 0,6; $R_f$ (composto **3**) = 0,2.

[1211]A uma solução de composto **3** (3,0 g, 7,50 mmol, 1,0 equivalente) em tetrahidrofurano (30 ml) foi adicionado metanolato de sódio (5 M em MeOH, 6,0 ml, 29,98 mmol, 4,0 equivalentes) a 0°C. Foi permitido que a mistura de reação se aquecesse até a temperatura ambiente e ela foi agitada por 2 h. O progresso da mistura de reação foi monitorado por TLC. A mistura de reação foi concentrada sob pressão reduzida. O resíduo foi purificado por cromatografia em sílica gel (acetato de etila 0-10% em éter de petróleo) para gerar o composto **4** (1,5 g, 66%). TLC: PE: EA = 5:1, 254 nm; $R_f$ (composto **3**) = 0,7; $R_f$ (composto **4**) = 0,4.

[1212]A um frasco de fundo redondo com três gargalos de 500 ml seco, sob argônio a 0°C, dimetilformamida (10 ml) foi adicionada. A seguir, oxicloreto de fósforo (1,2 g, 7,60 mmol, 1,2 equivalente) foi adicionado lentamente enquanto se

mantinha a temperatura interna abaixo de 5°C ao longo de 10 min. Após agitação a 0°C por 30 min, uma solução de composto **4** (1,9 g, 6,33 mmol, 1,0 equivalente) em dimetilformamida (20 ml) foi adicionada lentamente enquanto se mantinha a temperatura interna abaixo de 5°C ao longo de 10 min. A mistura resultante foi agitada em temperatura ambiente por 16 h. A seguir, a reação estava completa (monitorada por TLC usando acetato de etila 20% em hexanos), a mistura de reação foi derramada em bicarbonato de sódio aquoso saturado (50 ml) e agitada por 1 h. A mistura resultante foi extraída com acetato de etila (2 x 100 ml). As camadas orgânicas combinadas foram lavadas com água, salmoura saturada, e secas sobre sulfato de sódio. O solvente foi filtrado e concentrado sob pressão reduzida. O resíduo foi purificado por cromatografia em sílica gel (10-50% acetato de etila em éter de petróleo) para obter composto **5** (1,8 g, 89%). TLC: PE: EA = 1:1, 254 nm; $R_f$ (composto **4**) = 0,8; $R_f$ (composto **5**) = 0,5.

[1213]A uma solução de composto **5** (1,8 g, 5,49 mmol, 1,0 equivalente) em tetrahidrofurano (20 ml) foram adicionados dicarbonato de di-terc-butila (3,0 g, 13,72 mmol, 2,5 equivalentes) e 4-Dimetilaminopiridina (1,4 g, 11,25 mol, 2,05 equivalentes) a 0°C. A mistura de reação foi aquecida até a temperatura ambiente e agitada por 3 h. O progresso da mistura de reação foi monitorado por TLC. A mistura de reação foi concentrada sob pressão reduzida e o resíduo foi diluído com acetato de etila e lavado com 1 N ácido clorídrico, bicarbonato de sódio aquoso saturado (300 ml) e salmoura (300 ml). As camadas orgânicas foram separadas e secas sobre sulfato de sódio anidro, filtradas e concentradas. O resíduo foi purificado por cromatografia em sílica gel (acetato de

etila 0-10% em éter de petróleo) para obter composto **6** (2,4 g, 82%). TLC: PE: EA = 10:1, 254 nm; $R_f$ (composto **5**) = 0,1; $R_f$ (composto **6**) = 0,5.

[1214]A uma solução de composto **6** (2,4 g, 4,55 mmol, 1,0 equivalente) em terc-Butanol (60 ml) foi adicionado 2-metil-2-buteno (30 ml), seguido por adição de cloreto de sódio (8,2 g, 90,91 mmol, 20,0 equivalentes), fosfato de sódio monobásico (14,2 g, 90,91 mmol, 20,0 equivalentes) e água (60 ml) a 0°C. A mistura foi aquecida lentamente até a temperatura ambiente e agitada em temperatura ambiente por 15 h. O progresso da mistura de reação foi monitorado por TLC. A mistura de reação foi diluída com diclorometano (100 ml) e separada. A camada orgânica foi lavada com água (80 ml), salmoura (80 ml), seca sobre sulfato de sódio anidro e concentrada sob pressão reduzida para obter composto bruto **7** (2,5 g, 99%). TLC: PE: EA=2:1, 254 nm; $R_f$ (composto **6**) = 0,7; $R_f$ (composto **7**) = 0,3.

[1215]A uma solução de composto **7** (2,5 g, 4,60 mmol, 1,0 equivalente) em dimetilformamida (30 ml) foram adicionados carbonato de potássio (952 mg, 6,89 mmol, 1,5 equivalente) e iodeto de metila (978 mg, 6,89 mmol, 1,5 equivalente) a 0°C. A mistura de reação foi aquecida até a temperatura ambiente e agitada por 2 h. O progresso da mistura de reação foi monitorado por TLC. A mistura de reação foi diluída com acetato de etila (100 ml) e lavada com água (100 ml) e salmoura (100 ml). A camada orgânica foi seca sobre sulfato de sódio anidro e concentrada sob pressão reduzida. O resíduo foi purificado por cromatografia em sílica gel (acetato de etila 5-17% em éter de petróleo) para obter composto **8** (2,3 g, 89%). TLC: PE: EA = 5:1, 254 nm; $R_f$ (composto **7**) = 0,1;

$R_f$ (composto **8**) = 0,6.

[1216]A mistura de composto **8** (1,3 g, 2,33 mmol, 1,0 equivalente) em ácido clorídrico (3 M in EA, 30 ml) foi agitada em temperatura ambiente por 16 h. A reação foi monitorada por TLC. A seguir, a mistura foi concentrada sob pressão reduzida. O resíduo foi purificado por cromatografia em sílica gel (acetato de etila 10-25% em éter de petróleo) para gerar o composto **AB17590** (502 mg, 61%) como um sólido amarelo. TLC: PE: EA = 3:1, 254 nm; $R_f$ (composto **8**) = 0,8; $R_f$ (composto **AB17590**) = 0,5; LC-MS: 359 $(M+1)^+$; $^1$H-RMN (400 MHz, $CDCl_3$) δ 8,12 (d, *J* = 19,7 Hz, 2H), 7,94 (s, 1H), 7,42 (s, 1H), 7,35 (d, *J* = 8,1 Hz, 1H), 7,13 (t, *J* = 7,8 Hz, 1H), 7,04 (d, *J* = 8,2 Hz, 1H), 6,93 (dd, *J* = 15,7, 8,6 Hz, 2H), 5,04 (d, *J* = 9,1 Hz, 1H), 3,95 (s, 3H), 2,45 (s, 3H), 1,42 (d, *J* = 8,4 Hz, 1H), 0,78 - 0,68 (m, 1H), 0,62 (d, *J* = 4,8 Hz, 1H), 0,54 - 0,41 (m, 2H).

*Síntese de AB17653*

[1217]Como mostrado na Fig. 133B, uma mistura de composto **1** (721 mg, 3,20 mmol, 1,0 equivalente), composto **1a** (560 mg, 3,20 mmol, 1,0 equivalente) e carbonato de sódio (866 mg, 8,17 mmol, 2,55 equivalentes) em metanol (10 ml) foi agitada em temperatura ambiente por 3 h sob atmosfera de nitrogênio. O progresso da mistura de reação foi monitorado por TLC. Após o término da reação, a mistura foi filtrada e a torta do filtro foi lavada com metanol e água para gerar o composto **AB17653** (979 mg, 89%) como um sólido vermelho. TLC: PE/EA = 3/1, 254 nm; $R_f$ (Composto **1**) = 0,6; $R_f$ (Composto **AB17653**) = 0,4; LC-MS: 338,95 $(M-1)^-$; $^1$H-RMN (400 MHz, d6-DMSO) δ 11,01 (d, *J* = 21,5 Hz, 2H), 8,64 (d, *J* = 8,3 Hz, 1H), 7,62 (d, *J* = 7,7 Hz, 1H), 7,55 (t, *J* = 7,6 Hz, 1H), 7,39 (d, *J* = 8,1

Hz, 1H), 7,18 (d, *J* = 8,4 Hz, 1H), 7,00 (dd, *J* = 8,8, 4,6 Hz, 2H).

*Síntese de AB17654*

[1218]Como mostrado na Fig. 133B, uma mistura de composto **AB17653** (979 mg, 2,88 mmol, 1,0 equivalente) e cloridrato de hidroxilamina (520 mg, 7,49 mmol, 2,6 equivalentes) em piridina (30 ml) foi agitada a 120°C por 2 h sob atmosfera de nitrogênio. O progresso da mistura de reação foi monitorado por LCMS. Após o término da reação, a mistura foi concentrada sob pressão reduzida e adicionado 1 N HCl até que o sólido aparecesse. A mistura foi filtrada e a torta do filtro foi dissolvida em 1 N NaOH. A seguir, 3 N HCl foi adicionado para ajustar o pH = 5 e filtrado. A torta do filtro foi lavada com 1 N HCl para gerar o composto **AB17654** (500 mg, 48%) como um sólido vermelho. LC-MS: 357,95 $(M+1)^+$; $^1$H-RMN (400 MHz, d6-DMSO) δ 13,59 (s, 1H), 11,71 (s, 1H), 10,82 (s, 1H), 8,53 (d, *J* = 8,4 Hz, 1H), 8,19 (d, *J* = 7,7 Hz, 1H), 7,42 - 7,35 (m, 2H), 7,11 - 6,96 (m, 3H).

*Síntese de AB17655*

[1219]Como mostrado na Fig. 133B, uma mistura de composto **2** (637 mg, 3,86 mmol, 1,0 equivalente), composto **1a** (676 mg, 3,86 mmol, 1,0 equivalente) e carbonato de sódio (1.044 mg, 9,84 mmol, 2,55 equivalentes) em metanol (10 ml) foi agitada em temperatura ambiente por 3 h sob atmosfera de nitrogênio. O progresso da mistura de reação foi monitorado por TLC. Após o término da reação, a mistura foi filtrada e a torta do filtro foi lavada com metanol e água para gerar o composto **AB17655** (1.027 mg, 95%) como um sólido vermelho. LC-MS: 281,05 $(M+1)^+$; $^1$H-RMN (400 MHz, d6-DMSO) δ 11,06 (s, 1H), 10,86 (s, 1H), 8,54 (dd, *J* = 10,5, 2,7 Hz, 1H), 7,67 - 7,53

(m, 2H), 7,41 - 7,38 (m, 1H), 7,09 - 6,98 (m, 2H), 6,85 (dd, *J* = 8,5, 4,8 Hz, 1H).

*Síntese de AB17656*

[1220]Como mostrado na Fig. 133B, uma mistura de composto **AB17655** (1.027 mg, 3,67 mmol, 1,0 equivalente) e cloridrato de hidroxilamina (663 mg, 9,54 mmol, 2,6 equivalentes) em piridina (30 ml) foi agitada a 110°C por 2 h sob atmosfera de nitrogênio. O progresso da mistura de reação foi monitorado por LCMS. Após o término da reação, a mistura foi concentrada sob pressão reduzida e adicionado 1 N HCl até que o sólido aparecesse. A mistura foi filtrada e a torta do filtro foi dissolvida em 1 N NaOH. A seguir, 3 N HCl foi adicionado para ajustar o pH = 5 e filtrado. A torta do filtro foi lavada com 1 N HCl para gerar o composto **AB17656** (500 mg, 48%) como um sólido vermelho. LC-MS: 296,00 $(M+1)^+$; $^1$H-RMN (400 MHz, d6-DMSO) $\delta$ 13,60 (s, 1H), 11,77 (s, 1H), 10,69 (s, 1H), 8,43 (s, 1H), 8,20 (d, *J* = 7,7 Hz, 1H), 7,39 (d, *J* = 5,7 Hz, 2H), 7,02 (s, 1H), 6,91 (s, 1H), 6,83 (d, *J* = 4,9 Hz, 1H).

*Síntese de AB17657*

[1221]Como mostrado na Fig. 133B, uma mistura de composto **3** (362 mg, 2,46 mmol, 1,0 equivalente), composto **1a** (431 mg, 2,46 mmol, 1,0 equivalente) e carbonato de sódio (666 mg, 6,28 mmol, 2,55 equivalentes) em metanol (10 ml) foi agitada em temperatura ambiente por 3 h sob atmosfera de nitrogênio. O progresso da mistura de reação foi monitorado por TLC. Após o término da reação, a mistura foi filtrada e a torta do filtro foi lavada com metanol e água para gerar o composto **4** (606 mg, 93%). TLC: PE/EA = 1/1, 254 nm; $R_f$ (Composto **3**) = 0,7; $R_f$ (Composto **4**) = 0,5.

[1222]Uma mistura de composto **4** (606 mg, 2,31 mmol, 1,0 equivalente) e cloridrato de hidroxilamina (418 mg, 6,01 mmol, 2,6 equivalentes) em piridina (20 ml) foi agitada a 120°C por 2 h sob atmosfera de nitrogênio. O progresso da mistura de reação foi monitorado por TLC. Após o término da reação, a mistura foi concentrada sob pressão reduzida e adicionado 1 N HCl até que o sólido aparecesse. A mistura foi filtrada e a torta do filtro foi dissolvida em 1 N NaOH. A seguir, 3 N HCl foi adicionado para ajustar o pH = 5 e filtrado. A torta do filtro foi lavada com 1 N HCl para gerar o composto **AB17657** (500 mg, 78%) como um sólido marrom. TLC: PE/EA = 1/1, 254 nm; $R_f$ (Composto **4**) = 0,5; $R_f$ (Composto **AB17657**) = 0,4; LC-MS: 278,10 $(M+1)^+$; $^1$H-RMN (400 MHz, d6-DMSO) $\delta$ 13,60 (s, 1H), 11,77 (s, 1H), 10,69 (s, 1H), 8,43 (s, 1H), 8,20 (d, *J* = 7,7 Hz, 1H), 7,39 (d, *J* = 5,7 Hz, 2H), 7,02 (s, 1H), 6,91 (s, 1H), 6,83 (d, *J* = 4,9 Hz, 1H).

*Síntese de AB17658*

[1223]Como mostrado na Fig. 133B, uma mistura de composto **5a** (337 mg, 1,73 mmol, 1,0 equivalente), composto **5b** (554 mg, 1,73 mmol, 1,0 equivalente) e hidróxido de potássio (1.114 mg, 3,46 mmol, 2,0 equivalentes) em acetonitrila (10 ml) foi agitada a 35°C por 1,5 h sob atmosfera de nitrogênio. O progresso da mistura de reação foi monitorado por TLC. Após o término da reação, a mistura foi concentrada sob pressão reduzida e o resíduo foi purificado por cromatografia em sílica gel para gerar o composto **5c** (436 mg, 99%). TLC: PE/EA = 1/1, 254 nm; $R_f$ (Composto **5a**) = 0,8; $R_f$ (Composto **5c**) = 0,5.

[1224]Uma mistura de composto **5** (330 mg, 1,72 mmol, 1,0 equivalente), composto **5c** (436 mg, 1,72 mmol, 1,0

equivalente) e carbonato de sódio (465 mg, 4,38 mmol, 2,55 equivalentes) em metanol (10 ml) foi agitada em temperatura ambiente por 3 h sob atmosfera de nitrogênio. O progresso da mistura de reação foi monitorado por TLC. Após o término da reação, a mistura foi filtrada e a torta do filtro foi lavada com metanol e água para gerar o composto **6** (617 mg, 93%). TLC: PE/EA = 1/1, 254 nm; $R_f$ (Composto **5**) = 0,5; $R_f$ (Composto **6**) = 0,4.

[1225]Uma mistura de composto **6** (617 mg, 1,60 mmol, 1,0 equivalente) e cloridrato de hidroxilamina (290 mg, 4,17 mmol, 2,6 equivalentes) em piridina (20 ml) foi agitada a 110°C por 2 h sob atmosfera de nitrogênio. O progresso da mistura de reação foi monitorado por TLC. Após o término da reação, a mistura foi concentrada sob pressão reduzida e adicionado 1 N HCl até que o sólido aparecesse. A mistura foi filtrada e a torta do filtro foi dissolvida em 1 N NaOH. A seguir, 3 N HCl foi adicionado para ajustar o pH = 5 e filtrado. A torta do filtro foi lavada com 1 N HCl para gerar o composto **AB17658** (500 mg, 78%) como um sólido vermelho. TLC: PE/EA = 1/1, 254 nm; $R_f$ (Composto **6**) = 0,4; $R_f$ (Composto **AB17658**) = 0,3; LC-MS: 402,95 $(M+1)^+$; $^1$H-RMN (400 MHz, d6-DMSO) $\delta$ 11,86 (s, 1H), 11,39 (s, 1H), 9,40 (d, *J* = 2,2 Hz, 1H), 8,33 (d, *J* = 1,8 Hz, 1H), 8,06 (dd, *J* = 8,6, 2,4 Hz, 1H), 7,59 (dd, *J* = 8,4, 2,0 Hz, 1H), 7,43 (d, *J* = 8,6 Hz, 1H), 7,02 (d, *J* = 8,6 Hz, 1H).

## Exemplo 38

## Avaliação *in vivo* das propriedades fotoprotetoras de Malassezina, outros compostos derivados de *Malassezia* e análogos químicos destes

*Formulação de malassezina 1%*

[1226]A formulação de Malassezina 1% usada nesse estudo continha os seguintes ingredientes: Água (Aqua) – 65,939%; Dimetil isossorbida – 20,000%; Ésteres de Glycereth-8 de azeite de oliva – 3,000%; Glicerina – 2,991%; Alcanos de coco – 2,700%; Copolímero de acrilato de hidroxietila / Acriloildimetil taurato de sódio – 1,700%; Malassezina – 1,000%; Pentileno glicol - 1,000%; Fenoxietanol - 0,640%; Coco-Caprilato / Caprato - 0,300%; Caprilil glicol - 0,200%; Clorfenesina - 0,160%; Isoestearato de sorbitano - 0,140%; Tocoferol - 0,100%; Polissorbato 60 - 0,080%; e EDTA dissódico - 0,050%.

*Design experimental*

[1227]Uma mulher com 39 anos de idade com Tipo de Pele IV foi incluída nesse estudo de Prova de Conceito.

[1228]No Dia 1 do experimento, o indivíduo foi avaliado para determinar a Dosagem de Eritema Mínima (“MED”) usando um dispositivo UVB Dualight direcionado de banda ampla. Um modelo de 6 quadrados foi colocado na parte inferior das costas (1,5 cm x 1,5 cm) do indivíduo de teste. Veja a Fig. 134.

[1229]As doses do teste de foto de MED para o tipo de pele do indivíduo estão listadas na Fig. 135 em unidades de $mJ/cm^2$. Vinte e quatro horas após irradiação, o indivíduo retornou para avaliação da MED. Como mostrado na Fig. 139, a MED do indivíduo foi de 120 mJ.

[1230]Subseqüentemente, o indivíduo aplicou Malassezina 1% no quadrado de teste superior do lado direito das costas duas vezes por dia por 7 dias. Um segundo quadrado inferior direito foi tratado duas vezes por dia desde o dia 4 ao dia 7, e um terceiro quadrado medial por uma aplicação no dia 7.

O veículo do produto foi aplicado por 7 dias duas vezes por dia na parte esquerda das costas. Veja a Fig. 140. O indivíduo retornou ao centro de pesquisas par irradiação no dia 7. Veja a Fig. 136. Cada local de teste foi irradiado com 120 mJ de exposição UVB. O indivíduo retornou in 24 horas para avaliação de fototoxicidade / fotoproteção. Veja a Fig. 141.

[1231]O indivíduo continuou o experimento, recebendo Malassezina 1% por um total de 14 dias. As Figs. 142-143 mostram regiões da pele do indivíduo expostas aos seguintes tratamentos: no local 14, Malassezina 1% foi aplicada duas vezes ao dia por 14 dias; no local 10, Malassezina 1% foi aplicada duas vezes ao dia por 11 dias; no local 8, Malassezina 1% foi aplicada duas vezes ao dia por 8 dias; no local 3, Malassezina 1% foi aplicada duas vezes ao dia por 3 dias; no local 1, Malassezina 1% foi aplicada uma vez; e, nos locais de veículo, veículo foi aplicado duas vezes ao dia por 7 e 9 dias, respectivamente.

*Resultados*

[1232]Como mostrado na Fig. 141, 24 horas após exposição ao UVB, o indivíduo exibiu 1 cruz a 2 cruzes de eritema no local de teste de veículo. Veja a Fig. 138 para a escala de eritema. Em contraste, houve menos eritema (leve) observado no local de tratamento de 7 dias com Malassezina 1%. A avaliação dos locais tratados por 3 dias mostrou eritema mínimo e ausente para o local de aplicação por 1 dia. Foram feitas medições de colorimetria de cada local usando o Mexameter MX16 que deram suporte às observações clínicas. As leituras máximas de eritema foram observadas no local de veículo, seguido pelo local tratado por 7 dias com

Malassezina. Os menores valores foram observados para o local do dia 3 e dia 1 de Malassezina, respectivamente. Veja a Fig. 136.

[1233]O indivíduo continuou o experimento e retornou para uma irradiação UVB repetida em 14 dias com interpretação no dia 15. Veja a Fig. 142. A avaliação clínica no dia 15 revelou eritema moderado no local de veículo para o dia 7 e significantemente menos no dia 9. Veja a Fig. 143. Menos eritema (leve) foi observado nos locais tratados com Malassezina 1%, incluindo os locais do dia 14, dia 10 e dia 8. Eritema mínimo foi observado em locais de Malassezina 1% para os dias 1 e dia 3. Foram feitas leituras de colorimetria de cada local para medir eritema e o índice de melanina. Os resultados deram suporte às observações clínicas de menos eritema nos locais tratados com Malassezina 1%. Veja a Fig. 137.

[1234]Foram retiradas biópsias do local de veículo em 9 dias e nos locais tratados com Malassezina 1% para os dias 1 e 3. As amostras foram analisadas por Hematoxilina e Eosina, coloração com Fontana Masson e MART I para quantificação de melanócitos e estudos por Affymetrix.

[1235]Diagnóstico: (A) Pele - Dia 1 Tratada (Malassezina 1%): Estrato córneo em “basket weave”, melanócitos parecem normais (confirmado por coloração de imunoperoxidase com Mart-1), e melanina epidérmica (confirmado por coloração de imunoperoxidase com Fontana Masson).

[1236]Diagnóstico: (B) Pele - Dia 3 Tratada (Malassezina 1%): Estrato córneo em “basket weave”, menos melanócitos dendríticos (confirmado por coloração de imunoperoxidase com MART-1/Melan A) quando comparado com C e D, e com uma ligeira

diminuição na melanina epidérmica, como áreas saltadas (confirmado por coloração de imunoperoxidase com Fontana Masson).

[1237]Diagnóstico: (C) Pele - Veículo: Melanócitos epidérmicos parecem normais (confirmado por coloração de imunoperoxidase com Mart-1) e melanina epidérmica (confirmado por coloração de imunoperoxidase com Fontana Masson).

[1238]Diagnóstico: (D) Pele - Normal: Melanócitos epidérmicos parecem normais (confirmado por coloração de imunoperoxidase com Mart-1) e melanina epidérmica (confirmado por coloração de imunoperoxidase com Fontana Masson).

*Conclusões*

[1239]Os resultados desse estudo de Prova de Conceito demonstram as propriedades protetoras contra UV de Malassezina.

[1240]É previsto que estudos adicionais envolvendo pacientes adicionais demonstrarão propriedades protetoras contra UV equivalentes ou mais eficazes de Malassezina. Também é previsto que estudos adicionais elucidarão as vias de sinalização molecular associadas à fotoproteção induzida por Malassezina.

**Documentos**

[1241]Berridge, M.V., Tan, A.S., McCoy, K.D., Wang, R. “ Biochemical and Cellular Basis of Cell Proliferation Assays That Use Tetrazolium Salts”. *Biochemica* 4: 14-19 (1996).

[1242]Black, *e cols*. “Athymic Nude Mice and Human Skin Grafting”. Em: Maibach, *e cols.* (eds.). “Models in Dermatology Vol. 1”. Karger, Basel, 1985, 228-39.

[1243]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).

[1244]Donato, *e cols*. “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.

[1245]Elmore. “Apoptosis: A Review of Programmed Cell Death. Toxicologic Pathology” 2007; 35: 495-516.

[1246]Fitzpatrick, *e cols.* “ Validity and Practicality of Sun-Reactive Skin Types I Through VI”. *Arch. Dermatol*. 1988; 124 (6): 869-871.

[1247]Gaitanis, *e cols*. “Skin Diseases Associated With Malassezia Yeasts: Facts and Controversies”. *Clinics in Dermatology* 2013; 31: 455-463.

[1248]Gambichler, *e cols*. “Quantification of Ultraviolet Protective Effects of Pityriacitrin in Humans”. *Archives of Dermatological Research* 2007; 299 (10): 517-520.

[1249]Guého, *e cols*. “ Genus Malassezia With Description of Four New Species”. *Antonie Van Leeuwenhoek* 1996; 69: 337-55.

[1250]Karchner, *e cols*. “Identification and Functional Characterization of Two Highly Divergent Aryl Hydrocarbon Receptors (AHR1 and AHR2) in the Teleost Fundulus heteroclitus”. *Journal of Biological Chemistry* 1999; 274 (47): 33.814-24.

[1251]Krämer, *e cols*. Malassezin, “A Novel Analyst of the Aryl Hydrocarbon Receptor From Yeast Malassezia furfur, Induces Apoptosis in Primary Human Melanocytes”. *ChemBioChem*

2005; 6: 860-5.

[1252]Lee, *e cols*. “Comparison of Gene Expression Profiles Between Keratinocytes, Melanocytes and Fibroblasts”. *Ann. Dermatol*. 2013; 25 (1): 35-45.

[1253]Machowinski, *e cols*. “Pityriacitrin–A Potent UV filter Produced by Malassezia furfur and its Effect on Human Skin Microflora”. *Mycoses* 2006; 49 (5): 388-392.

[1254]Manning, *e cols*. “Maintenance of Skin Xenografts of Widely Divergent Phylogenetic Origin on Congenitally Athymic (Nude) Mice”. *J. Exp. Med.* 1973; 138: 488-94.

[1255]Mayser, *e cols*. “Pityriacitrin–An Ultraviolet-Absorbing Indole Alkaloid from the Yeast Malassezia furfur”. *Archives of Dermatological Research* 2002; 294 (3): 131-134.

[1256]Mayser, *e cols*. “Pityrialactone-A New fluorochrome from the Tryptophan Metabolism of Malassezia furfur”. *Antonie van Leeuwenhoek* 2003; 84 (3): 185-191.

[1257]Nazzaro-Porro, *e cols*. “Identification of Tyrosinase Inhibitors in Cultures of Pityrosporum”. *Journal of Investigative Dermatology* 1978; 71: 205-208.

[1258]Noakes. “ 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.

[1259]Otulakowski, *e cols*. “Use of a Human Skin-Grafted Nude Mouse Model for the Evaluation of Topical Retinoic Acid Treatment”. *J. Invest. Dermatol.* 1994; 102: 515-8.

[1260]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: 29.189. Doi:

10.1038/srep29189 (2016).

[1261]Plenat, *e cols*. “Host-Donor Interactions in Healing of Human Split-Thickness Skin Grafts Onto Nude Mice: In Situ Hybridization, Immunohistochemical and Histochemical Studies”. *Transplantation* 1992; 53: 1.002-10.

[1262]Reed, *e cols*. “Long-Term Maintenance of Normal Human Skin on Congenitally Athymic (Nude) Mice”. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 1973; 143: 350-3.

[1263]Scott, *e cols*. “ Permeability of Grafted Human Transplant Skin in Athymic Mice”. *J. Pharm. Pharmacol.* 1988; 40: 128-9.

[1264]Song, *e cols*. “A Ligand For Aryl Hydrocarbon Receptor Isolated From Lung”. *PNAS* 2002; 99 (23): 14.694-9.

[1265]Taylor, *e cols.* “ Taylor Hyperpigmentation Scale: a new visual assessment tool for the evaluation of skin color and pigmentation”. *Cutis*. Outubro de 2005; 76 (4): 270-4.

[1266]Wang, *e cols*. “Stress-Induced RNASET2 Overexpression Mediates Melanocyte Apoptosis Via TRAF2 Pathway In Vitro”. *Cell Death and Disease* 2014; 5:e1022.

[1267]Wasmeier, *e cols*. “Melanosomes At A Glance”. *Journal of Cell Science* 2008; 121: 3.995-3.999.

[1268]Wille, *e cols*. “Malassezin – A Novel Agonist of the Arylhydrocarbon Receptor From Yeast Malassezia furfur”. *Bioorganic & Medicinal Chemistry* 2001; 9: 955-60.

[1269]Winston-McPherson, *e cols*. “Synthesis and Biological Evaluation of 2,3′-diindolylmethanes as Agonists of Aryl Hydrocarbon Receptor”. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters* 2014; 24: 4.023-4.025.

[1270]Whyte, *e cols*. “Ethoxyresorufin-O-deethylase (EROD) Activity in Fish As A Biomarker of Chemical Exposure”.

*Critical Reviews in Toxicology* 2000; 30 (4): 347-570.

[1271]Yamaguchi, *e cols*. “Melanocytes and ir Diseases”. *Cold Spring Harb Perspect Med* 2014; 4:a017046.

[1272]Zonios, *e cols.* “Skin Melanin, Hemoglobin, and Light Scattering Properties can be Quantitatively Assessed In Vivo Using Diffuse Reflectance Spectroscopy”. *J. Invest. Dermatol*. 2001; 117: 1.452-1.457.

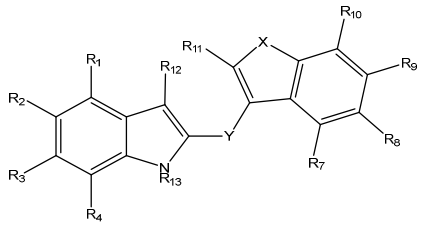
[1273]Zhang, *e cols*. “Environmental Adaptability for Quorum Sensing: Regulating Iron Uptake During Biofilm Formation in Paracoccus Denitrifications”. *Applied and Environmental Microbiology*, AEM. 00865-18 (2018).

[1274]Todos os documentos citados nesse pedido são aqui incorporados por referência como se citados em sua totalidade nesse relatório descritivo.

[1275]Embora tenham sido descritas nesse relatório descritivo modalidades ilustrativas da presente invenção, deve ser subentendido que a invenção não está limitada àquelas descritas, e que várias outras alterações ou modificações podem ser feitas por aqueles habilitados na técnica sem se afastar do escopo ou espírito da invenção.

**REIVINDICAÇÕES**

1. Composto caracterizado por possuir a estrutura da seguinte fórmula:




em que:

X é selecionado do grupo que consiste em $NR_{14}$ e O;

Y é uma ligação covalente, $CR_5R_6$, O ou $NR_{15}$;

$R_1$, $R_2$, $R_3$, $R_4$, $R_7$, $R_8$, $R_9$, $R_{10}$ e $R_{11}$ são selecionados independentemente do grupo que consiste em hidrogênio, halogênio, CN, hidroxil, $R_{16}$ ou $OR_{16}$;

$R_{13}$, $R_{14}$ e $R_{15}$ são independentemente hidrogênio ou $R_{16}$;

$R_5$ e $R_6$ são selecionados independentemente do grupo que consiste em hidrogênio, hidroxil, $OR_{16}$, $R_{16}$ e $C_{3-6}$ cicloalquil, ou $R_5$ e $R_6$ combinam para formar um grupo oxo (=O) ou um $C_{3-6}$ cicloalquil;

$R_{12}$ é selecionado do grupo que consiste em hidrogênio, $-COR^a$ e $R_{16}$;

cada $R_{16}$ é independentemente formil, $C_{1-9}$ alquil, $C_{2-9}$ alquenil ou $C_{2-9}$ alquinil; e,

$R^a$ é selecionado do grupo que consiste em hidrogênio, hidroxil e $OR_{16}$;

em que:

se $R^a$ é hidrogênio, Y é $CR_5R_6$ e $R_{13}$ e $R_{14}$ são, ambos, hidrogênio,

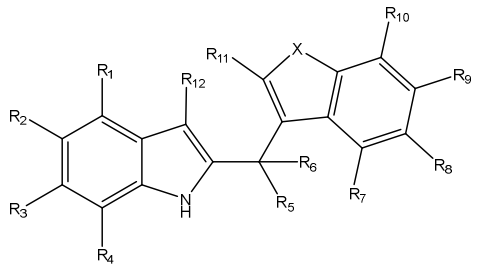
pelo menos um de $R_1$, $R_2$, $R_3$, $R_4$, $R_5$, $R_6$, $R_7$, $R_8$, $R_9$, $R_{10}$ e $R_{11}$ é $R_{16}$; ou,

$R_5$ é selecionado do grupo que consiste em hidroxil, $OR_{16}$,

$R_{16}$ e $C_{3-6}$ cicloalquil, ou $R_5$ e $R_6$ combinam para formar um grupo oxo (=O) ou um $C_{3-6}$ cicloalquil;

ou uma forma cristalina, hidrato ou sal cosmeticamente ou farmaceuticamente aceitável deste.

2. Composto, de acordo com a reivindicação 1, caracterizado por ter a seguinte estrutura:




(I)

ou uma forma cristalina, hidrato ou sal cosmeticamente ou farmaceuticamente aceitável deste.

3. Composto, de acordo com a reivindicação 1, caracterizado pelo fato de que:

Y é $CR_5R_6$;

$R_5$ é hidrogênio e $R_6$ é hidrogênio, $C_{1-4}$ alquil, $C_{3-6}$ cicloalquil ou O-($C_{1-4}$ alquil); ou $R_5$ e $R_6$ combinam para formar um grupo oxo (=O).

4. Composto, de acordo com a reivindicação 1, caracterizado pelo fato de que pelo menos um de $R_1$, $R_2$, $R_3$, $R_4$, $R_7$, $R_8$, $R_9$, $R_{10}$ e $R_{11}$ é $C_{1-4}$ alquil.

5. Composto, de acordo com a reivindicação 1, caracterizado pelo fato de que cada um de $R_1$, $R_2$, $R_3$, $R_4$, $R_7$, $R_8$, $R_9$, $R_{10}$ e $R_{11}$ é hidrogênio.

6. Composto, de acordo com a reivindicação 1, caracterizado pelo fato de que $R_{12}$ é -$COR^a$ ou $C_{1-4}$ hidroxialquil; e $R^a$ é hidrogênio ou $C_{1-4}$ alquil.

7. Composto, de acordo com a reivindicação 1,

caracterizado pelo fato de que:

X é NH;

Y é $CR_5R_6$;

cada um de $R_1$, $R_3$, $R_4$, $R_7$, $R_8$, $R_9$, $R_{10}$, $R_{11}$ e $R_{13}$ é hidrogênio;

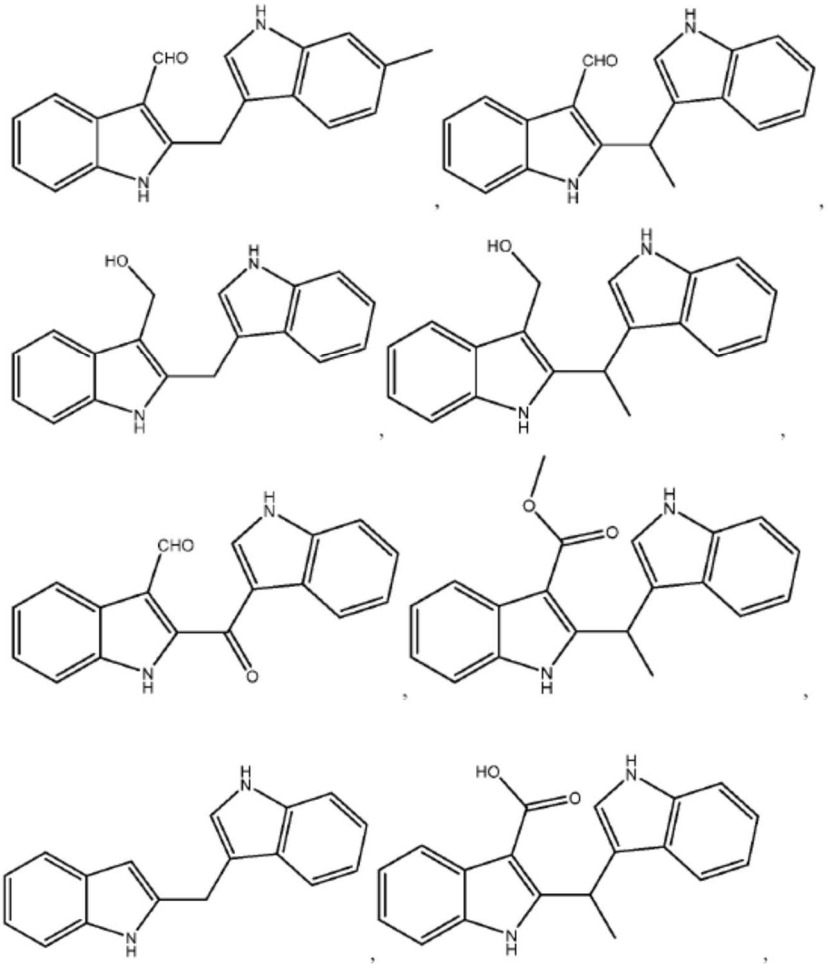
$R_2$ é hidrogênio ou $C_{1-4}$ alquil;

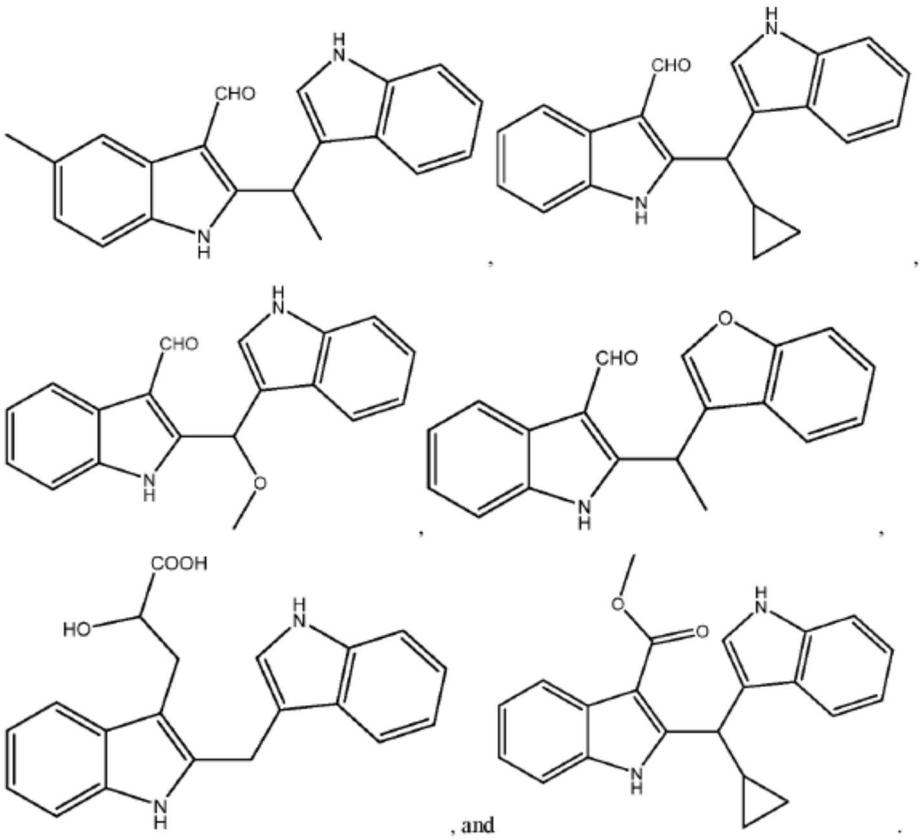
$R_5$ é hidrogênio e $R_6$ é hidrogênio, $C_{1-4}$ alquil, $C_{3-6}$ cicloalquil ou O-($C_{1-4}$ alquil); ou $R_5$ e $R_6$ combinam para formar um grupo oxo (=O);

$R_{12}$ é $-COR^a$ ou $C_{1-4}$ hidroxialquil; e

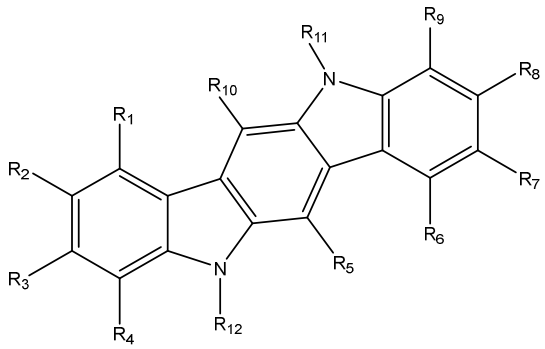
$R^a$ é hidrogênio ou $C_{1-4}$ alquil.

8. Composto, de acordo com a reivindicação 1, caracterizado pelo fato de que o composto é selecionado do grupo que consiste em:






9. Composto <u>caracterizado</u> por ter a seguinte estrutura:




em que:

$R_1$, $R_4$, $R_5$, $R_6$, $R_9$ e $R_{10}$ são selecionados independentemente do grupo que consiste em hidrogênio, hidroxil, halogênio, CN, $R_{13}$, $OR_{13}$, $OCOR_{13}$ e -CHO;

$R_2$ e $R_3$ são selecionados independentemente do grupo que consiste em hidrogênio, hidroxil, halogênio, CN, $R_{13}$, $OR_{13}$,

$OCOR_{13}$ e -CHO, ou $R_2$ e $R_3$ combinam para formar um heterociclil de 5 ou 6 membros;

$R_7$ e $R_8$ são selecionados independentemente do grupo que consiste em hidrogênio, hidroxil, halogênio, CN, $R_{13}$, $OR_{13}$, $OCOR_{13}$ e -CHO, ou $R_7$ e $R_8$ combinam para formar um heterociclil de 5 ou 6 membros;

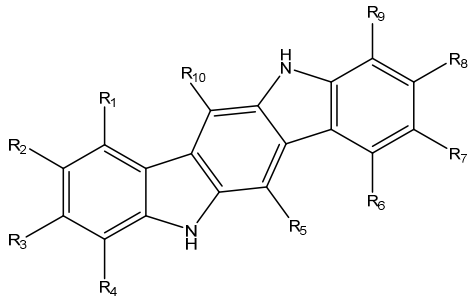
$R_{11}$ e $R_{12}$ são independentemente hidrogênio ou $R_{13}$;

cada $R_{13}$ é independentemente $C_{1-9}$ alquil, $C_{2-9}$ alquenil ou $C_{2-9}$ alquinil; e,

pelo menos um de $R_1$, $R_2$, $R_3$, $R_4$, $R_5$, $R_6$, $R_7$, $R_8$, $R_9$ e $R_{10}$ não é hidrogênio;

ou uma forma cristalina, hidrato ou sal cosmeticamente ou farmaceuticamente aceitável deste.

10. Composto, de acordo com a reivindicação 9, caracterizado por ter a estrutura de acordo com a fórmula (II),




(II)

ou uma forma cristalina, hidrato ou sal cosmeticamente ou farmaceuticamente aceitável deste.

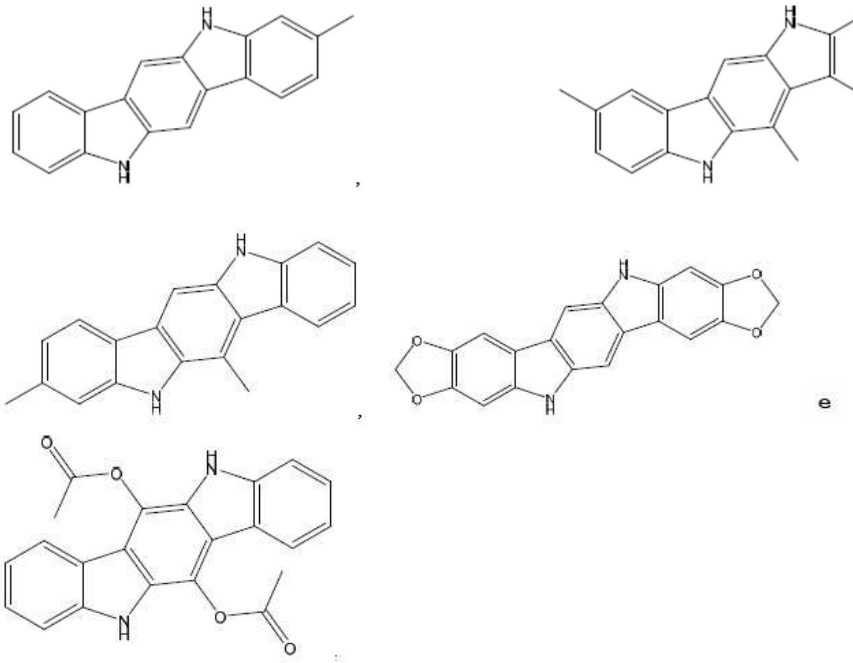
11. Composto, de acordo com a reivindicação 9, caracterizado pelo fato de que $R_1$, $R_2$, $R_3$, $R_4$, $R_5$, $R_6$, $R_7$, $R_8$, $R_9$ e $R_{10}$ são selecionados independentemente do grupo que consiste em hidrogênio e $C_{1-4}$ alquil.

12. Composto, de acordo com a reivindicação 9, caracterizado pelo fato de que:

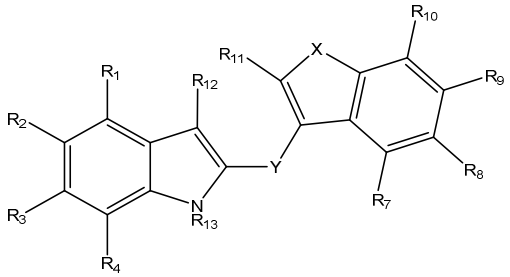
$R_{11}$ e $R_{12}$ são, cada um, hidrogênio; e

um, dois, três ou quatro de $R_1$, $R_2$, $R_3$, $R_4$, $R_5$, $R_6$, $R_7$, $R_8$, $R_9$ e $R_{10}$ são metil, e os grupos restantes são hidrogênio.

13. Composto, de acordo com a reivindicação 9, caracterizado pelo fato de que o composto é selecionado do grupo que consiste em:



14. Composição caracterizada por compreender um composto, o composto possuindo a estrutura da seguinte fórmula:




em que:

X é selecionado do grupo que consiste em $NR_{14}$ e O;

Y é uma ligação covalente, $CR_5R_6$, O ou $NR_{15}$;

$R_1$, $R_2$, $R_3$, $R_4$, $R_7$, $R_8$, $R_9$, $R_{10}$ e $R_{11}$ são selecionados

independentemente do grupo que consiste em hidrogênio, halogênio, CN, hidroxil, $R_{16}$ ou $OR_{16}$;

$R_{13}$, $R_{14}$ e $R_{15}$ são independentemente hidrogênio ou $R_{16}$;

$R_5$ e $R_6$ são selecionados independentemente do grupo que consiste em hidrogênio, hidroxil, $OR_{16}$, $R_{16}$ e $C_{3-6}$ cicloalquil, ou $R_5$ e $R_6$ combinam para formar um grupo oxo (=O) ou um $C_{3-6}$ cicloalquil;

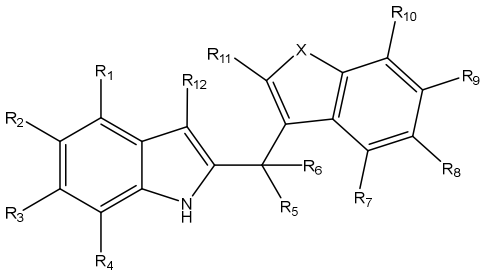
$R_{12}$ é selecionado do grupo que consiste em hidrogênio, $-COR^a$ e $R_{16}$;

cada $R_{16}$ é independentemente formil, $C_{1-9}$ alquil, $C_{2-9}$ alquenil ou $C_{2-9}$ alquinil; e,

$R^a$ é selecionado do grupo que consiste em hidrogênio, hidroxil e $OR_{16}$;

ou uma forma cristalina, hidrato ou sal cosmeticamente ou farmaceuticamente aceitável deste.

15. Composição, de acordo com a reivindicação 14, caracterizada por ter a seguinte estrutura:




(I)

ou uma forma cristalina, hidrato ou sal cosmeticamente ou farmaceuticamente aceitável desta.

16. Composição, de acordo com a reivindicação 14, caracterizada pelo fato de que:

Y é $CR_5R_6$;

$R_5$ é hidrogênio e $R_6$ é hidrogênio, $C_{1-4}$ alquil, $C_{3-6}$ cicloalquil ou O-($C_{1-4}$ alquil); ou $R_5$ e $R_6$ combinam para formar

um grupo oxo (=O).

17. Composição, de acordo com a reivindicação 14, caracterizada pelo fato de que pelo menos um de $R_1$, $R_2$, $R_3$, $R_4$, $R_7$, $R_8$, $R_9$, $R_{10}$ e $R_{11}$ é $C_{1-4}$ alquil.

18. Composição, de acordo com a reivindicação 14, caracterizada pelo fato de que cada um de $R_1$, $R_2$, $R_3$, $R_4$, $R_7$, $R_8$, $R_9$, $R_{10}$ e $R_{11}$ é hidrogênio.

19. Composição, de acordo com a reivindicação 14, caracterizada pelo fato de que $R_{12}$ é $-COR^a$ ou $C_{1-4}$ hidroxialquil; e $R^a$ é hidrogênio ou $C_{1-4}$ alquil.

20. Composição, de acordo com a reivindicação 14, caracterizada pelo fato de que:

X é NH;

Y é $CR_5R_6$;

cada um de $R_1$, $R_3$, $R_4$, $R_7$, $R_8$, $R_9$, $R_{10}$, $R_{11}$ e $R_{13}$ é hidrogênio;

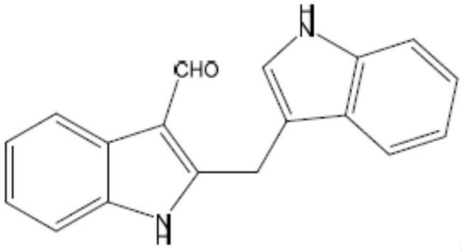
$R_2$ é hidrogênio ou $C_{1-4}$ alquil;

$R_5$ é hidrogênio e $R_6$ é hidrogênio, $C_{1-4}$ alquil, $C_{3-6}$ cicloalquil ou O-($C_{1-4}$ alquil); ou $R_5$ e $R_6$ combinam para formar um grupo oxo (=O);

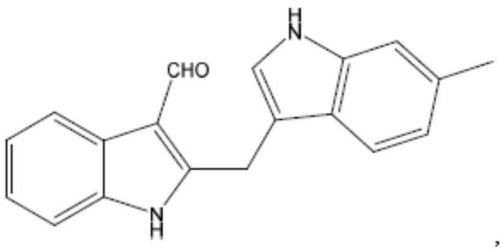
$R_{12}$ é $-COR^a$ ou $C_{1-4}$ hidroxialquil; e

$R^a$ é hidrogênio ou $C_{1-4}$ alquil.

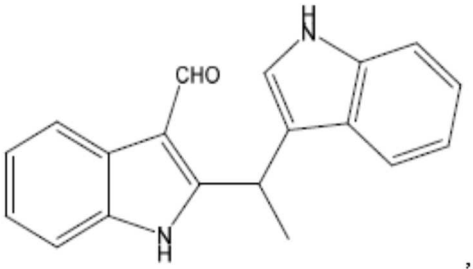
21. Composição, de acordo com a reivindicação 14, caracterizada pelo fato de que o composto é selecionado do grupo que consiste em:



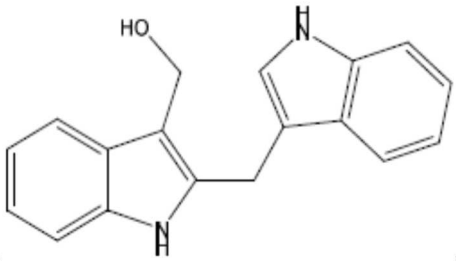

,



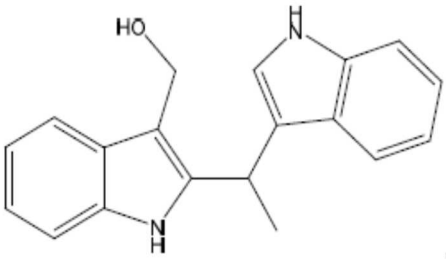

,


CHO
H
N
N
H

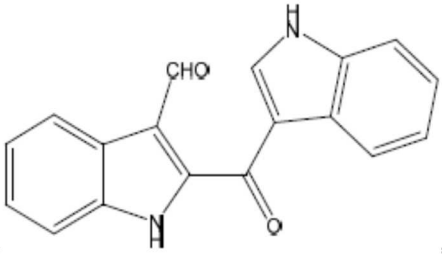
,


HO
H
N
N
H

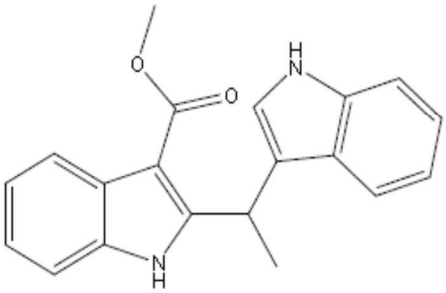
,


HO
H
N
N
H

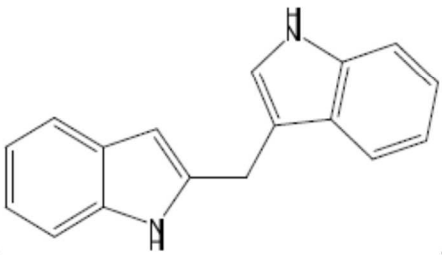
,


CHO
H
N
O
N
H

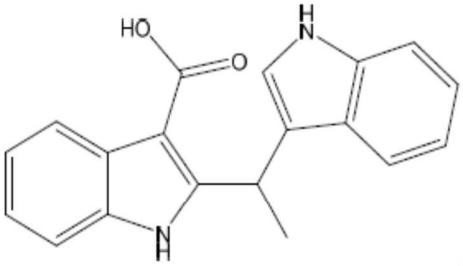
,


O
O
H
N
N
H

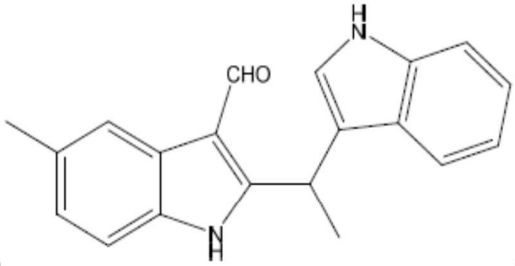
,


H
N
N
H

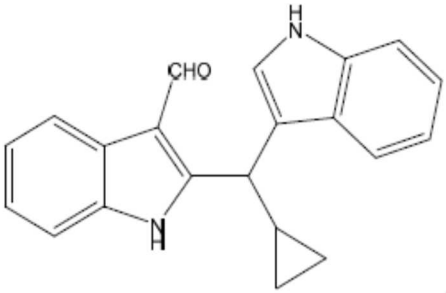
,


HO
O
H
N
N
H

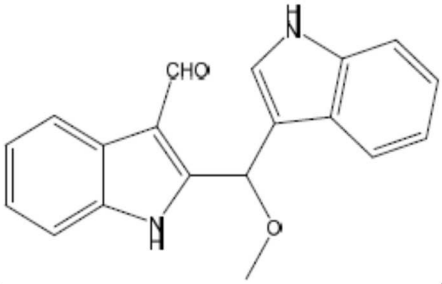
,


CHO
H
N
N
H

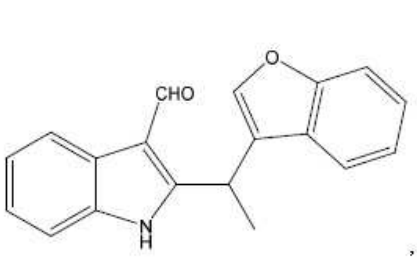
,


CHO
H
N
N
H

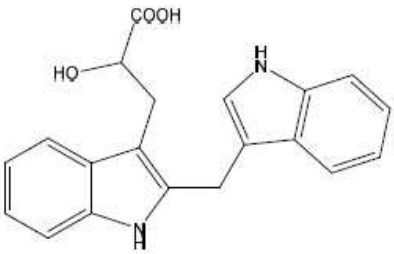
,


CHO
O
H
N
N
H

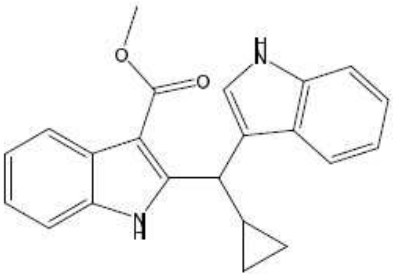
,



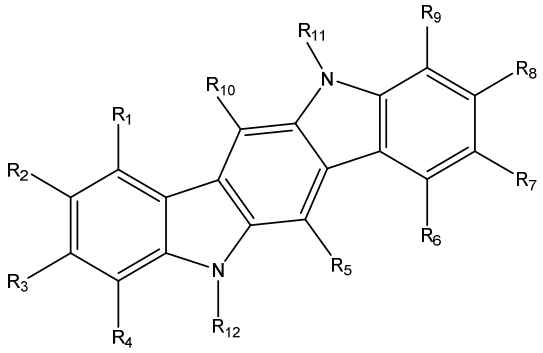

,




e




22. Composição caracterizada por compreender um composto, o composto possuindo a seguinte fórmula:




em que:

$R_1$, $R_4$, $R_5$, $R_6$, $R_9$ e $R_{10}$ são selecionados independentemente do grupo que consiste em hidrogênio, hidroxil, halogênio, CN, $R_{13}$, $OR_{13}$, $OCOR_{13}$ e -CHO;

$R_2$ e $R_3$ são selecionados independentemente do grupo que consiste em hidrogênio, hidroxil, halogênio, CN, $R_{13}$, $OR_{13}$, $OCOR_{13}$ e -CHO, ou $R_2$ e $R_3$ combinam para formar um heterociclil de 5 ou 6 membros;

$R_7$ e $R_8$ são selecionados independentemente do grupo que consiste em hidrogênio, hidroxil, halogênio, CN, $R_{13}$, $OR_{13}$, $OCOR_{13}$ e -CHO, ou $R_7$ e $R_8$ combinam para formar um heterociclil

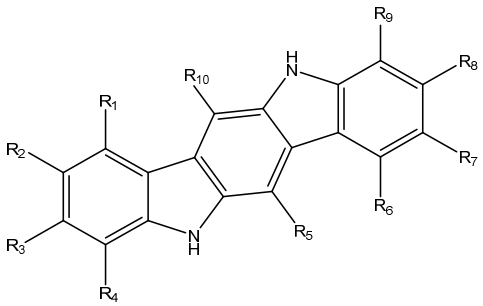
de 5 ou 6 membros;

$R_{11}$ e $R_{12}$ são independentemente hidrogênio ou $R_{13}$; e,

cada $R_{13}$ é independentemente $C_{1-9}$ alquil, $C_{2-9}$ alquenil ou $C_{2-9}$ alquinil;

ou uma forma cristalina, hidrato ou sal cosmeticamente ou farmaceuticamente aceitável deste.

23. Composição, de acordo com a reivindicação 22, caracterizada por ter a estrutura de acordo com a fórmula (II),




(II)

ou uma forma cristalina, hidrato ou sal cosmeticamente ou farmaceuticamente aceitável desta.

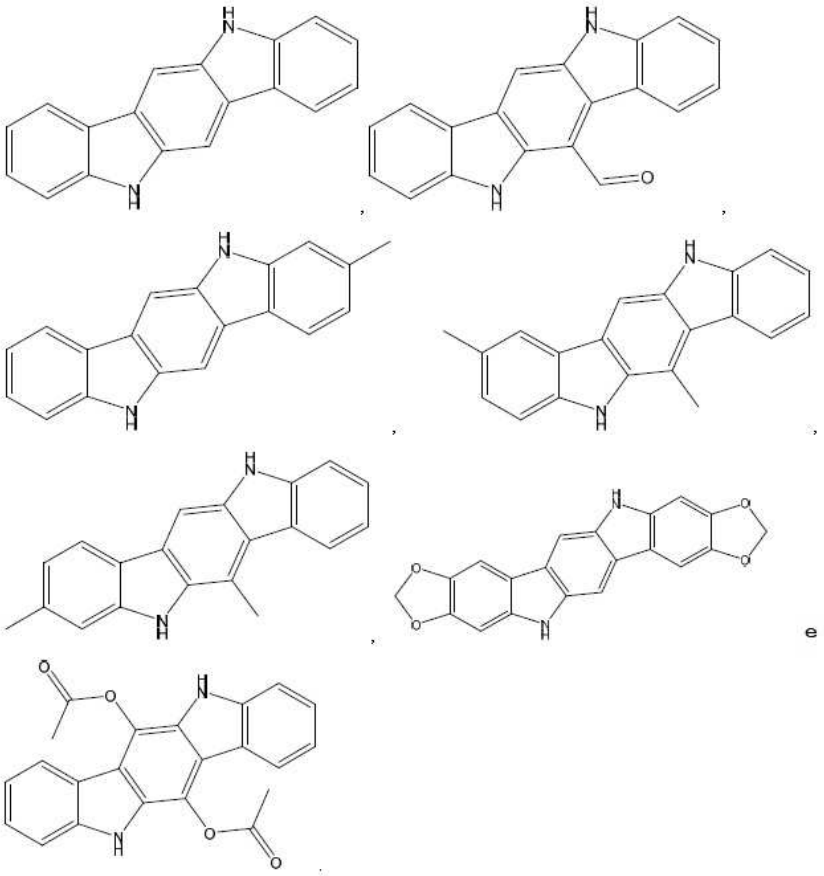
24. Composição, de acordo com a reivindicação 22, caracterizada pelo fato de que $R_1$, $R_2$, $R_3$, $R_4$, $R_5$, $R_6$, $R_7$, $R_8$, $R_9$ e $R_{10}$ são selecionados independentemente do grupo que consiste em hidrogênio e $C_{1-4}$ alquil.

25. Composição, de acordo com a reivindicação 22, caracterizada pelo fato de que:

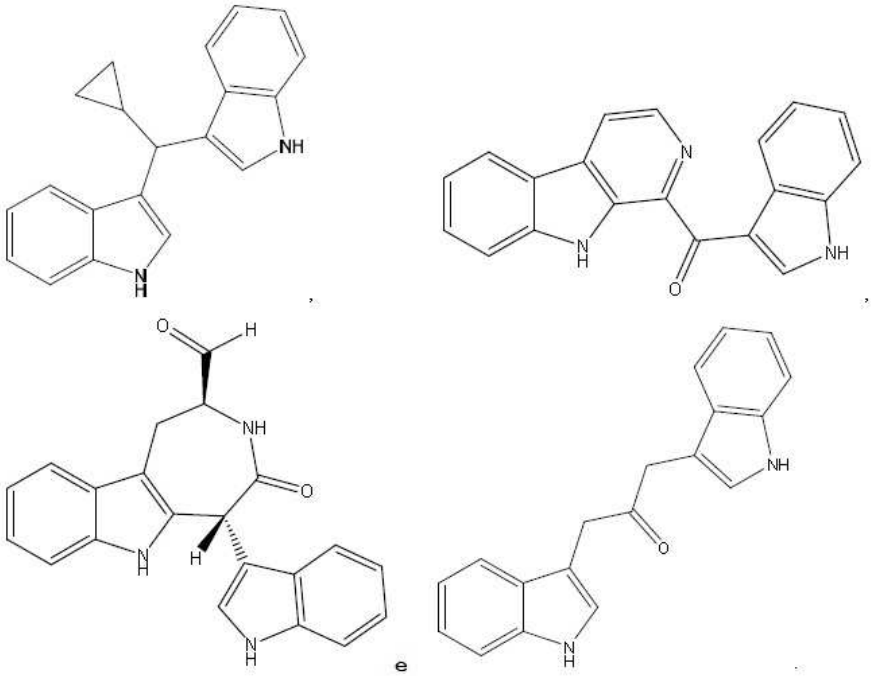
$R_{11}$ e $R_{12}$ são, cada um, hidrogênio; e

um, dois, três ou quatro de $R_1$, $R_2$, $R_3$, $R_4$, $R_5$, $R_6$, $R_7$, $R_8$, $R_9$ e $R_{10}$ são metil, e os grupos restantes são hidrogênio.

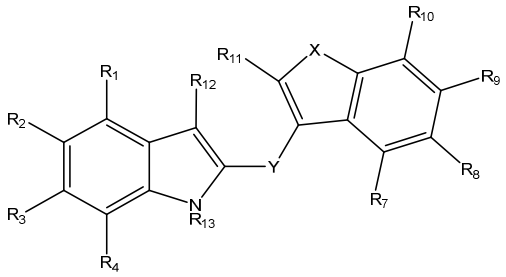
26. Composição, de acordo com a reivindicação 22, caracterizada pelo fato de que o composto é selecionado do grupo que consiste em:



27. Composição caracterizada por compreender um composto, o composto selecionado do grupo que consiste em:



28. Método para clareamento da pele em um indivíduo, o método caracterizado por compreender o contato do indivíduo com um composto, o composto possuindo a estrutura da seguinte fórmula:




em que:

X é selecionado do grupo que consiste em $NR_{14}$ e O;

Y é uma ligação covalente, $CR_5R_6$, O ou $NR_{15}$;

$R_1$, $R_2$, $R_3$, $R_4$, $R_7$, $R_8$, $R_9$, $R_{10}$ e $R_{11}$ são selecionados independentemente do grupo que consiste em hidrogênio, halogênio, CN, hidroxil, $R_{16}$ ou $OR_{16}$;

$R_{13}$, $R_{14}$ e $R_{15}$ são independentemente hidrogênio ou $R_{16}$;

$R_5$ e $R_6$ são selecionados independentemente do grupo que consiste em hidrogênio, hidroxil, $OR_{16}$, $R_{16}$ e $C_{3-6}$ cicloalquil, ou $R_5$ e $R_6$ combinam para formar um grupo oxo (=O) ou um $C_{3-6}$ cicloalquil;

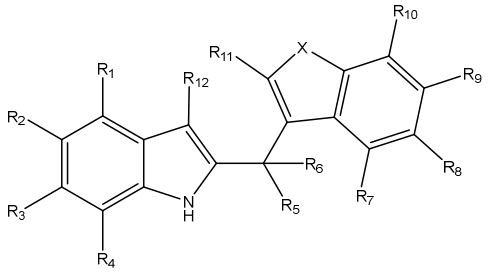
$R_{12}$ é selecionado do grupo que consiste em hidrogênio, $-COR^a$ e $R_{16}$;

cada $R_{16}$ é independentemente formil, $C_{1-9}$ alquil, $C_{2-9}$ alquenil ou $C_{2-9}$ alquinil; e,

$R^a$ é selecionado do grupo que consiste em hidrogênio, hidroxil e $OR_{16}$;

ou uma forma cristalina, hidrato ou sal cosmeticamente ou farmaceuticamente aceitável deste.

29. Método, de acordo com a reivindicação 28, caracterizado por ter a seguinte estrutura:




(I)

ou uma forma cristalina, hidrato ou sal cosmeticamente ou farmaceuticamente aceitável desta.

30. Método, de acordo com a reivindicação 28, caracterizado pelo fato de que:

Y é $CR_5R_6$;

$R_5$ é hidrogênio e $R_6$ é hidrogênio, $C_{1-4}$ alquil, $C_{3-6}$ cicloalquil ou O-($C_{1-4}$ alquil); ou $R_5$ e $R_6$ combinam para formar um grupo oxo (=O).

31. Método, de acordo com a reivindicação 28, caracterizado pelo fato de que pelo menos um de $R_1$, $R_2$, $R_3$, $R_4$, $R_7$, $R_8$, $R_9$, $R_{10}$ e $R_{11}$ é $C_{1-4}$ alquil.

32. Método, de acordo com a reivindicação 28, caracterizado pelo fato de que cada um de $R_1$, $R_2$, $R_3$, $R_4$, $R_7$, $R_8$, $R_9$, $R_{10}$ e $R_{11}$ é hidrogênio.

33. Método, de acordo com a reivindicação 28, caracterizado pelo fato de que $R_{12}$ é -$COR^a$ ou $C_{1-4}$ hidroxialquil; e $R^a$ é hidrogênio ou $C_{1-4}$ alquil.

34. Método, de acordo com a reivindicação 28, caracterizado pelo fato de que:

X é NH;

Y é $CR_5R_6$;

cada um de $R_1$, $R_3$, $R_4$, $R_7$, $R_8$, $R_9$, $R_{10}$, $R_{11}$ e $R_{13}$ é hidrogênio;

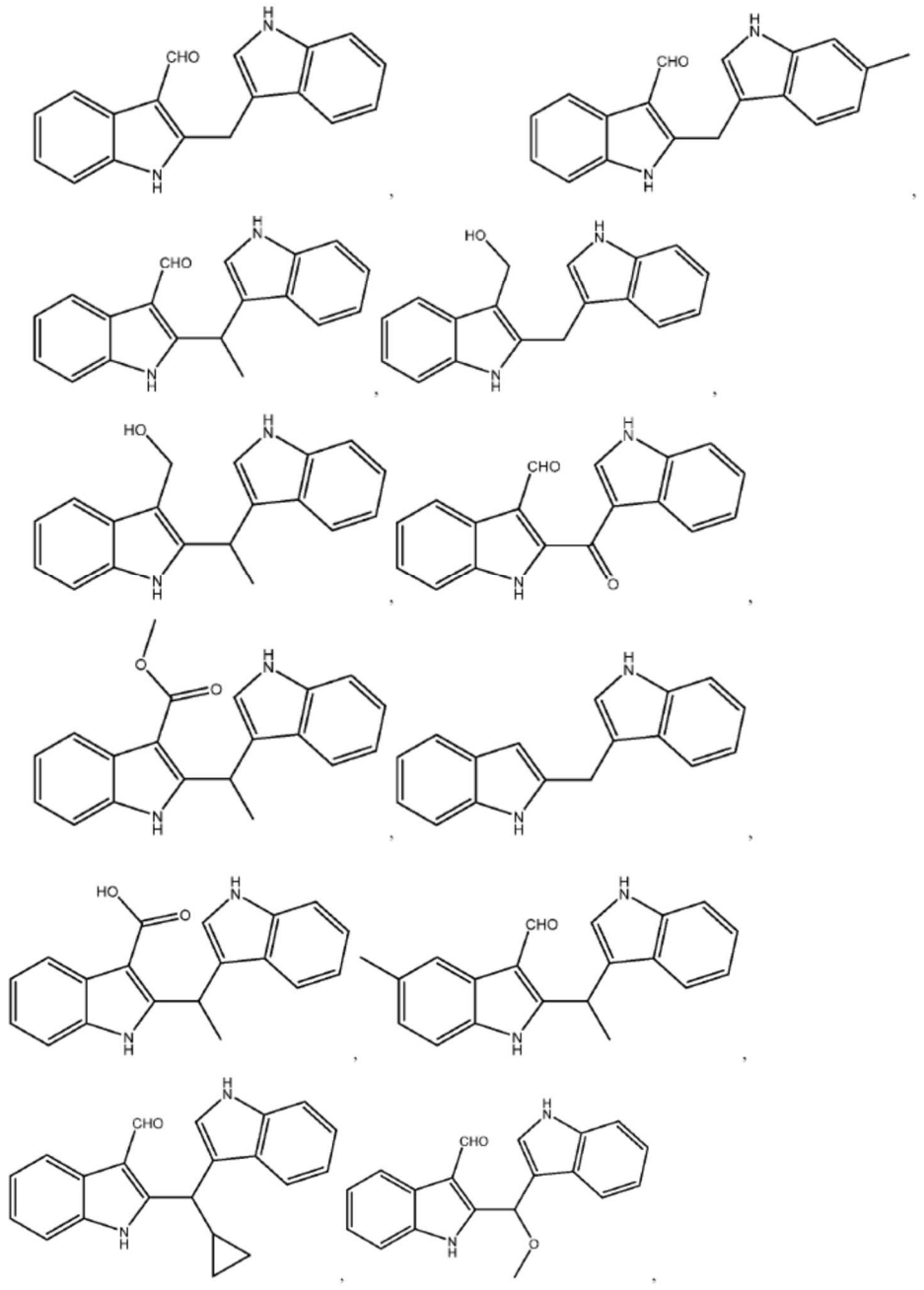
$R_2$ é hidrogênio ou $C_{1-4}$ alquil;

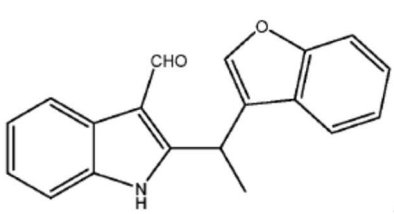
$R_5$ é hidrogênio e $R_6$ é hidrogênio, $C_{1-4}$ alquil, $C_{3-6}$ cicloalquil ou O-($C_{1-4}$ alquil); ou $R_5$ e $R_6$ combinam para formar um grupo oxo (=O);

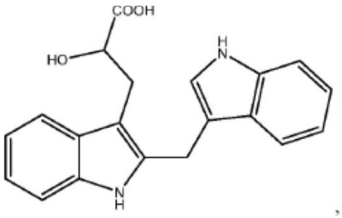
$R_{12}$ é -$COR^a$ ou $C_{1-4}$ hidroxialquil; e

$R^a$ é hidrogênio ou $C_{1-4}$ alquil.

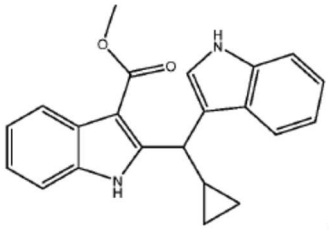
35. Método, de acordo com a reivindicação 28, caracterizado pelo fato de que o composto é selecionado do grupo que consiste em:



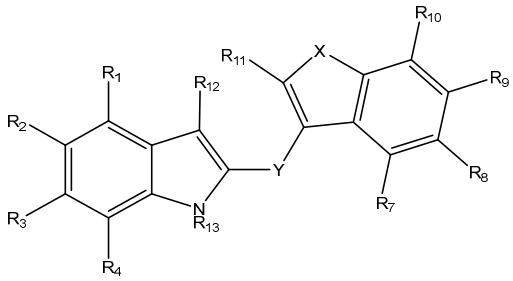



and




36. Método para indução de apoptose de melanócitos em um indivíduo, o método caracterizado por compreender o contato do indivíduo com um composto, o composto possuindo a estrutura da seguinte fórmula:




em que:

X é selecionado do grupo que consiste em $NR_{14}$ e O;

Y é uma ligação covalente, $CR_5R_6$, O ou $NR_{15}$;

$R_1$, $R_2$, $R_3$, $R_4$, $R_7$, $R_8$, $R_9$, $R_{10}$ e $R_{11}$ são selecionados independentemente do grupo que consiste em hidrogênio, halogênio, CN, hidroxil, $R_{16}$ ou $OR_{16}$;

$R_{13}$, $R_{14}$ e $R_{15}$ são independentemente hidrogênio ou $R_{16}$;

$R_5$ e $R_6$ são selecionados independentemente do grupo que consiste em hidrogênio, hidroxil, $OR_{16}$, $R_{16}$ e $C_{3-6}$ cicloalquil, ou $R_5$ e $R_6$ combinam para formar um grupo oxo (=O) ou um $C_{3-6}$ cicloalquil;

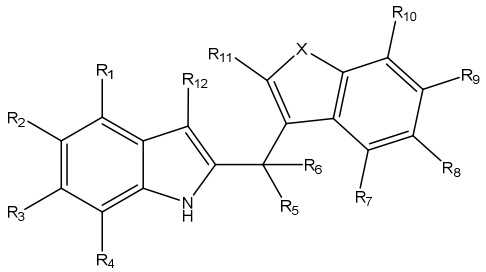
$R_{12}$ é selecionado do grupo que consiste em hidrogênio, $-COR^a$ e $R_{16}$;

cada $R_{16}$ é independentemente formil, $C_{1-9}$ alquil, $C_{2-9}$ alquenil ou $C_{2-9}$ alquinil; e,

$R^a$ é selecionado do grupo que consiste em hidrogênio, hidroxil e $OR_{16}$;

ou uma forma cristalina, hidrato ou sal cosmeticamente ou farmaceuticamente aceitável deste.

37. Método, de acordo com a reivindicação 36, caracterizado por ter a seguinte estrutura:




(I)

ou uma forma cristalina, hidrato ou sal cosmeticamente ou farmaceuticamente aceitável desta.

38. Método, de acordo com a reivindicação 36, caracterizado pelo fato de que:

Y é $CR_5R_6$;

$R_5$ é hidrogênio e $R_6$ é hidrogênio, $C_{1-4}$ alquil, $C_{3-6}$ cicloalquil ou O-($C_{1-4}$ alquil); ou $R_5$ e $R_6$ combinam para formar um grupo oxo (=O).

39. Método, de acordo com a reivindicação 36, caracterizado pelo fato de que pelo menos um de $R_1$, $R_2$, $R_3$, $R_4$, $R_7$, $R_8$, $R_9$, $R_{10}$ e $R_{11}$ é $C_{1-4}$ alquil.

40. Método, de acordo com a reivindicação 36, caracterizado pelo fato de que cada um de $R_1$, $R_2$, $R_3$, $R_4$, $R_7$, $R_8$, $R_9$, $R_{10}$ e $R_{11}$ é hidrogênio.

41. Método, de acordo com a reivindicação 36, caracterizado pelo fato de que $R_{12}$ é -$COR^a$ ou $C_{1-4}$

hidroxialquil; e $R^a$ é hidrogênio ou $C_{1-4}$ alquil.

42. Método, de acordo com a reivindicação 36, caracterizado pelo fato de que:

X é NH;

Y é $CR_5R_6$;

cada um de $R_1$, $R_3$, $R_4$, $R_7$, $R_8$, $R_9$, $R_{10}$, $R_{11}$ e $R_{13}$ é hidrogênio;

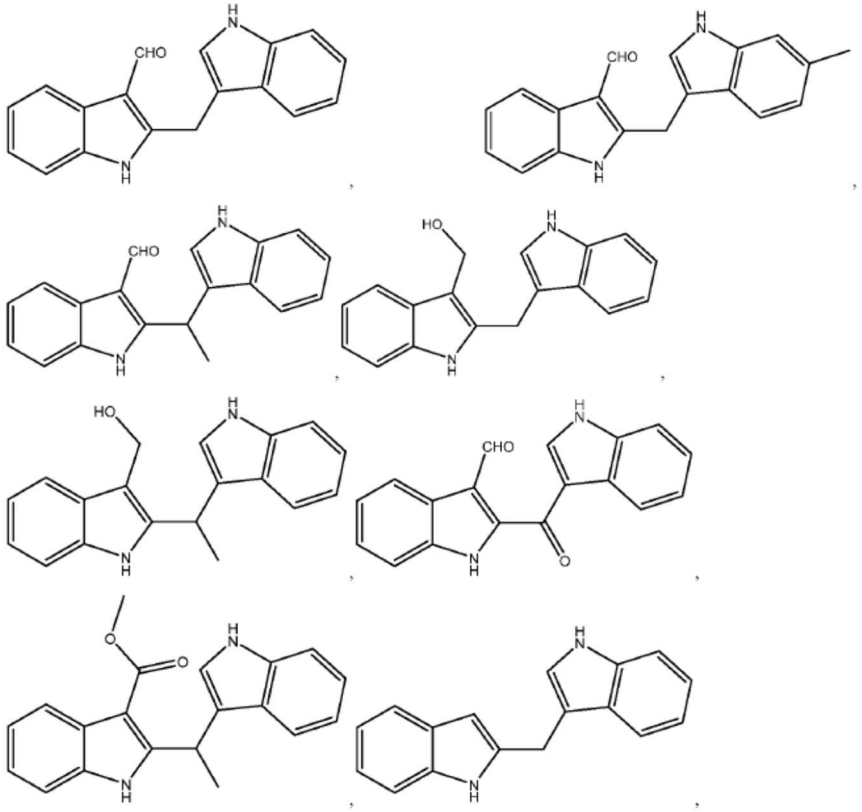
$R_2$ é hidrogênio ou $C_{1-4}$ alquil;

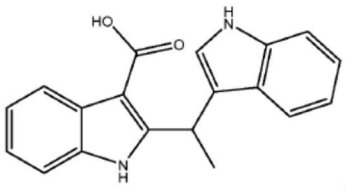
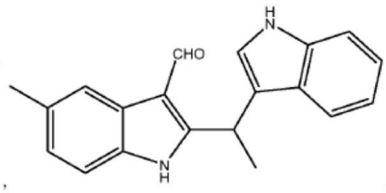
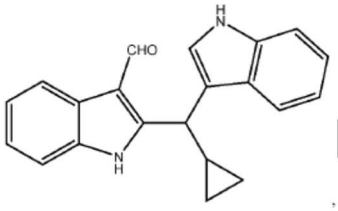
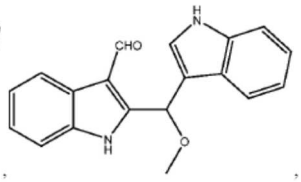
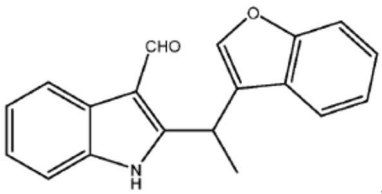
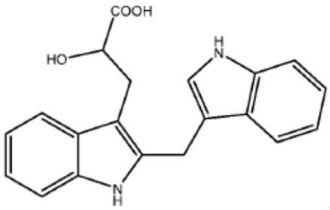
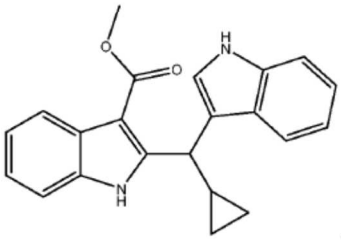
$R_5$ é hidrogênio e $R_6$ é hidrogênio, $C_{1-4}$ alquil, $C_{3-6}$ cicloalquil ou O-($C_{1-4}$ alquil); ou $R_5$ e $R_6$ combinam para formar um grupo oxo (=O);

$R_{12}$ é $-COR^a$ ou $C_{1-4}$ hidroxialquil; e

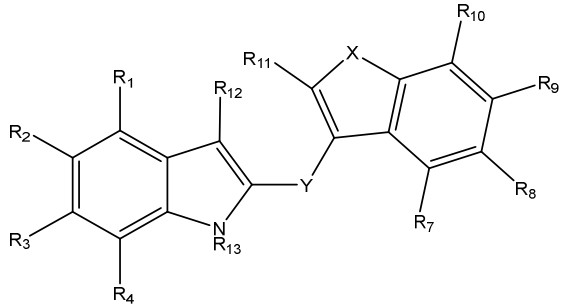
$R^a$ é hidrogênio ou $C_{1-4}$ alquil.

43. Método, de acordo com a reivindicação 36, caracterizado pelo fato de que o composto é selecionado do grupo que consiste em:









and


44. Método para a modulação da atividade do receptor de aril-hidrocarboneto (AhR) em um indivíduo, o método caracterizado por compreender o contato do indivíduo com um composto, o composto possuindo a estrutura da seguinte fórmula:



em que:

X é selecionado do grupo que consiste em $NR_{14}$ e O;

Y é uma ligação covalente, $CR_5R_6$, O ou $NR_{15}$;

$R_1$, $R_2$, $R_3$, $R_4$, $R_7$, $R_8$, $R_9$, $R_{10}$ e $R_{11}$ são selecionados

independentemente do grupo que consiste em hidrogênio, halogênio, CN, hidroxil, $R_{16}$ ou $OR_{16}$;

$R_{13}$, $R_{14}$ e $R_{15}$ são independentemente hidrogênio ou $R_{16}$;

$R_5$ e $R_6$ são selecionados independentemente do grupo que consiste em hidrogênio, hidroxil, $OR_{16}$, $R_{16}$ e $C_{3-6}$ cicloalquil, ou $R_5$ e $R_6$ combinam para formar um grupo oxo (=O) ou um $C_{3-6}$ cicloalquil;

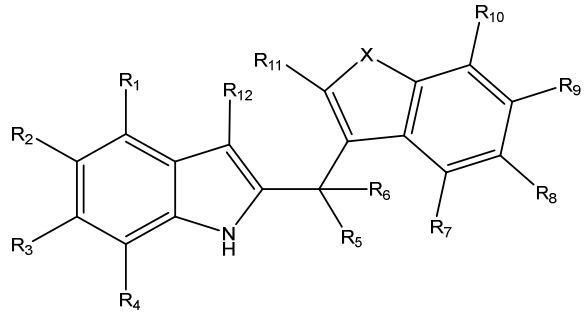
$R_{12}$ é selecionado do grupo que consiste em hidrogênio, $-COR^a$ e $R_{16}$;

cada $R_{16}$ é independentemente formil, $C_{1-9}$ alquil, $C_{2-9}$ alquenil ou $C_{2-9}$ alquinil; e,

$R^a$ é selecionado do grupo que consiste em hidrogênio, hidroxil e $OR_{16}$;

ou uma forma cristalina, hidrato ou sal cosmeticamente ou farmaceuticamente aceitável deste.

45. Método, de acordo com a reivindicação 44, caracterizado por ter a seguinte estrutura:




(I)

ou uma forma cristalina, hidrato ou sal cosmeticamente ou farmaceuticamente aceitável desta.

46. Método, de acordo com a reivindicação 44, caracterizado pelo fato de que:

Y é $CR_5R_6$;

$R_5$ é hidrogênio e $R_6$ é hidrogênio, $C_{1-4}$ alquil, $C_{3-6}$

cicloalquil ou O-($C_{1-4}$ alquil); ou $R_5$ e $R_6$ combinam para formar um grupo oxo (=O).

47. Método, de acordo com a reivindicação 44, caracterizado pelo fato de que pelo menos um de $R_1$, $R_2$, $R_3$, $R_4$, $R_7$, $R_8$, $R_9$, $R_{10}$ e $R_{11}$ é $C_{1-4}$ alquil.

48. Método, de acordo com a reivindicação 44, caracterizado pelo fato de que cada um de $R_1$, $R_2$, $R_3$, $R_4$, $R_7$, $R_8$, $R_9$, $R_{10}$ e $R_{11}$ é hidrogênio.

49. Método, de acordo com a reivindicação 44, caracterizado pelo fato de que $R_{12}$ é -$COR^a$ ou $C_{1-4}$ hidroxialquil; e $R^a$ é hidrogênio ou $C_{1-4}$ alquil.

50. Método, de acordo com a reivindicação 44, caracterizado pelo fato de que:

X é NH;

Y é $CR_5R_6$;

cada um de $R_1$, $R_3$, $R_4$, $R_7$, $R_8$, $R_9$, $R_{10}$, $R_{11}$ e $R_{13}$ é hidrogênio;

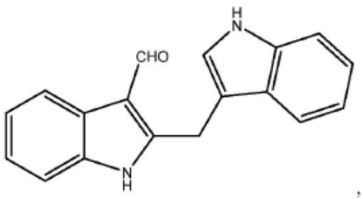
$R_2$ é hidrogênio ou $C_{1-4}$ alquil;

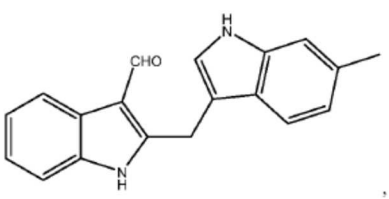
$R_5$ é hidrogênio e $R_6$ é hidrogênio, $C_{1-4}$ alquil, $C_{3-6}$ cicloalquil ou O-($C_{1-4}$ alquil); ou $R_5$ e $R_6$ combinam para formar um grupo oxo (=O);

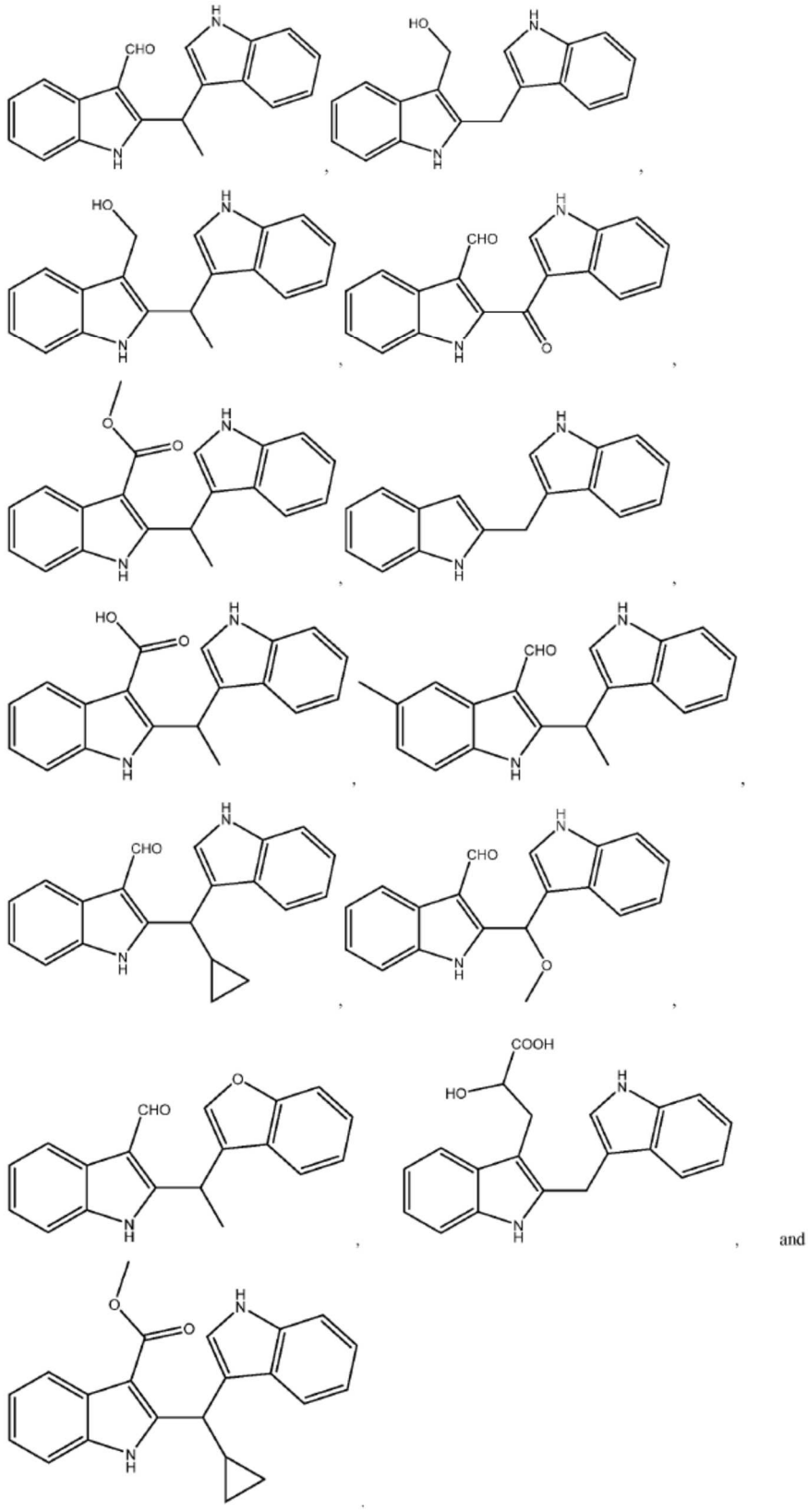
$R_{12}$ é -$COR^a$ ou $C_{1-4}$ hidroxialquil; e

$R^a$ é hidrogênio ou $C_{1-4}$ alquil.

51. Método, de acordo com a reivindicação 44, caracterizado pelo fato de que o composto é selecionado do grupo que consiste em:



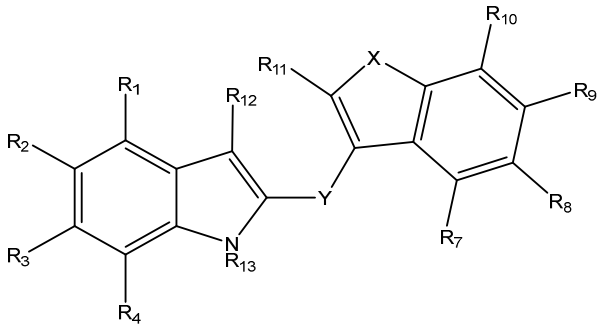





and

52. Método para a modulação da melanogênese em um indivíduo, o método caracterizado por compreender o contato

do indivíduo com um composto, o composto possuindo a estrutura da seguinte fórmula:




em que:

X é selecionado do grupo que consiste em $NR_{14}$ e O;

Y é uma ligação covalente, $CR_5R_6$, O ou $NR_{15}$;

$R_1$, $R_2$, $R_3$, $R_4$, $R_7$, $R_8$, $R_9$, $R_{10}$ e $R_{11}$ são selecionados independentemente do grupo que consiste em hidrogênio, halogênio, CN, hidroxil, $R_{16}$ ou $OR_{16}$;

$R_{13}$, $R_{14}$ e $R_{15}$ são independentemente hidrogênio ou $R_{16}$;

$R_5$ e $R_6$ são selecionados independentemente do grupo que consiste em hidrogênio, hidroxil, $OR_{16}$, $R_{16}$ e $C_{3-6}$ cicloalquil, ou $R_5$ e $R_6$ combinam para formar um grupo oxo (=O) ou um $C_{3-6}$ cicloalquil;

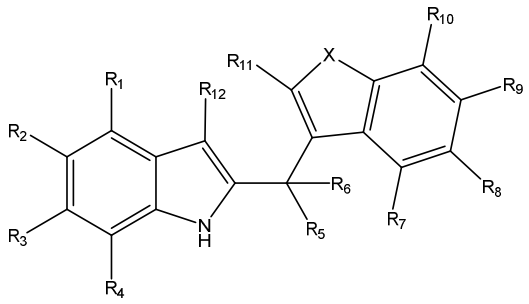
$R_{12}$ é selecionado do grupo que consiste em hidrogênio, $-COR^a$ e $R_{16}$;

cada $R_{16}$ é independentemente formil, $C_{1-9}$ alquil, $C_{2-9}$ alquenil ou $C_{2-9}$ alquinil; e,

$R^a$ é selecionado do grupo que consiste em hidrogênio, hidroxil e $OR_{16}$;

ou uma forma cristalina, hidrato ou sal cosmeticamente ou farmaceuticamente aceitável deste.

53. Método, de acordo com a reivindicação 52, caracterizado por ter a seguinte estrutura:




(I)

ou uma forma cristalina, hidrato ou sal cosmeticamente ou farmaceuticamente aceitável deste.

54. Método, de acordo com a reivindicação 52, caracterizado pelo fato de que:

Y é $CR_5R_6$;

$R_5$ é hidrogênio e $R_6$ é hidrogênio, $C_{1-4}$ alquil, $C_{3-6}$ cicloalquil ou O-($C_{1-4}$ alquil); ou $R_5$ e $R_6$ combinam para formar um grupo oxo (=O).

55. Método, de acordo com a reivindicação 52, caracterizado pelo fato de que pelo menos um de $R_1$, $R_2$, $R_3$, $R_4$, $R_7$, $R_8$, $R_9$, $R_{10}$ e $R_{11}$ é $C_{1-4}$ alquil.

56. Método, de acordo com a reivindicação 52, caracterizado pelo fato de que cada um de $R_1$, $R_2$, $R_3$, $R_4$, $R_7$, $R_8$, $R_9$, $R_{10}$ e $R_{11}$ é hidrogênio.

57. Método, de acordo com a reivindicação 52, caracterizado pelo fato de que $R_{12}$ é -$COR^a$ ou $C_{1-4}$ hidroxialquil; e $R^a$ é hidrogênio ou $C_{1-4}$ alquil.

58. Método, de acordo com a reivindicação 52, caracterizado pelo fato de que:

X é NH;

Y é $CR_5R_6$;

cada um de $R_1$, $R_3$, $R_4$, $R_7$, $R_8$, $R_9$, $R_{10}$, $R_{11}$ e $R_{13}$ é hidrogênio;

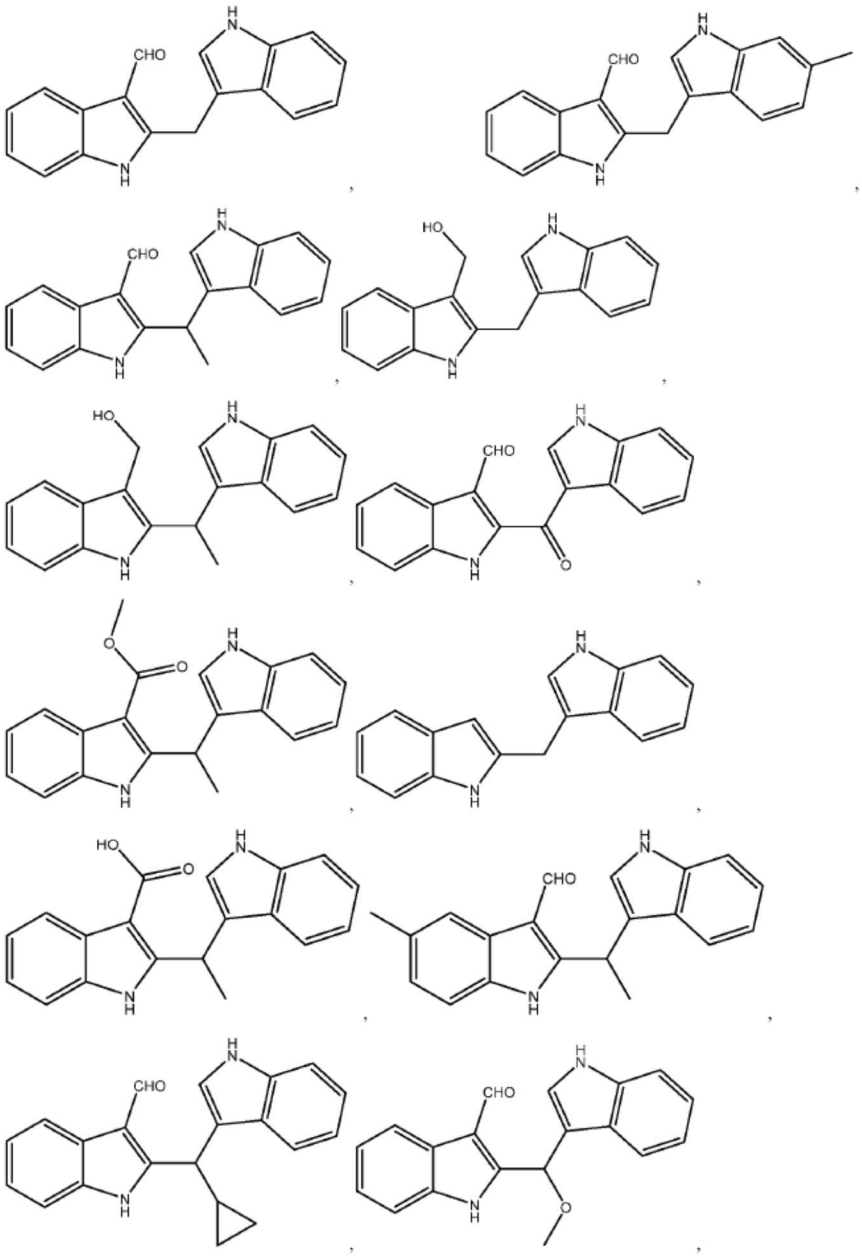
$R_2$ é hidrogênio ou $C_{1-4}$ alquil;

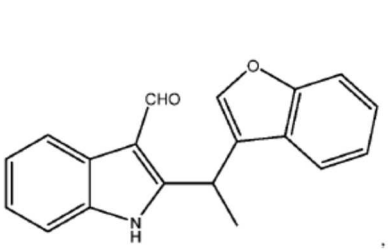
$R_5$ é hidrogênio e $R_6$ é hidrogênio, $C_{1-4}$ alquil, $C_{3-6}$ cicloalquil ou O-($C_{1-4}$ alquil); ou $R_5$ e $R_6$ combinam para formar um grupo oxo (=O);

$R_{12}$ é -$COR^a$ ou $C_{1-4}$ hidroxialquil; e

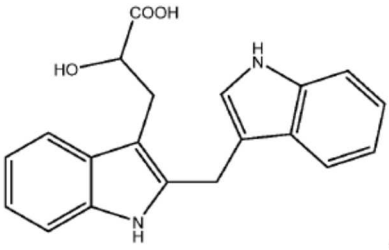
$R^a$ é hidrogênio ou $C_{1-4}$ alquil.

59. Método, de acordo com a reivindicação 52, caracterizado pelo fato de que o composto é selecionado do grupo que consiste em:

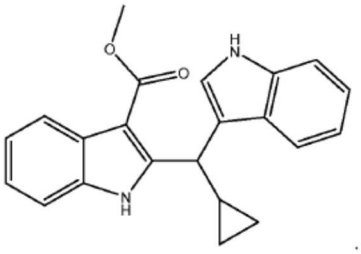





,

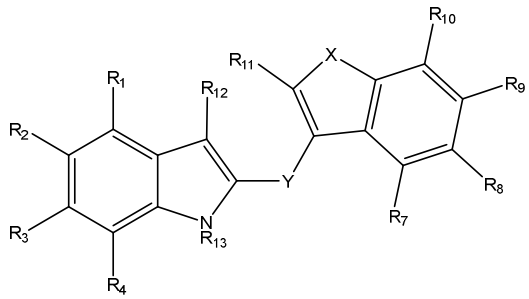



, and




.

60. Método para a modulação da concentração de melanina em um indivíduo, o método caracterizado por compreender o contato do indivíduo com um composto, o composto possuindo a estrutura da seguinte fórmula:




em que:

X é selecionado do grupo que consiste em $NR_{14}$ e O;

Y é uma ligação covalente, $CR_5R_6$, O ou $NR_{15}$;

$R_1$, $R_2$, $R_3$, $R_4$, $R_7$, $R_8$, $R_9$, $R_{10}$ e $R_{11}$ são selecionados independentemente do grupo que consiste em hidrogênio, halogênio, CN, hidroxil, $R_{16}$ ou $OR_{16}$;

$R_{13}$, $R_{14}$ e $R_{15}$ são independentemente hidrogênio ou $R_{16}$;

$R_5$ e $R_6$ são selecionados independentemente do grupo que consiste em hidrogênio, hidroxil, $OR_{16}$, $R_{16}$ e $C_{3-6}$ cicloalquil, ou $R_5$ e $R_6$ combinam para formar um grupo oxo (=O) ou um $C_{3-6}$

cicloalquil;

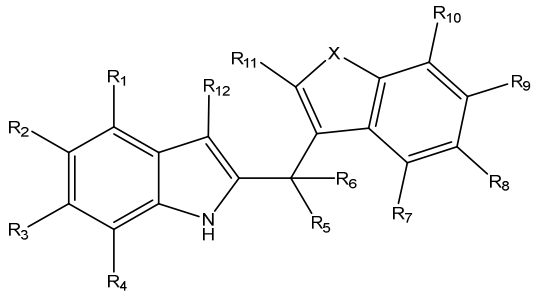
$R_{12}$ é selecionado do grupo que consiste em hidrogênio, -$COR^a$ e $R_{16}$;

cada $R_{16}$ é independentemente formil, $C_{1-9}$ alquil, $C_{2-9}$ alquenil ou $C_{2-9}$ alquinil; e,

$R^a$ é selecionado do grupo que consiste em hidrogênio, hidroxil e $OR_{16}$;

ou uma forma cristalina, hidrato ou sal cosmeticamente ou farmaceuticamente aceitável deste.

61. Método, de acordo com a reivindicação 60, caracterizado por ter a seguinte estrutura:




(I)

ou uma forma cristalina, hidrato ou sal cosmeticamente ou farmaceuticamente aceitável desta.

62. Método, de acordo com a reivindicação 60, caracterizado pelo fato de que:

Y é $CR_5R_6$;

$R_5$ é hidrogênio e $R_6$ é hidrogênio, $C_{1-4}$ alquil, $C_{3-6}$ cicloalquil ou O-($C_{1-4}$ alquil); ou $R_5$ e $R_6$ combinam para formar um grupo oxo (=O).

63. Método, de acordo com a reivindicação 60, caracterizado pelo fato de que pelo menos um de $R_1$, $R_2$, $R_3$, $R_4$, $R_7$, $R_8$, $R_9$, $R_{10}$ e $R_{11}$ é $C_{1-4}$ alquil.

64. Método, de acordo com a reivindicação 60,

caracterizado pelo fato de que cada um de $R_1$, $R_2$, $R_3$, $R_4$, $R_7$, $R_8$, $R_9$, $R_{10}$ e $R_{11}$ é hidrogênio.

65. Método, de acordo com a reivindicação 60, caracterizado pelo fato de que $R_{12}$ é $-COR^a$ ou $C_{1-4}$ hidroxialquil; e $R^a$ é hidrogênio ou $C_{1-4}$ alquil.

66. Método, de acordo com a reivindicação 60, caracterizado pelo fato de que:

X é NH;

Y é $CR_5R_6$;

cada um de $R_1$, $R_3$, $R_4$, $R_7$, $R_8$, $R_9$, $R_{10}$, $R_{11}$ e $R_{13}$ é hidrogênio;

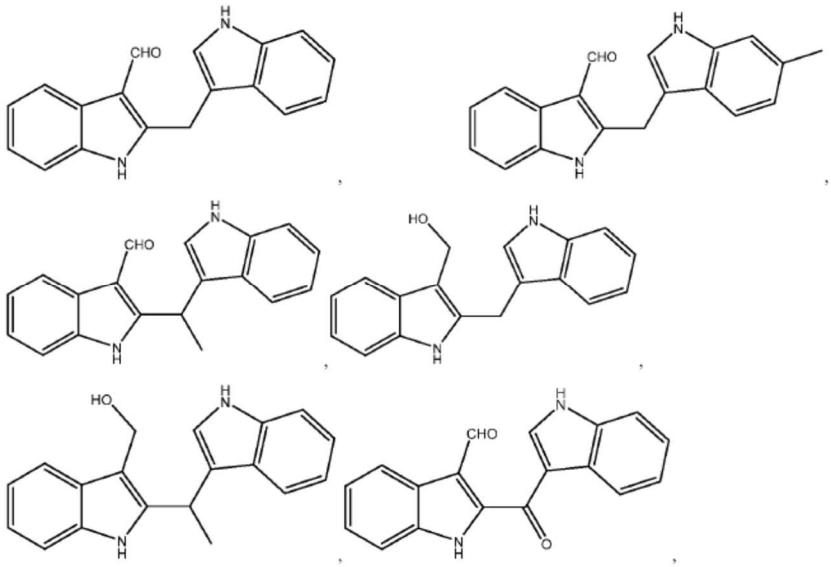
$R_2$ é hidrogênio ou $C_{1-4}$ alquil;

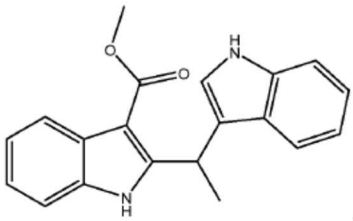
$R_5$ é hidrogênio e $R_6$ é hidrogênio, $C_{1-4}$ alquil, $C_{3-6}$ cicloalquil ou O-($C_{1-4}$ alquil); ou $R_5$ e $R_6$ combinam para formar um grupo oxo (=O);

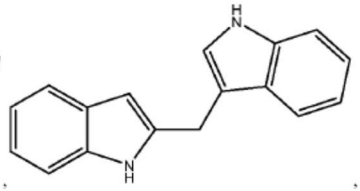
$R_{12}$ é $-COR^a$ ou $C_{1-4}$ hidroxialquil; e

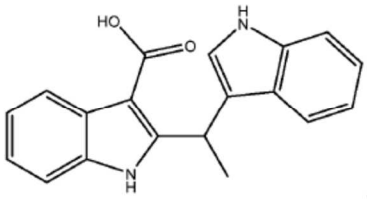
$R^a$ é hidrogênio ou $C_{1-4}$ alquil.

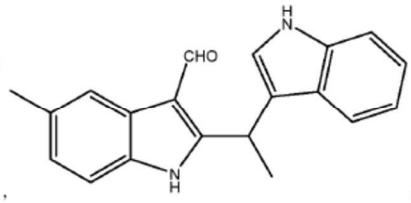
67. Método, de acordo com a reivindicação 60, caracterizado pelo fato de que o composto é selecionado do grupo que consiste em:

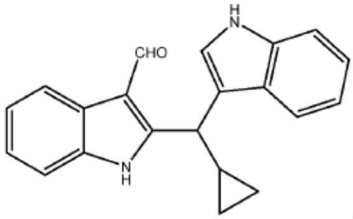


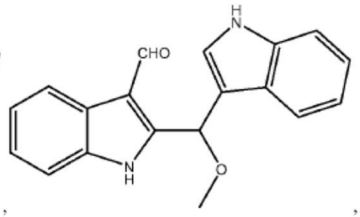


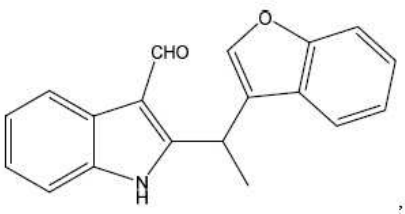


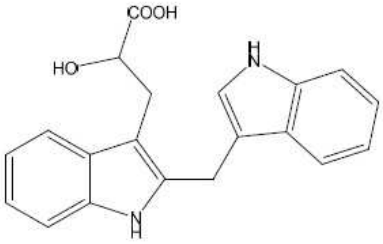




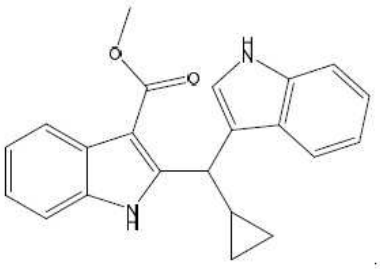




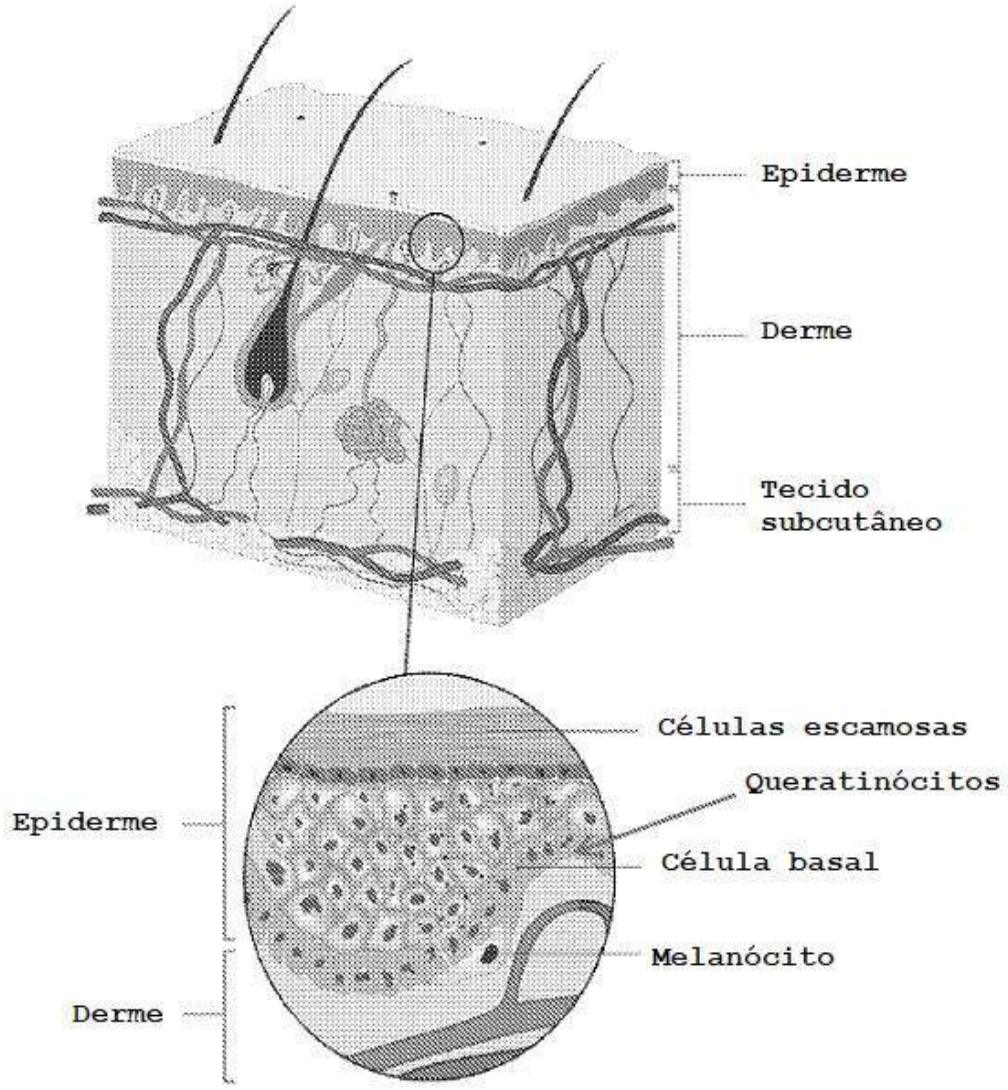




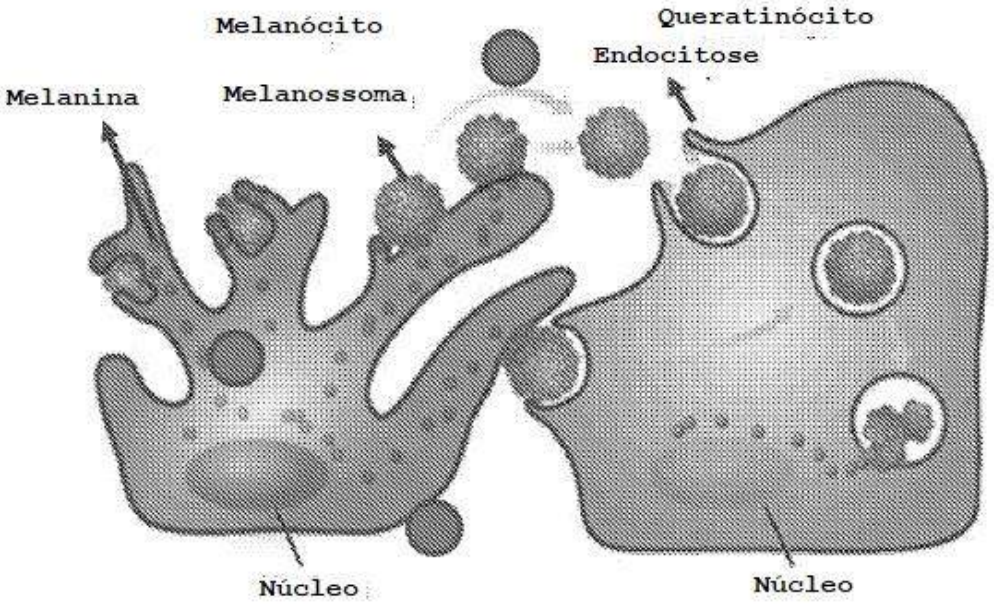
e



# Fig. 1A


Epiderme
Derme
Tecido subcutâneo
Células escamosas
Queratinócitos
Epiderme
Célula basal
Melanócito
Derme

# Fig. 1B

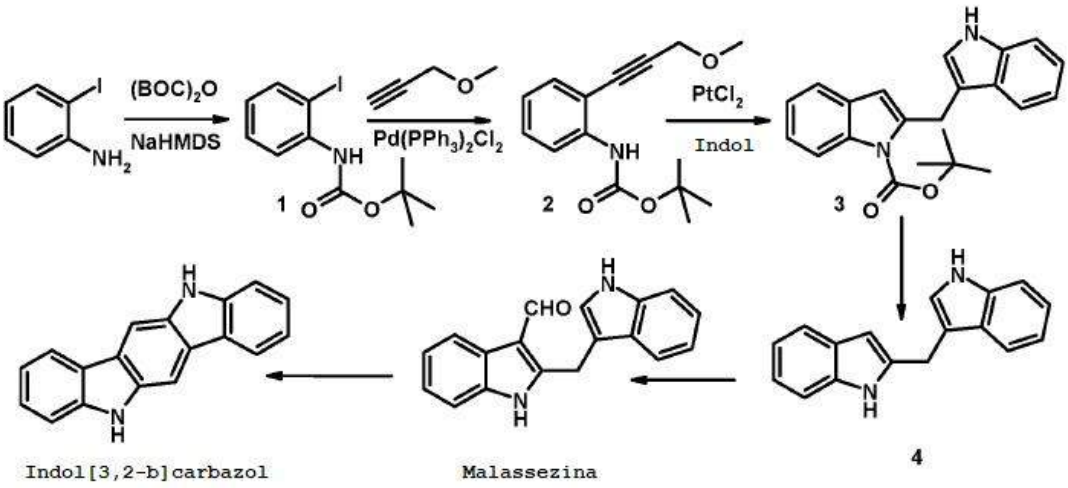



1 - Inibição da síntese de melanina - inibição de tirosinase

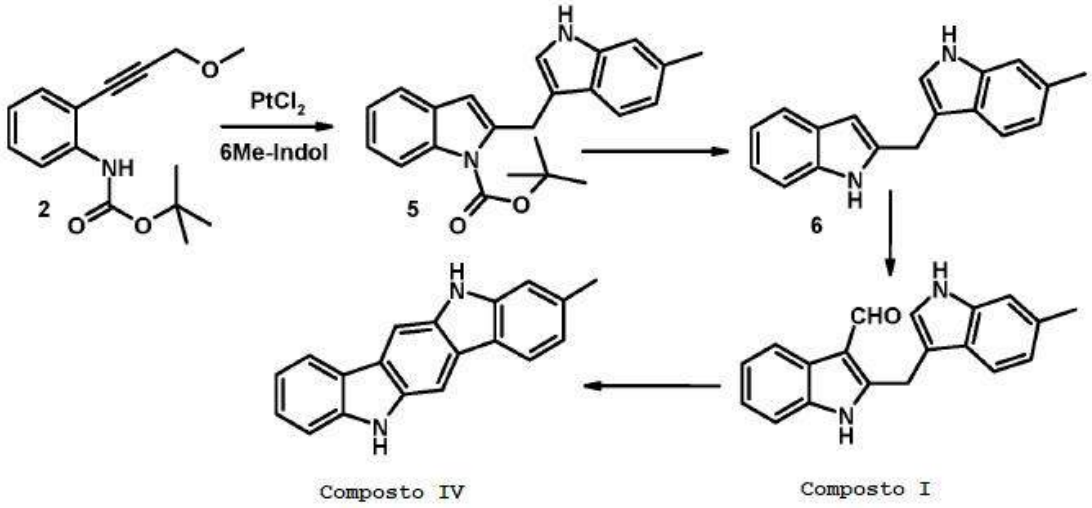
2 - Inibição do transporte de melanina para queratinócitos

3 - Apoptose de melanócitos

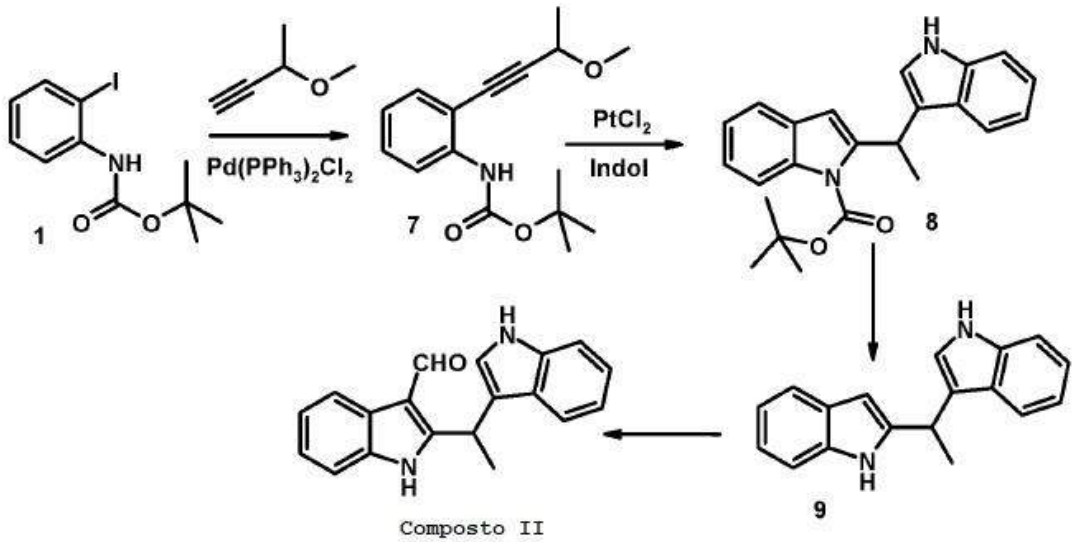
# Fig. 2A


(BOC)2O
NaHMDS
Pd(PPh3)2Cl2
PtCl2
Indol
1
2
3
4
Indol[3,2-b]carbazol
Malassezina

# Fig. 2B



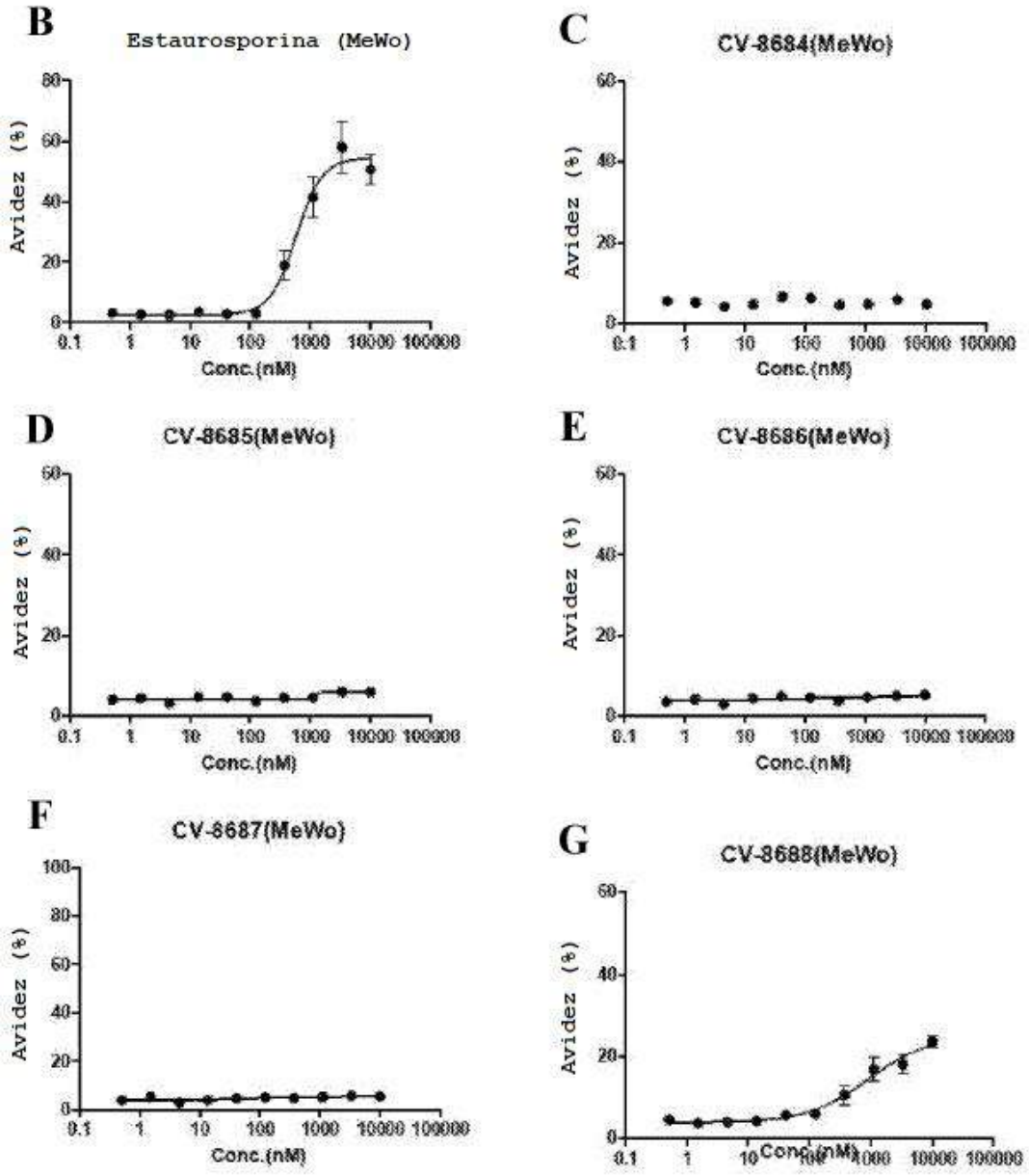
# Fig. 2C



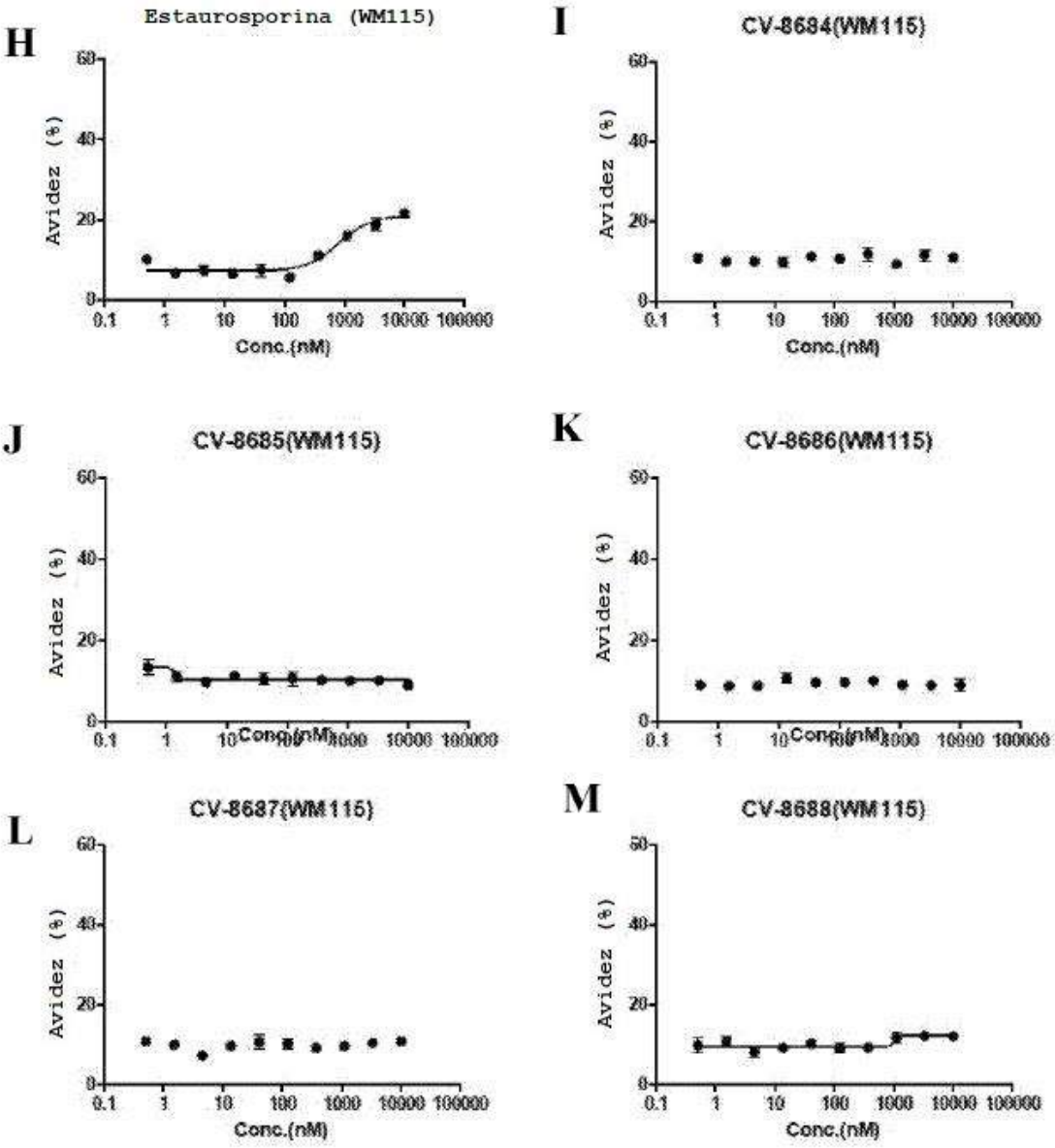
# Fig. 3A

| ID do composto | EC50 [nM] em MeWo | EC50 [nM] em WM115 |
|---|---|---|
| Estaurosporina | 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 |

# Figs. 3B-3G


B
Estaurosporina (MeWo)
Avidez (%)
Conc.(nM)
C
CV-8684(MeWo)
Avidez (%)
Conc.(nM)
D
CV-8685(MeWo)
Avidez (%)
Conc.(nM)
E
CV-8686(MeWo)
Avidez (%)
Conc.(nM)
F
CV-8687(MeWo)
Avidez (%)
Conc.(nM)
G
CV-8688(MeWo)
Avidez (%)
Conc.(nM)

# Figs. 3H-3M


H
Estaurosporina (WM115)
Avidez (%)
Conc.(nM)
I
CV-8684(WM115)
Avidez (%)
Conc.(nM)
J
CV-8685(WM115)
Avidez (%)
Conc.(nM)
K
CV-8686(WM115)
Avidez (%)
Conc.(nM)
L
CV-8687(WM115)
Avidez (%)
Conc.(nM)
M
CV-8688(WM115)
Avidez (%)
Conc.(nM)

# Fig. 4A

| Tempo de ensaio | MeWo Anexina V Dose | CV-8684 Nível relativo de Anexina V (%) n=1 | n=2 | Média | DP | WM115 Anexina V Dose | CV-8684 Nível relativo de Anexina V (%) n=1 | n=2 | Média | DP |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 6 hr | 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 hr | 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 hr | 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 hr | 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 |

# Fig. 4B

| Tempo de ensaio | MeWo Anexina V Dose | CV-8685 Nível relativo de Anexina V (%) n=1 | n=2 | Média | DP | WM115 Anexina V Dose | CV-8685 Nível relativo de Anexina V (%) n=1 | n=2 | Média | DP |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 6 hr | 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 hr | 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 hr | 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 hr | 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 |

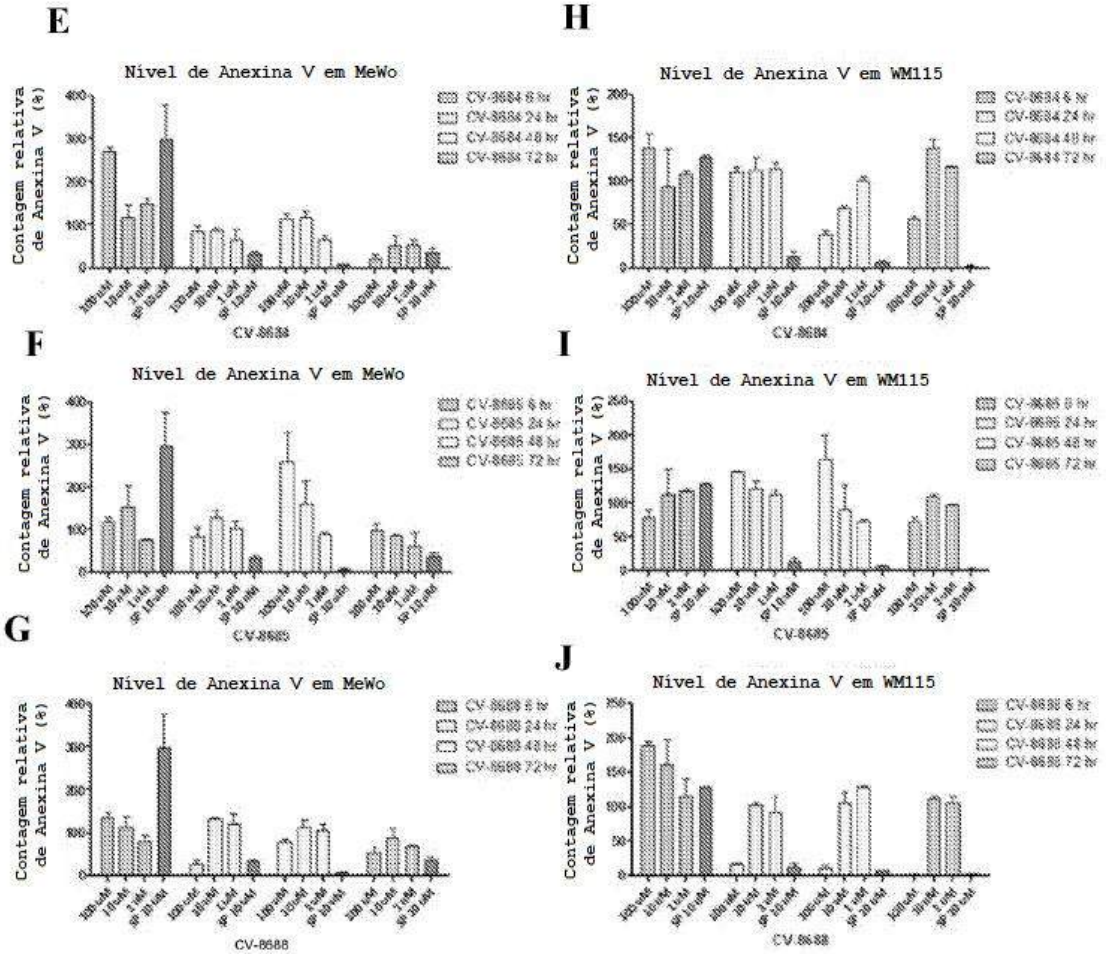
# Fig. 4C

| Tempo de ensaio | MeWo Anexina V Dose | CV-8688 Nível relativo de Anexina V (%) n=1 | n=2 | Média | DP | WM115 Anexina V Dose | CV-8688 Nível relativo de Anexina V (%) n=1 | n=2 | Média | DP |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 6 hr | 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 hr | 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 hr | 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 hr | 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 |

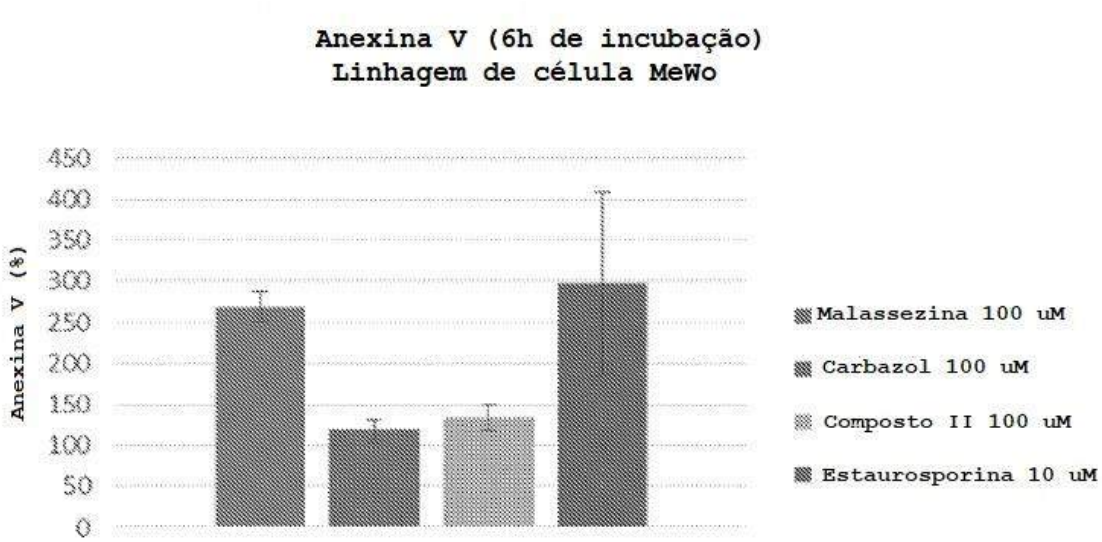
# Fig. 4D

| Tempo de ensaio | MeWo Anexina V Dose | Estaurosporina Nível relativo de Anexina V (%) n=1 | n=2 | Média | DP | WM115 Anexina V Dose | Estaurosporina Nível relativo de Anexina V (%) n=1 | n=2 | Média | DP |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 6 hr | 10 | 377.03 | 218.92 | 297.97 | 111.80 | 10 | 124.91 | 129.37 | 127.14 | 3.15 |
| 24 hr | 10 | 29.03 | 37.83 | 33.43 | 6.22 | 10 | 5.77 | 17.90 | 11.84 | 8.57 |
| 48 hr | 10 | 9.09 | 7.27 | 8.18 | 1.29 | 10 | 7.49 | 6.66 | 7.08 | 0.59 |
| 72 hr | 10 | 44.20 | 26.52 | 35.36 | 12.50 | 10 | 3.32 | 1.24 | 2.28 | 1.47 |

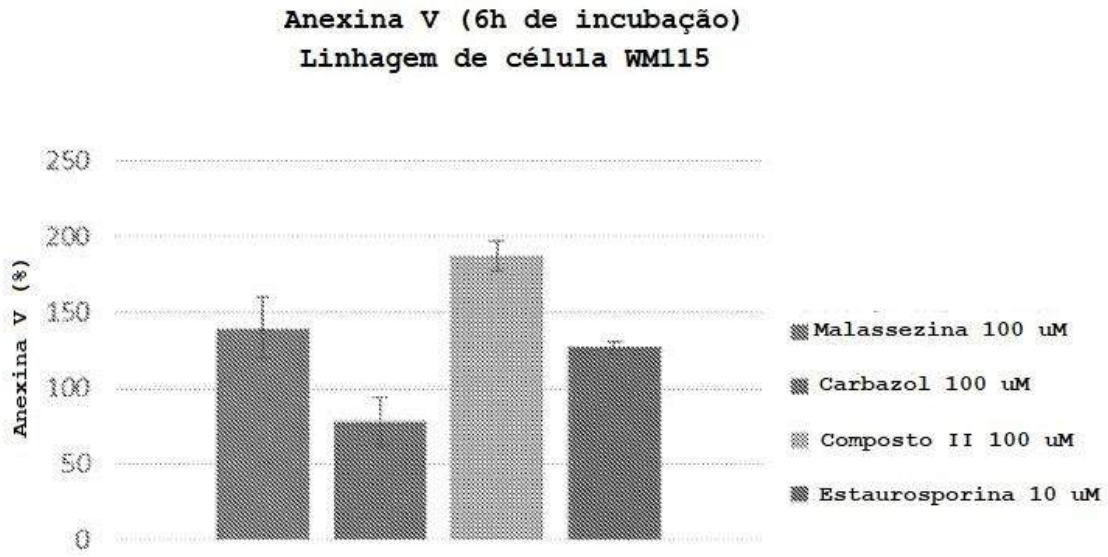
# Figs. 4E-4J


E
Nível de Anexina V em MeWo
Contagem relativa de Anexina V (%)
CV-8684
H
Nível de Anexina V em WM115
Contagem relativa de Anexina V (%)
CV-8684
F
Nível de Anexina V em MeWo
Contagem relativa de Anexina V (%)
CV-8685
I
Nível de Anexina V em WM115
Contagem relativa de Anexina V (%)
CV-8685
G
Nível de Anexina V em MeWo
Contagem relativa de Anexina V (%)
CV-8688
J
Nível de Anexina V em WM115
Contagem relativa de Anexina V (%)
CV-8688

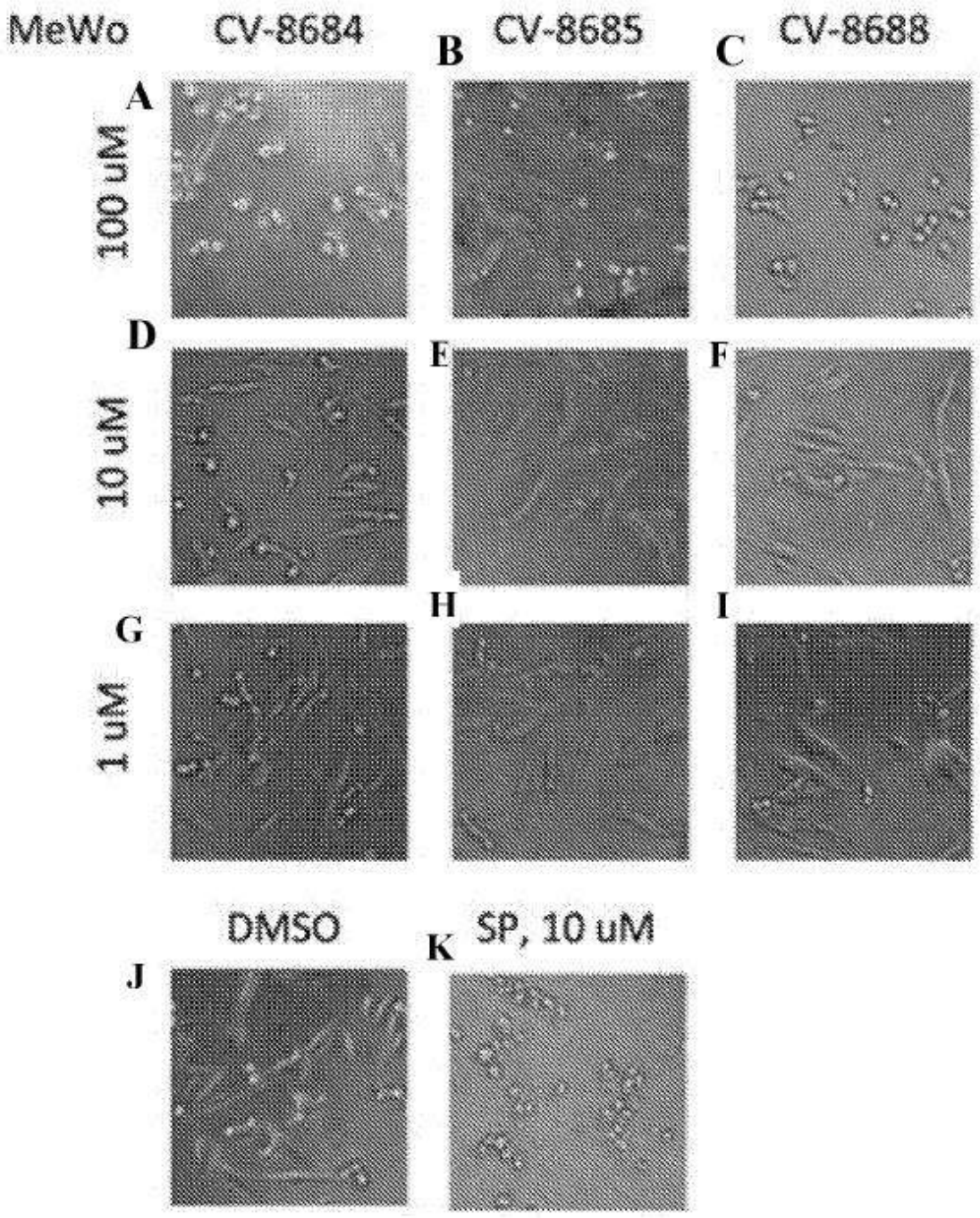
# Fig. 4K


Anexina V (6h de incubação)
Linhagem de célula MeWo
Anexina V (%)
450
400
350
300
250
200
150
100
50
0
Malassezina 100 uM
Carbazol 100 uM
Composto II 100 uM
Estaurosporina 10 uM

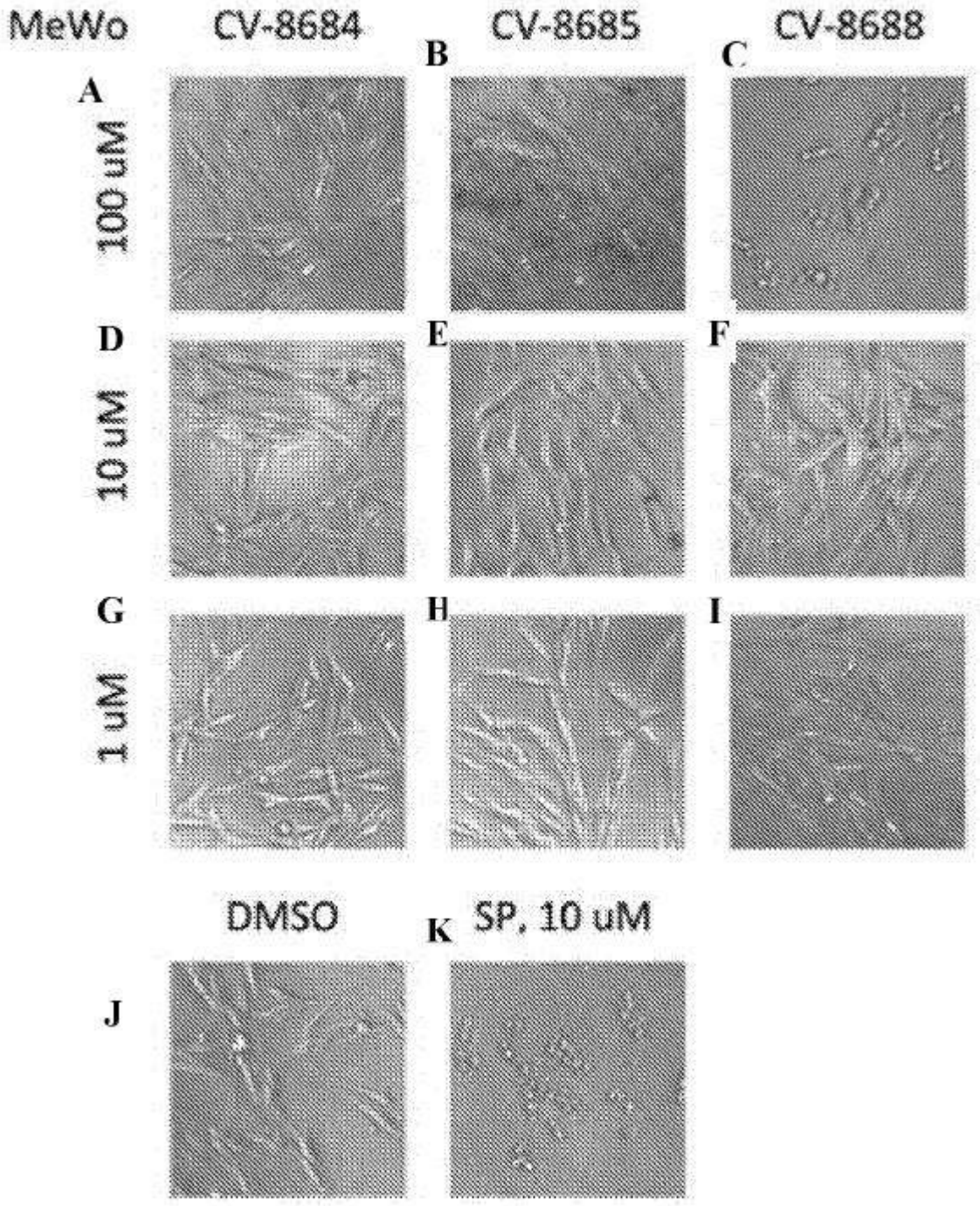
# Fig. 4L


Anexina V (6h de incubação)
Linhagem de célula WM115
Anexina V (%)
250
200
150
100
50
0
Malassezina 100 uM
Carbazol 100 uM
Composto II 100 uM
Estaurosporina 10 uM

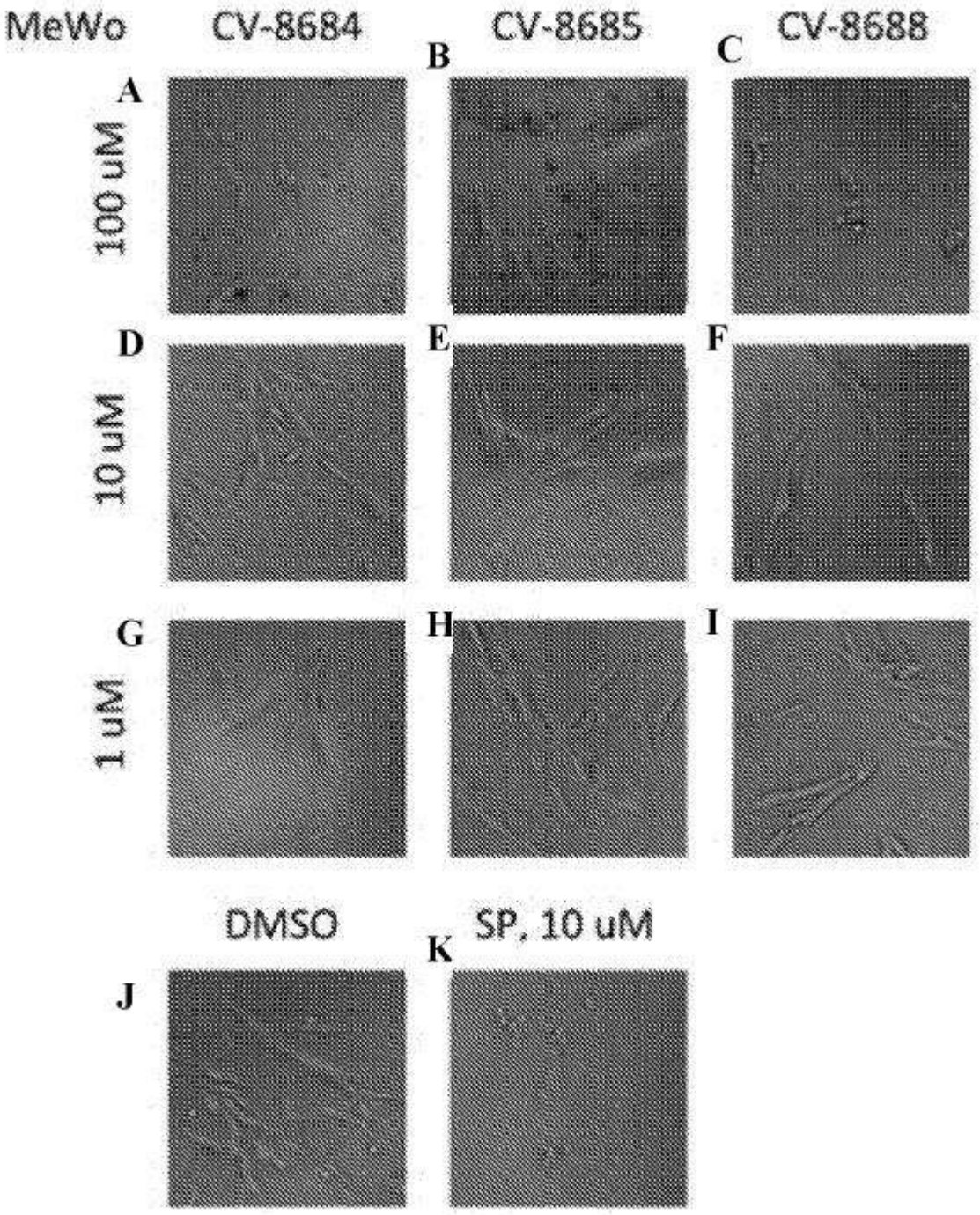
# Figs. 5A-5K


MeWo
CV-8684
B
CV-8685
C
CV-8688
A
100 uM
D
E
F
10 uM
G
H
I
1 uM
DMSO
K
SP, 10 uM
J

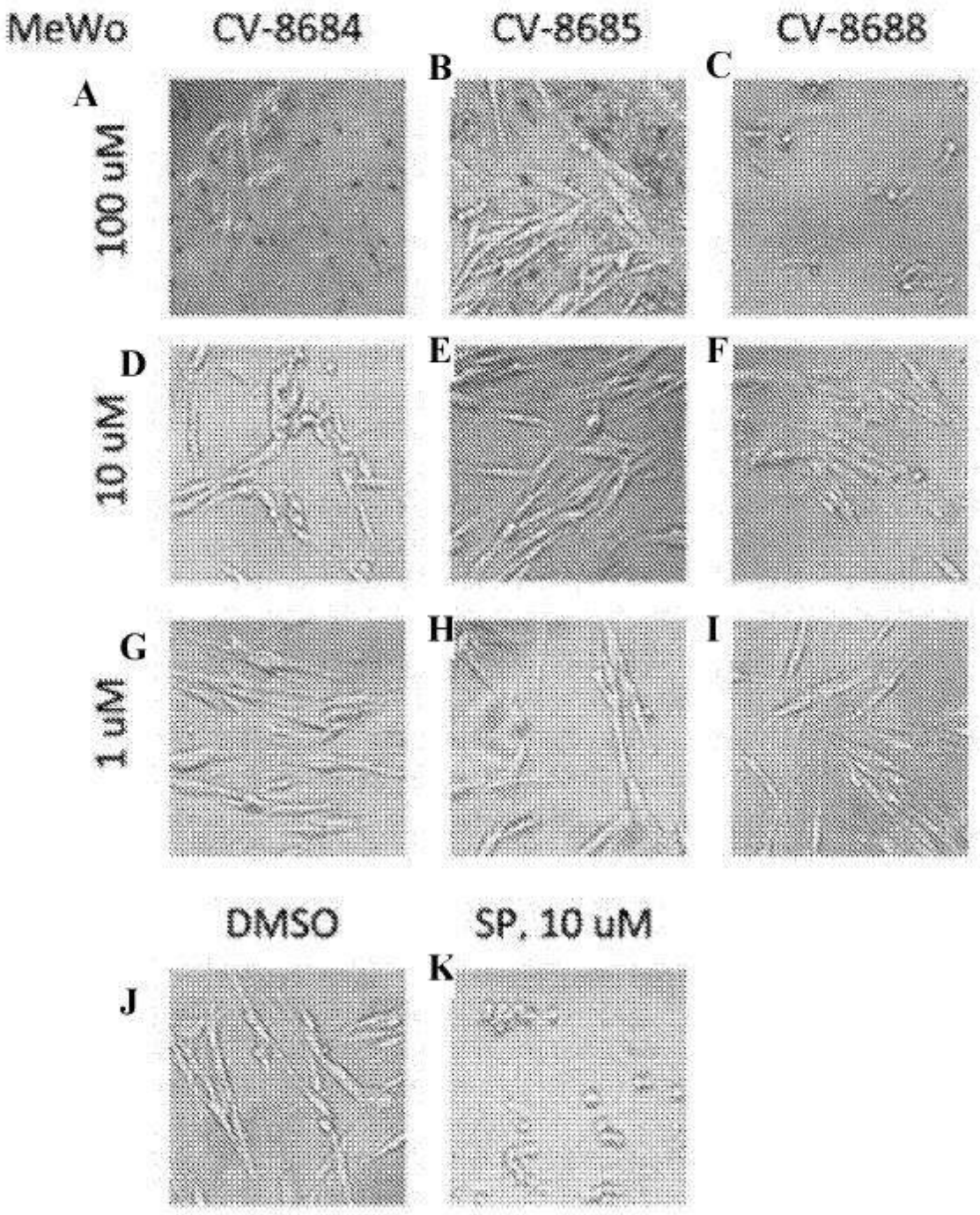
# Figs. 6A-6K


MeWo
CV-8684
CV-8685
CV-8688
A
B
C
100 uM
D
E
F
10 uM
G
H
I
1 uM
DMSO
K
SP, 10 uM
J

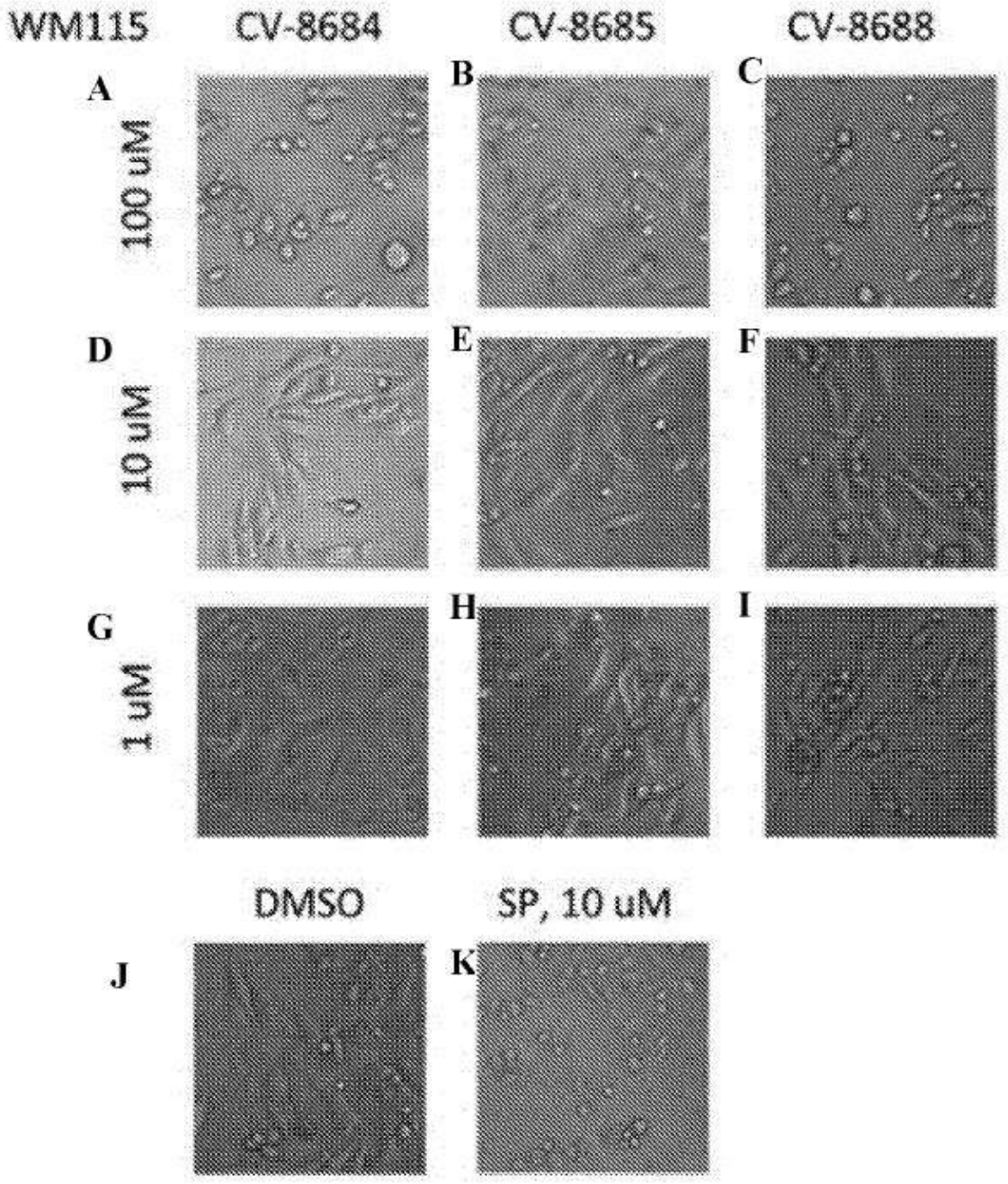
# Figs. 7A-7K


MeWo
CV-8684
CV-8685
CV-8688
A
B
C
100 uM
D
E
F
10 uM
G
H
I
1 uM
DMSO
SP, 10 uM
J
K

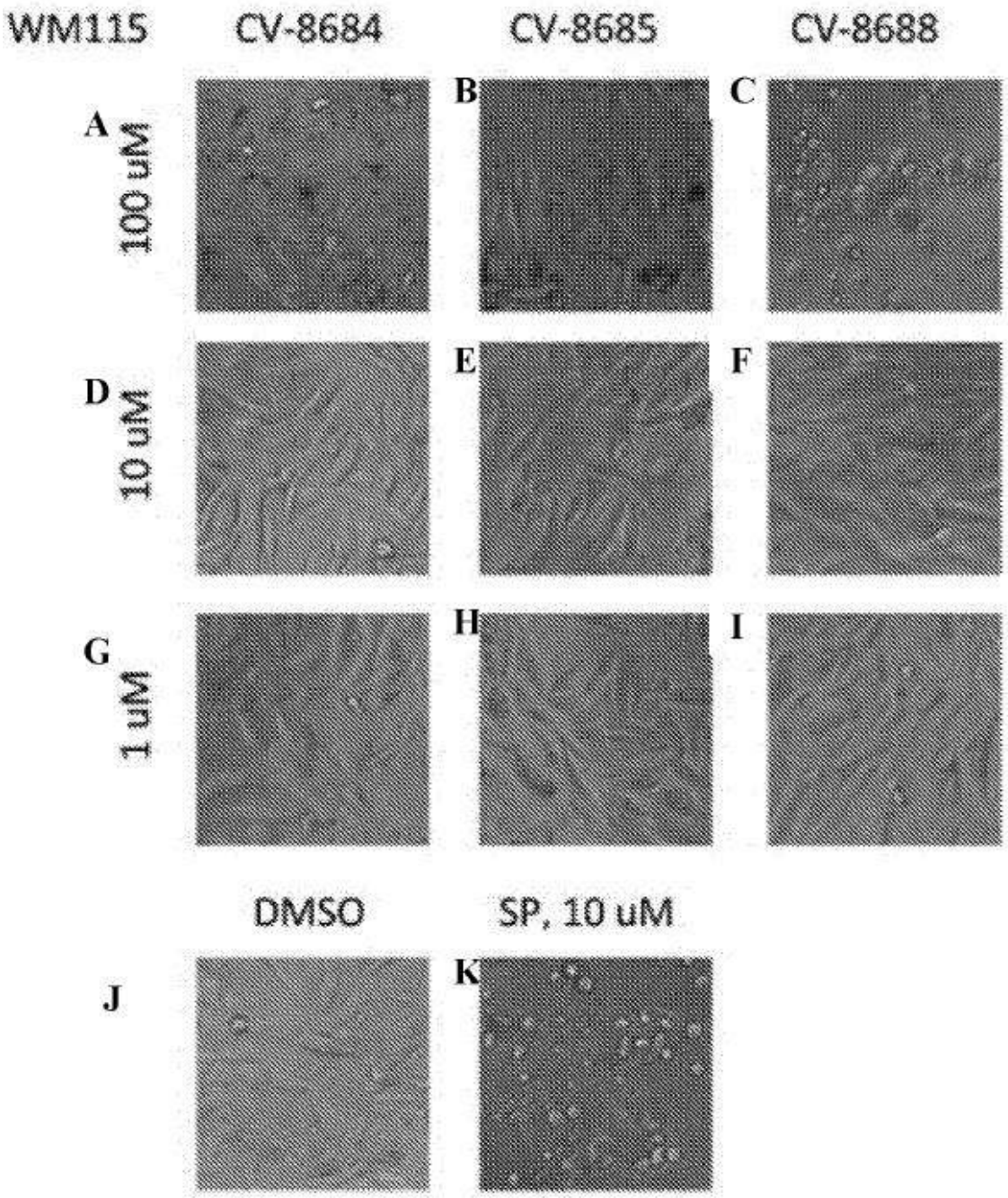
# Figs. 8A-8K


MeWo
CV-8684
CV-8685
CV-8688
A
B
C
100 uM
D
E
F
10 uM
G
H
I
1 uM
DMSO
SP, 10 uM
J
K

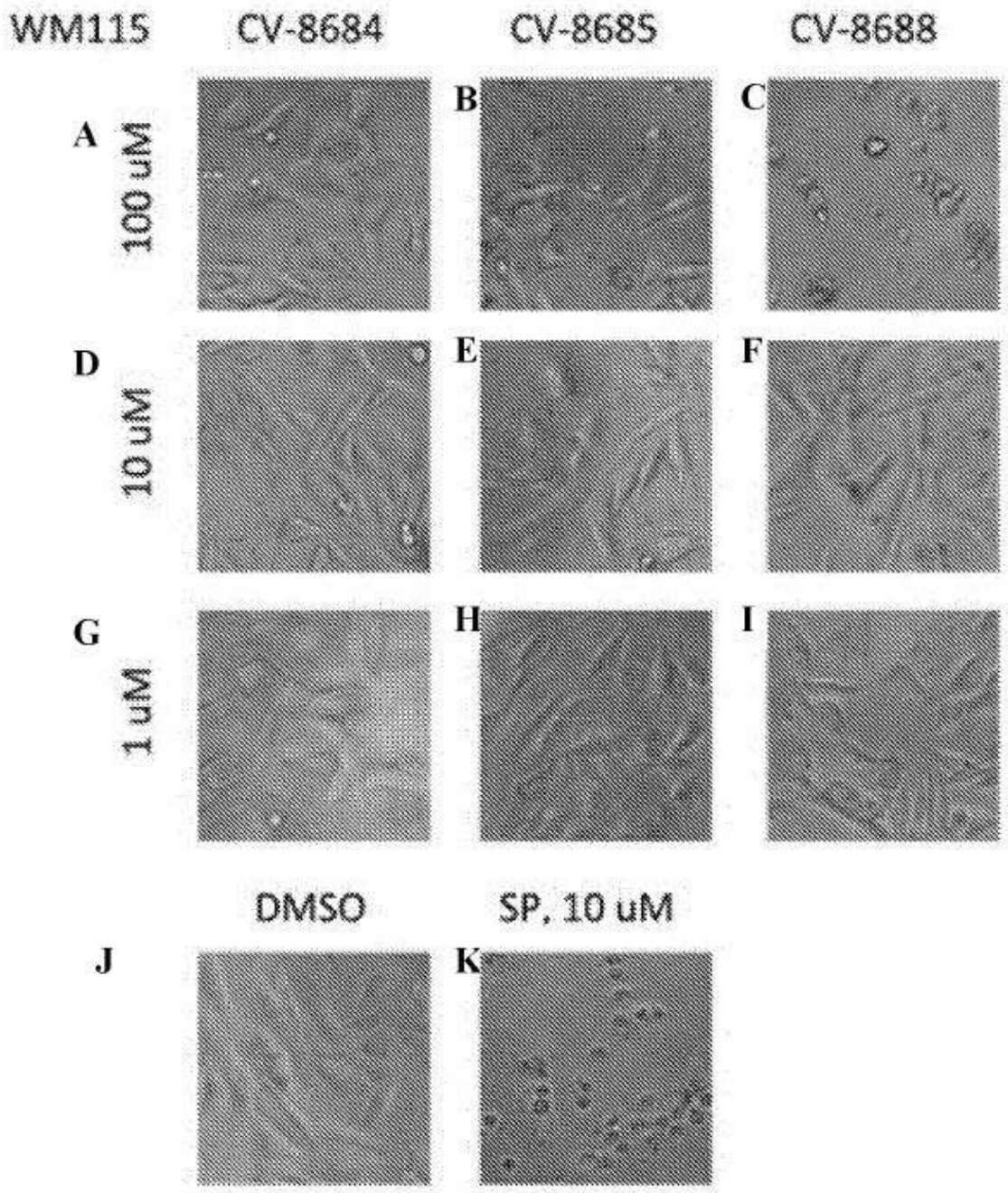
# Figs. 9A-9K


WM115
CV-8684
CV-8685
CV-8688
A
B
C
100 uM
D
E
F
10 uM
G
H
I
1 uM
DMSO
SP, 10 uM
J
K

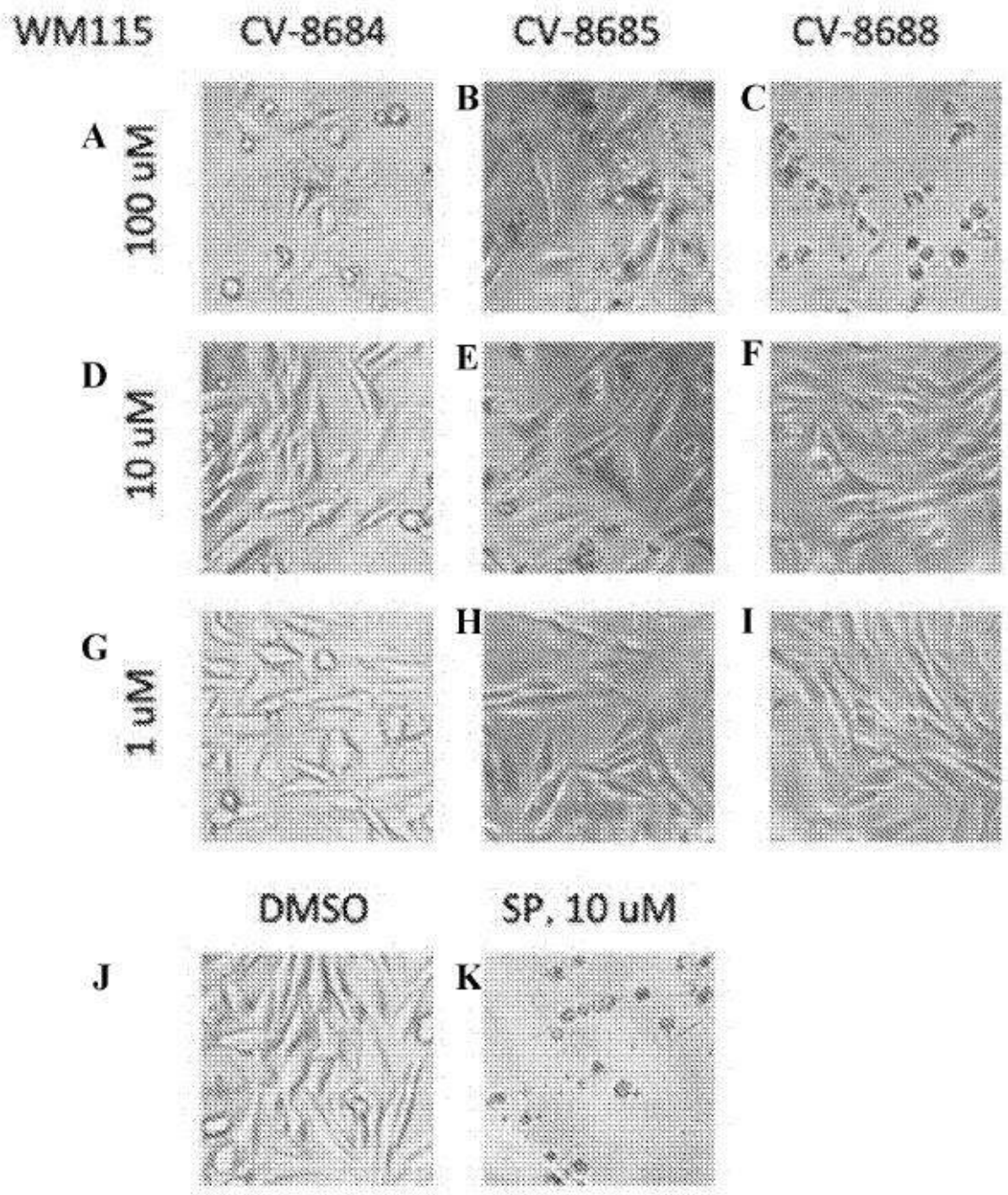
# Figs. 10A-10K


WM115
CV-8684
CV-8685
CV-8688
A
100 uM
B
C
D
10 uM
E
F
G
1 uM
H
I
DMSO
SP, 10 uM
J
K

# Figs. 11A-11K


WM115
CV-8684
CV-8685
CV-8688
A
100 uM
B
C
D
10 uM
E
F
G
1 uM
H
I
DMSO
SP, 10 uM
J
K

# Figs. 12A-12K


WM115
CV-8684
CV-8685
CV-8688
A
100 uM
B
C
D
10 uM
E
F
G
1 uM
H
I
DMSO
SP, 10 uM
J
K

# Fig. 13A

| Tempo de ensaio | MeWo CTG Dose | CV-8684 Viabilidade celular restante (%) n=1 | n=2 | Média | DP | WM115 CTG Dose | CV-8684 Viabilidade celular restante (%) n=1 | n=2 | Média | DP |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 6 h | 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 h | 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 h | 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 h | 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 |

# Fig. 13B

| Tempo de ensaio | MeWo CTG Dose | CV-8685 Viabilidade celular restante (%) n=1 | n=2 | Média | DP | WM115 CTG Dose | CV-8685 Viabilidade celular restante (%) n=1 | n=2 | Média | DP |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 6 h | 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 h | 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 h | 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 h | 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 |

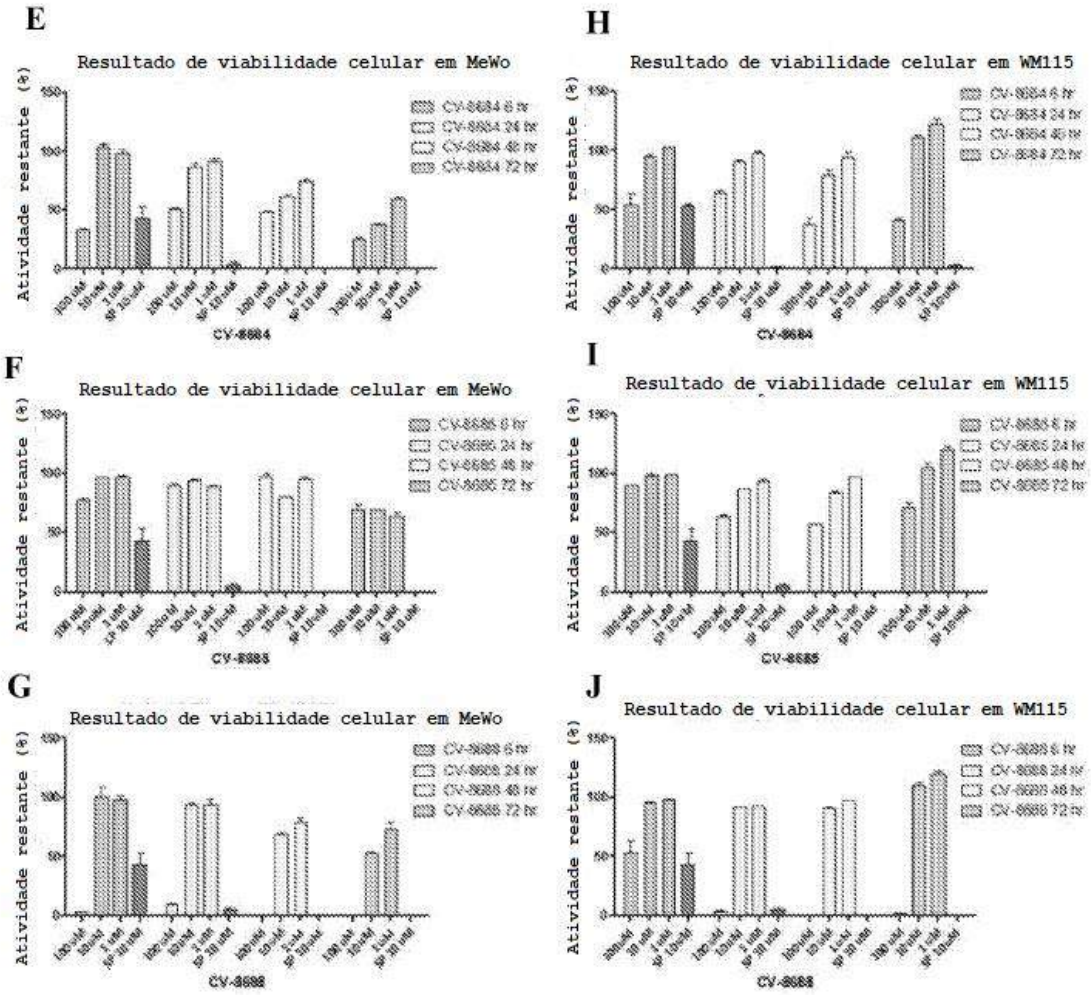
# Fig. 13C

| Tempo de ensaio | MeWo CTG Dose | CV-8688 Viabilidade celular restante (%) n=1 | n=2 | Média | DP | WM115 CTG Dose | CV-8688 Viabilidade celular restante (%) n=1 | n=2 | Média | DP |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 6 h | 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 h | 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 h | 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 h | 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 |

# Fig. 13D

| Tempo de ensaio | MeWo CTG Dose | Estaurosporina Viabilidade celular restante (%) n=1 | n=2 | Média | DP | WM115 CTG Dose | Estaurosporina Viabilidade celular restante (%) n=1 | n=2 | Média | DP |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 6 h | 10 | 33.39 | 53.30 | 43.34 | 14.08 | 10 | 55.46 | 51.29 | 53.38 | 2.95 |
| 24 h | 10 | 6.94 | 2.53 | 4.73 | 3.11 | 10 | 1.29 | 1.16 | 1.23 | 0.09 |
| 48 h | 10 | 0.84 | 0.61 | 0.73 | 0.16 | 10 | 0.54 | 0.55 | 0.55 | 0.00 |
| 72 h | 10 | 0.62 | 0.63 | 0.63 | 0.01 | 10 | 2.65 | 2.78 | 2.71 | 0.09 |

# Figs. 13E-13J


E
Resultado de viabilidade celular em MeWo
Atividade restante (%)
CV-8684
H
Resultado de viabilidade celular em WM115
Atividade restante (%)
CV-8684
F
Resultado de viabilidade celular em MeWo
Atividade restante (%)
CV-8685
I
Resultado de viabilidade celular em WM115
Atividade restante (%)
CV-8685
G
Resultado de viabilidade celular em MeWo
Atividade restante (%)
CV-8688
J
Resultado de viabilidade celular em WM115
Atividade restante (%)
CV-8688

# Fig. 13K

| | Viabilidade celular (% de células viáveis) | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | Linhagem de célula MeWo | | | Linhagem de célula WM115 | | |
| | 24 h | 48 h | 72 h | 24 h | 48 h | 72 h |
| Malassezina (100 µM) | 51% | 49% | 25% | 64% | 37% | 41% |
| Indolocarbazol (100 µM) | 90% | 97% | 70% | 64% | 57% | 72% |
| Composto II (100 µM) | 9% | 1% | 1% | 3% | 1% | 2% |
| Estaurosporina (10 µM) PC | 5% | 1% | 1% | 1% | 1% | 3% |

# Fig. 14A

| Tempo de ensaio | MeWo LDH Dose | CV-8684 Nível de LDH (%) n=1 | n=2 | Média | DP | WM115 LDH Dose | CV-8684 Nível de LDH (%) n=1 | n=2 | Média | DP |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 6 h | 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 h | 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 h | 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 h | 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 |

# Fig. 14B

| Tempo de ensaio | MeWo LDH Dose | CV-8685 Nível de LDH (%) n=1 | n=2 | Média | DP | WM115 LDH Dose | CV-8685 Nível de LDH (%) n=1 | n=2 | Média | DP |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 6 h | 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 h | 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 h | 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 h | 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 |

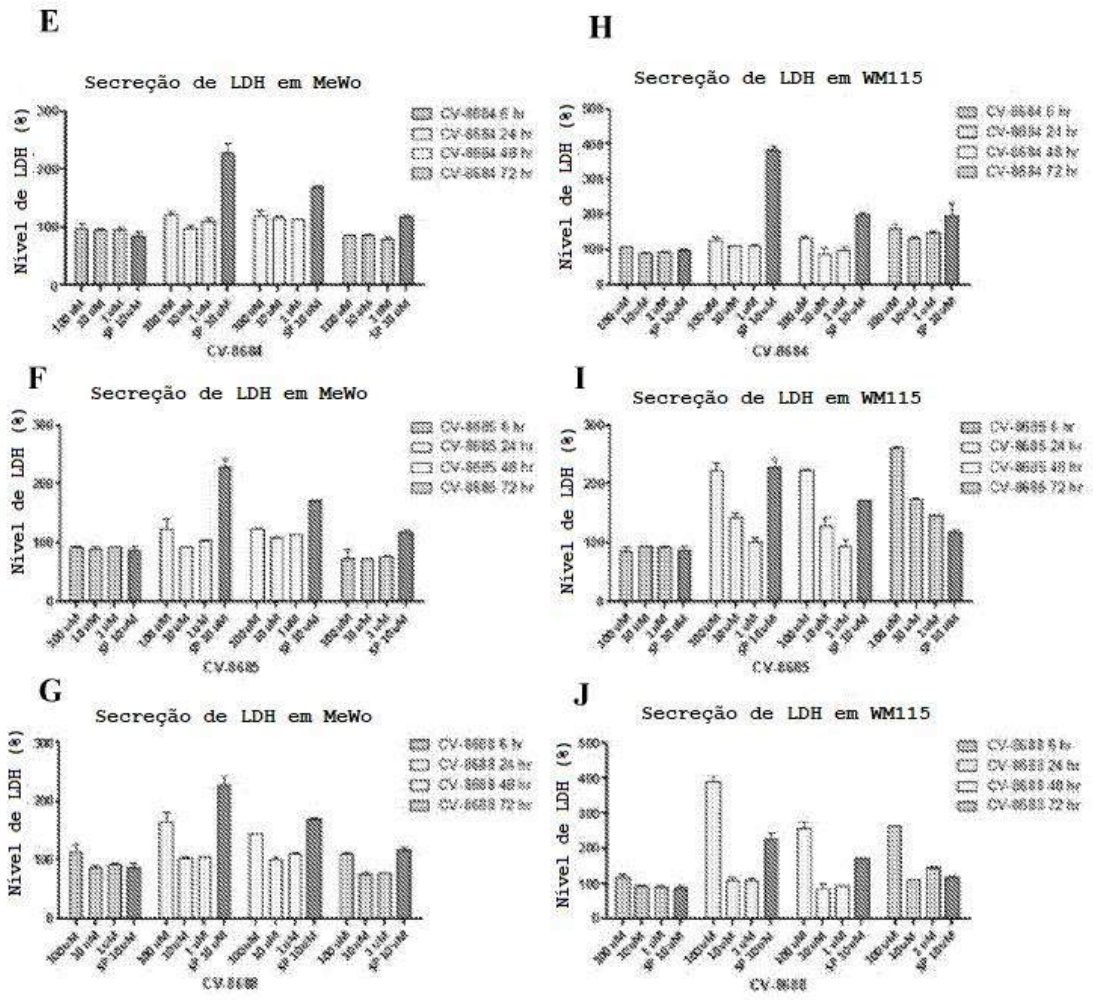
# Fig. 14C

| Tempo de ensaio | MeWo LDH Dose | CV-8688 Nível de LDH (%) n=1 | n=2 | Média | DP | WM115 LDH Dose | CV-8688 Nível de LDH (%) n=1 | n=2 | Média | DP |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 6 h | 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 h | 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 h | 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 h | 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 |

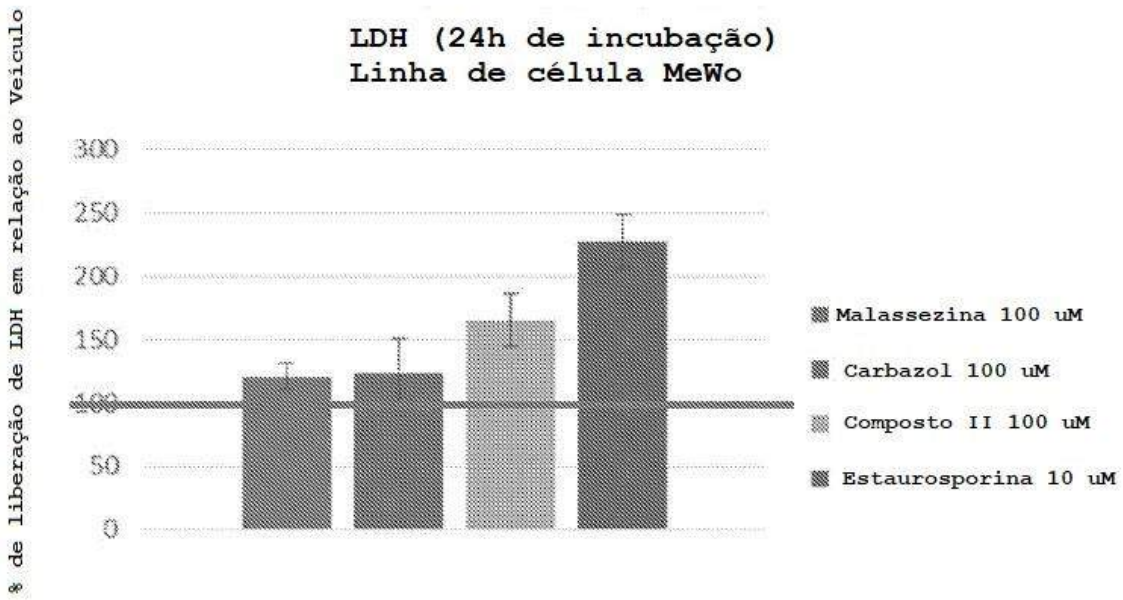
# Fig. 14D

| Tempo de ensaio | MeWo LDH Dose | Estaurosporina Nível de LDH (%) n=1 | n=2 | Média | DP | WM115 LDH Dose | Estaurosporina Nível de LDH (%) n=1 | n=2 | Média | DP |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 6 h | 10 | 80.82 | 93.35 | 87.09 | 8.86 | 100 | 96.35 | 101.90 | 99.13 | 3.92 |
| 24 h | 10 | 243.09 | 212.50 | 227.80 | 21.63 | 100 | 394.99 | 371.77 | 383.38 | 16.42 |
| 48 h | 10 | 170.60 | 171.35 | 170.98 | 0.53 | 100 | 207.76 | 185.08 | 196.42 | 16.04 |
| 72 h | 10 | 114.91 | 122.19 | 118.55 | 5.15 | 100 | 158.74 | 233.56 | 196.15 | 52.91 |

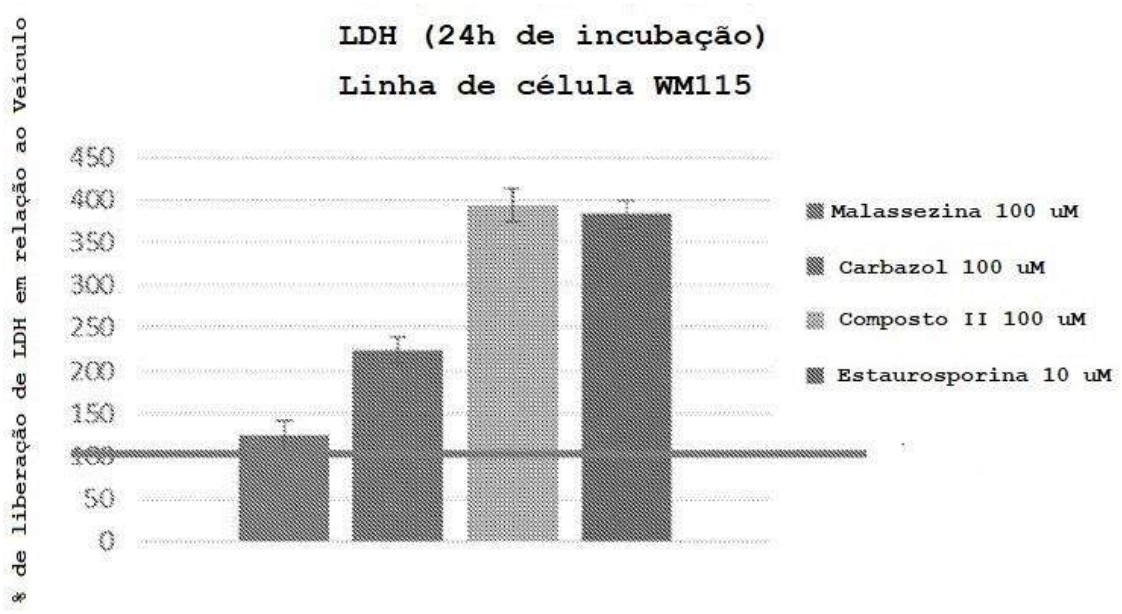
# Figs. 14E-14J


E
Secreção de LDH em MeWo
Nivel de LDH (%)
CV-8684 6 hr
CV-8684 24 hr
CV-8684 48 hr
CV-8684 72 hr
CV-8684
H
Secreção de LDH em WM115
Nivel de LDH (%)
CV-8684 6 hr
CV-8684 24 hr
CV-8684 48 hr
CV-8684 72 hr
CV-8684
F
Secreção de LDH em MeWo
Nivel de LDH (%)
CV-8685 6 hr
CV-8685 24 hr
CV-8685 48 hr
CV-8685 72 hr
CV-8685
I
Secreção de LDH em WM115
Nivel de LDH (%)
CV-8685 6 hr
CV-8685 24 hr
CV-8685 48 hr
CV-8685 72 hr
CV-8685
G
Secreção de LDH em MeWo
Nivel de LDH (%)
CV-8688 6 hr
CV-8688 24 hr
CV-8688 48 hr
CV-8688 72 hr
CV-8688
J
Secreção de LDH em WM115
Nivel de LDH (%)
CV-8688 6 hr
CV-8688 24 hr
CV-8688 48 hr
CV-8688 72 hr
CV-8688

# Fig. 14K


LDH (24h de incubação)
Linha de célula MeWo
% de liberação de LDH em relação ao Veículo
300
250
200
150
100
50
0
Malassezina 100 uM
Carbazol 100 uM
Composto II 100 uM
Estaurosporina 10 uM

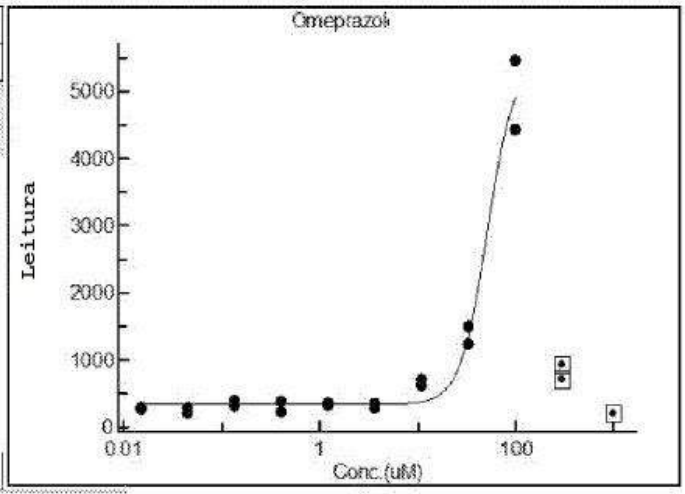
# Fig. 14L


LDH (24h de incubação)
Linha de célula WM115
% de liberação de LDH em relação ao Veículo
450
400
350
300
250
200
150
100
50
0
Malassezina 100 uM
Carbazol 100 uM
Composto II 100 uM
Estaurosporina 10 uM

# Fig. 15A

ID. do Composto **Omeprazol**

| | Leitura | |
|---|---|---|
| **Conc.(uM)** | **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 |

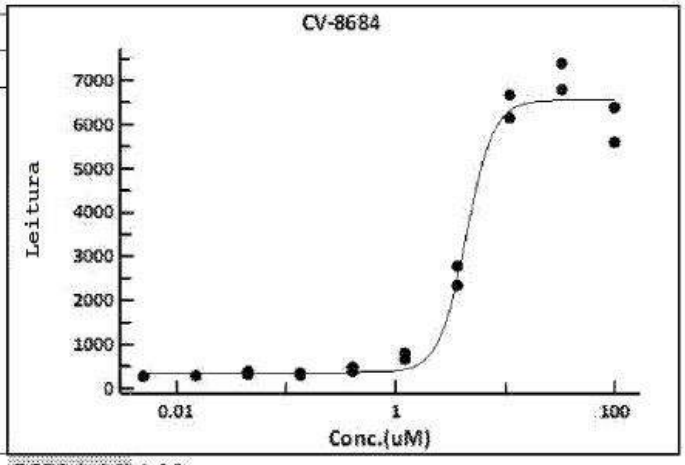



EC50 (uM) 51.01

# Fig. 15B

ID. do Composto CV-8684

| | Leitura | |
|---|---|---|
| Conc.(uM) | 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 |

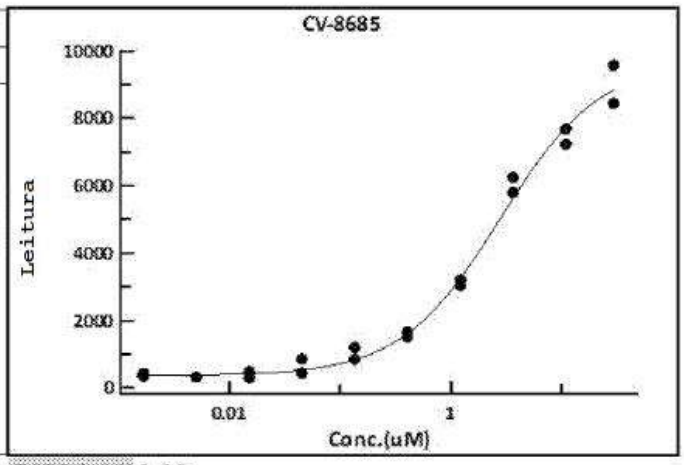



EC50 (uM) 4.39

# Fig. 15C

ID. do Composto CV-8685

| | Leitura | |
|---|---|---|
| Conc.(uM) | 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 |

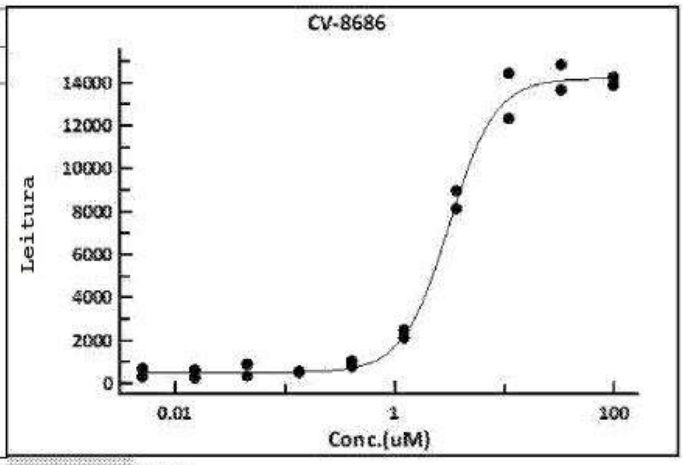



EC50 (uM) 2.80

# Fig. 15D

ID. do Composto CV-8686

| | Leitura | |
|---|---|---|
| Conc.(uM) | 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 |

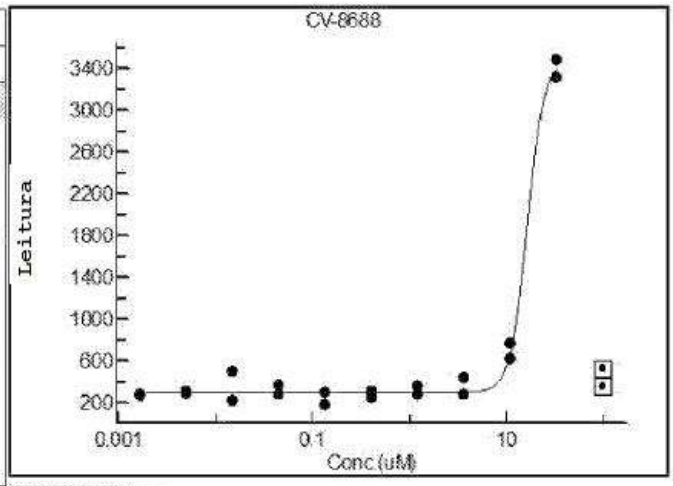



EC50 (uM) 3.13

# Fig. 15E

ID. do Composto **CV-8688**

| | Leitura | |
|---|---|---|
| **Conc.(uM)** | **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 (uM) 16.41

# Fig. 15F

| Códigos dos compostos | ID. do Composto | EC50(uM) |
|---|---|---|
| PC | Omeprazol | 51.01 |
| Cpd01 | CV-8684 | 4.39 |
| Cpd02 | CV-8685 | 2.80 |
| Cpd03 | CV-8686 | 3.13 |
| Cpd04 | CV-8688 | 16.41 |

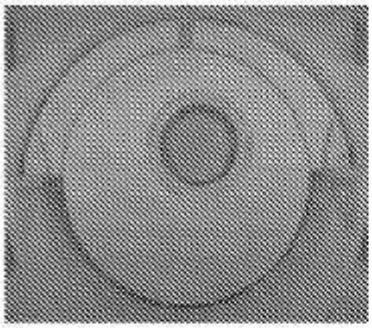
# Figs. 16A-16E

Controles

Dia 0 Dia 7

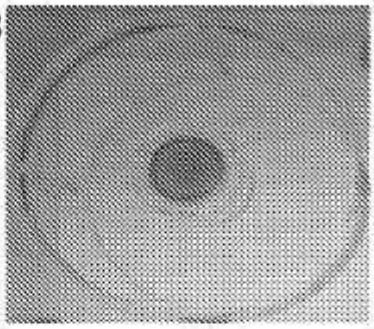
Tecidos não tratados

A



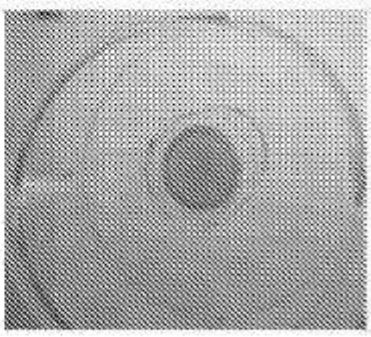
Tecidos tratados com controle negativo (água deionizada estéril)

B



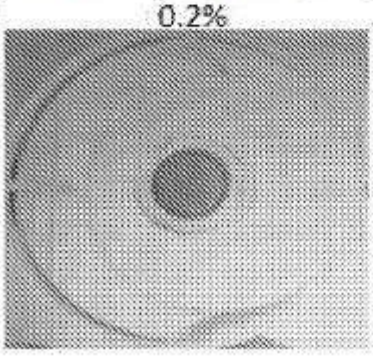
Tecidos tratados com controle positivo (ácido kójico 1%)

C

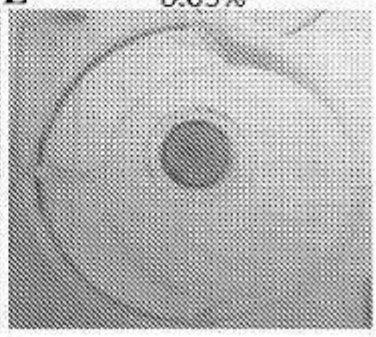


Tecidos tratados com controle de veículo (DMSO)

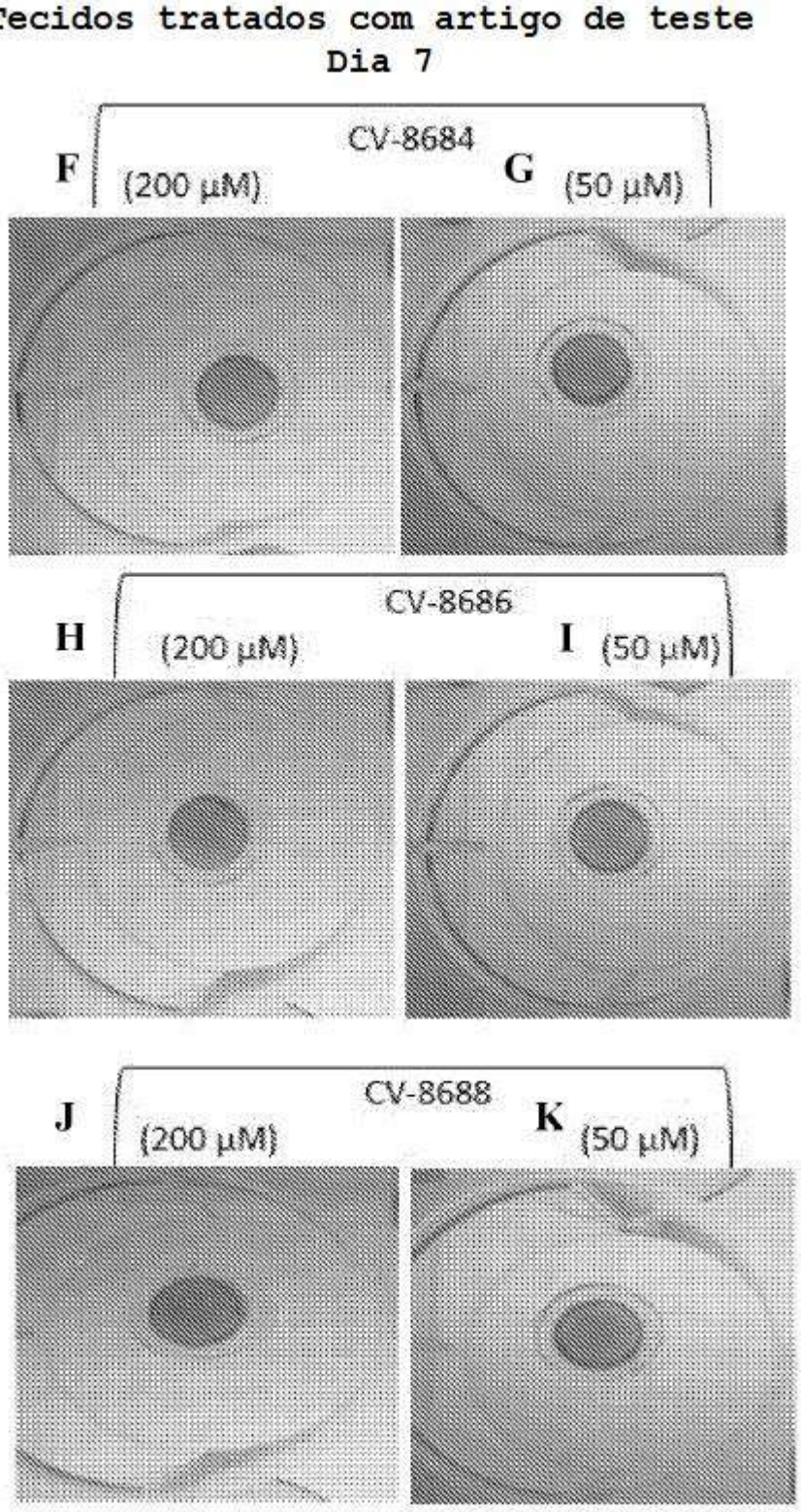
D 0.2%



E 0.05%



# Figs. 16F-16K


Tecidos tratados com artigo de teste
Dia 7
F
CV-8684
(200 µM)
G
(50 µM)
H
CV-8686
(200 µM)
I
(50 µM)
J
CV-8688
(200 µM)
K
(50 µM)

# Figs. 17A-17E

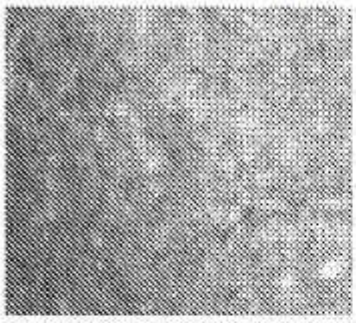
Controles

Dia 0

Dia 7

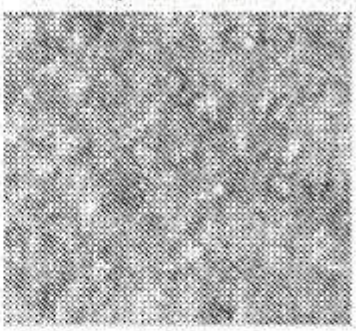
Tecidos não tratados

A



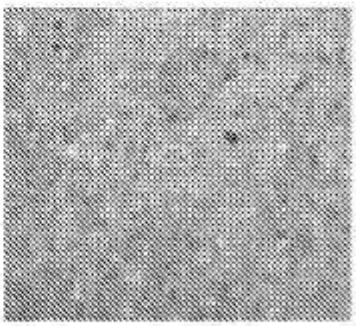
Tecidos tratados com controle negativo (água deionizada estéril)

B



Tecidos tratados com controle positivo (ácido kójico 1%)

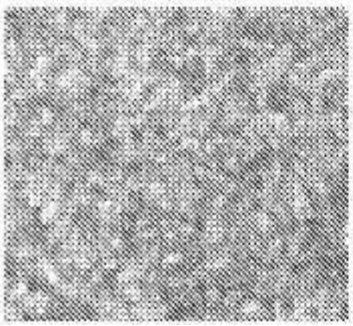
C



Tecidos tratados com controle de veículo (DMSO)

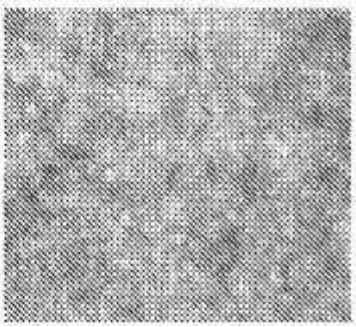
0.2%

D

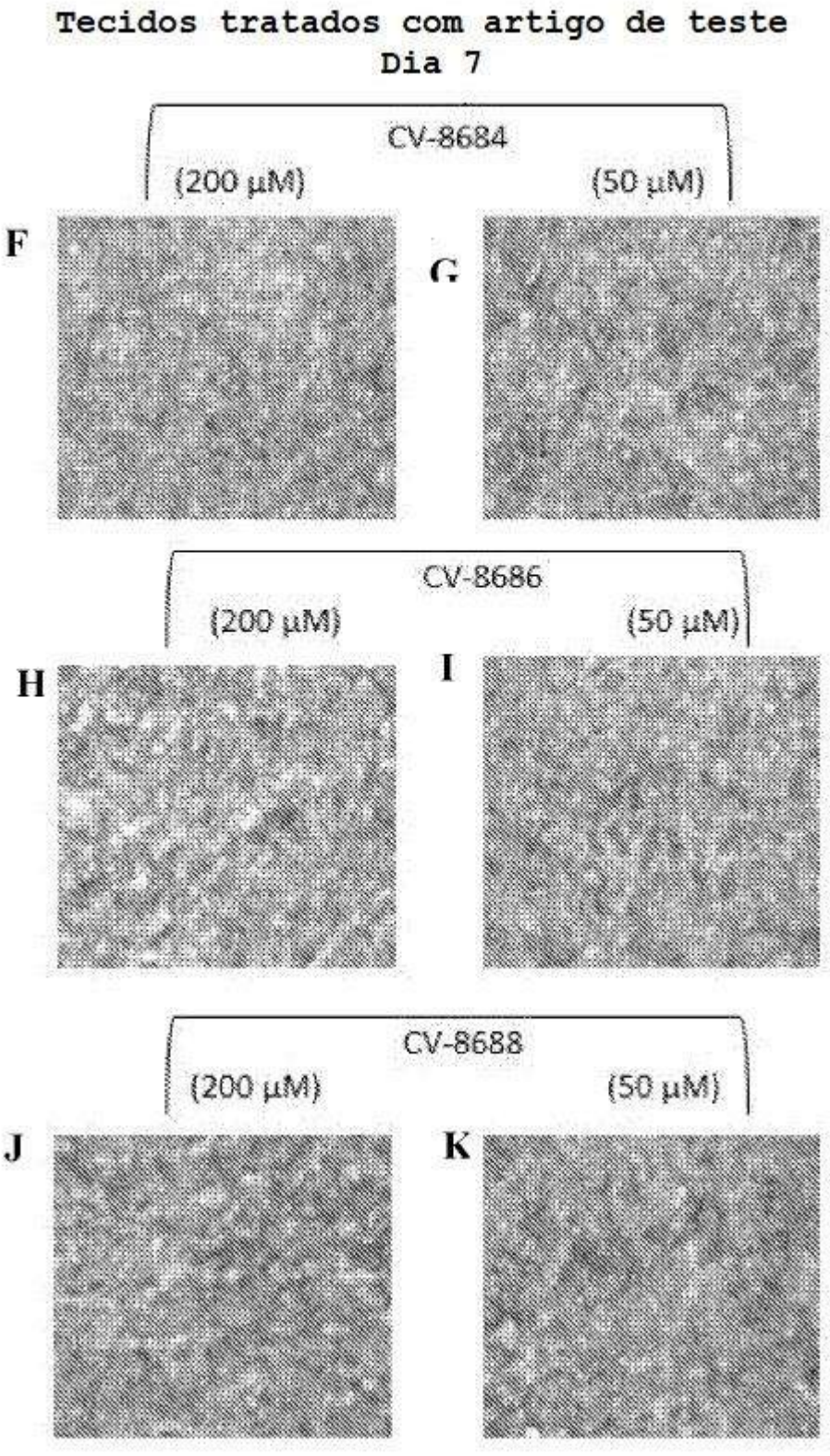


0.05%

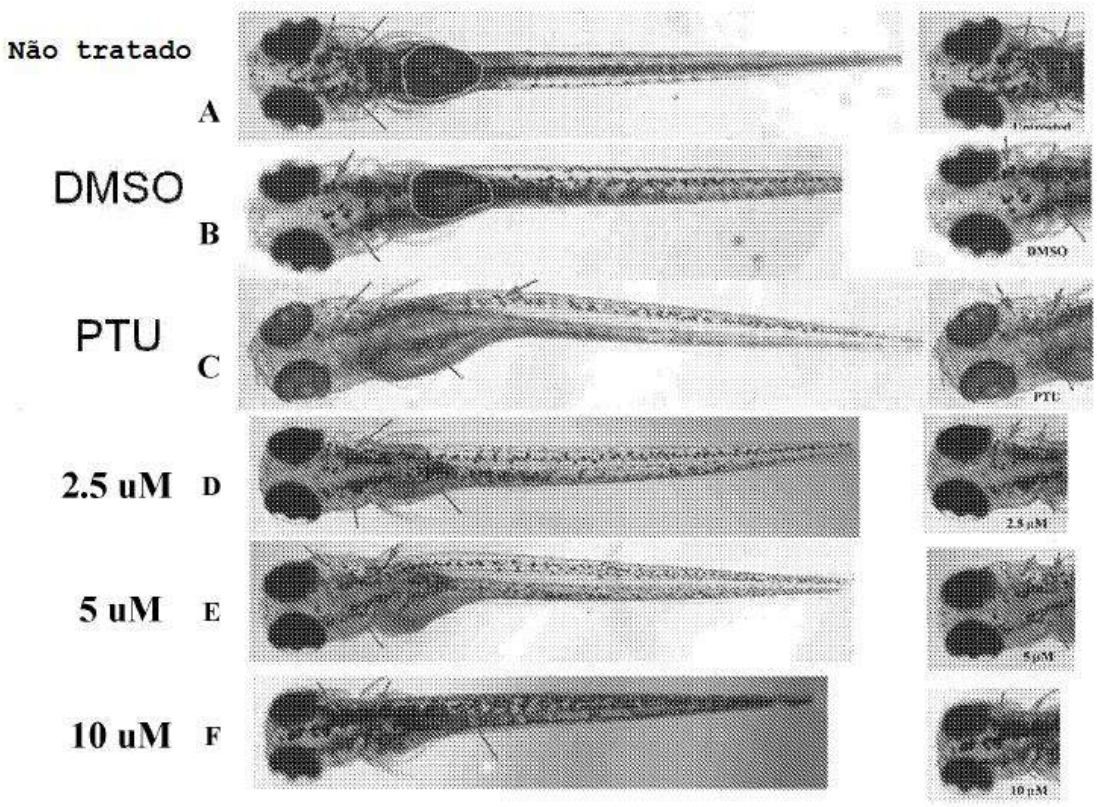
E



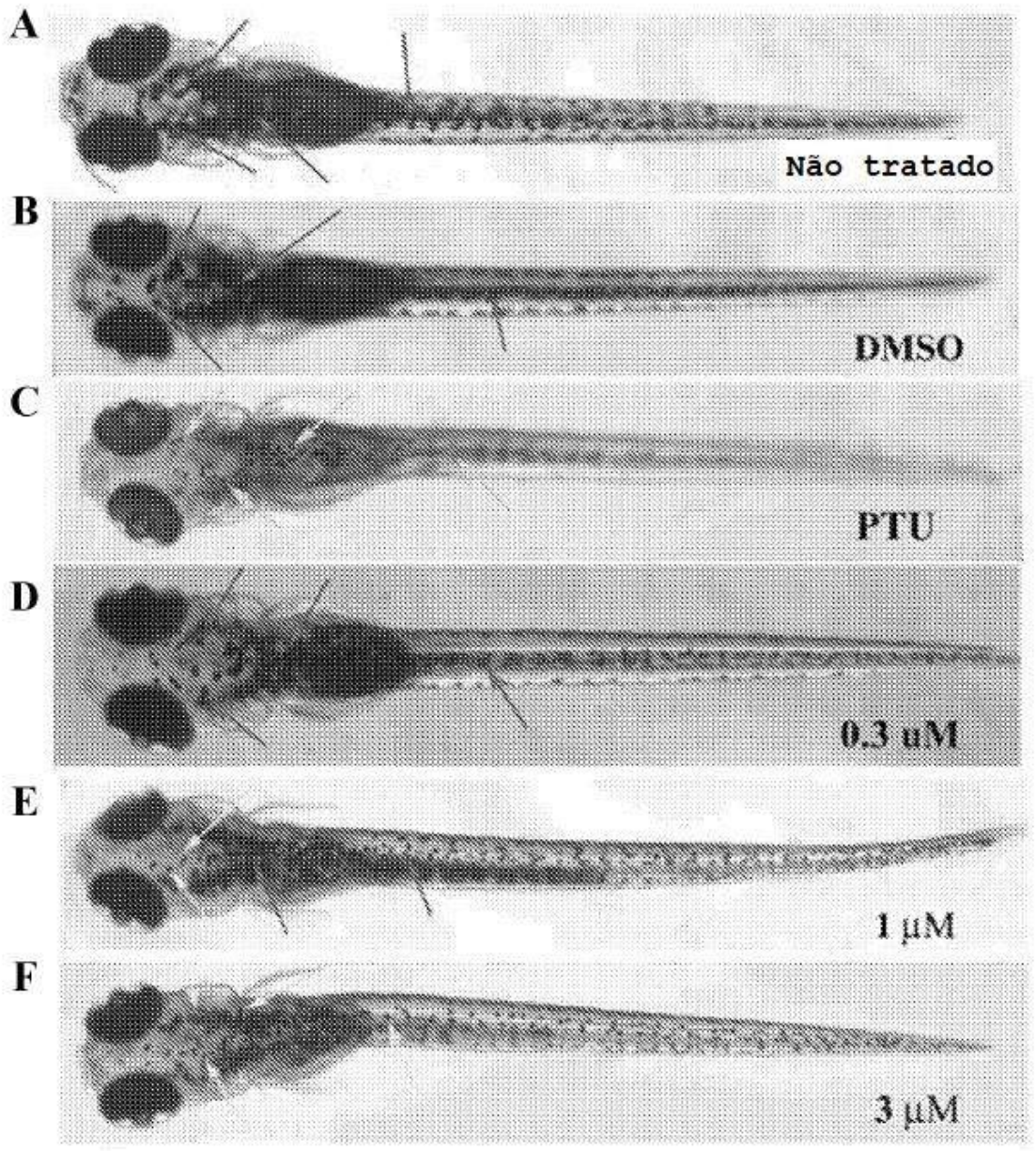
# Figs. 17F-17K


Tecidos tratados com artigo de teste
Dia 7
CV-8684
(200 μM)
(50 μM)
F
G
CV-8686
(200 μM)
(50 μM)
H
I
CV-8688
(200 μM)
(50 μM)
J
K

# Figs. 18A-18F


Não tratado
A
DMSO
B
PTU
C
2.5 uM
D
5 uM
E
10 uM
F
DMSO
PTU
2.5 µM
5 µM
10 µM

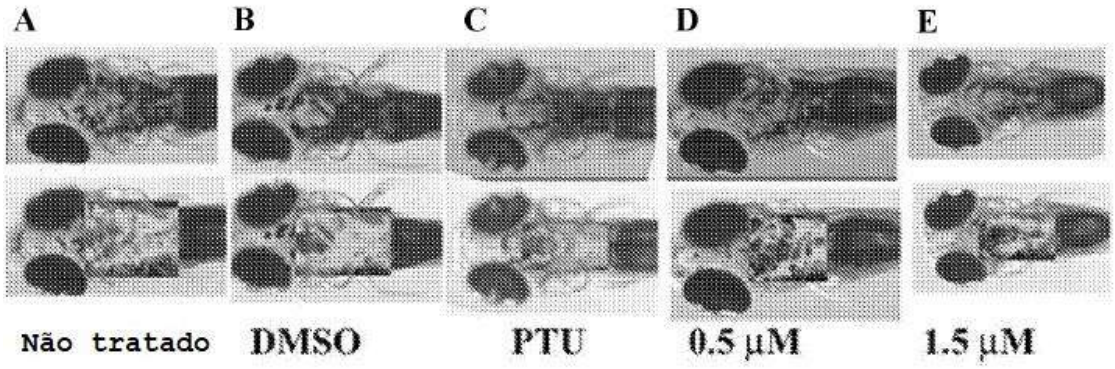
# Figs. 19A-19F



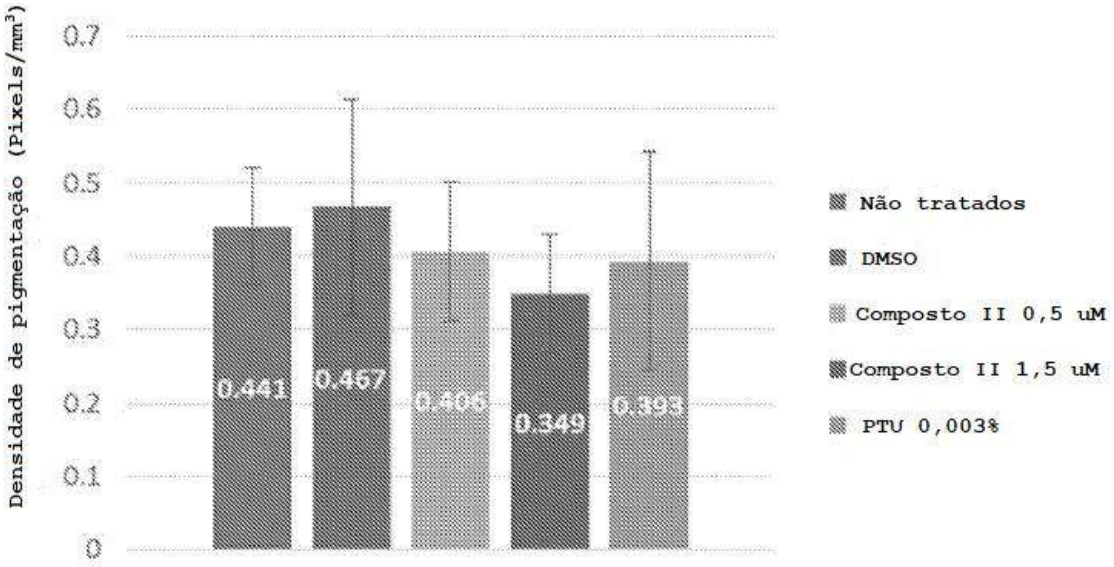
# Fig. 20

| | Número de peixes-zebras com pigmentação da pele diminuída | | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| Condição | Poço 1 | Poço 2 | Poço 3 | Total | % de peixes-zebras com pigmentação da pele diminuída |
| Não tratados | 1 | 0 | 0 | 1 | 3,3 |
| DMSO | 1 | 0 | 0 | 1 | 3,3 |
| PTU 0,003% | 10 | 10 | 10 | 30 | 100,0 |
| 0,3 µM | 0 | 3 | 0 | 3 | 10,0 |
| 1 µM | 2 | 6 | 7 | 15 | 50,0 |
| 2,5 µM | 9 | 10 | 10 | 29 | 96,7 |
| 3 µM | 9 | 7 | 7 | 23 | 76,7 |
| 5 µM* | 7 | 5 | 8 | 20 | 66,7 |
| 10 µM* | 0 | 0 | 1 | 1 | 3,3 |

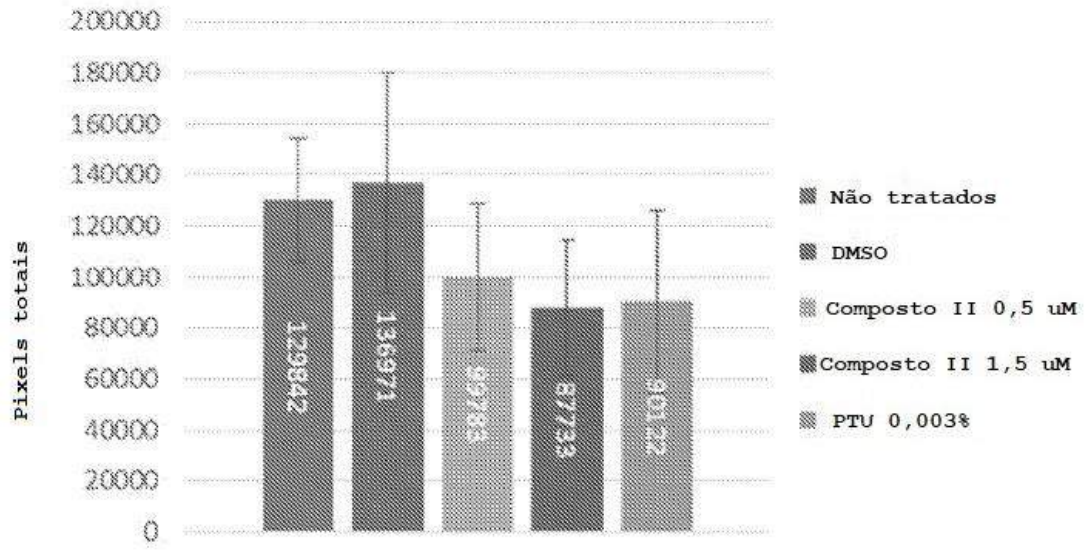
# Figs. 21A-21E



# Fig. 22A

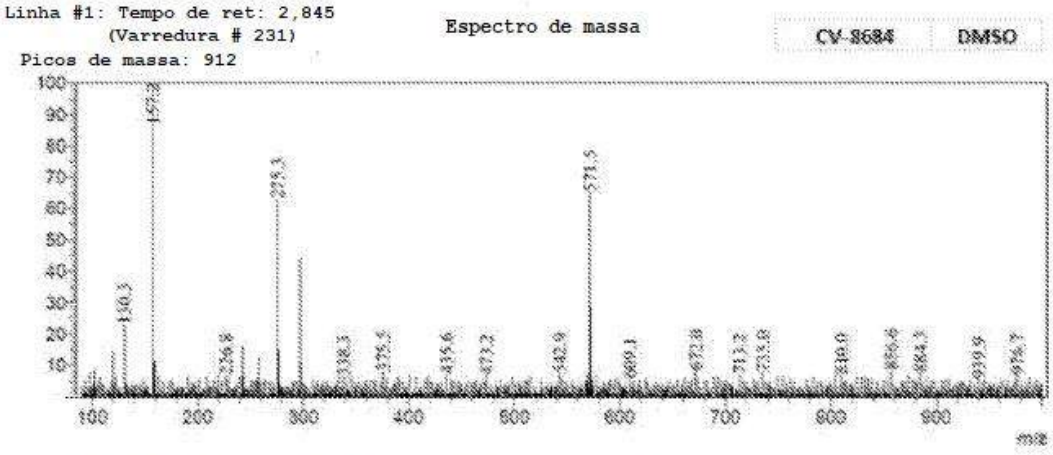

Densidade de pigmentação (Pixels/mm³)
0.7
0.6
0.5
0.4
0.3
0.2
0.1
0
0.441
0.467
0.406
0.349
0.393
Não tratados
DMSO
Composto II 0,5 uM
Composto II 1,5 uM
PTU 0,003%

# Fig. 22B

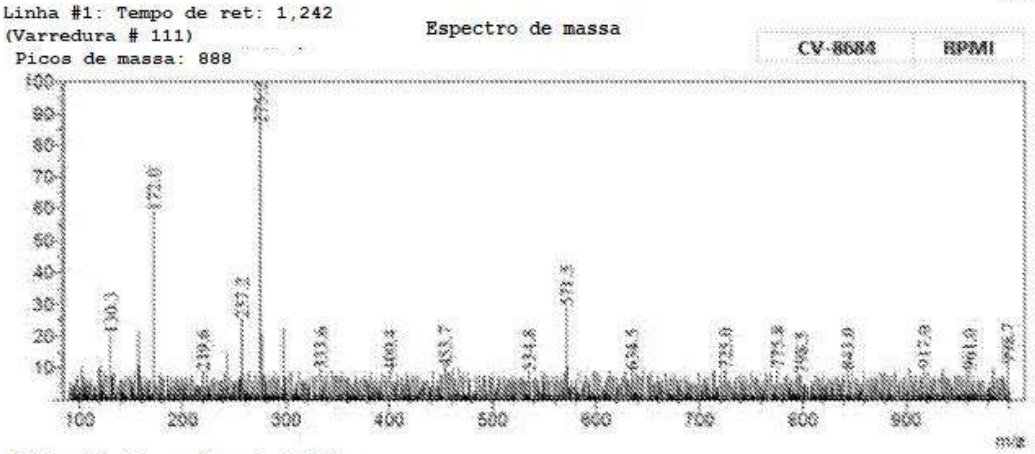

Pixels totais
200000
180000
160000
140000
120000
100000
80000
60000
40000
20000
0
Não tratados
DMSO
Composto II 0,5 uM
Composto II 1,5 uM
PTU 0,003%

# Figs. 23A-23C

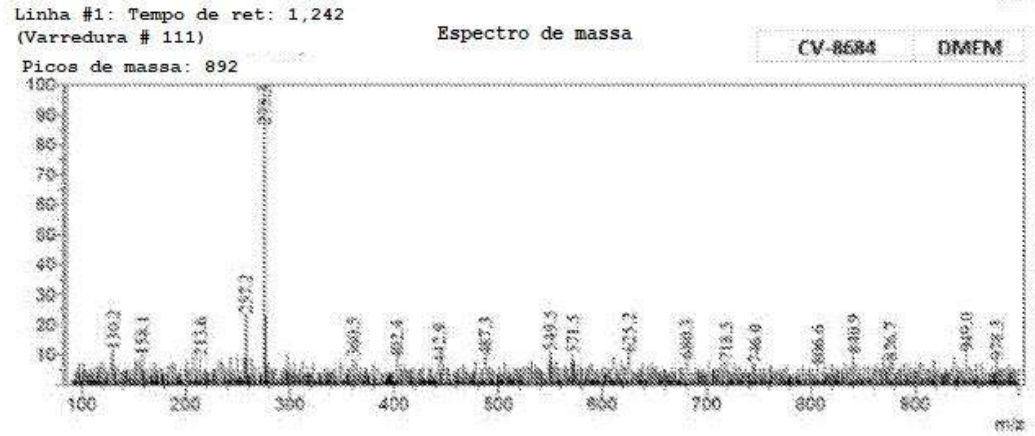
A




B

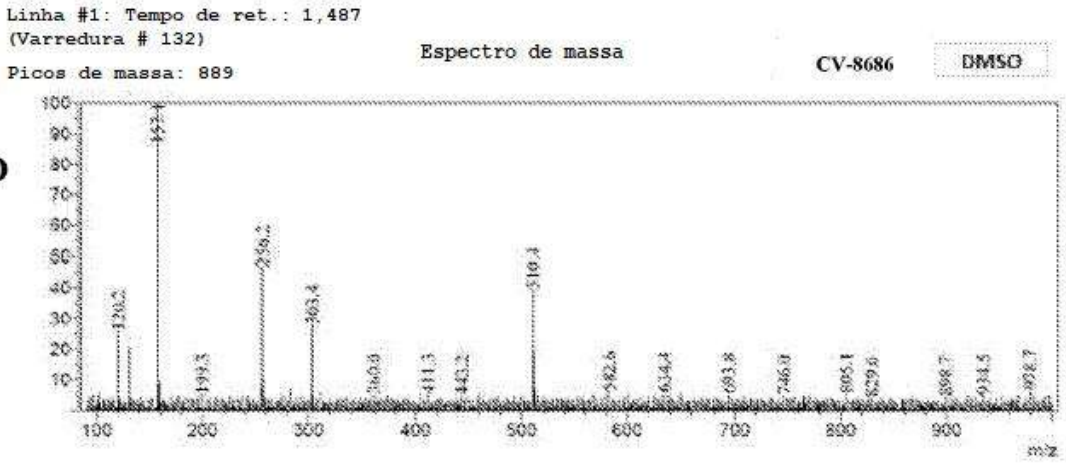



C

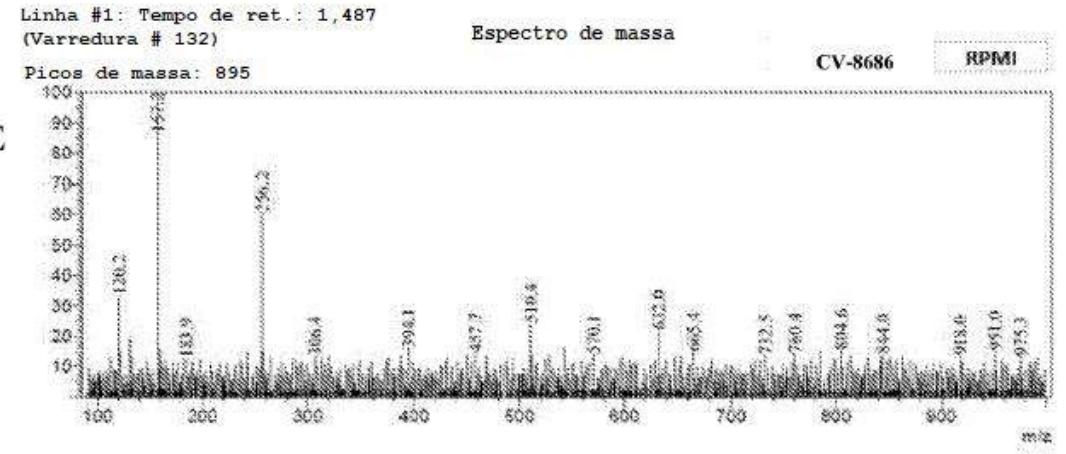


# Figs. 23D-23F

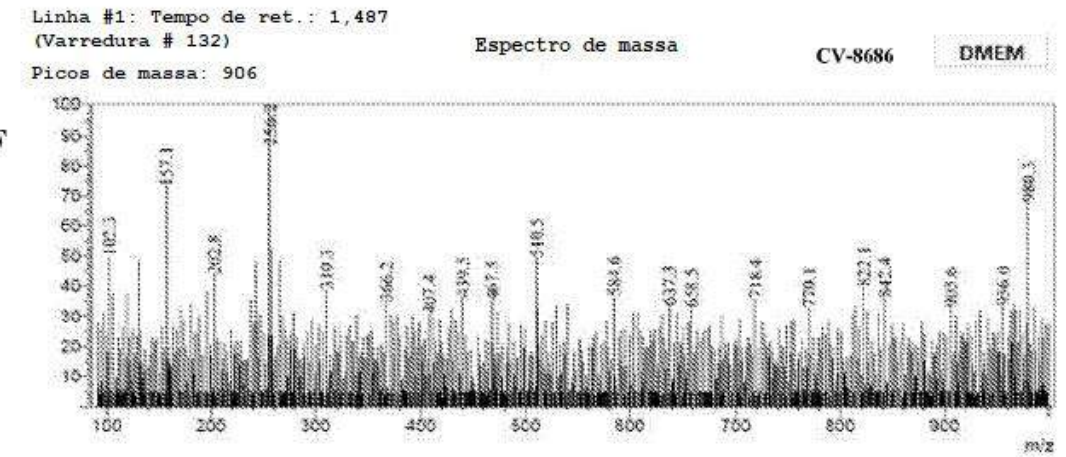
D




E

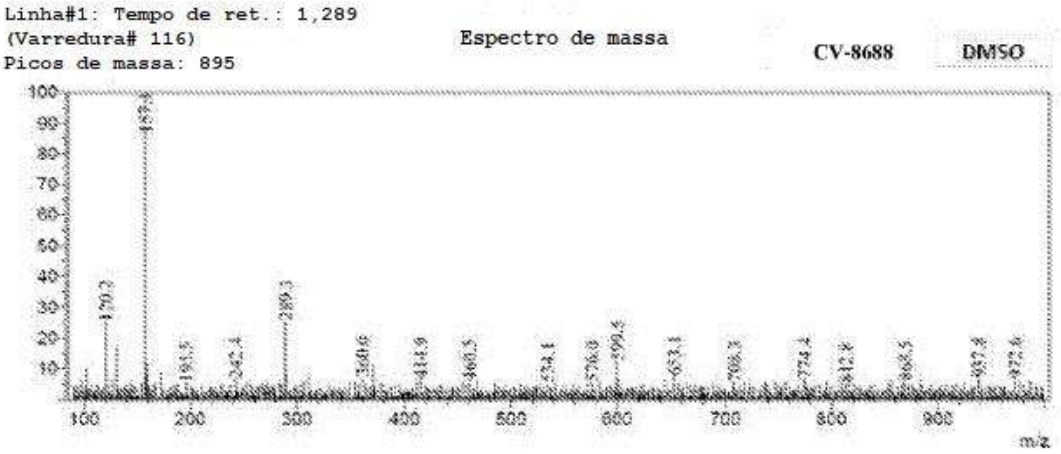



F

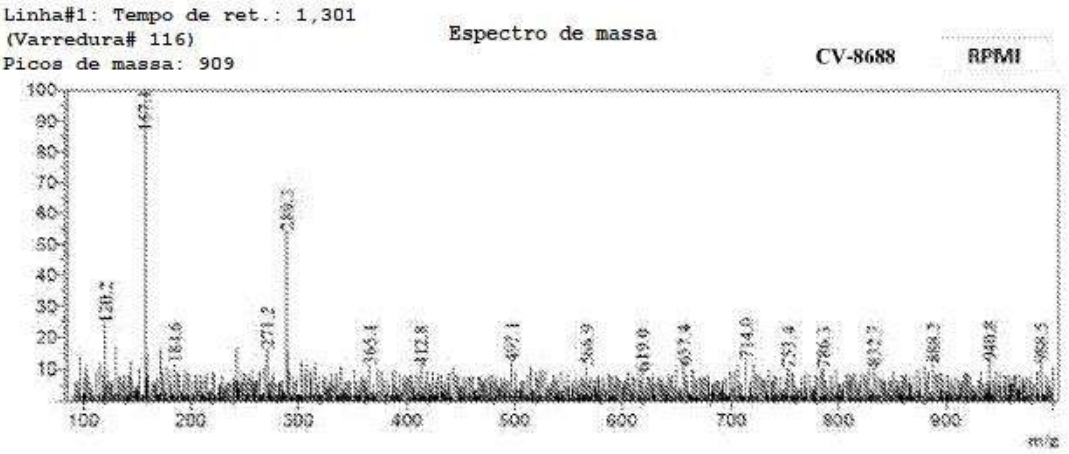


# Figs. 23G-23I

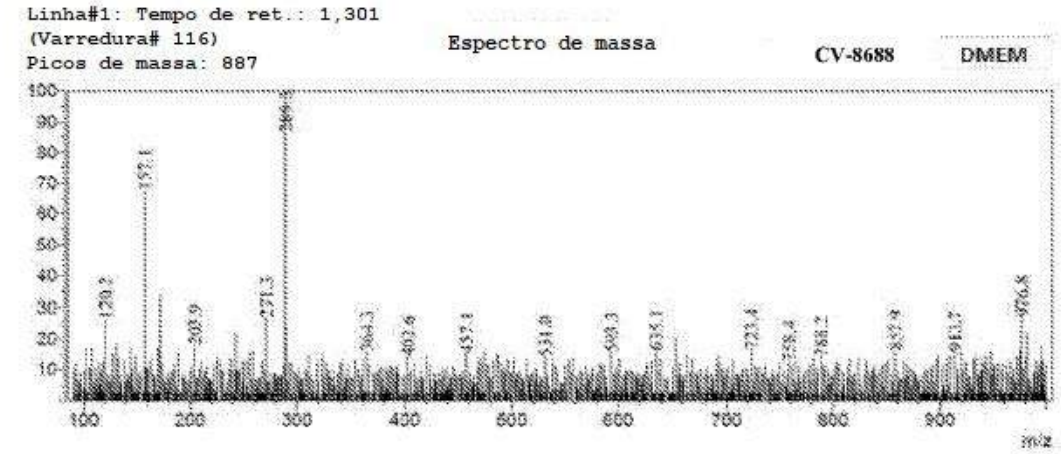
G




H




I



# Fig. 23J

| Composto | Meio | Conc (uM) | Tempo de incubação (h) | ID | Cromatograma: | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | | | Tempo de ret. | Área | % restante |
| 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 |

# Fig. 24

**A**

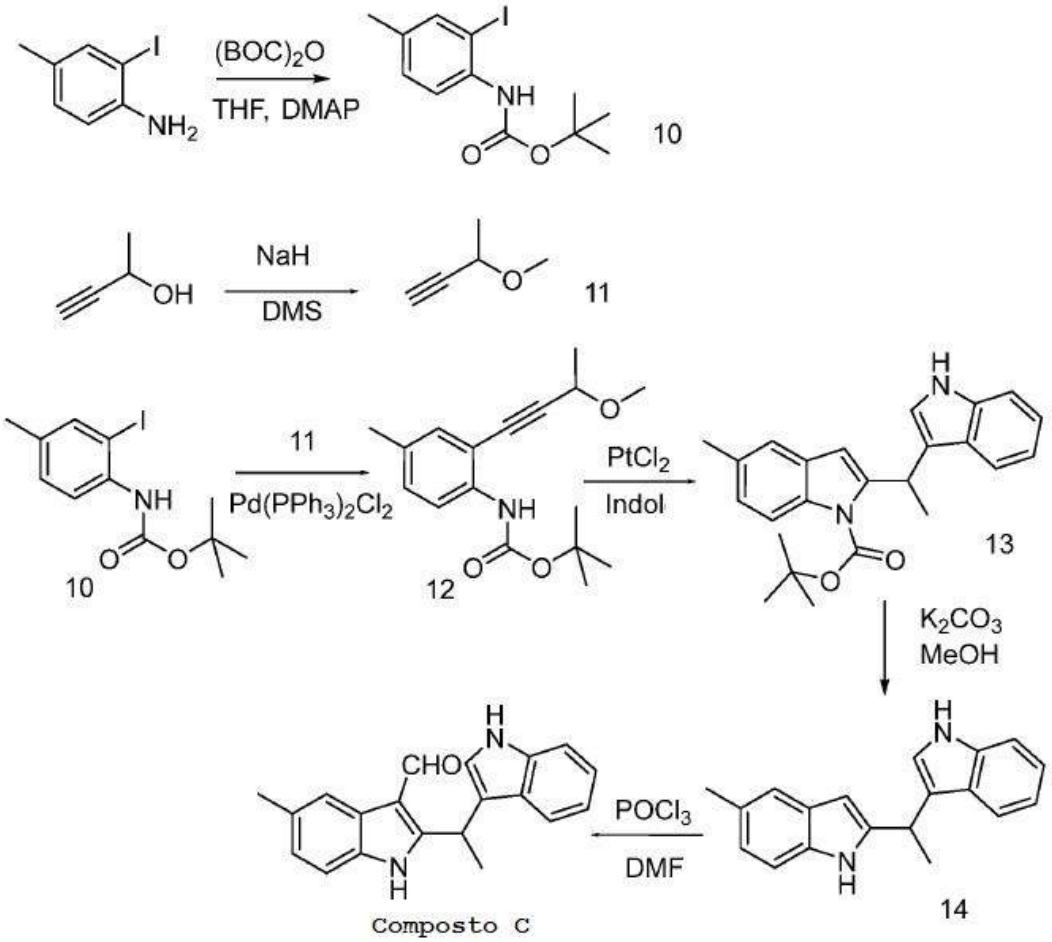
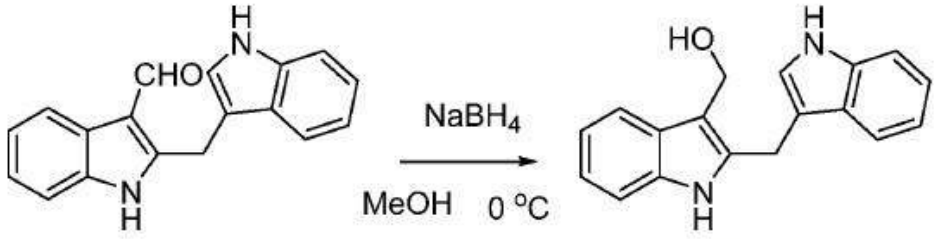

(BOC)2O
THF, DMAP
10
NaH
DMS
11
11
Pd(PPh3)2Cl2
12
PtCl2
Indol
13
K2CO3
MeOH
POCl3
DMF
14
Composto C

**Fig. 24** (Continuação)

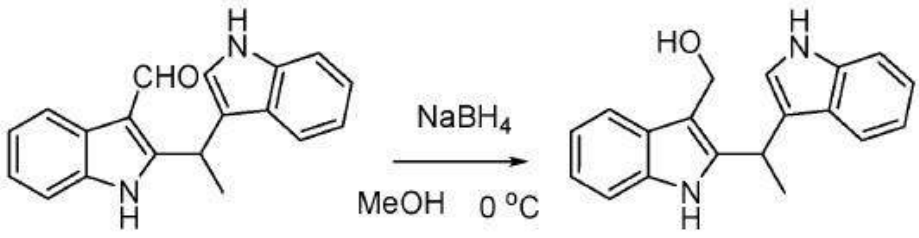
**B**




Malassezina

Composto K

**C**

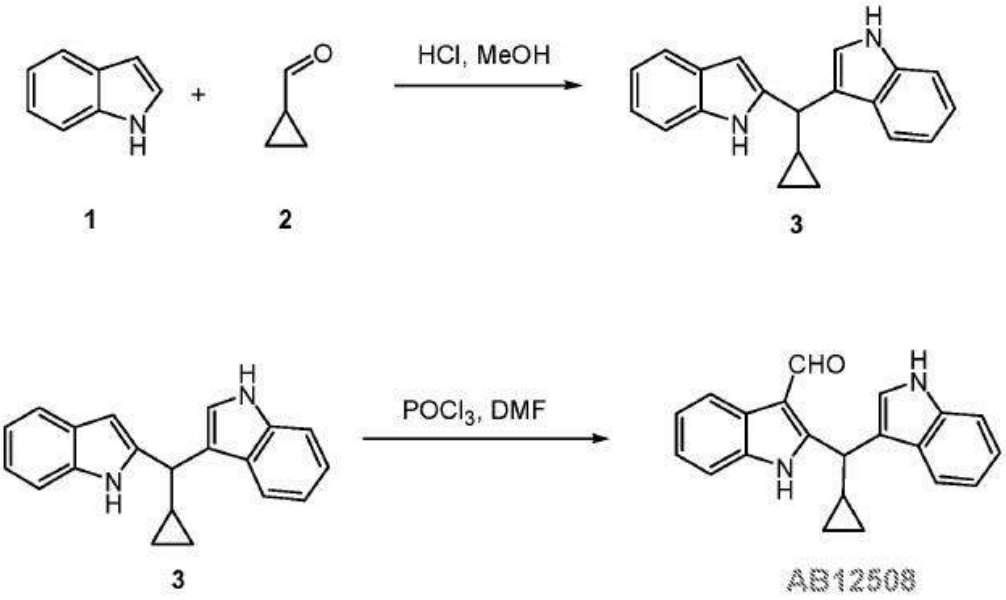



Composto II

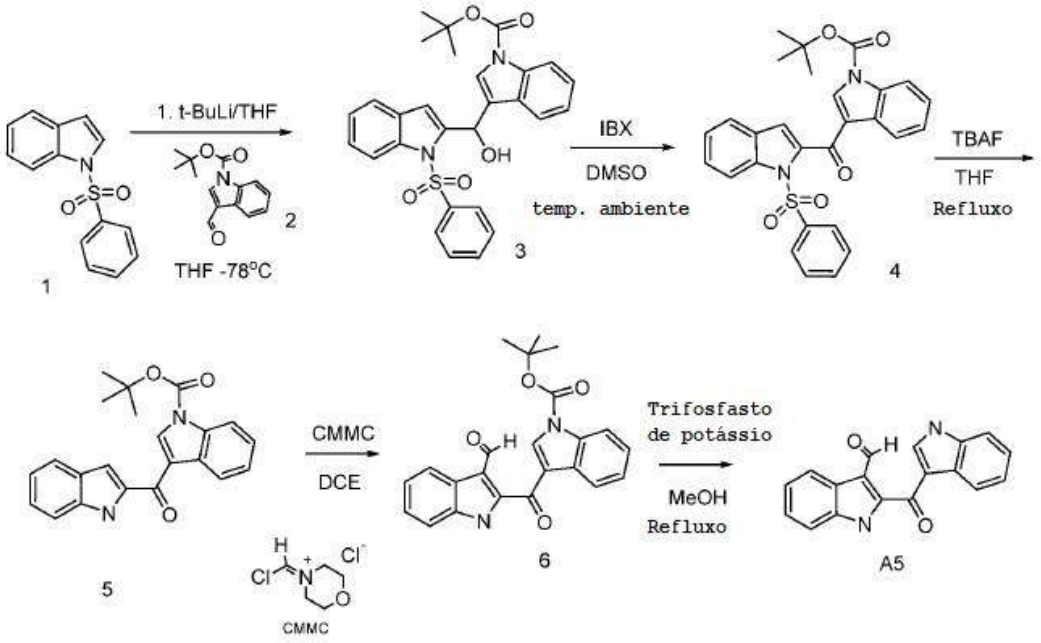
Composto A

# Fig. 24 (Continuação)

**D**




**E**



# Fig. 24 (Continuação)

F

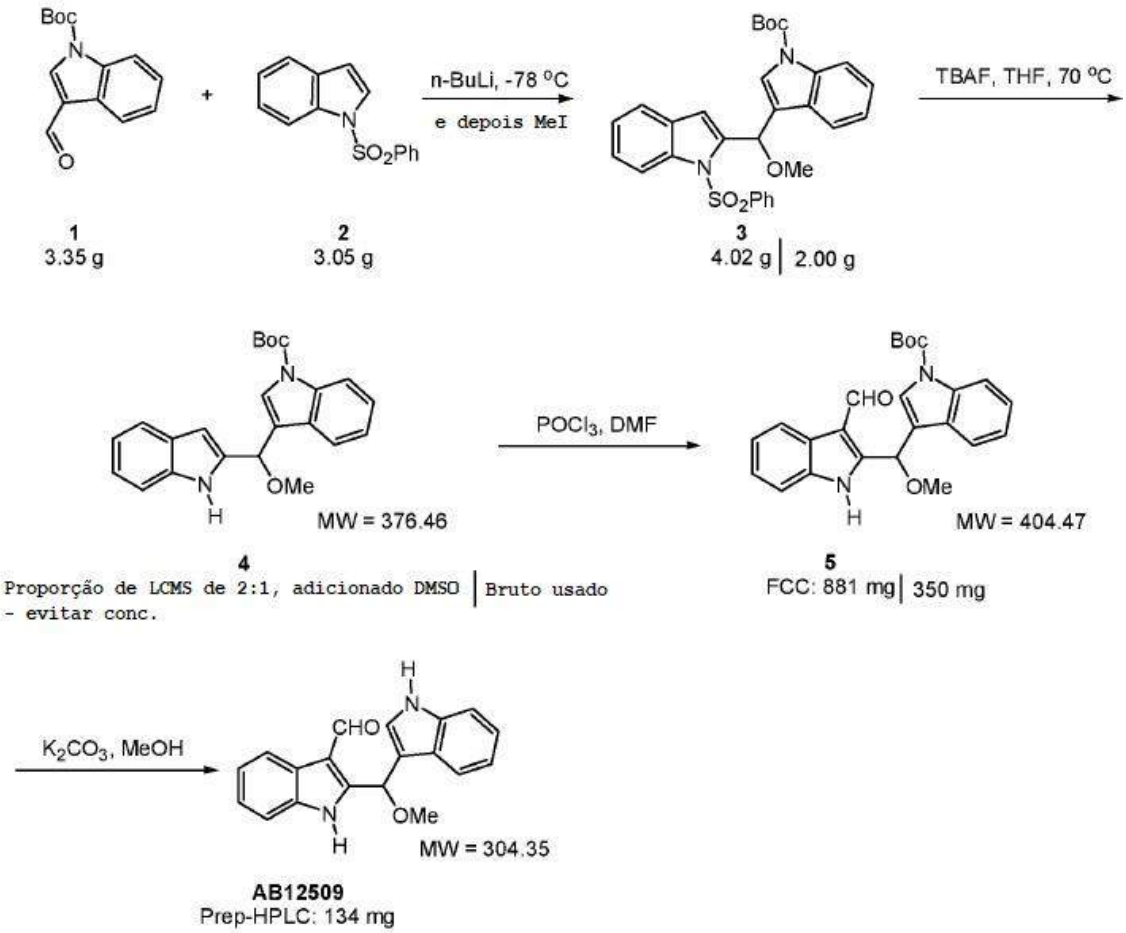
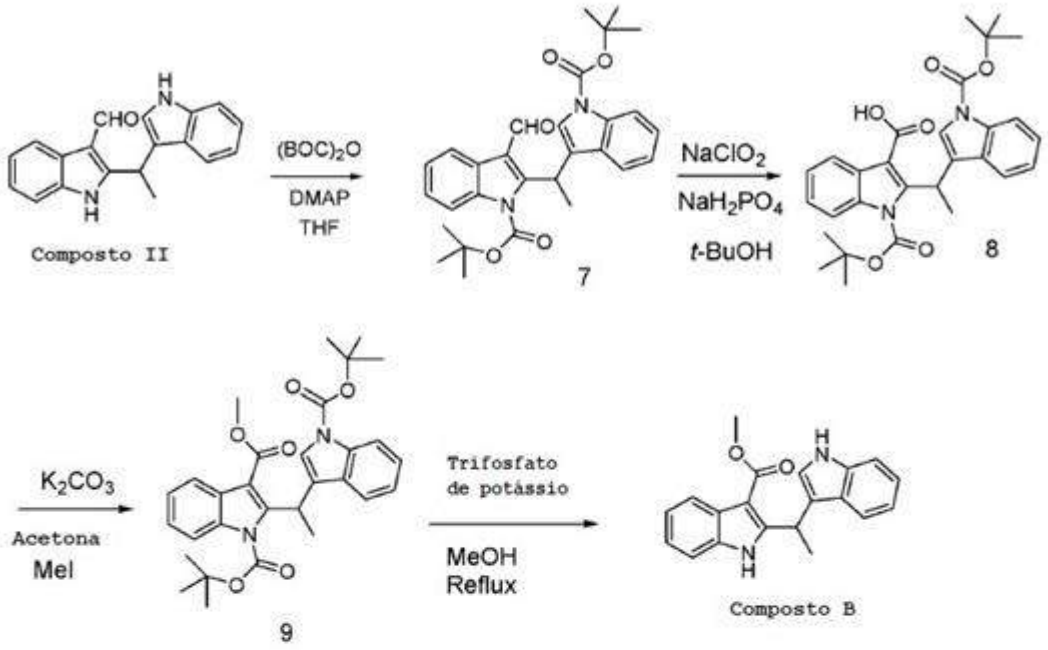
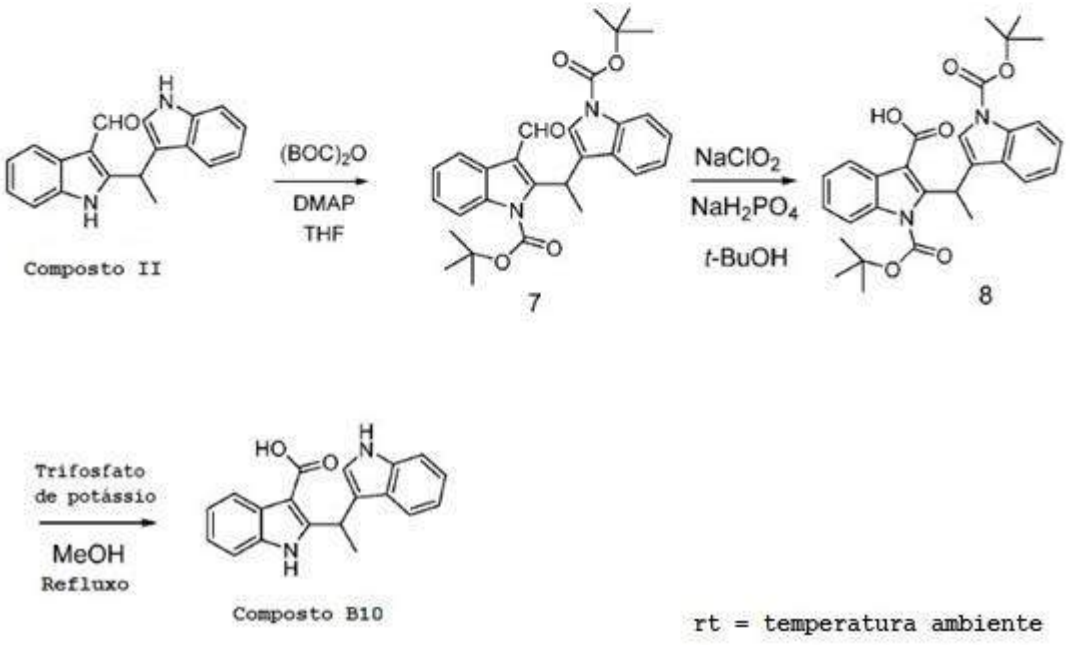


**Fig. 24** (Continuação)

**G**



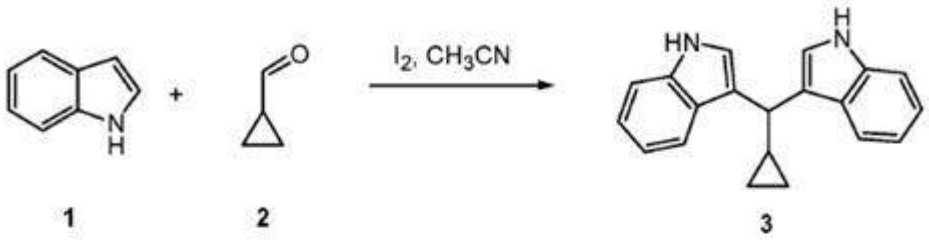

**H**




rt = temperatura ambiente

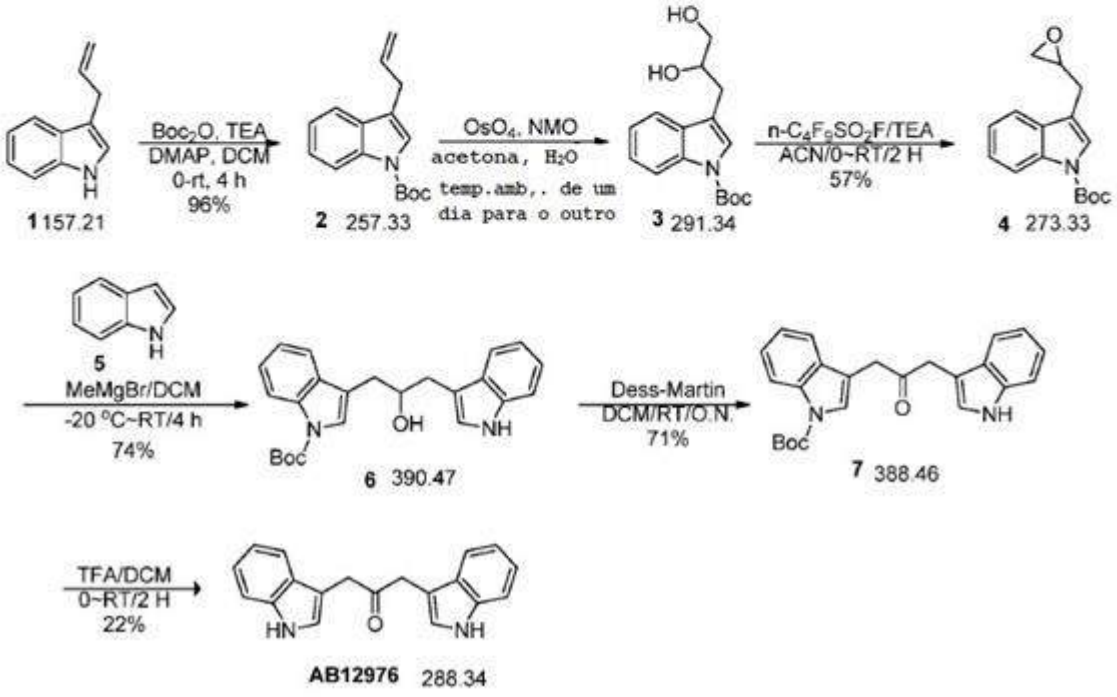
**Fig. 24** (Continuação)

I




1 2 3

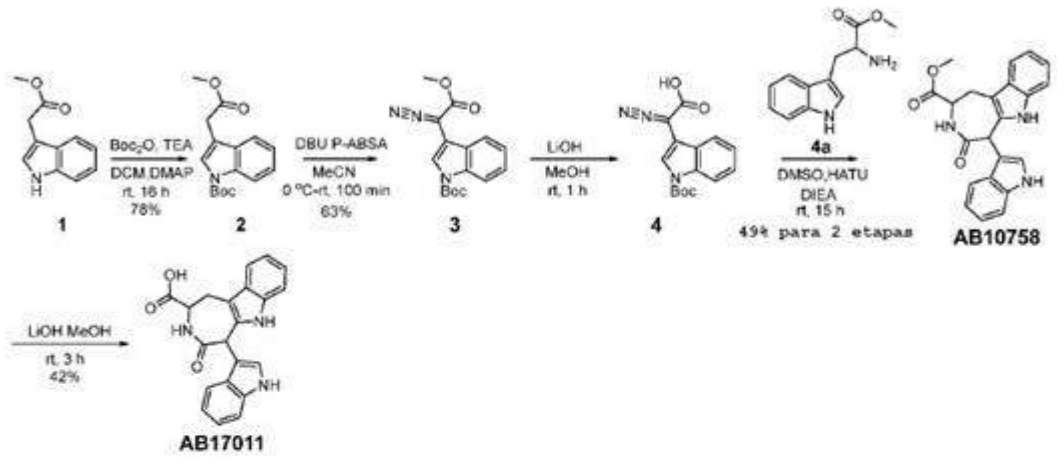
J



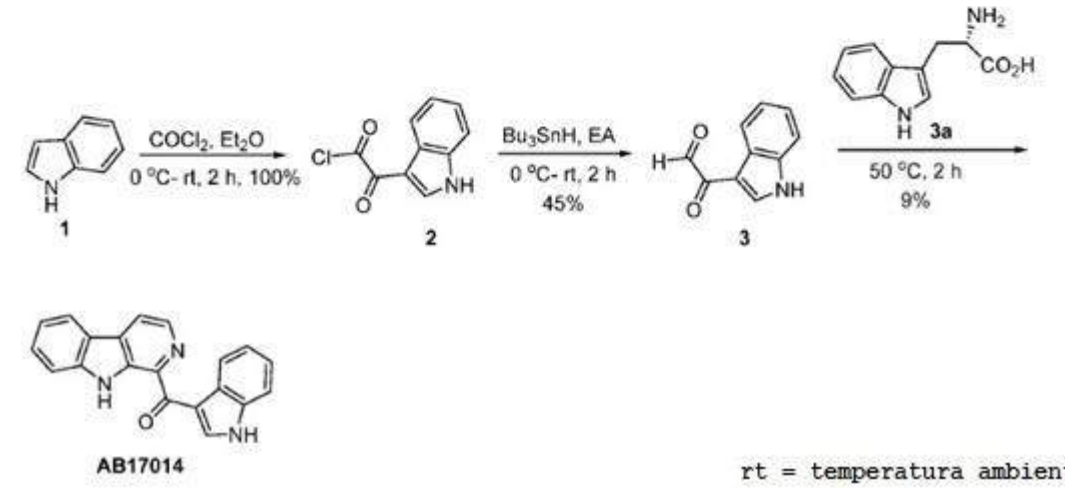

rt = temperatura ambiente

**Fig. 24** (Continuação)

K



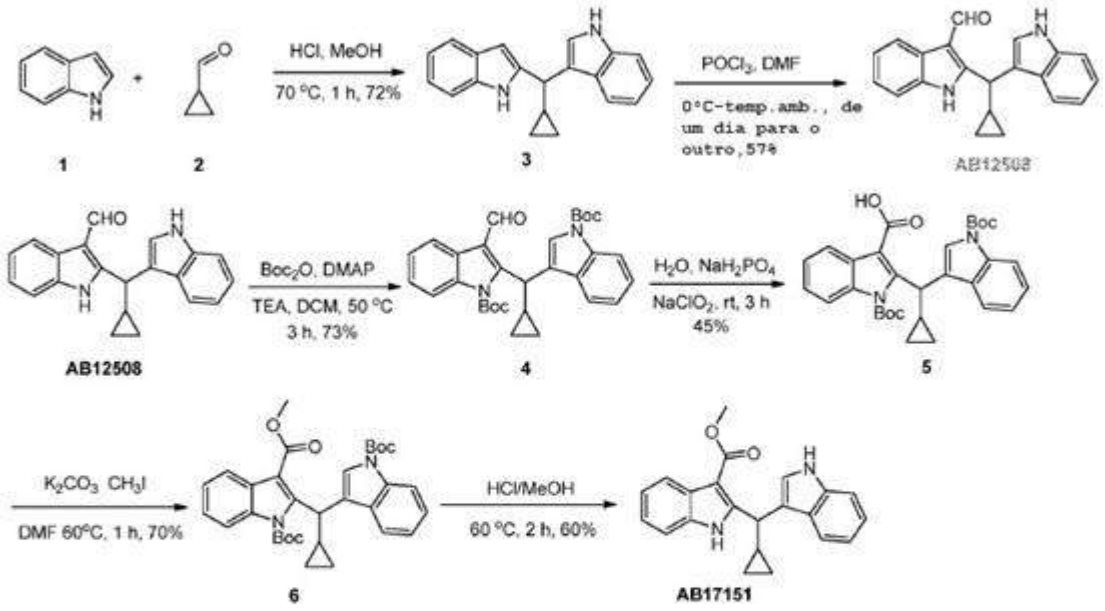

L



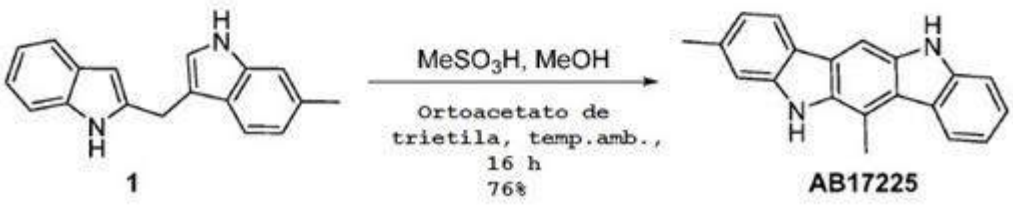

rt = temperatura ambiente

**Fig. 24** (Continuação)

**M**

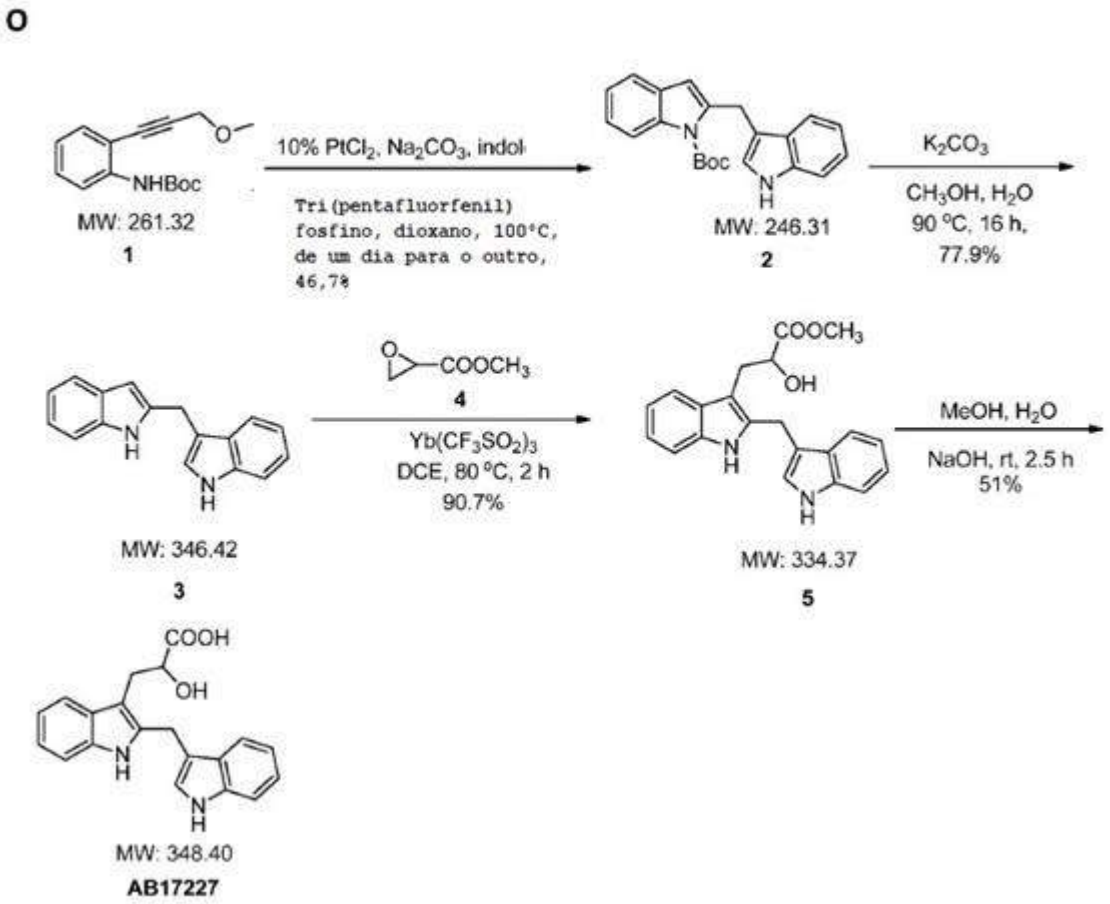



**N**




rt = temperatura ambiente

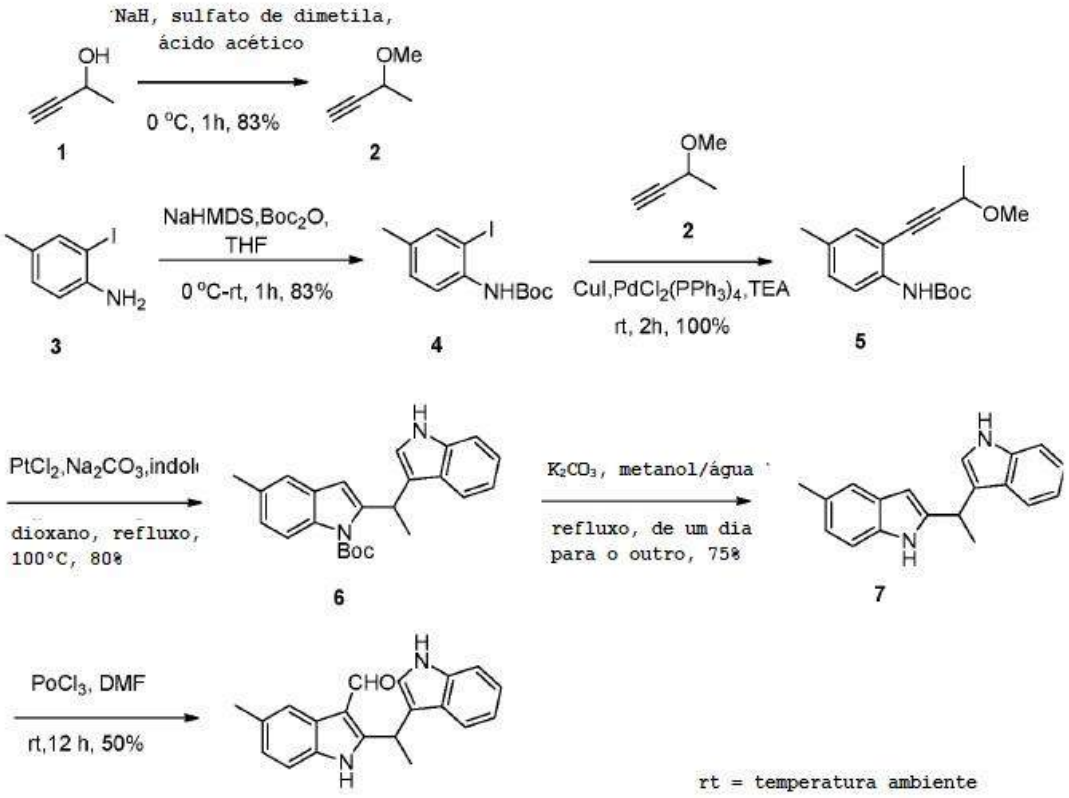
**Fig. 24** (Continuação)




rt = temperatura ambiente

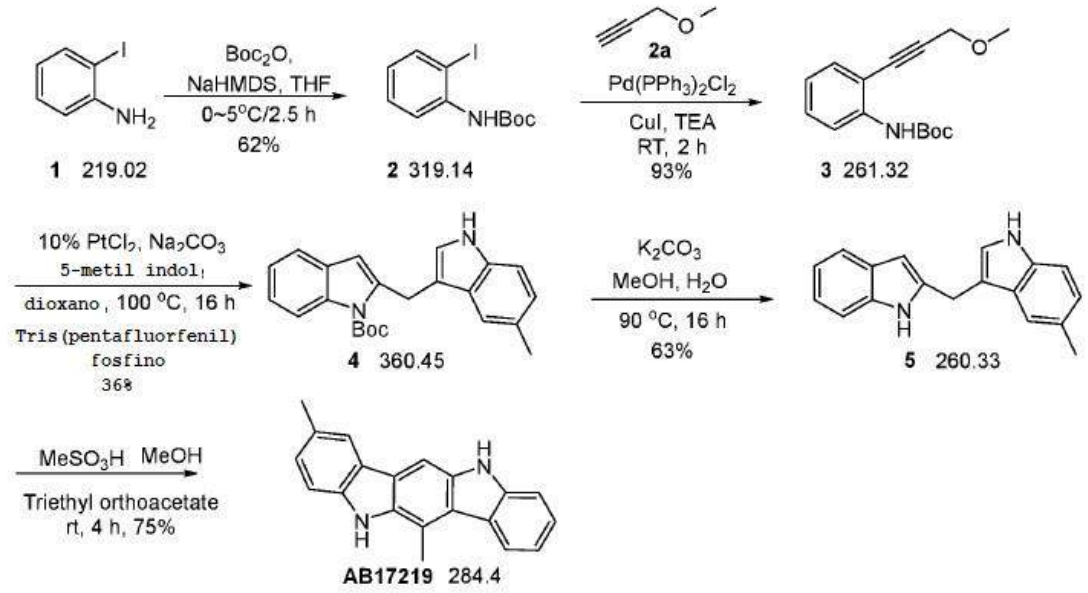
**Fig. 24** (Continuação)

P

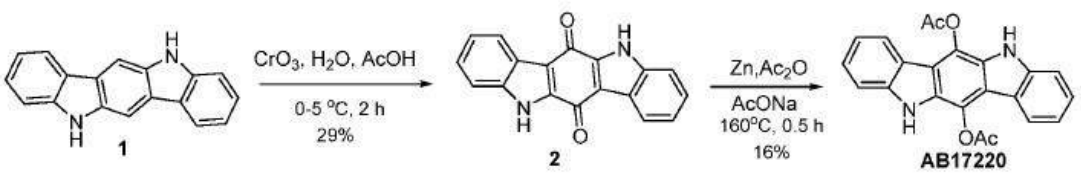


# Fig. 24 (Continuação)

**Q**



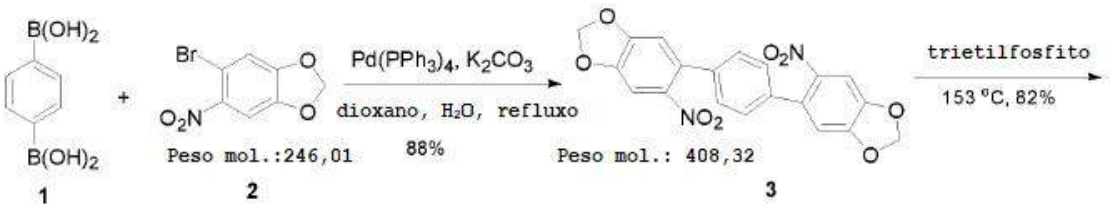

**R**

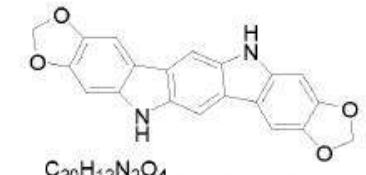



rt = temperatura ambiente

**Fig. 24** (Continuação)

S



$C_{20}H_{12}N_2O_4$
Peso mol.: 344,32 **AB17221**

9.4 mg

# Fig. 25

**A**

6 horas

| Células WM115 | % de células Anexina V positivas | | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| | N=1 | N=2 | N=3 | Ave | SD |
| Estaurosporina 3 uM | 13.10 | 6.73 | 10.35 | 10.06 | 3.19 |
| Malassezina 100uM | 4.67 | 2.42 | 2.19 | 3.09 | 1.37 |
| Malassezina 10 uM | 1.65 | 2.51 | 2.28 | 2.15 | 0.45 |
| Malassezina 1uM | 2.14 | 1.88 | 2.34 | 2.12 | 0.23 |
| DMSO | 1.95 | 1.55 | 1.57 | 1.69 | 0.23 |

| Células MeWo | % de células Anexina V positivas | | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| | N=1 | N=2 | N=3 | Ave | SD |
| Estaurosporina 3 uM | 54.70 | 59.40 | 57.20 | 57.10 | 2.35 |
| Malassezina 100uM | 14.30 | 11.20 | 9.26 | 11.59 | 2.54 |
| Malassezina 10 uM | 4.24 | 3.76 | 5.50 | 4.50 | 0.90 |
| Malassezina 1uM | 4.10 | 4.23 | 4.95 | 4.43 | 0.46 |
| DMSO | 4.89 | 4.13 | 4.23 | 4.42 | 0.41 |

| Células B16F1 | % de células Anexina V positivas | | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| | N=1 | N=2 | N=3 | Ave | SD |
| Estaurosporina 3 uM | 7.82 | 7.26 | 4.72 | 6.60 | 1.65 |
| Malassezina 100uM | 25.50 | 17.50 | 17.70 | 20.23 | 4.56 |
| Malassezina 10 uM | 3.33 | 6.88 | 4.41 | 4.87 | 1.82 |
| Malassezina 1uM | 3.07 | 3.82 | 4.24 | 3.71 | 0.59 |
| DMSO | 3.60 | 2.41 | 2.36 | 2.79 | 0.70 |

# Fig. 25 (Continuação)

**B**

24 horas

| Células WM115 | % de células Anexina V positivas | | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| | N=1 | N=2 | N=3 | Ave | SD |
| Estaurosporina 3 uM | 15.95 | 22.10 | 24.50 | 20.85 | 4.41 |
| Malassezina 100uM | 8.13 | 7.73 | 10.10 | 8.65 | 1.27 |
| Malassezina 10 uM | 3.45 | 4.12 | 3.46 | 3.68 | 0.38 |
| Malassezina 1uM | 2.26 | 3.41 | 2.88 | 2.85 | 0.58 |
| DMSO | 3.03 | 2.82 | 2.79 | 2.88 | 0.13 |

| Células MeWo | % de células Anexina V positivas | | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| | N=1 | N=2 | N=3 | Ave | SD |
| Estaurosporina 3 uM | 60.90 | 61.70 | 46.2* | 61.30 | 0.57 |
| Malassezina 100uM | 27.20 | 16.30 | 11.50 | 18.33 | 8.05 |
| Malassezina 10 uM | 2.68 | 4.13 | 2.70 | 3.17 | 0.83 |
| Malassezina 1uM | 5.99 | 2.04 | 2.50 | 3.51 | 2.16 |
| DMSO | 3.89 | 2.63 | 2.85 | 3.12 | 0.67 |

| Células B16F1 | % de células Anexina V positivas | | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| | N=1 | N=2 | N=3 | Ave | SD |
| Estaurosporina 3 uM | 28.00 | 21.70 | 37.90 | 29.20 | 8.17 |
| Malassezina 100uM | 41.80 | 52.30 | 29.00 | 41.03 | 11.67 |
| Malassezina 10 uM | 5.61 | 5.51 | 5.60 | 5.57 | 0.06 |
| Malassezina 1uM | 5.57 | 5.22 | 5.48 | 5.42 | 0.18 |
| DMSO | 5.27 | 5.52 | 5.56 | 5.45 | 0.16 |

# Fig. 25 (Continuação)

C

48 horas

| Células WM115 | % de células Anexina V positivas | | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| | N=1 | N=2 | N=3 | Ave | SD |
| Estaurosporina 3 uM | 32.60 | 41.20 | 36.70 | 36.83 | 4.30 |
| Malassezina 100uM | 39.00 | 36.00 | 34.30 | 36.43 | 2.38 |
| Malassezina 10 uM | 5.05 | 4.03 | 5.70 | 4.93 | 0.84 |
| Malassezina 1uM | 4.49 | 3.45 | 4.10 | 4.01 | 0.53 |
| DMSO | 3.59 | 2.83 | 6.05 | 4.16 | 1.68 |

| Células MeWo | % de células Anexina V positivas | | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| | N=1 | N=2 | N=3 | Ave | SD |
| Estaurosporina 3 uM | 78.80 | 73.70 | 67.30 | 73.27 | 5.76 |
| Malassezina 100uM | 19.30 | 18.50 | 22.50 | 20.10 | 2.12 |
| Malassezina 10 uM | 3.04 | 2.90 | 6.25 | 4.06 | 1.90 |
| Malassezina 1uM | 1.76 | 1.98 | 1.97 | 1.90 | 0.12 |
| DMSO | 2.77 | 2.08 | 2.48 | 2.44 | 0.35 |

| Células B16F1 | % de células Anexina V positivas | | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| | N=1 | N=2 | N=3 | Ave | SD |
| Estaurosporina 3 uM | 31.40 | 36.40 | 30.40 | 32.73 | 3.21 |
| Malassezina 100uM | 44.40 | 40.90 | 60.20 | 48.50 | 10.28 |
| Malassezina 10 uM | 4.28 | 5.77 | 4.11 | 4.72 | 0.91 |
| Malassezina 1uM | 4.71 | 3.38 | 5.43 | 4.51 | 1.04 |
| DMSO | 4.58 | 4.97 | 4.06 | 4.54 | 0.46 |

# Fig. 25 (Continuação)

**D**

72 horas

| Células WM115 | % de células Anexina V positivas | | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| | N=1 | N=2 | N=3 | Ave | SD |
| Estaurosporina 3 uM | 47.80 | 38.90 | 52.00 | 46.23 | 6.69 |
| Malassezina 100uM | 34.50 | 41.20 | 37.50 | 37.73 | 3.36 |
| Malassezina 10 uM | 3.45 | 2.65 | 3.61 | 3.24 | 0.51 |
| Malassezina 1uM | 2.15 | 2.25 | 1.93 | 2.11 | 0.16 |
| DMSO | 2.21 | 1.53 | 3.77 | 2.50 | 1.15 |

| Células MeWo | % de células Anexina V positivas | | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| | N=1 | N=2 | N=3 | Ave | SD |
| Estaurosporina 3 uM | 73.70 | 72.70 | 76.00 | 74.13 | 1.69 |
| Malassezina 100uM | 25.20 | 25.30 | 27.00 | 25.83 | 1.01 |
| Malassezina 10 uM | 3.89 | 4.33 | 4.68 | 4.30 | 0.40 |
| Malassezina 1uM | 3.97 | 2.57 | 3.91 | 3.48 | 0.79 |
| DMSO | 3.19 | 4.47 | 3.35 | 3.67 | 0.70 |

| Células B16F1 | % de células Anexina V positivas | | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| | N=1 | N=2 | N=3 | Ave | SD |
| Estaurosporina 3 uM | 55.20 | 62.20 | 60.80 | 59.40 | 3.70 |
| Malassezina 100uM | 46.50 | 44.90 | 63.60 | 51.67 | 10.37 |
| Malassezina 10 uM | 3.12 | 4.58 | 2.66 | 3.45 | 1.00 |
| Malassezina 1uM | 2.52 | 2.69 | 3.51 | 2.91 | 0.53 |
| DMSO | 3.27 | 2.25 | 3.26 | 2.93 | 0.59 |

# Fig. 26

**A**

6 horas

| Células WM115 | Leitura | | | Razão de aumento da indução | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | N=1 | N=2 | N=3 | N=1 | N=2 | N=3 | Ave | SD |
| Estaurosporina 3 uM | 2220000 | 2250000 | 2330000 | 16.51 | 16.73 | 17.32 | 16.85 | 0.42 |
| Malassezina 100 uM | 181050 | 182480 | 223520 | 1.35 | 1.36 | 1.66 | 1.45 | 0.18 |
| Malassezina 10 uM | 163720 | 124340 | 146750 | 1.22 | 0.92 | 1.09 | 1.08 | 0.15 |
| Malassezina 10 uM | 182480 | 124340 | 150390 | 1.36 | 0.92 | 1.12 | 1.13 | 0.22 |
| DMSO | 138590 | 130410 | | 1.03 | 0.97 | | 1.00 | 0.04 |

| Células MeWo | Leitura | | | Razão de aumento da indução | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | N=1 | N=2 | N=3 | N=1 | N=2 | N=3 | Ave | SD |
| Estaurosporina 3 uM | 255760 | 259760 | 278780 | 13.19 | 13.39 | 14.37 | 13.65 | 0.63 |
| Malassezina 100 uM | 75380 | 51250 | 61410 | 3.89 | 2.64 | 3.17 | 3.23 | 0.62 |
| Malassezina 10 uM | 22660 | 20440 | 19440 | 1.17 | 1.05 | 1.00 | 1.07 | 0.08 |
| Malassezina 10 uM | 22190 | 21050 | 20450 | 1.14 | 1.09 | 1.05 | 1.09 | 0.05 |
| DMSO | 20540 | 18250 | | 1.06 | 0.94 | | 1.00 | 0.08 |

| Células B16F1 | Leitura | | | Razão de aumento da indução | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | N=1 | N=2 | N=3 | N=1 | N=2 | N=3 | Ave | SD |
| Estaurosporina 3 uM | 149050 | 140680 | 188470 | 1.64 | 1.55 | 2.07 | 1.75 | 0.28 |
| Malassezina 100 uM | 87610 | 112360 | 92150 | 0.96 | 1.24 | 1.01 | 1.07 | 0.15 |
| Malassezina 10 uM | 98620 | 101560 | 88650 | 1.09 | 1.12 | 0.98 | 1.06 | 0.07 |
| Malassezina 10 uM | 86040 | 85550 | 91320 | 0.95 | 0.94 | 1.01 | 0.96 | 0.04 |
| DMSO | 91610 | 90050 | | 1.01 | 0.99 | | 1.00 | 0.01 |

# Fig. 26 (Continuação)

**B**

24 horas

| Células WM115 | Leitura | | | Razão de aumento da indução | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | N=1 | N=2 | N=3 | N=1 | N=2 | N=3 | Ave | SD |
| Estaurosporina 3 uM | 1920000 | 2110000 | 1690000 | 11.34 | 12.47 | 9.99 | 11.27 | 1.24 |
| Malassezina 100 uM | 855040 | 860450 | 808430 | 5.05 | 5.08 | 4.78 | 4.97 | 0.17 |
| Malassezina 10 uM | 244980 | 200840 | 199290 | 1.45 | 1.19 | 1.18 | 1.27 | 0.15 |
| Malassezina 10 uM | 860450 | 200840 | 196480 | 5.08 | 1.19 | 1.16 | 2.48 | 2.26 |
| DMSO | 162860 | 175640 | | 0.96 | 1.04 | | 1.00 | 0.05 |

| Células MeWo | Leitura | | | Razão de aumento da indução | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | N=1 | N=2 | N=3 | N=1 | N=2 | N=3 | Ave | SD |
| Estaurosporina 3 uM | 111200 | 115240 | 127890 | 3.85 | 3.99 | 4.43 | 4.09 | 0.30 |
| Malassezina 100 uM | 71560 | 71400 | 72090 | 2.48 | 2.47 | 2.50 | 2.48 | 0.01 |
| Malassezina 10 uM | 35400 | 32220 | 28450 | 1.23 | 1.12 | 0.99 | 1.11 | 0.12 |
| Malassezina 10 uM | 29770 | 31790 | 33580 | 1.03 | 1.10 | 1.16 | 1.10 | 0.07 |
| DMSO | 30850 | 26910 | | 1.07 | 0.93 | | 1.00 | 0.10 |

| Células B16F1 | Leitura | | | Razão de aumento da indução | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | N=1 | N=2 | N=3 | N=1 | N=2 | N=3 | Ave | SD |
| Estaurosporina 3 uM | 426060 | 426770 | 463460 | 2.48 | 2.48 | 2.69 | 2.55 | 0.12 |
| Malassezina 100 uM | 118170 | 157630 | 89620 | 0.69 | 0.92 | 0.52 | 0.71 | 0.20 |
| Malassezina 10 uM | 204350 | 201350 | 200050 | 1.19 | 1.17 | 1.16 | 1.17 | 0.01 |
| Malassezina 10 uM | 191490 | 182800 | 160280 | 1.11 | 1.06 | 0.93 | 1.04 | 0.09 |
| DMSO | 171320 | 172750 | | 1.00 | 1.00 | | 1.00 | 0.01 |

# Fig. 26 (Continuação)

**C**

48 horas

| Células WM115 | Leitura | | | Razão de aumento da indução | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | N=1 | N=2 | N=3 | N=1 | N=2 | N=3 | Ave | SD |
| Estaurosporina 3 uM | 439420 | 401650 | 404690 | 4.09 | 3.74 | 3.77 | 3.87 | 0.20 |
| Malassezina 100 uM | 396740 | 357900 | 390540 | 3.70 | 3.33 | 3.64 | 3.56 | 0.19 |
| Malassezina 10 uM | 101050 | 107400 | 106450 | 0.94 | 1.00 | 0.99 | 0.98 | 0.03 |
| Malassezina 10 uM | 357900 | 107400 | 83700 | 3.33 | 1.00 | 0.78 | 1.70 | 1.42 |
| DMSO | 101630 | 113050 | | 0.95 | 1.05 | | 1.00 | 0.08 |

| Células MeWo | Leitura | | | Razão de aumento da indução | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | N=1 | N=2 | N=3 | N=1 | N=2 | N=3 | Ave | SD |
| Estaurosporina 3 uM | 28860 | 29940 | 31480 | 1.27 | 1.31 | 1.38 | 1.32 | 0.06 |
| Malassezina 100 uM | 29730 | 31300 | 29110 | 1.30 | 1.37 | 1.28 | 1.32 | 0.05 |
| Malassezina 10 uM | 25480 | 25270 | 23030 | 1.12 | 1.11 | 1.01 | 1.08 | 0.06 |
| Malassezina 10 uM | 20600 | 21340 | 21430 | 0.90 | 0.94 | 0.94 | 0.93 | 0.02 |
| DMSO | 24370 | 21240 | | 1.07 | 0.93 | | 1.00 | 0.10 |

| Células B16F1 | Leitura | | | Razão de aumento da indução | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | N=1 | N=2 | N=3 | N=1 | N=2 | N=3 | Ave | SD |
| Estaurosporina 3 uM | 87300 | 89350 | 97420 | 0.54 | 0.55 | 0.60 | 0.56 | 0.03 |
| Malassezina 100 uM | 93860 | 117180 | 77210 | 0.58 | 0.72 | 0.47 | 0.59 | 0.12 |
| Malassezina 10 uM | 180140 | 162570 | 151430 | 1.11 | 1.00 | 0.93 | 1.01 | 0.09 |
| Malassezina 10 uM | 166970 | 159210 | 158510 | 1.02 | 0.98 | 0.97 | 0.99 | 0.03 |
| DMSO | 171750 | 154180 | | 1.05 | 0.95 | | 1.00 | 0.08 |

# Fig. 26 (Continuação)

**D**

72 horas

| Células WM115 | Leitura | | | Razão de aumento da indução | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | N=1 | N=2 | N=3 | N=1 | N=2 | N=3 | Ave | SD |
| Estaurosporina 3 uM | 224120 | 237780 | 212930 | 2.04 | 2.16 | 1.94 | 2.04 | 0.11 |
| Malassezina 100 uM | 218370 | 189720 | 233950 | 1.98 | 1.72 | 2.13 | 1.95 | 0.20 |
| Malassezina 10 uM | 160670 | 128640 | 136350 | 1.46 | 1.17 | 1.24 | 1.29 | 0.15 |
| Malassezina 10 uM | 189720 | 128640 | 155770 | 1.72 | 1.17 | 1.42 | 1.44 | 0.28 |
| DMSO | 112520 | 107530 | | 1.02 | 0.98 | | 1.00 | 0.03 |

| Células MeWo | Leitura | | | Razão de aumento da indução | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | N=1 | N=2 | N=3 | N=1 | N=2 | N=3 | Ave | SD |
| Estaurosporina 3 uM | 21290 | 23360 | 25360 | 0.71 | 0.78 | 0.84 | 0.78 | 0.07 |
| Malassezina 100 uM | 22980 | 19750 | 21920 | 0.76 | 0.66 | 0.73 | 0.72 | 0.05 |
| Malassezina 10 uM | 37530 | 34530 | 31040 | 1.25 | 1.15 | 1.03 | 1.14 | 0.11 |
| Malassezina 10 uM | 38000 | 30330 | 33710 | 1.26 | 1.01 | 1.12 | 1.13 | 0.13 |
| DMSO | 32570 | 27590 | | 1.08 | 0.92 | | 1.00 | 0.12 |

| Células B16F1 | Leitura | | | Razão de aumento da indução | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | N=1 | N=2 | N=3 | N=1 | N=2 | N=3 | Ave | SD |
| Estaurosporina 3 uM | 60080 | 64210 | 61460 | 0.29 | 0.31 | 0.29 | 0.29 | 0.01 |
| Malassezina 100 uM | 50590 | 75290 | 40950 | 0.24 | 0.36 | 0.19 | 0.26 | 0.08 |
| Malassezina 10 uM | 245660 | 217740 | 216060 | 1.17 | 1.03 | 1.03 | 1.08 | 0.08 |
| Malassezina 10 uM | 248010 | 212710 | 202460 | 1.18 | 1.01 | 0.96 | 1.05 | 0.11 |
| DMSO | 220950 | 199920 | | 1.05 | 0.95 | | 1.00 | 0.07 |

# Fig. 27

**A**

| Linh. de cél. / Ensaio / Tempo | MeWo CTG Dose | AB12508 Viabilidade celular restante (%) n=1 | n=2 | Média | DP |
|---|---|---|---|---|---|
| 6 h | 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 h | 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 h | 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**

| Linh. de cél. / Ensaio / Tempo | WM115 CTG Dose | AB12508 Viabilidade celular restante (%) n=1 | n=2 | Média | DP |
|---|---|---|---|---|---|
| 6 h. | 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 h | 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 h. | 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 |

# Fig. 28

**A**

| Linh. de cél. / Ensaio / Tempo | MeWo CTG Dose | Composição desconhecida Viabilidade celular restante (%) n=1 | n=2 | Média | DP |
|---|---|---|---|---|---|
| 6 h | 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 h | 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 h | 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**

| Linh. de cél. / Ensaio / Tempo | WM115 CTG Dose | Composição desconhecida Viabilidade celular restante (%) n=1 | n=2 | Média | DP |
|---|---|---|---|---|---|
| 6 h | 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 h | 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 h | 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 |

# Fig. 29

**A**

| Linh. de cél. / Ensaio / Tempo | MeWo / CTG / Dose | CV-8803 Viabilidade celular restante (%) n=1 | n=2 | Média | DP |
|---|---|---|---|---|---|
| 6 h | 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 h | 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 h | 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**

| Linh. de cél. / Ensaio / Tempo | WM115 / CTG / Dose | CV-8803 Viabilidade celular restante (%) n=1 | n=2 | Média | DP |
|---|---|---|---|---|---|
| 6 h | 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 h | 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 h | 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 |

# Fig. 30

**A**

| Linh. de cél. / Ensaio / Tempo | MeWo CTG Dose | CV-8804 Viabilidade celular restante (%) n=1 | n=2 | Média | DP |
|---|---|---|---|---|---|
| 6 h | 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 h | 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 h | 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**

| Linh. de cél. / Ensaio / Tempo | WM115 CTG Dose | CV-8804 Viabilidade celular restante (%) n=1 | n=2 | Média | DP |
|---|---|---|---|---|---|
| 6 h. | 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 h | 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 h | 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 |

# Fig. 31

**A**

| Linh. de cél. / Ensaio / Tempo | MeWo CTG Dose | CV-8684 Viabilidade celular restante (%) n=1 | n=2 | Média | DP |
|---|---|---|---|---|---|
| 6 h | 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 h | 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 h | 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**

| Linh. de cél. / Ensaio / Tempo | WM115 CTG Dose | CV-8684 Viabilidade celular restante (%) n=1 | n=2 | Média | DP |
|---|---|---|---|---|---|
| 6 h | 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 h | 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 h | 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 |

# Fig. 32

**A**

| Linh. de cél. / Ensaio / Tempo | MeWo CTG Dose | CV-8685 Viabilidade celular restante (%) n=1 | n=2 | Média | DP |
|---|---|---|---|---|---|
| 6 h | 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 h | 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 h | 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**

| Linh. de cél. / Ensaio / Tempo | WM115 CTG Dose | CV-8685 Viabilidade celular restante (%) n=1 | n=2 | Média | DP |
|---|---|---|---|---|---|
| 6 h | 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 h | 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 h | 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 |

# Fig. 33

**A**

| Linh. de cél. / Ensaio / Tempo | MeWo CTG Dose | CV-8686 Viabilidade celular restante (%) n=1 | n=2 | Média | DP |
|---|---|---|---|---|---|
| 6 h | 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 h | 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 h | 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**

| Linh. de cél. / Ensaio / Tempo | WM115 CTG Dose | CV-8686 Viabilidade celular restante (%) n=1 | n=2 | Média | DP |
|---|---|---|---|---|---|
| 6 h | 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 h | 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 h | 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 |

# Fig. 34

**A**

| Linh. de cél. / Ensaio / Tempo | MeWo CTG Dose | CV-8688 Viabilidade celular restante (%) n=1 | n=2 | Média | DP |
|---|---|---|---|---|---|
| 6 h | 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 h | 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 h | 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**

| Linh. de cél. / Ensaio / Tempo | WM115 CTG Dose | CV-8688 Viabilidade celular restante (%) n=1 | n=2 | Média | DP |
|---|---|---|---|---|---|
| 6 h | 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 h | 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 h | 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 |

85/223

# Fig. 35

**A**

| Linh. de cél. / Ensaio / Tempo | MeWo CTG Dose | Estaurosporina Viabilidade celular restante (%) n=1 | n=2 | Média | DP |
|---|---|---|---|---|---|
| 6 h | 10 | 56.38 | 51.81 | 54.10 | 3.23 |
| 24 h | 10 | 1.44 | 1.64 | 1.54 | 0.14 |
| 48 h | 10 | 0.73 | 1.16 | 0.95 | 0.31 |

**B**

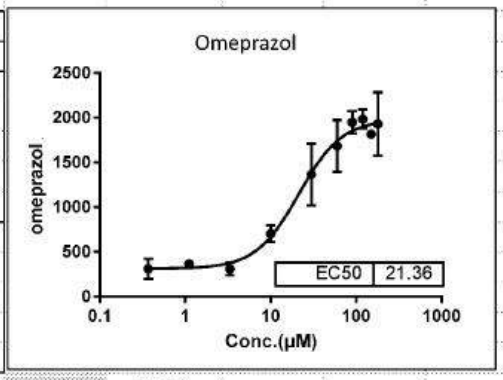
| Linh. de cél. / Ensaio / Tempo | WM115 CTG Dose | Estaurosporina Viabilidade celular restante (%) n=1 | n=2 | Média | DP |
|---|---|---|---|---|---|
| 6 h | 10 | 45.80 | 43.36 | 44.58 | 1.72 |
| 24 h | 10 | 8.18 | 7.96 | 8.07 | 0.15 |
| 48 h | 10 | 4.39 | 5.38 | 4.88 | 0.70 |

# Fig. 36

A

| ID. do Composto | Omeprazol | |
|---|---|---|
| | Leitura | |
| Conc.(uM) | 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 |

B



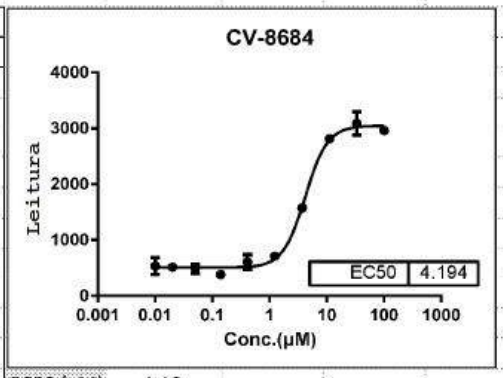

EC50 (uM) 21.36

# FIG. 37

A

| ID. do Composto | CV-8684 | |
|---|---|---|
| | Leitura | |
| Conc.(uM) | 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 |

B



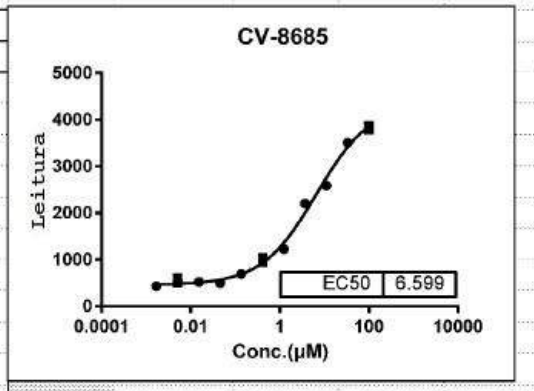

EC50 (uM) 4.19

# Fig. 38

**A** **B**

ID. do Composto **CV-8685**

| | Leitura | |
|---|---|---|
| **Conc.(uM)** | **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 |



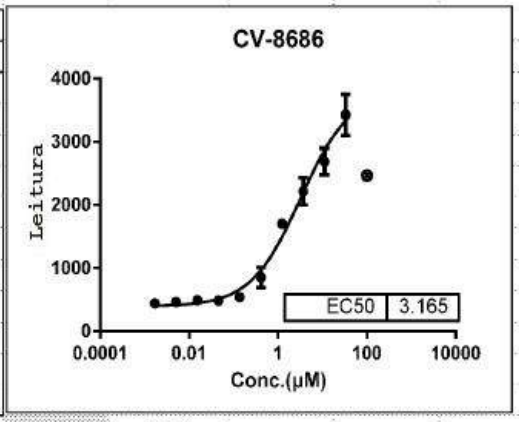

EC50 (uM) 6.60

# Fig. 39

**A** **B**

ID. do Composto **CV-8686**

| | Leitura | |
|---|---|---|
| **Conc.(uM)** | **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 |



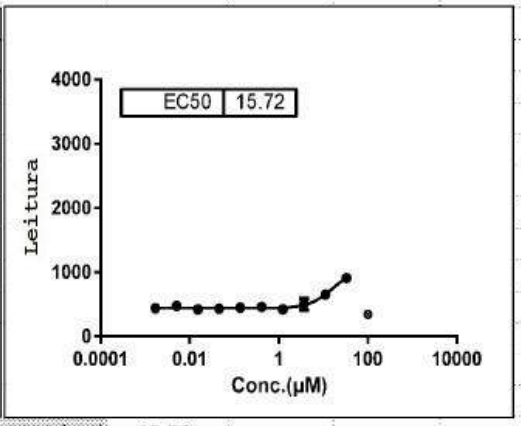

EC50 (uM) 3.17

# Fig. 40

A B

ID. do Composto

| | Leitura | |
|---|---|---|
| Conc.(uM) | 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 |



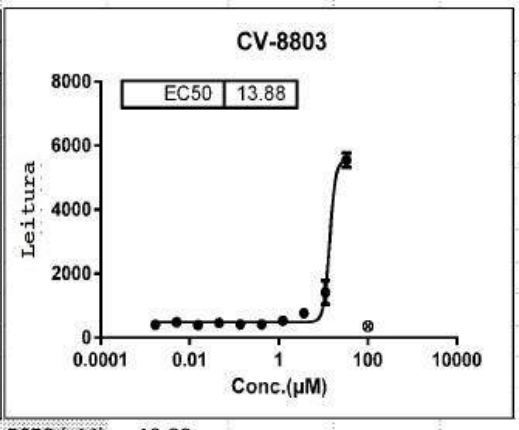

EC50 (uM) 15.72

# Fig. 41

A B

ID. do Composto CV-8803

| | Leitura | |
|---|---|---|
| Conc.(uM) | 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 |

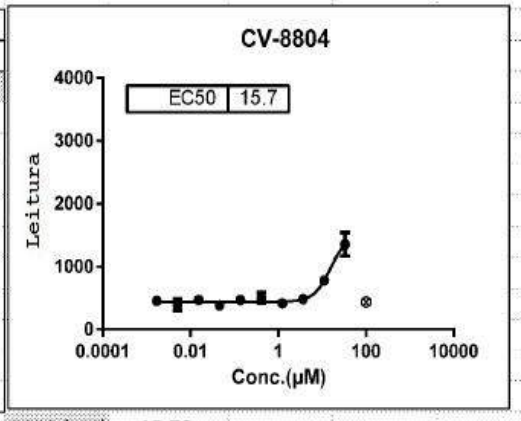



EC50 (uM) 13.88

# Fig. 42

**A** **B**

| ID. do Composto | CV-8804 | |
|---|---|---|
| | Leitura | |
| Conc.(uM) | 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 |

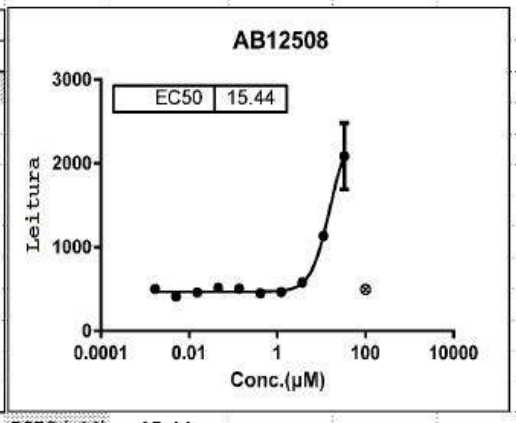



EC50 (uM) 15.70

# Fig. 43

**A** **B**

| ID. do Composto | AB12508 | |
|---|---|---|
| | Leitura | |
| Conc.(uM) | 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 (uM) 15.44

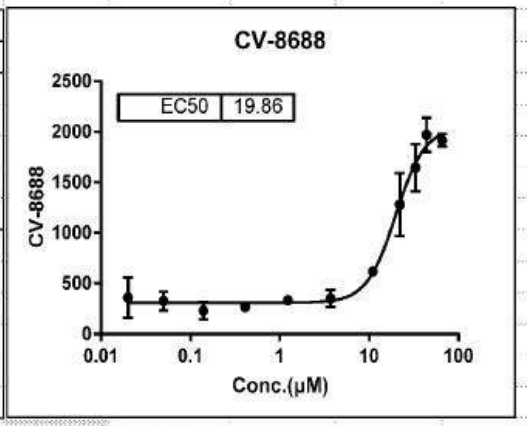
# Fig. 44

**A**

**B**

ID. do Composto CV-8688

| | Leitura | |
|---|---|---|
| Conc.(uM) | 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 (uM) 19.86

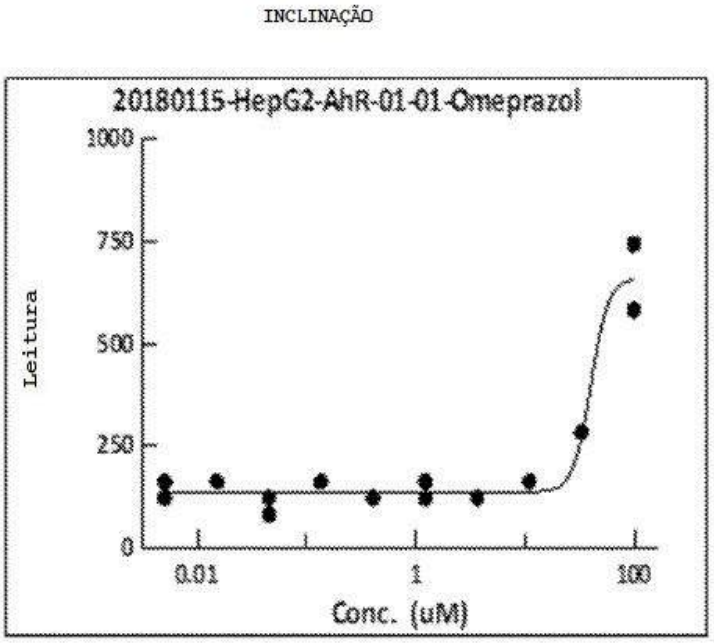
# Fig. 45

**A**

| Data | Enzima | Seqüência | ID.do composto | EC50 | SLOPE | RSQR | Pontos de dados | Sup. | Inferior |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 20180115 | HepG2-AhR | 01-01 | Omeprazol | 39.77727 | 5.535902 | 0.97838 | 10 | 660 | 137.4261 |

| Conc.(uM) | 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**



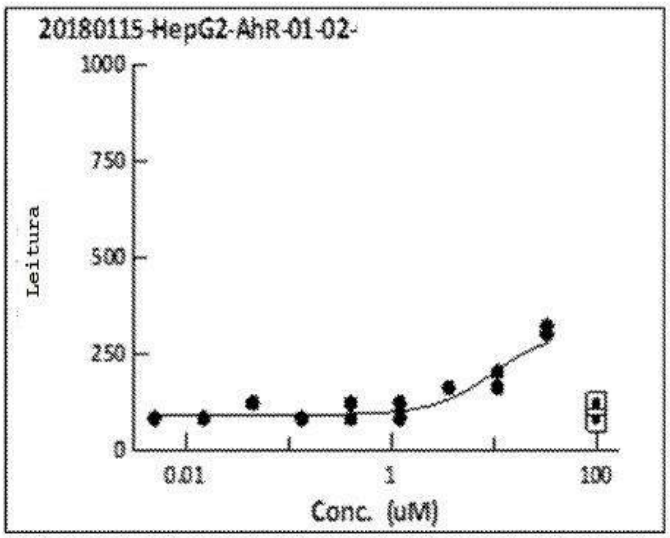
# Fig. 46

**A**

| Data | Enzima | Seqüência | ID.do composto | EC50 | SLOPE | RSQR | Pontos de dados | Sup. | Inferior |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 20180115 | HepG2-AhR | 01-02 | Composição desconhecida | 9.899879 | 1.475132 | 0.945235 | 10 | 310 | 93.18785 |

| Conc.(uM) | 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**



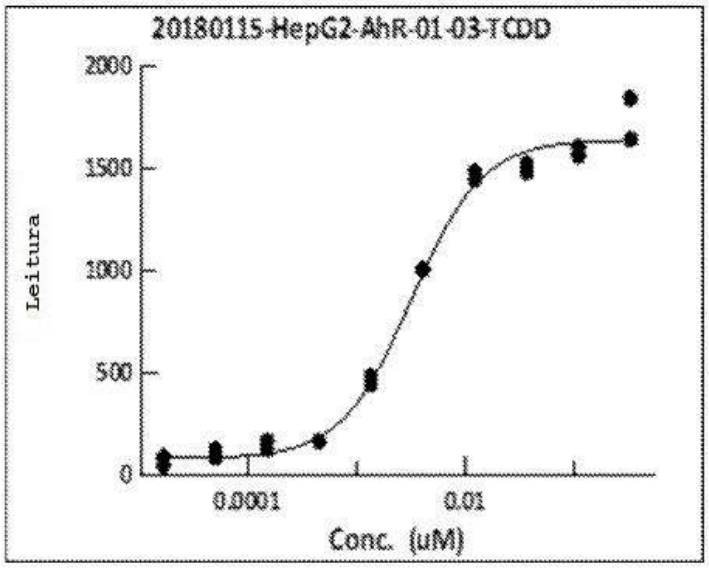
# Fig. 47

**A**

| Data | Enzima | Seqüência | ID.do composto | EC50 | SLOPE | RSQR | Pontos de dados | Sup. | Inferior |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 20180115 | HepG2-AhR | 01-03 | TCDD | 0.0033135 | 1.34754 | 0.995883 | 10 | 1640.967 | 80.510033 |

| Conc.(uM) | 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**



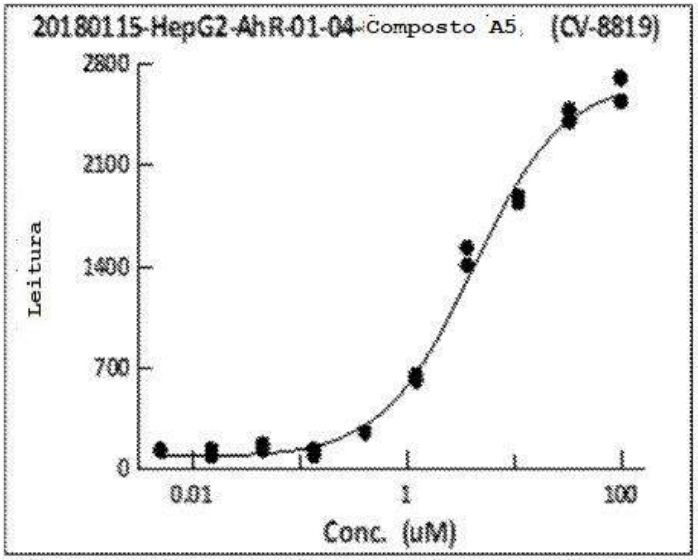
# Fig. 48

**A**

| Data | Enzima | Seqüência | ID.do composto | EC50 | SLOPE | RSQR | Pontos de dados | Sup. | Inferior |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 20180115 | HepG2-AhR | 01-04 | Composto A5 (CV-8819) | 4.109201 | 1.029146 | 0.996456 | 10 | 2687.557 | 76.24263 |

| Conc.(uM) | 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**



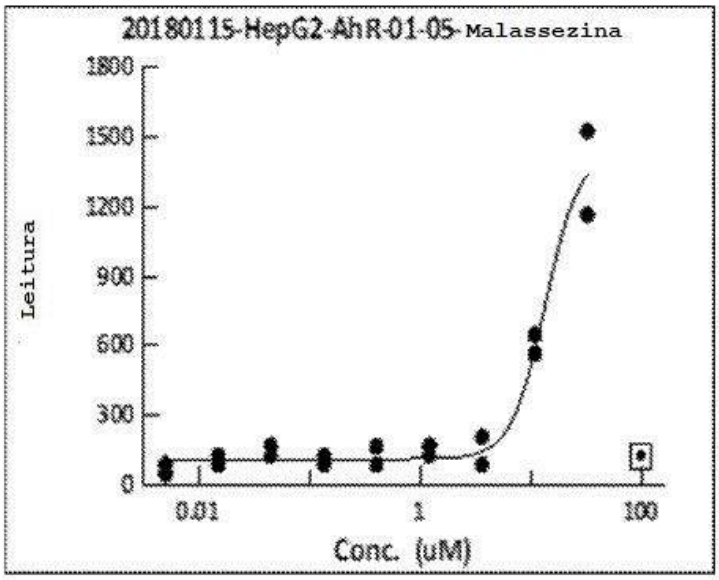
# Fig. 49

**A**

| Data | Enzima | Seqüência | ID.do composto | EC50 | SLOPE | RSQR | Pontos de dados | Sup. | Inferior |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 20180115 | HepG2-AhR | 01-05 | Malassezina | 13.38662 | 2.838889 | 0.984212 | 10 | 1432.357 | 109.28 |

| Conc.(uM) | 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**



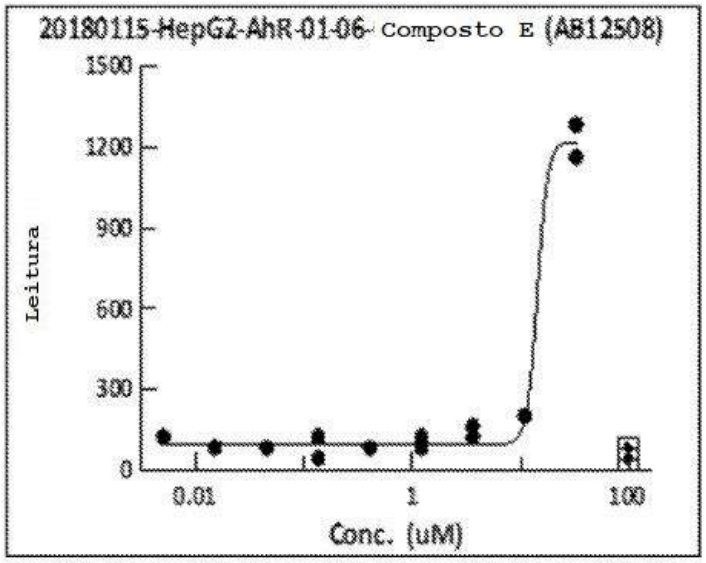
# Fig. 50

**A**

| Data | Enzima | Seqüência | ID.do composto | EC50 | SLOPE | RSQR | Pontos de dados | Sup. | Inferior |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 20180115 | HepG2-AhR | 01-06 | Composto E (AB12508) | 14.24499 | 9.23337 | 0.995708 | 10 | 1220 | 97.14167 |

| Conc.(uM) | 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**



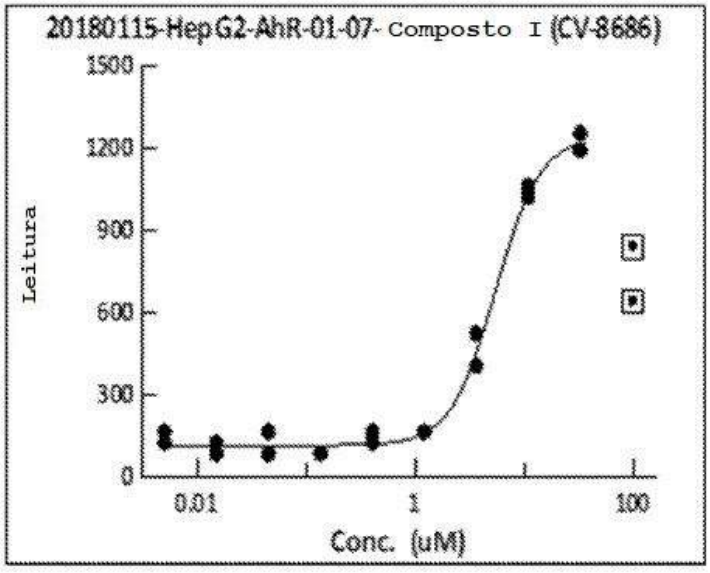
# Fig. 51

**A**

| Data | Enzima | Seqüência | ID.do composto | EC50 | SLOPE | RSQR | Pontos de dados | Sup. | Inferior |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 20180115 | HepG2-AhR | 01-07 | Composto I (CV-8686) | 5.45201 | 2.11618 | 0.9967 | 10 | 1244.354 | 114.6265 |

| Conc.(uM) | 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**



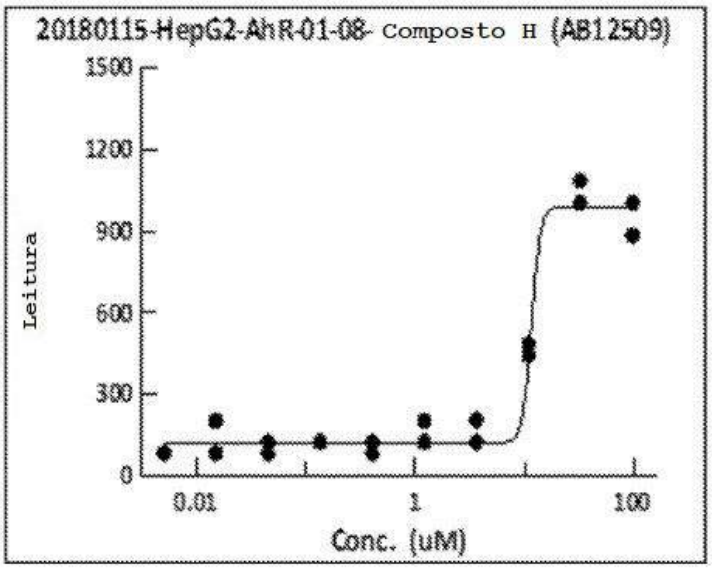
# Fig. 52

**A**

| DData | Enzima | Seqüência | ID.do composto | EC50 | SLOPE | RSQR | Pontos de dados | Sup. | Inferior |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 20180115 | HepG2-AhR | 01-08 | Composto H (AB12509) | 11.57635 | 11.02456 | 0.989995 | 10 | 990.0069 | 122.8584 |

| Conc.(uM) | 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**



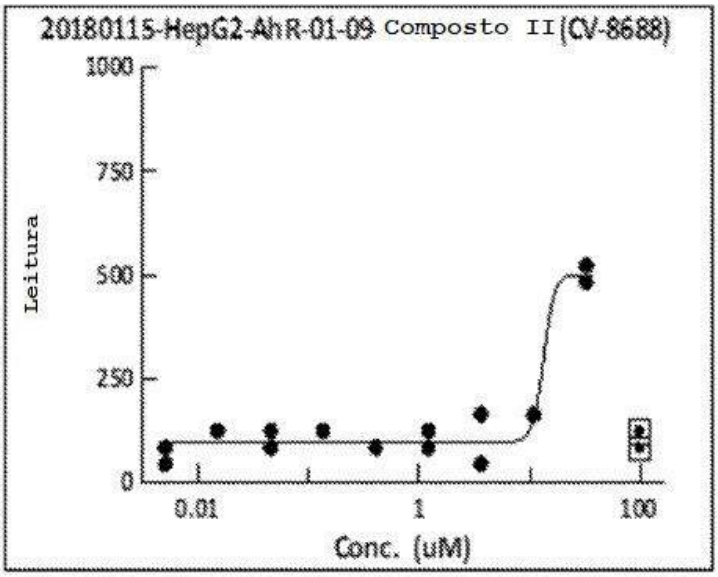
# Fig. 53

**A**

| Data | Enzima | Seqüência | ID.do composto | EC50 | SLOPE | RSQR | Pontos de dados | Sup. | Inferior |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 20180115 | HepG2-AhR | 01-09 | Composto II (CV-8688) | 13.3727 | 9.111176 | 0.97318 | 10 | 500 | 97.14233 |

| Conc.(uM) | 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**



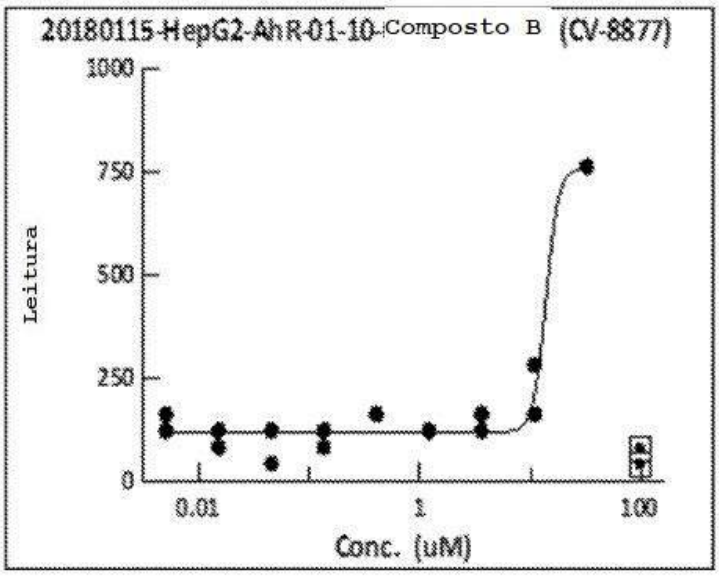
# Fig. 54

**A**

| Data | Enzima | Seqüência | ID.do composto | EC50 | SLOPE | RSQR | Pontos de dados | Sup. | Inferior' |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 20180115 | HepG2-AhR | 01-10 | Composto B (CV-8877) | 13.80928 | 7.756433 | 0.984216 | 10 | 760 | 119.9953 |

| Conc.(uM) | 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**



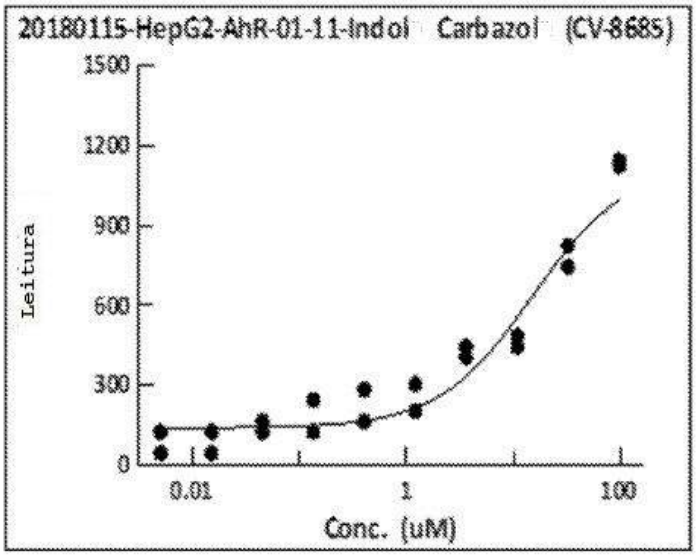
# Fig. 55

**A**

| Data | Enzima | Seqüência | ID.do composto | EC50 | SLOPE | RSQR | Pontos de dados | Sup. | Inferior |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 20180115 | HepG2-AhR | 01-11 | Indol Carbazol (CV-8685) | 15.17593 | 0.988082 | 0.971164 | 10 | 1130 | 140.4539 |

| Conc.(uM) | 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**



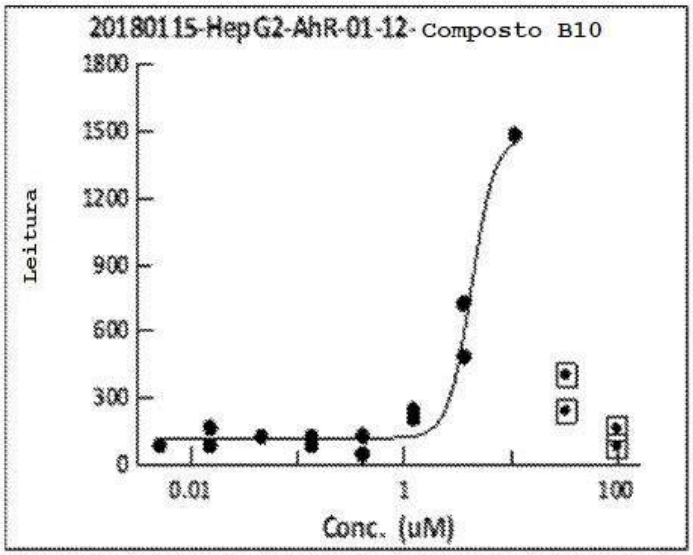
# Fig. 56

**A**

| Data | Enzima | Seqüência | ID.do composto | EC50 | SLOPE | RSQR | Pontos de dados | Sup. | Inferior |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 20180115 | HepG2-AhR | 01-12 | Composto B10 | 4.285882 | 4.001586 | 0.990953 | 10 | 1480 | 117.8489 |

| Conc.(uM) | 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**



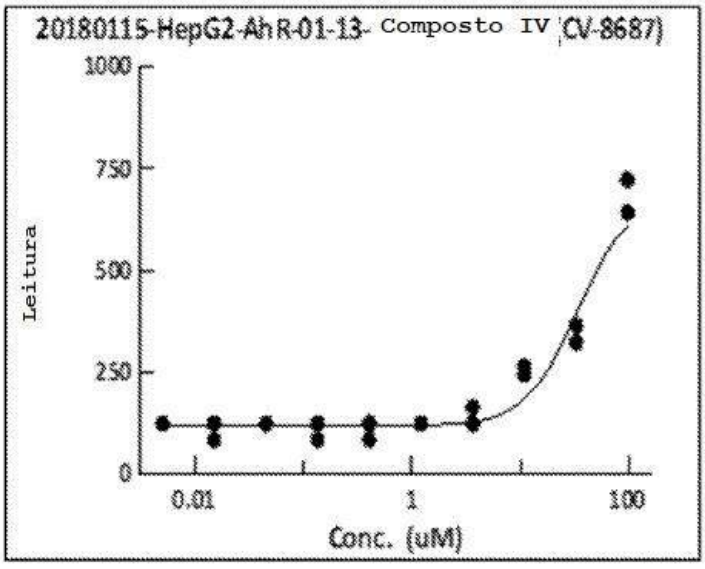
# Fig. 57

**A**

| Data | Enzima | Seqüência | ID.do composto | EC50 | SLOPE | RSQR | Pontos de dados | Sup. | Inferior |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 20180115 | HepG2-AhR | 01-13 | Composto IV (CV-8687) | 33.54525 | 1.813784 | 0.974593 | 10 | 680 | 117.8656 |

| Conc.(uM) | 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**



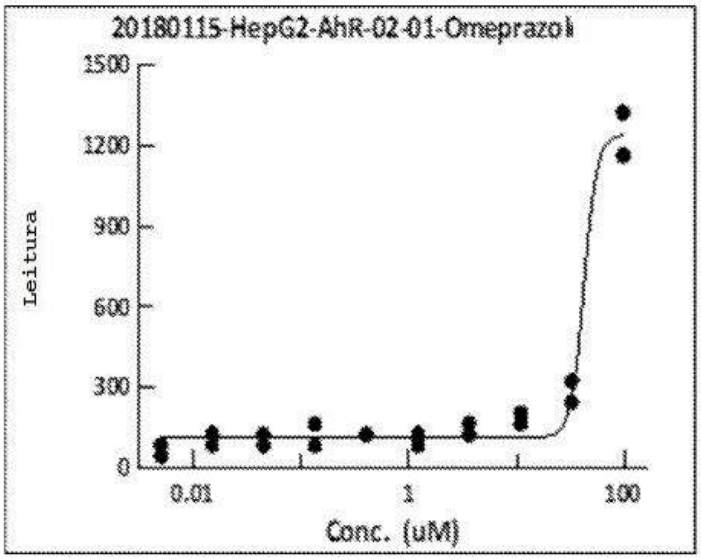
# Fig. 58

**A**

| Data | Enzima | Seqüência | ID.do composto | EC50 | SLOPE | RSQR | Pontos de dados | Sup. | Inferior |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 20180115 | HepG2-AhR | 02-01 | Omeprazol | 42.29353 | 7.394514 | 0.990983 | 10 | 1240 | 114.9869 |

| Conc.(uM) | 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**



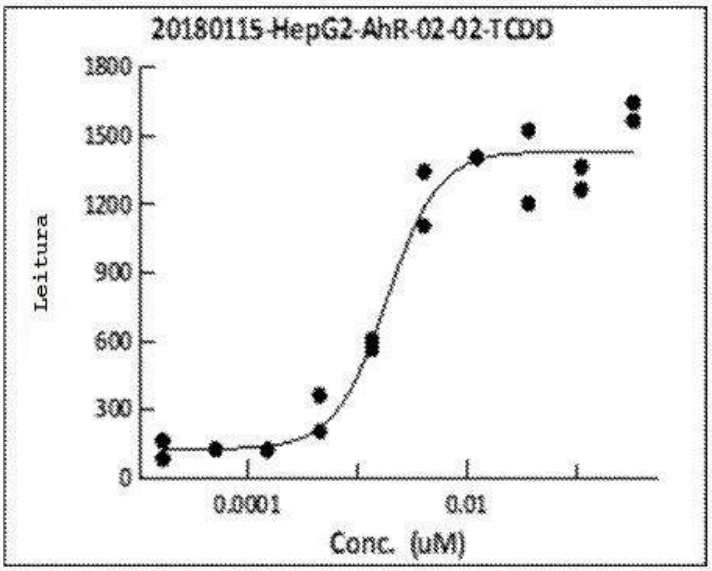
# Fig. 59

**A**

| Data | Enzima | Seqüência | ID.do composto | EC50 | SLOPE | RSQR | Pontos de dados | Sup. | Inferior |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 20180115 | HepG2-AhR | 02-02 | TCDD | 0.001807 | 1.837149 | 0.984824 | 10 | 1431.995 | 127.4616 |

| Conc.(uM) | 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**



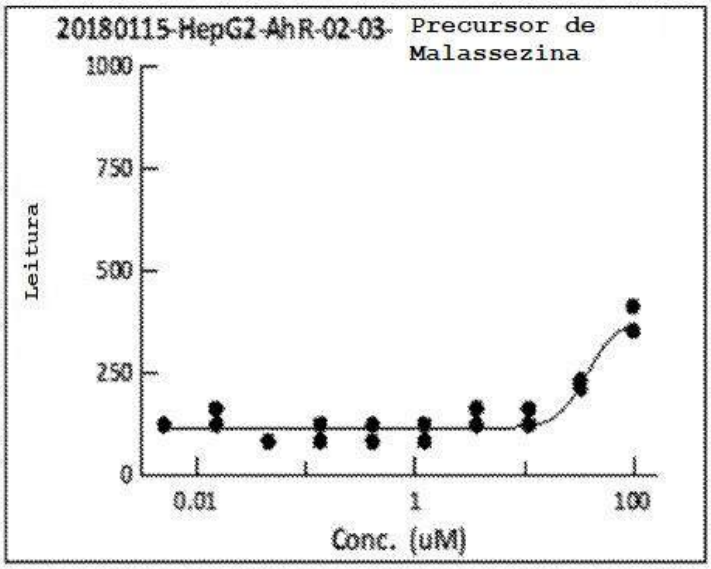
# Fig. 60

**A**

| Data | Enzima | Seqüência | ID.do composto | EC50 | SLOPE | RSQR | Pontos de dados | Sup. | Inferior |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 20180115 | HepG2-AhR | 02-03 | Precursor de Malassezina | 37.27747 | 3.149843 | 0.952118 | 10 | 380 | 113.9823 |

| Conc.(uM) | 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**



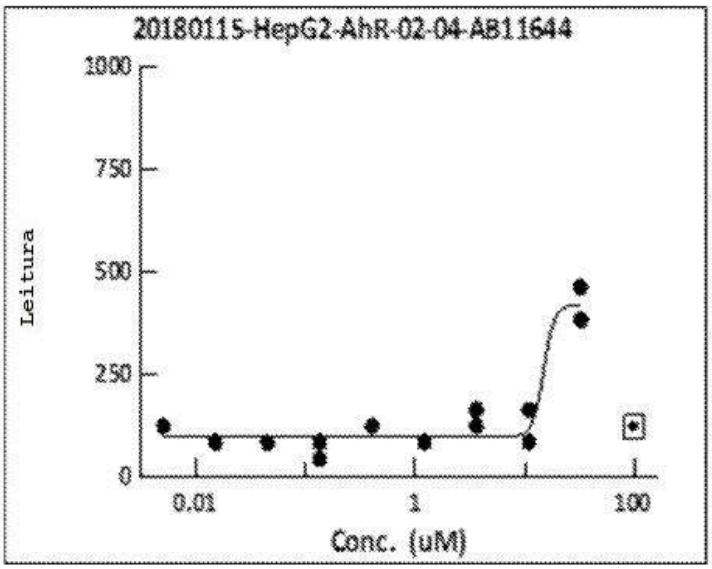
# Fig. 61

**A**

| Data | Enzima | Seqüência | ID.do composto | EC50 | SLOPE | RSQR | Pontos de dados | Sup. | Inferior |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 20180115 | HepG2-AhR | 02-04 | AB11644 | 14.87747 | 8.812064 | 0.953487 | 10 | 420 | 97.14158 |

| Conc.(uM) | 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**



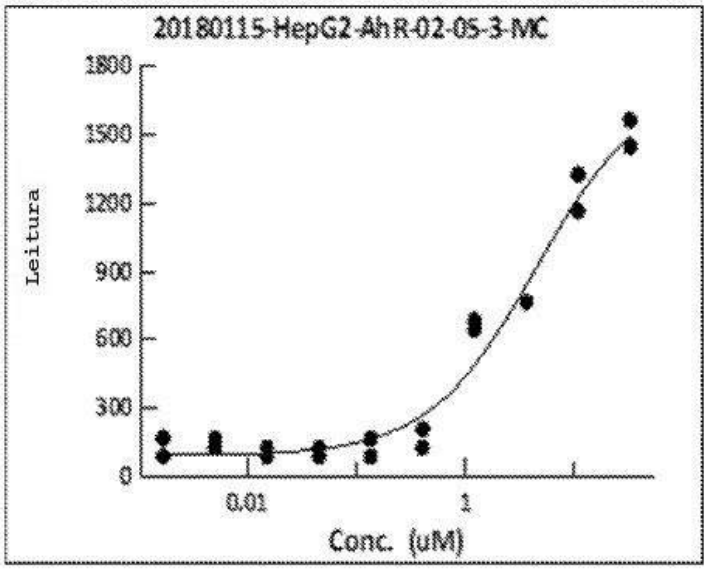
# Fig. 62

**A**

| Data | Enzima | Seqüência | ID.do composto | EC50 | SLOPE | RSQR | Pontos de dados | Sup. | Inferior |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 20180115 | HepG2-AhR | 02-05 | 3-MC | 4.342469 | 0.886617 | 0.986061 | 10 | 1726.876 | 90.45299 |

| Conc.(uM) | 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**



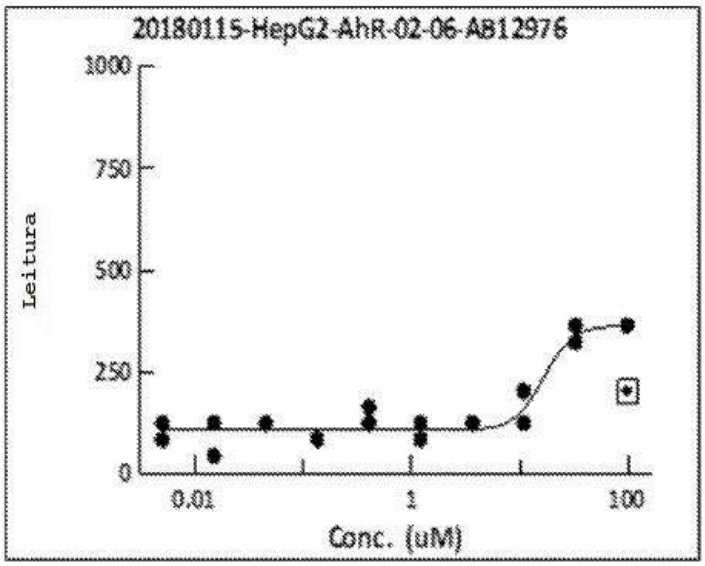
# Fig. 63

**A**

| Data | Enzima | Seqüência | ID.do composto | EC50 | SLOPE | RSQR | Pontos de dados | Sup. | Inferior |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 20180115 | HepG2-AhR | 02-06 | AB12976 | 16.50156 | 3.242359 | 0.950347 | 10 | 362.6614 | 105.2891 |

| Conc.(uM) | 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**



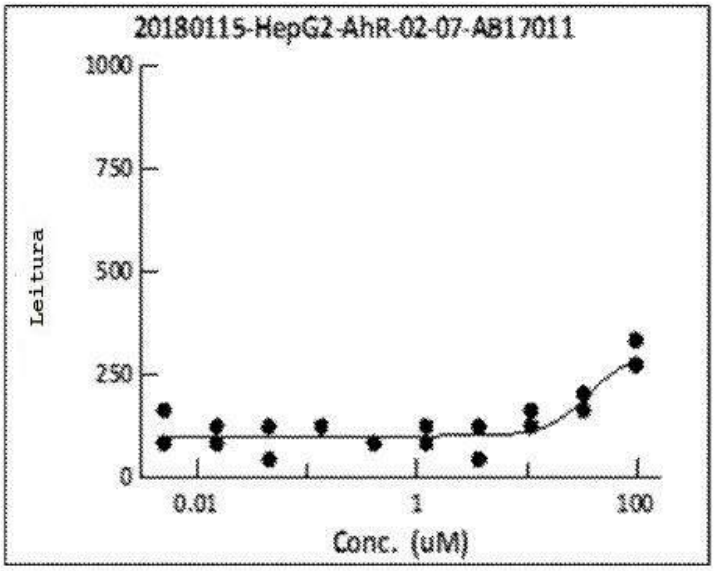
# Fig. 64

**A**

| Data | Enzima | Seqüência | ID.do composto | EC50 | SLOPE | RSQR | Pontos de dados | Sup. | Inferior[n] |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 20180115 | HepG2-AhR | 02-07 | AB17011 | 35.78255 | 2.274809 | 0.88606 | 10 | 300 | 99.89457 |

| Conc.(uM) | 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**



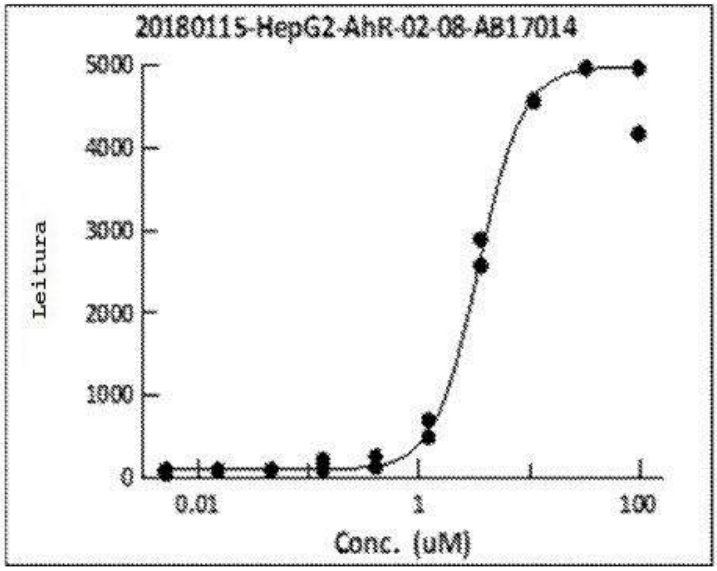
# Fig. 65

**A**

| Data | Enzima | Seqüência | ID.do composto | EC50 | SLOPE | RSQR | Pontos de dados | Sup. | Inferior |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 20180115 | HepG2-AhR | 02-08 | AB17014 | 3.464918 | 2.17053 | 0.990505 | 10 | 4987.67 | 99.05077 |

| Conc.(uM) | 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**



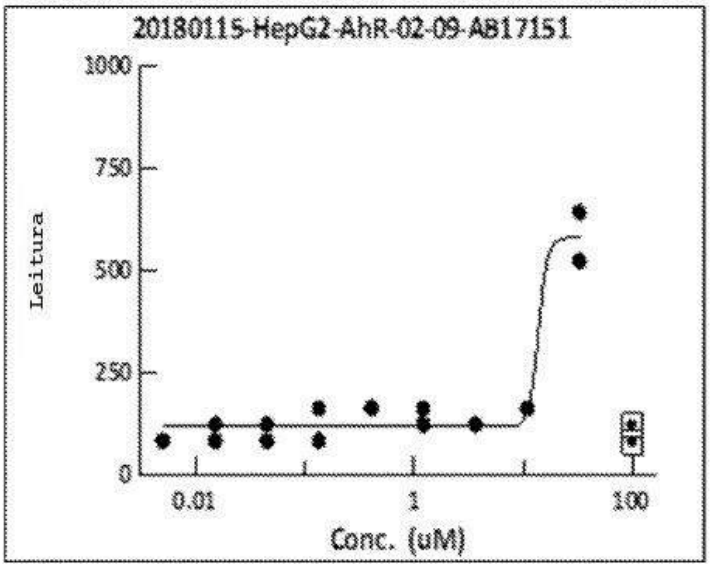
# Fig. 66

**A**

| Data | Enzima | Seqüência | ID.do composto | EC50 | SLOPE | RSQR | Pontos de dados | Sup. | Inferior |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 20180115 | HepG2-AhR | 02-09 | AB17151 | 13.72107 | 10.81185 | 0.97255 | 10 | 580 | 117.1428 |

| Conc.(uM) | 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**



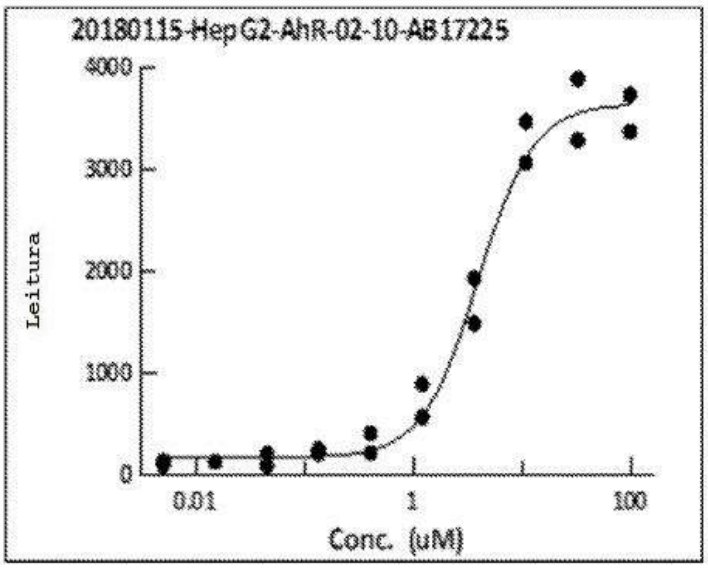
# Fig. 67

**A**

| Data | Enzima | Seqüência | ID.do composto | EC50 | SLOPE | RSQR | Pontos de dados | Sup. | Inferior |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 20180115 | HepG2-AhR | 02-10 | AB17225 | 3.927484 | 1.69501 | 0.992449 | 10 | 3644.497 | 170.3592 |

| Conc.(uM) | 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**



# Fig. 68

Resultados de Melanoderm™ (dados de viabilidade por MTT)

| Data do ensaio | HVS Número do artigo de teste | Concentração | Designação do Patrocinador | pH (Dia 0,2,4,6) | Viab.Tec. média (%)[1] | Viab.Tec. média (%)[1] | | Viab.Tec. média (%)[1] | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | | | 7-Days assay (treatment in alternate days) | 7-Days assay (treatment in alternate days) followed by 7-Days assay (no treatment - recovery) | | 14-Days assay (treatment in alternate days) | |
| Junho 2017 | 17AA58 | 200 µM | CV-8686 | 8.5 | 76.8 | 35.0 | 43.0 | 30.7 | 38.4 |
| | | 50 µM | | | 95.2 | 49.6 | 62.1 | 42.5 | 53.2 |
| | 17AD49 | 200 µM | AB11644 | 8.5 | 93.8 | NA | NA | NA | NA |
| | | 50 µM | | | 106.8 | NA | NA | NA | NA |
| | 17AA70 | 0.2% (V/V) | DMSO | 8.0 | NA | NA | NA | 97.2 | NA |
| | Controle neg. | NA | $DIH_2O$ | NA | 100[2] | NA | NA | 100[2] | NA |
| | Controle pos. | 1% (w/v) | Ác.kójico | NA | 119.0 | NA | NA | 48.8 | NA |
| | Tec.não-trat.-Dia0 | NA | NA | NA | 100[3] | NA | NA | NA | NA |

[1] Calculado em relação ao controle neg. relevante (por grupo de trat.)
[2] Valor do controle neg. definido como 100% (nível de base)
[3] Valor de controle de tecidos não tratados (Dia 0) definido como 100% (nível de base)
NA - Não aplicável

Em azul: valores corrigidos para controle de veículo DMSO 0,3%

# Fig. 69

Resultados de Melanoderm™ (dados de concentração de melanina)

| Data do ensaio | HVS Número do artigo de teste | Concentração | Designação do Patrocinador | pH (Dia 0,2,4,6) | Conc. média de melanina (ug/ml) | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | | | 7-Days assay (treatment in alternate days) | 7-Days assay (treatment in alternate days) followed by 7-Days assay (no treatment - recovery) | 14-Days assay (treatment in alternate days) |
| 7 Junho 2017 | 17AA58 | 200 µM | CV-8686 | 8.5 | 41.4 | 59.9 | 55.0 |
| | | 50 µM | | | 46.3 | 78.4 | 69.8 |
| | 17AD49 | 200 µM | AB11644 | 8.5 | 48.2 | NA | NA |
| | | 50 µM | | | 49.2 | NA | NA |
| | 17AA70 | 0.2% (V/V) | DMSO | 8.0 | NA | NA | 135.8 |
| | Controle neg. | NA | $DIH_2O$ | NA | 56.8 | NA | 174.0 |
| | Controle pos. | 1% (w/v) | Ác.kójico | NA | 23.3 | NA | 29.1 |
| | Tec.não-trat.-Dia0 | NA | NA | NA | 23.0 | NA | NA |

[1] Calculado em relação ao controle neg. relevante (por grupo de trat.)
[2] Valor do controle neg. definido como 100% (nível de base)
[3] Valor de controle de tecidos não tratados (Dia 0) definido como 100% (nível de base)
NA - Não aplicável

**Fig. 70**

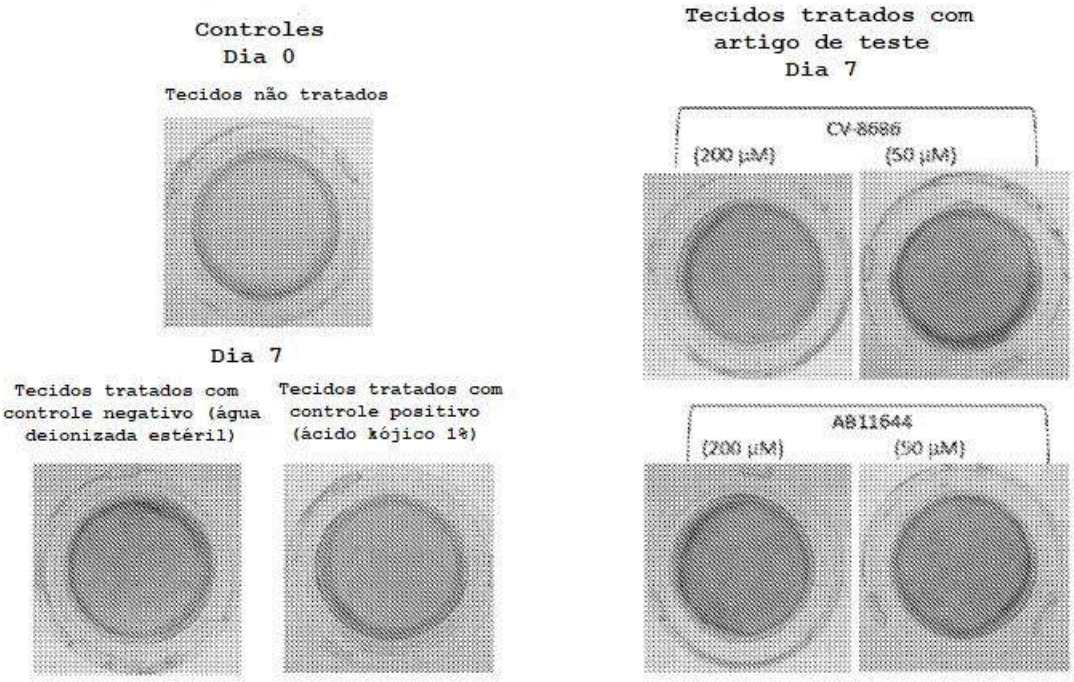
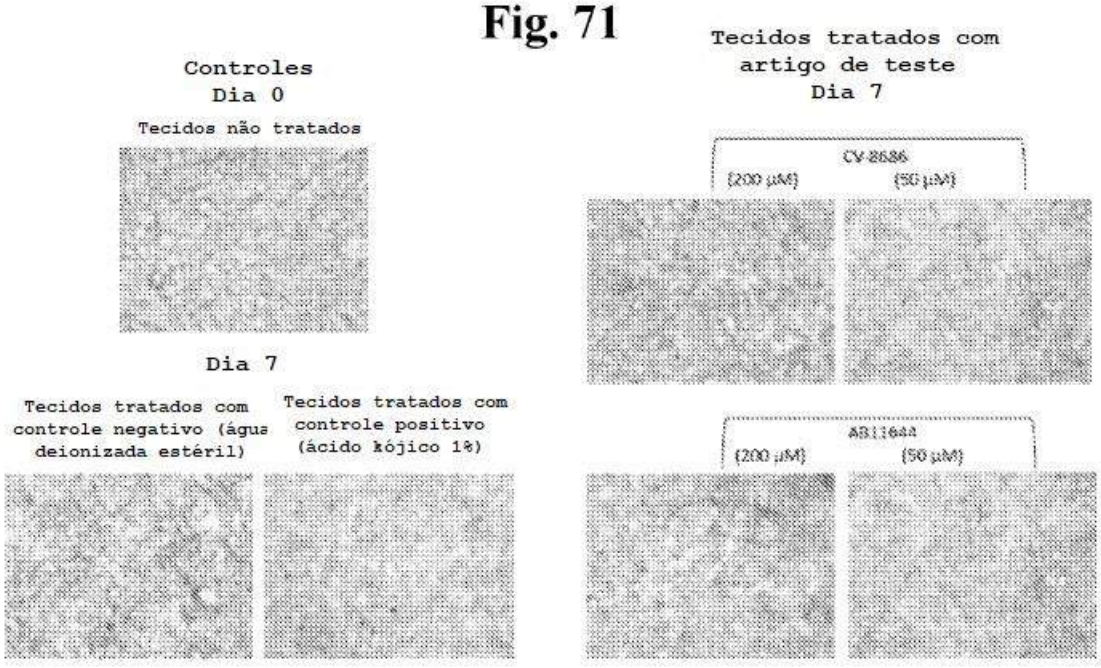
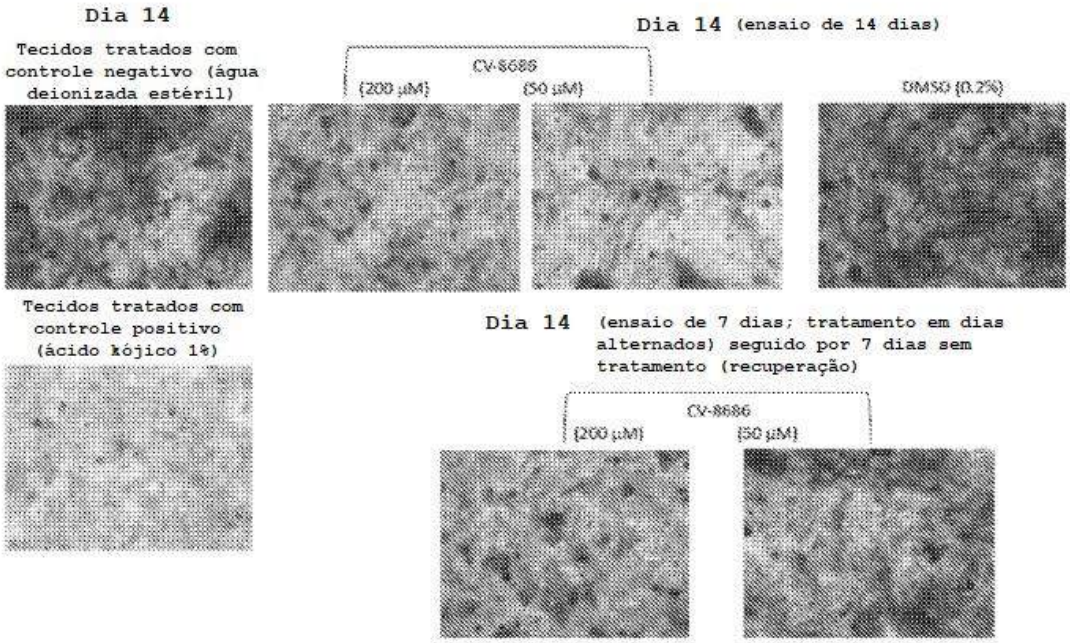

Controles
Dia 0
Tecidos não tratados
Dia 7
Tecidos tratados com controle negativo (água deionizada estéril)
Tecidos tratados com controle positivo (ácido kójico 1%)
Tecidos tratados com artigo de teste
Dia 7
CV-8686
(200 µM)
(50 µM)
AB11644
(200 µM)
(50 µM)

**Fig. 71**


Controles
Dia 0
Tecidos não tratados
Dia 7
Tecidos tratados com controle negativo (água deionizada estéril)
Tecidos tratados com controle positivo (ácido kójico 1%)
Tecidos tratados com artigo de teste
Dia 7
CV-8686
(200 µM)
(50 µM)
AB11644
(200 µM)
(50 µM)

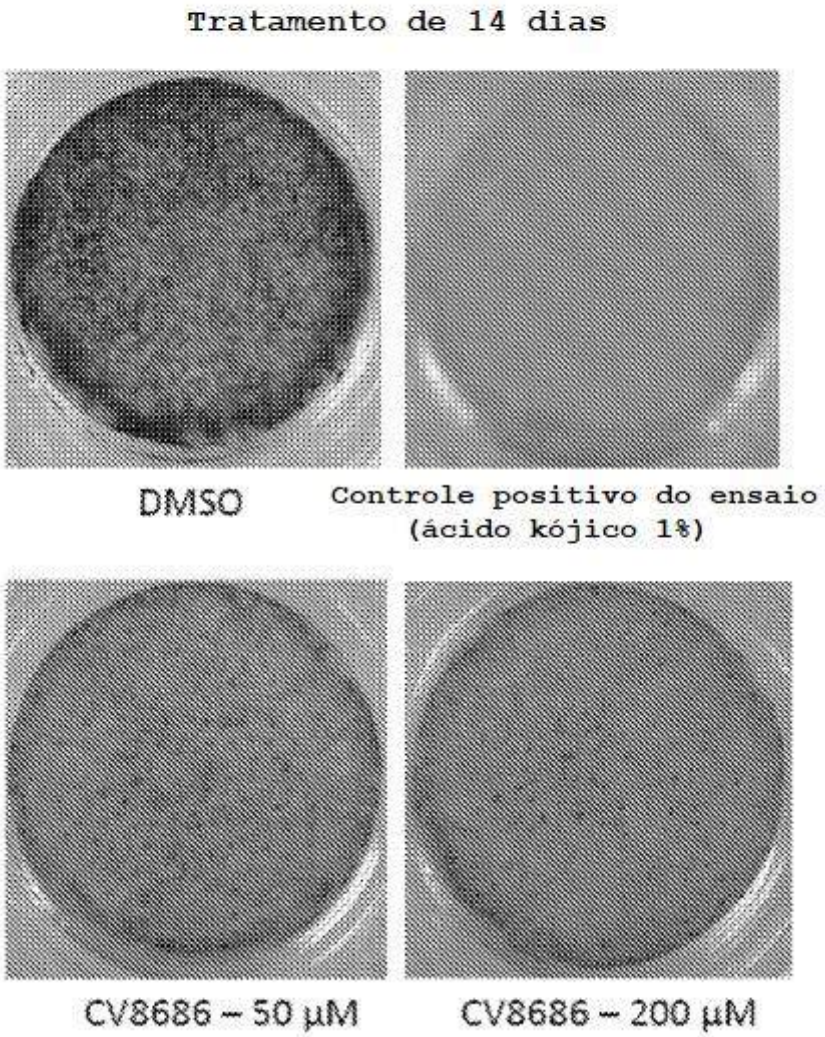
# Fig. 72


Dia 14
Tecidos tratados com controle negativo (água deionizada estéril)
Dia 14 (ensaio de 14 dias)
CV-8686
(200 µM)
(50 µM)
DMSO (0.2%)
Tecidos tratados com controle positivo (ácido kójico 1%)
Dia 14 (ensaio de 7 dias; tratamento em dias alternados) seguido por 7 dias sem tratamento (recuperação)
CV-8686
(200 µM)
(50 µM)

# Fig. 73


Tratamento de 14 dias
DMSO
Controle positivo do ensaio (ácido kójico 1%)
CV8686 – 200 µM
CV8686 – 200 µM

# Fig. 74


Tratamento de 14 dias
DMSO
Controle positivo do ensaio
(ácido kójico 1%)
CV8686 – 50 µM
CV8686 – 200 µM

# Fig. 75

Resultados de melanoDerm™ (dados de viabilidade por MTT e de concentraçao de melanina)

Study No. 17AA78, AD41, AJ41, AJ43-AJ47, AJ55, AJ64,668102

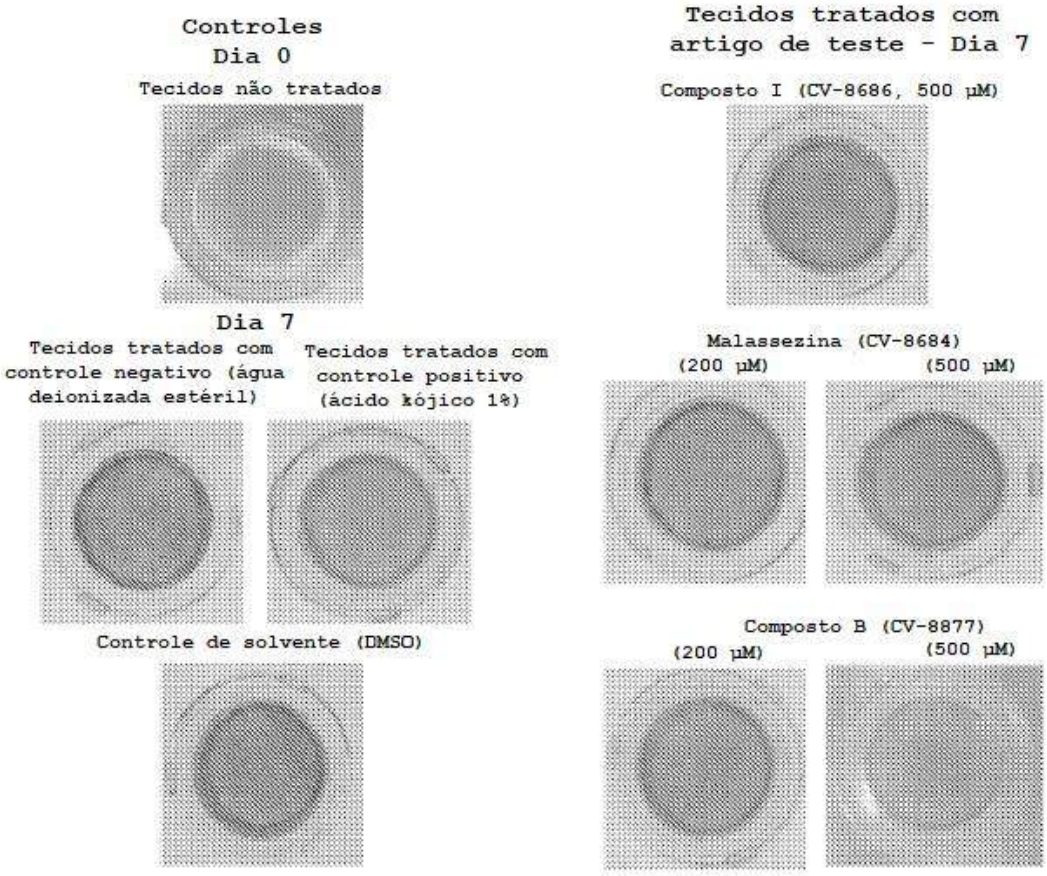
| Data do ensaio | N° do art. teste MV# | Concentr. | Designação do Patrocinador | pH (Dia 0,1 4,6) | Viab. tec. média (%) Dia 7 | Conc. de melanina (um/ml) |
|---|---|---|---|---|---|---|
| 16 de nov. de 2017 | 17AA78 | 0.5% (v/v) | DMSO | 8.5; 8.0; 8.5; 8.5 | 100[2] | 53.82 |
| | 17AD41 | 500 µM | Composto I (CV-8686) | 8.0 | 69.8 | 30.68 |
| | 17AJ43 | 500 µM | Malassezina (CV-8684) | 8.0 | 78.6 | 31.41 |
| | | 200 µM | | | 78.8 | 34.48 |
| | 17AJ43 | 500 µM | Composto B (CV-8877) | 8.0 | 87.5 | 26.59 |
| | | 200 µM | | | 99.4 | 39.18 |
| | 17AJ44 | 500 µM | Composto E (AB12568) | 8.0 | 78.4 | 28.26 |
| | | 200 µM | | | 106.3 | 33.23 |
| | 17AJ45 | 500 µM | Composto H (AB12569) | 8.0 | 62.8 | 37.39 |
| | | 200 µM | | | 89.8 | 36.83 |
| | 17AJ46 | 500 µM | | 8.0 | 86.5 | 30.50 |
| | | 200 µM | | | 101.2 | 34.66 |
| | 17AJ47 | 500 µM | Composto A5 (CV-8819) | 8.0 | 68.7 | 31.41 |
| | | 200 µM | | | 79.2 | 29.68 |
| | 17AJ55 | 500 µM | OS2 (AB12970) | 8.0 | 92.8 | 37.37 |
| | | 200 µM | | | 96.2 | 43.38 |
| | 17AJ64 | 0.1% (w/v)* | Formul. de Comp. I | NCC | 26.9 | 22.58 |
| | Negative Control | 100% | Sterile dH2O | NA | NA | 36.82[3] |
| | Positive Control | 1% (w/v) | Kojic acid | 4.0 | 104.6 | 21.01 |
| | Untreated tissues | NA | NA | NA | 100[3] | 21.47 |

1- Calculado em relação ao controle neg. relevante (por grupo de trat.)
2- Valor do controle neg. definido como 100% (nivel de base)
3- Valor de controle de tecidos não tratados (Dia 0) definido como 100% (nivel de base)

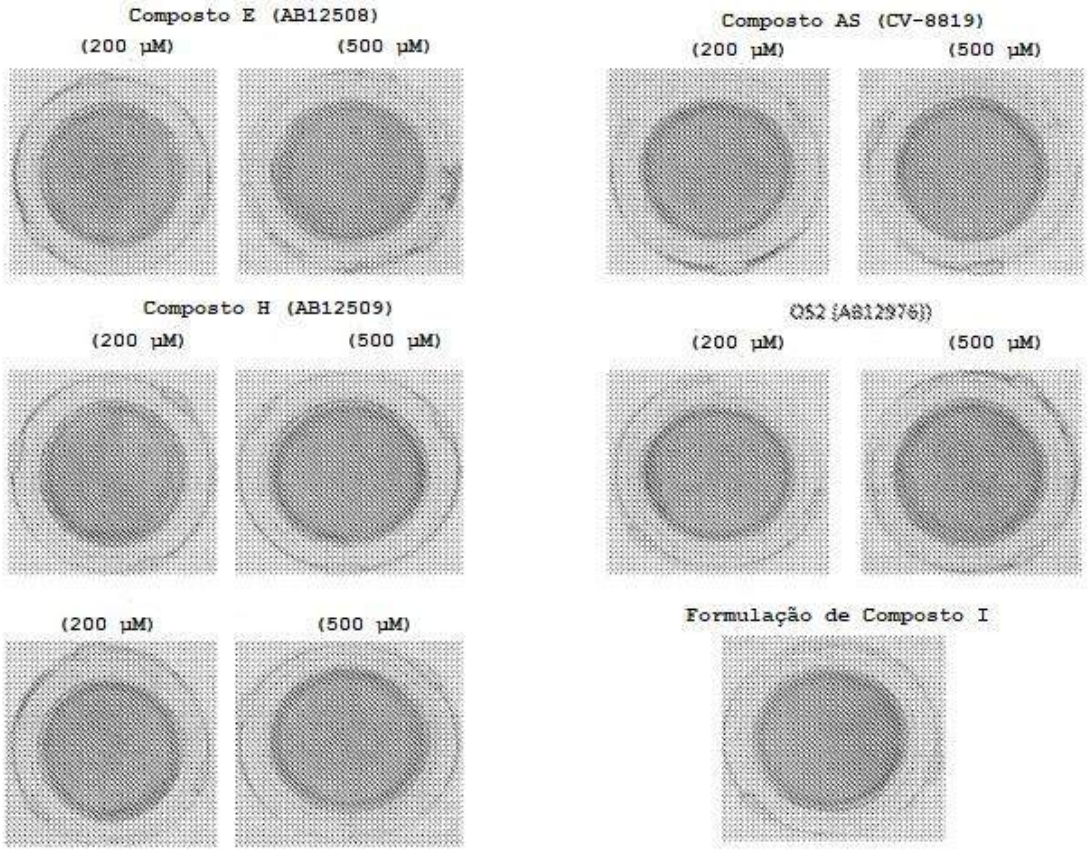
NCC-Nenhuma alteração de cor do papel de pH
NA-não aplicável
*- baseado em tecido único

^ - where a single value is listed, the pH value was the same for all 4 measurement days (0, 2, 4, 6)
* - formulated and provided at this concentration by the Sponsor; applied to the tissues without further dilution

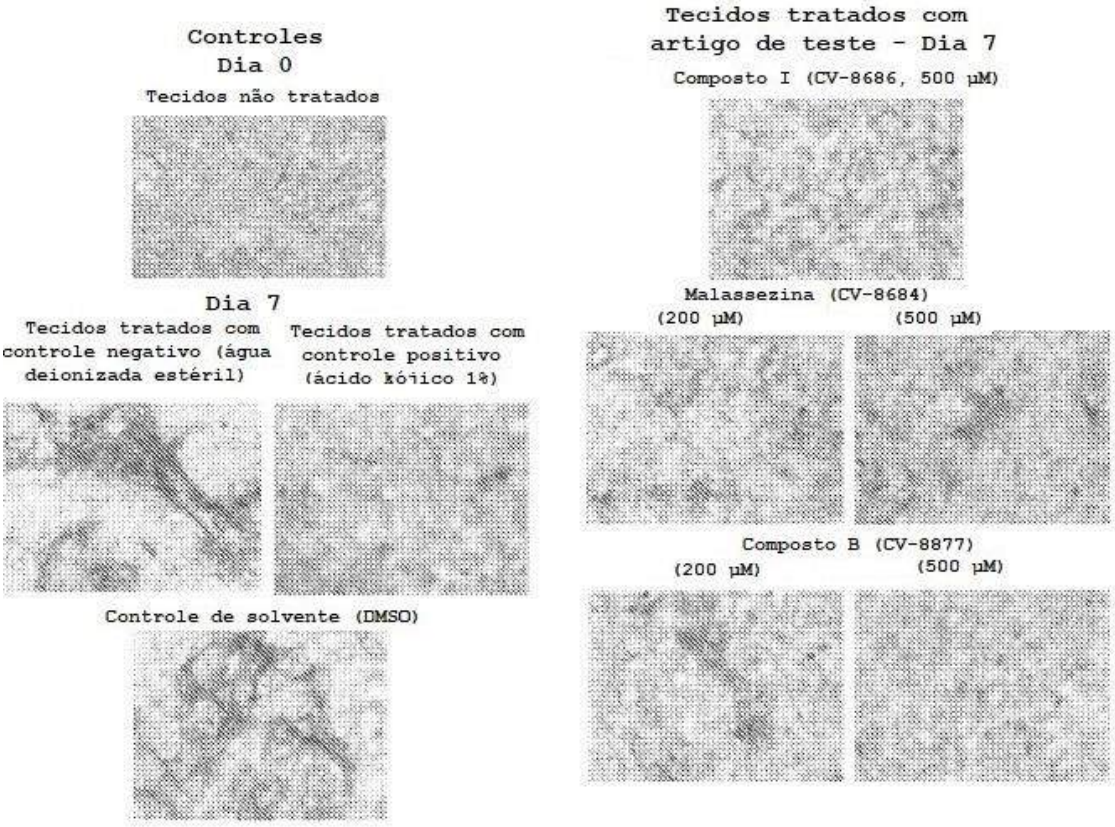
# Fig. 76


Controles
Dia 0
Tecidos não tratados
Dia 7
Tecidos tratados com controle negativo (água deionizada estéril)
Tecidos tratados com controle positivo (ácido kójico 1%)
Controle de solvente (DMSO)
Tecidos tratados com artigo de teste - Dia 7
Composto I (CV-8686, 500 µM)
Malassezina (CV-8684)
(200 µM)
(500 µM)
Composto B (CV-8877)
(200 µM)
(500 µM)

# Fig. 77


Composto E (AB12508)
(200 µM)
(500 µM)
Composto AS (CV-8819)
(200 µM)
(500 µM)
Composto H (AB12509)
(200 µM)
(500 µM)
(200 µM)
(500 µM)
(200 µM)
(500 µM)
Formulação de Composto I

# Fig. 78


Controles
Dia 0
Tecidos não tratados
Dia 7
Tecidos tratados com controle negativo (água deionizada estéril)
Tecidos tratados com controle positivo (ácido kójico 1%)
Controle de solvente (DMSO)
Tecidos tratados com artigo de teste - Dia 7
Composto I (CV-8686, 500 µM)
Malassezina (CV-8684)
(200 µM)
(500 µM)
Composto B (CV-8877)
(200 µM)
(500 µM)

# Fig. 79

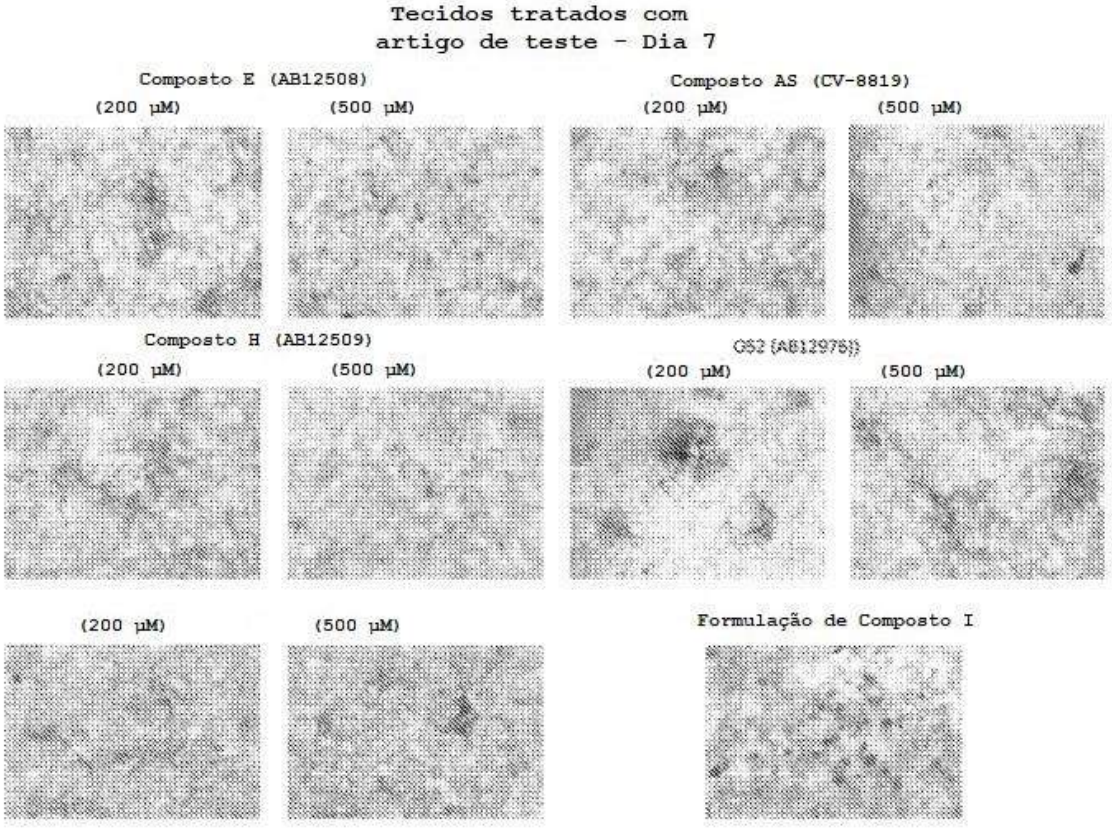

Tecidos tratados com
artigo de teste - Dia 7
Composto E (AB12508)
(200 µM)
(500 µM)
Composto AS (CV-8819)
(200 µM)
(500 µM)
Composto H (AB12509)
(200 µM)
(500 µM)
(200 µM)
(500 µM)
(200 µM)
(500 µM)
Formulação de Composto I

**Fig. 80**

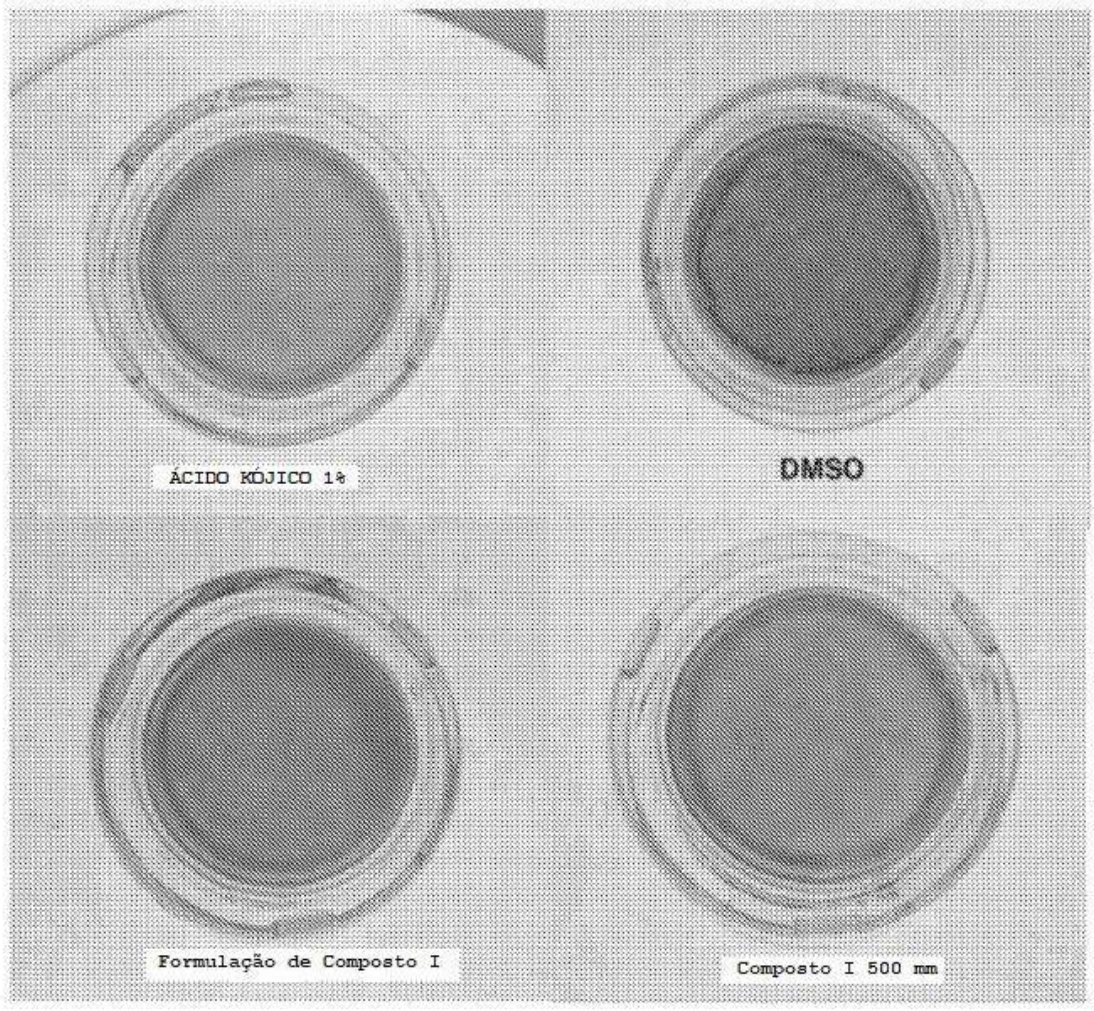

ÁCIDO KÓJICO 1%
DMSO
Formulação de Composto I
Composto I 500 mm

**Fig. 81**

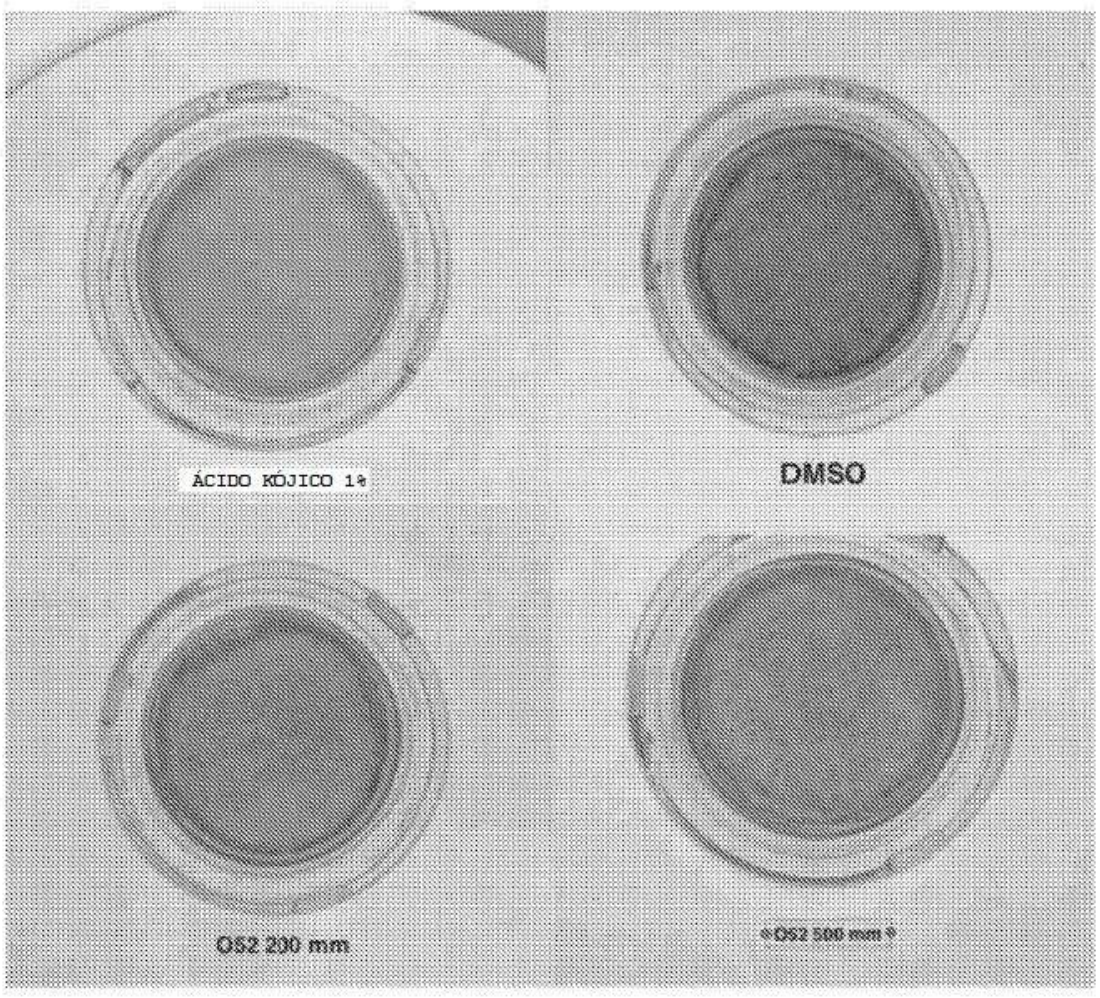


**Fig. 82**

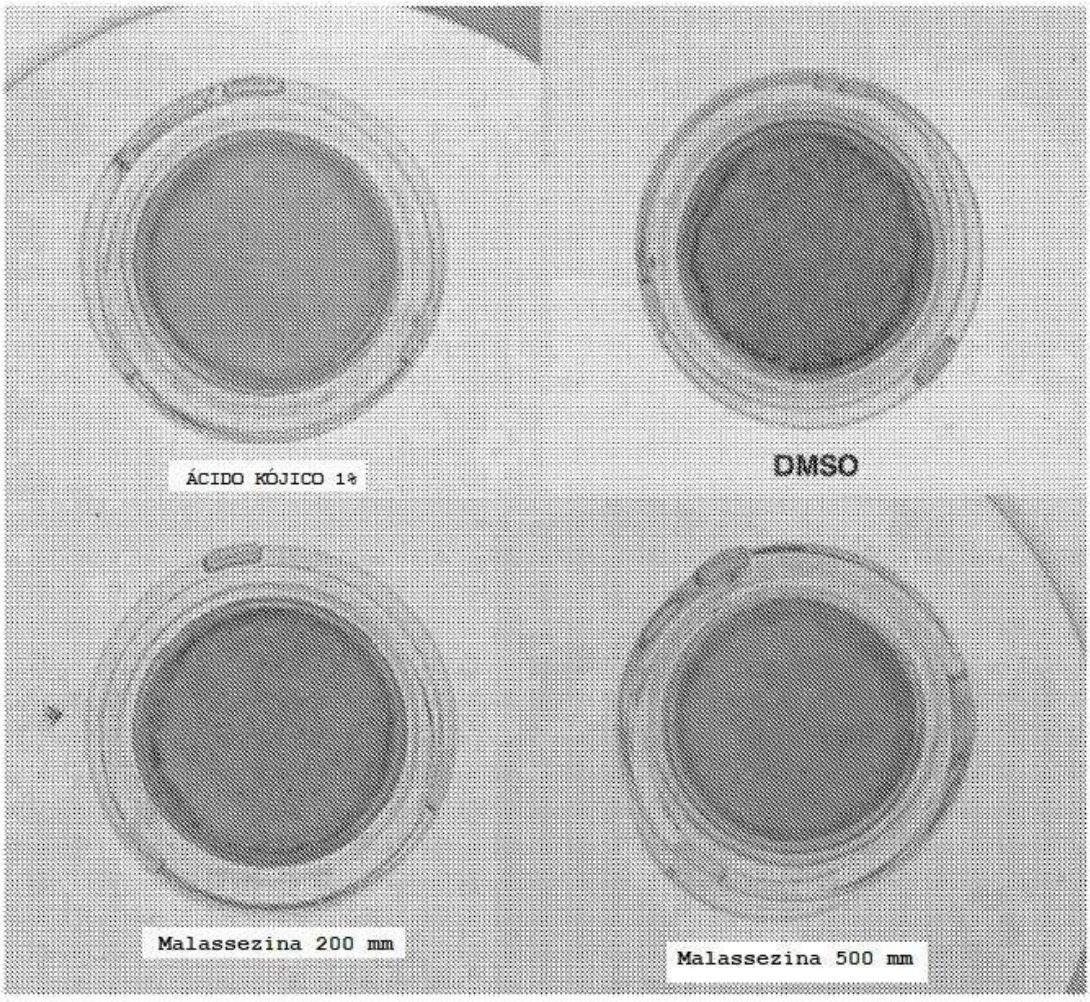


**Fig. 83**

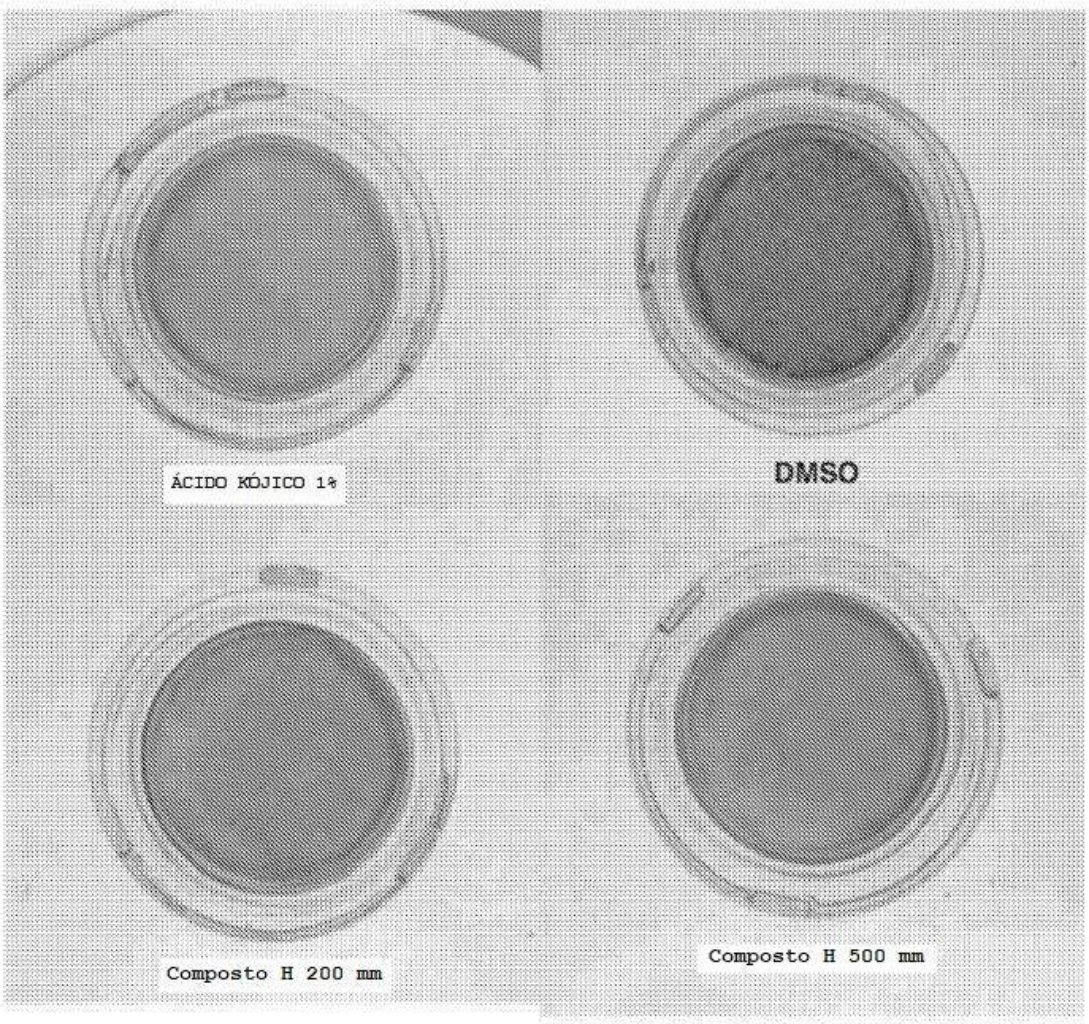


**Fig. 84**

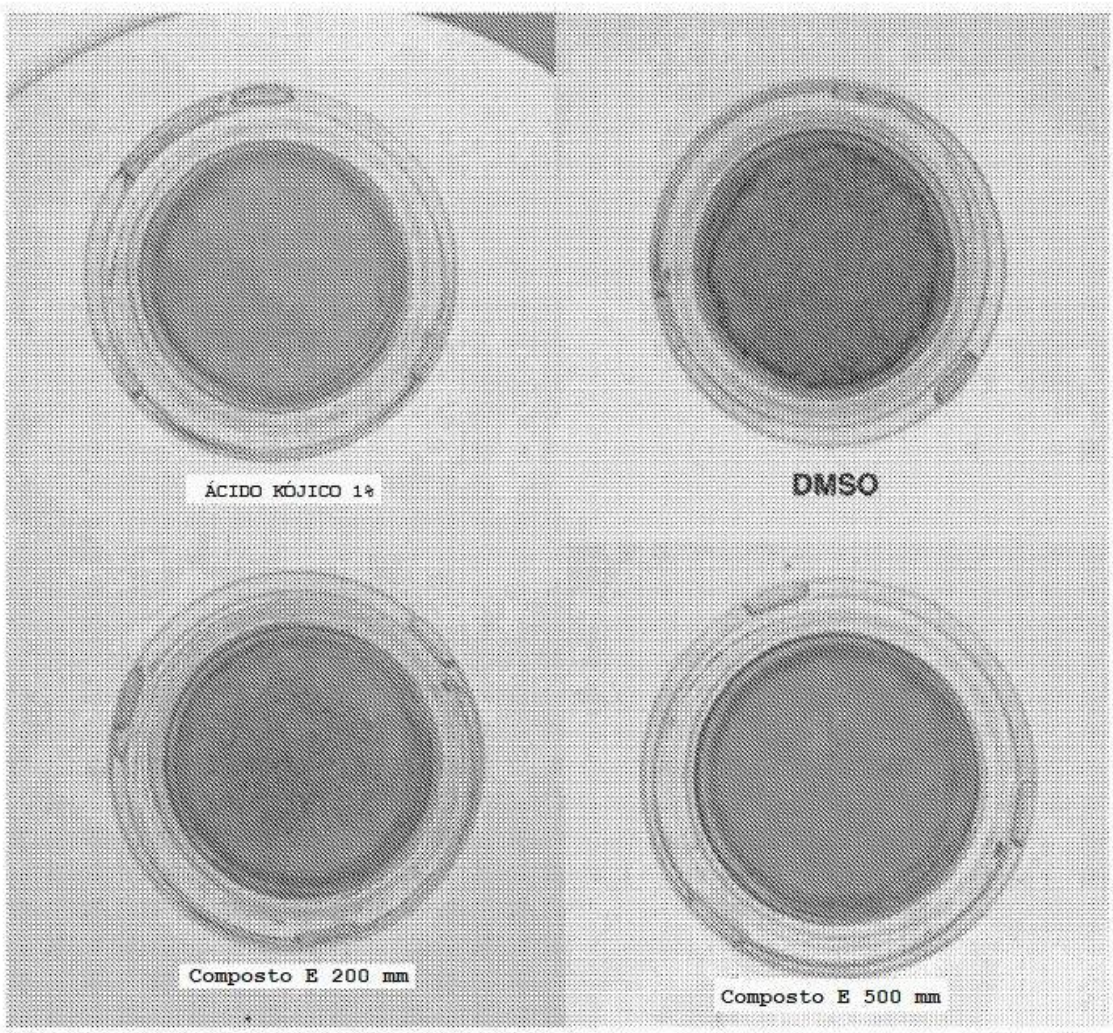


**Fig. 85**

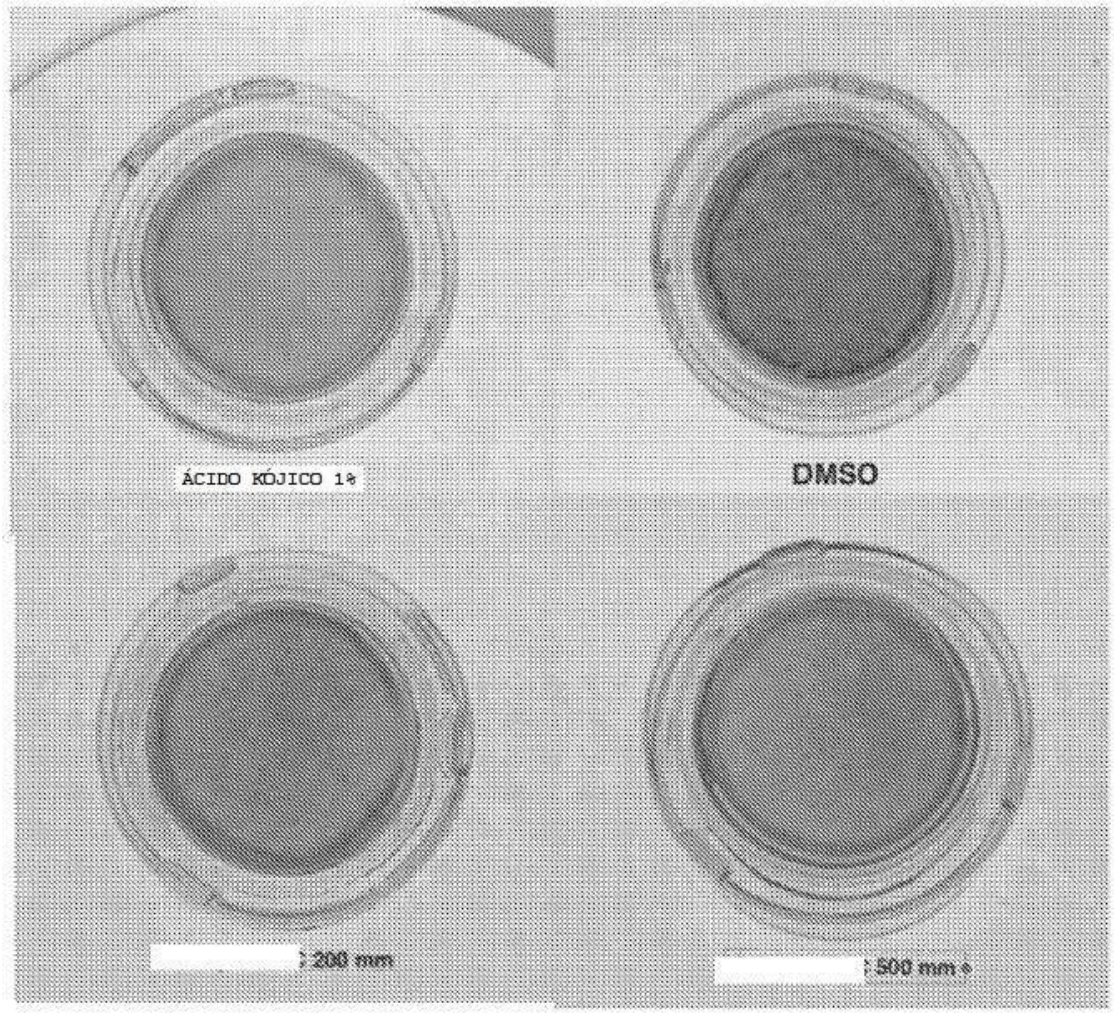


**Fig. 86**

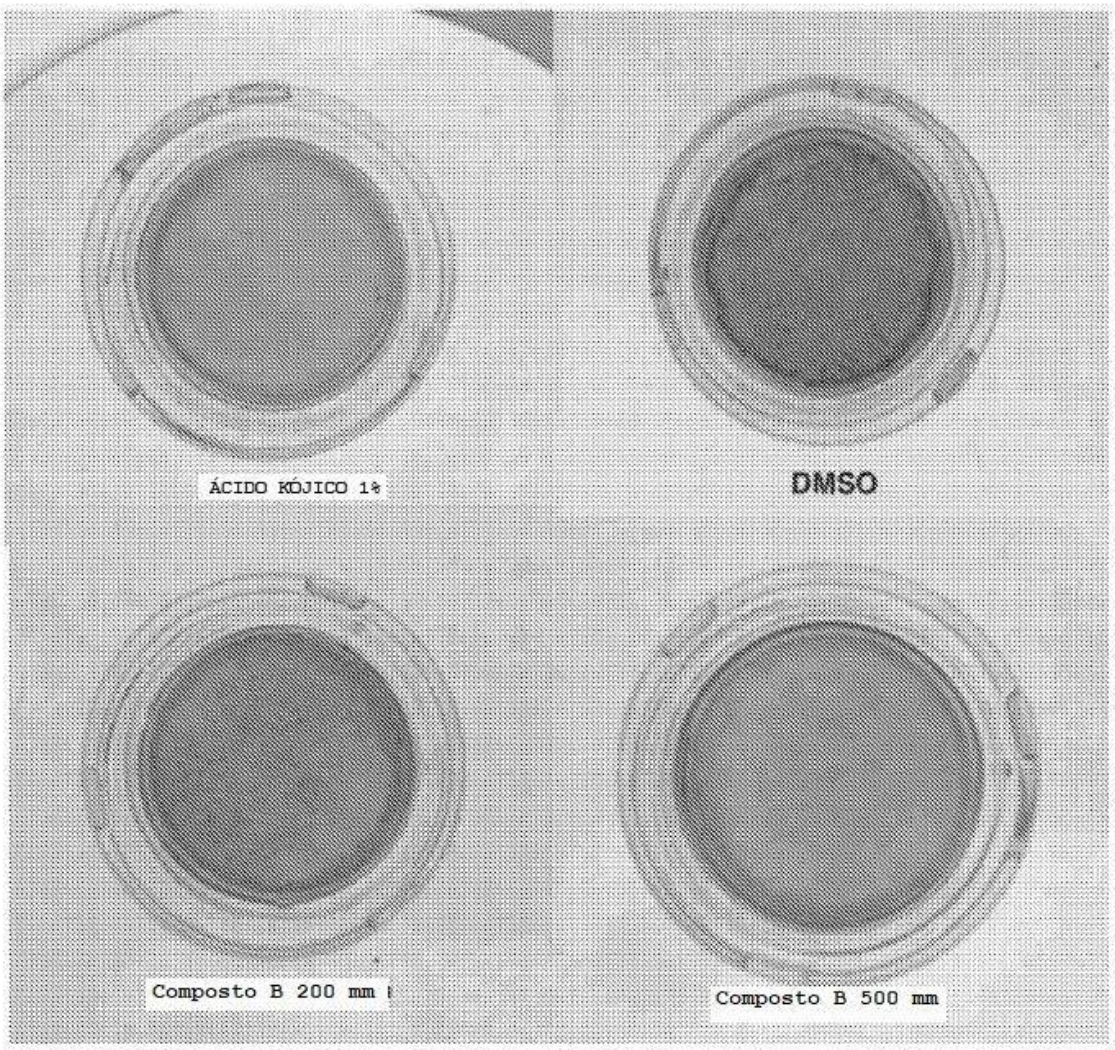
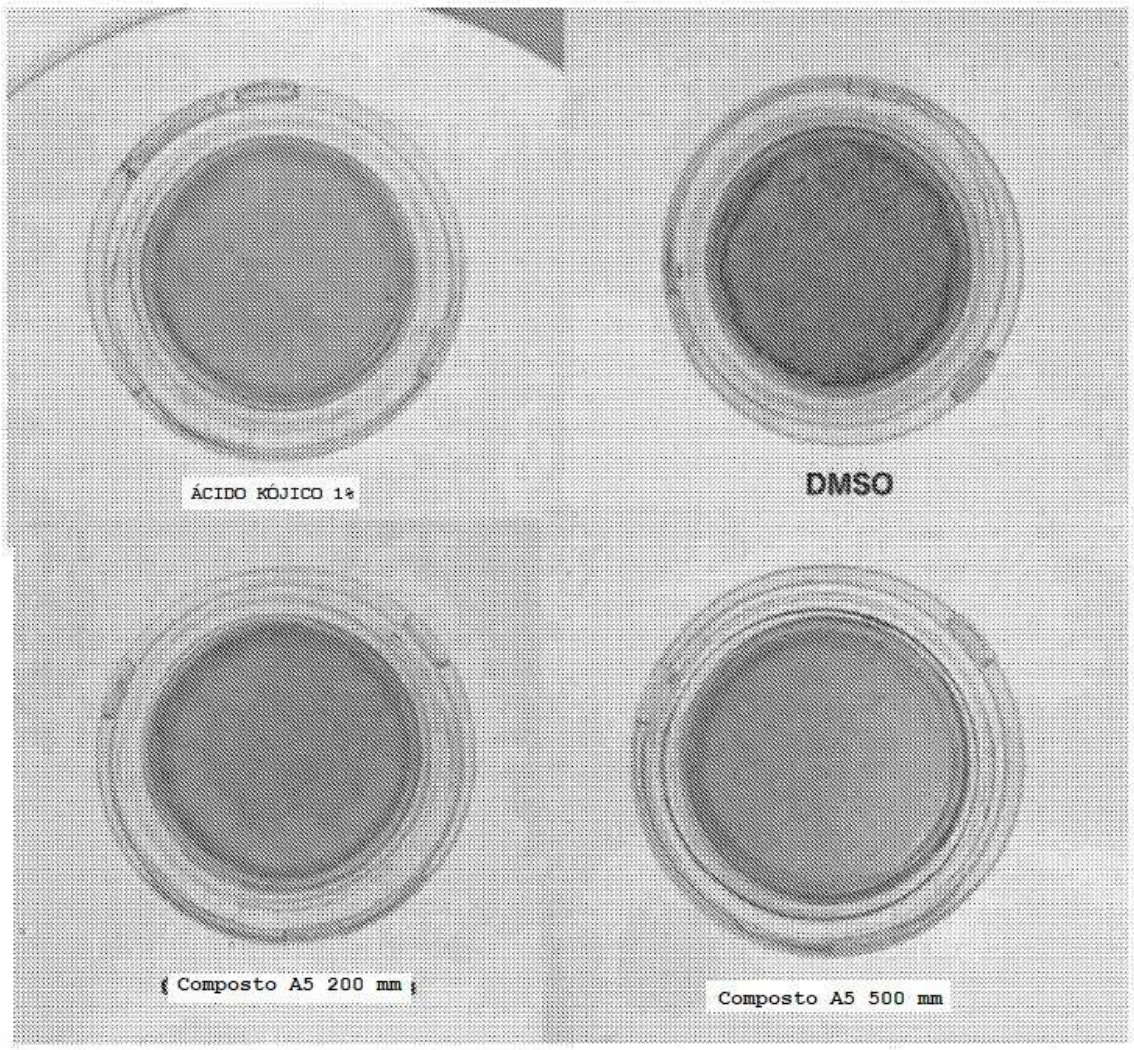


**Fig. 87**



# Fig. 88

pH (Day 0, 2, 4, 6)^

Resultados de Melanoderm™ (dados de viabilidade por MTT e concentração de melanina)

| Número do artigo de teste IIVS | Concentração | Designação do Patrocinador | pH (Dia 0, 2, 4, 6)^ | Viabl. tec. média (%)[1] Dia 7 | Concentração de melanina (µg/mL) |
|---|---|---|---|---|---|
| **18AA14** | 1000 µM | AB17151 | 8.5; 8.5;8.5; 8.5 | 13.6 | 10.323 |
| | 500 µM | | 8.0; 8.0;8.0; 8.0 | 36.5 | 10.074 |
| | 200 µM | | 7.5; 8.0;7.5; 7.5 | 92.5 | 15.050 |
| **18AA15** | 500 µM | Composto B10 | 8.0; 8.0; 8.0; 8.0 | 85.6 | 18.782 |
| | 200 µM | | 7.5; 8.0; 7.5; 7.5 | 69.0 | 20.524 |
| **18AA16** | 500 µM | Precursor de malassezina | 8.0; 8.5; 8.0; 8.0 | 91.1 | 27.324 |
| | 200 µM | | 7.5; 8.0; 7.5; 7.5 | 103.5 | 24.670 |
| **18AA21** | 500 µM | Malassezina indol A (AB17011) | 8.5; 8.5; 8.5; 8.0 | 91.4 | 24.173 |
| **18AA22** | 500 µM | Pitiacitrina (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 µM | Malassezina (CV-8684) | 8.5; 8.5; 8.5; 8.5 | 59.2 | 19.114 |
| | 500 µM | | 8.0; 8.0; 8.0; 8.0 | 65.9 | 18.201 |
| | 200 µM | | 7.5; 7.5; 7.5; 7.5 | 90.9 | 20.026 |
| **17AJ44** | 1000 µM | Composto E (AB12508) | 8.5; 8.5; 8.5; 8.5 | 16.0 | 9.908 |
| | 500 µM | | 8.0; 8.0; 8.0; 8.0 | 100.5 | 16.294 |
| | 200 µM | | 7.5; 7.5; 7.5; 7.5 | 108.7 | 23.509 |
| Controle positivo | 1% (p/v) | Ácido kójico | 4.0; 4.0; 4.0; 4.0 | 120.3 | 11.484 |
| Tecidos não tratados | NA | NA | NA | 100[3] | 9.825 |

[1]– Calculado em relação ao controle de solvente (17AA70-DMSO)

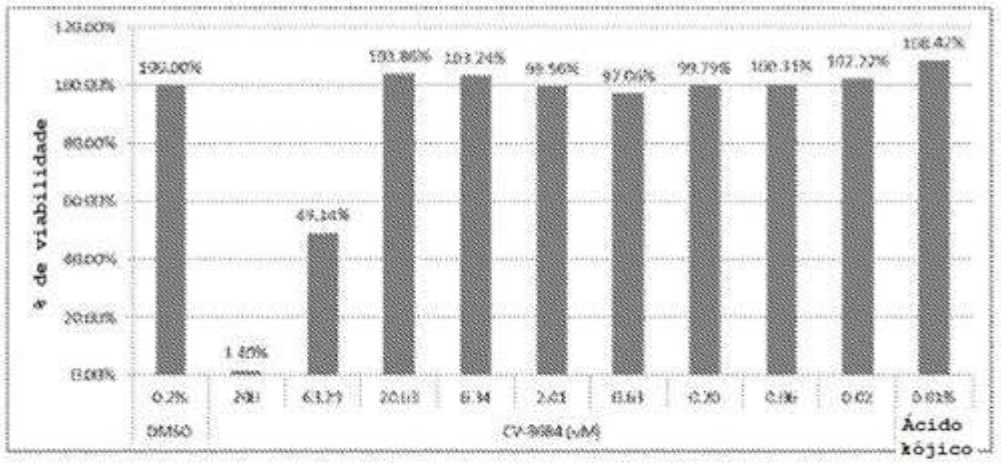
[2]– Valor do controle de solvente definido como 100% (nível de base)

[3]– Valor de controle de tecidos não tratados (Dia 0) definido como 100% (nível de base)

NA - Não aplicável

# Fig. 89

A


% de viabilidade
100,00%
49,14%
1,46%
100,86%
103,24%
99,56%
97,06%
99,79%
100,31%
102,22%
108,42%
0,2%
DMSO
Ácido kójico

B

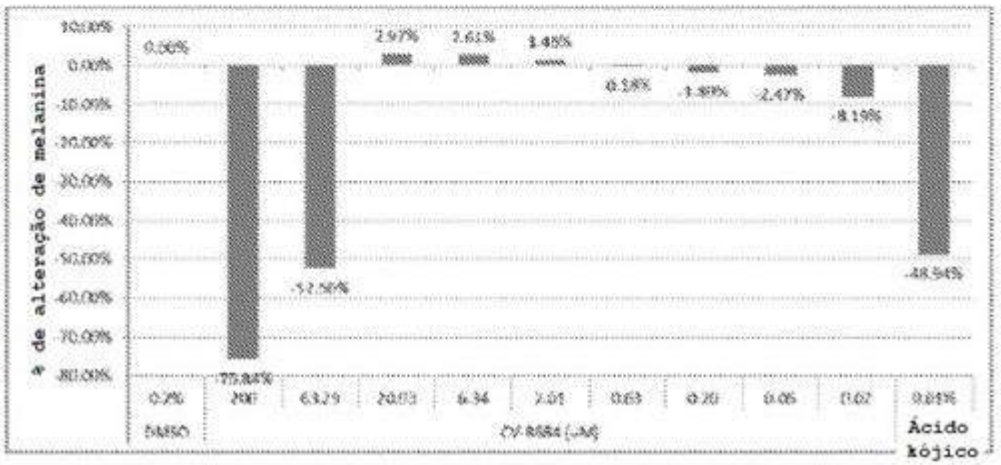
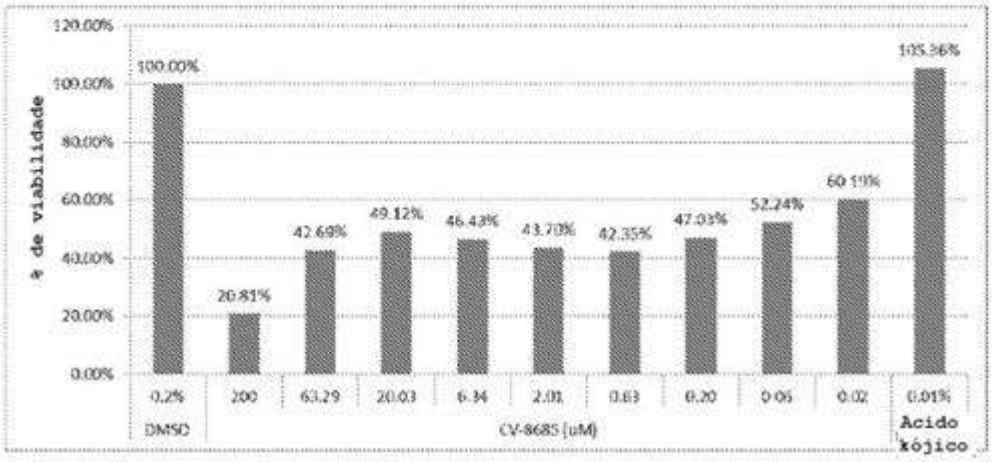
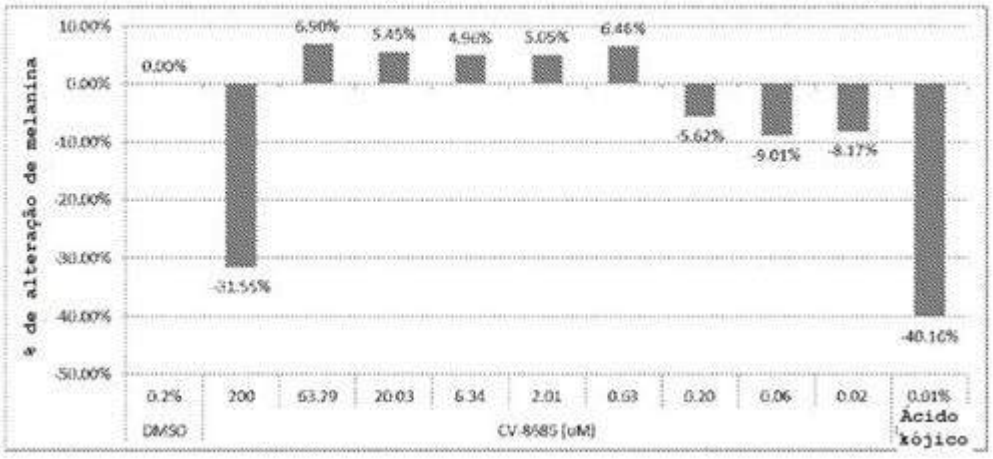

% de alteração de melanina
0,00%
2,97%
2,61%
1,48%
-0,58%
-1,38%
-2,47%
-8,19%
-48,94%
-52,56%
-77,84%
0,2%
DMSO
Ácido kójico

**Fig. 89** (Continuação)

**C**

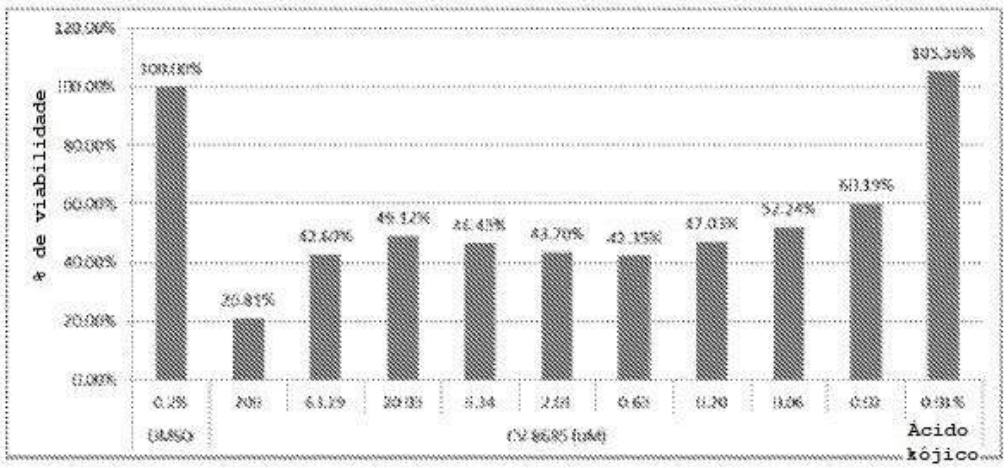



**D**



# Fig. 89 (Continuação)

E




F

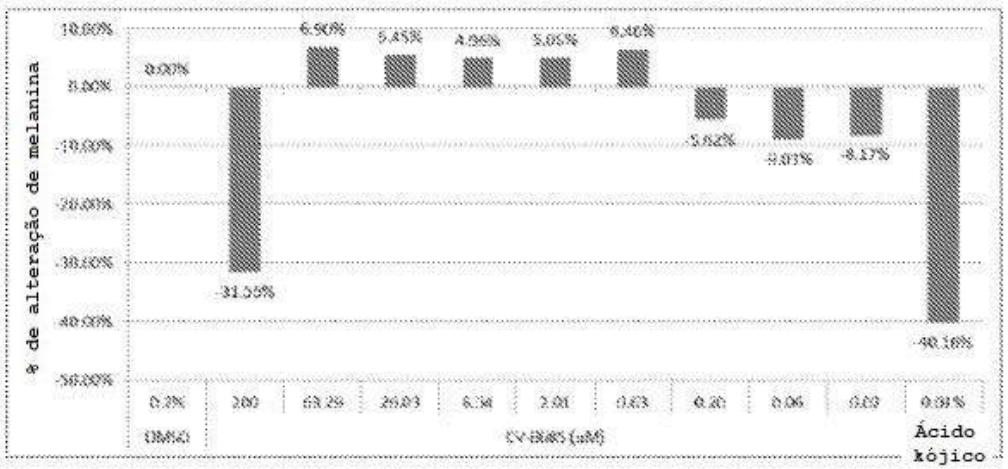
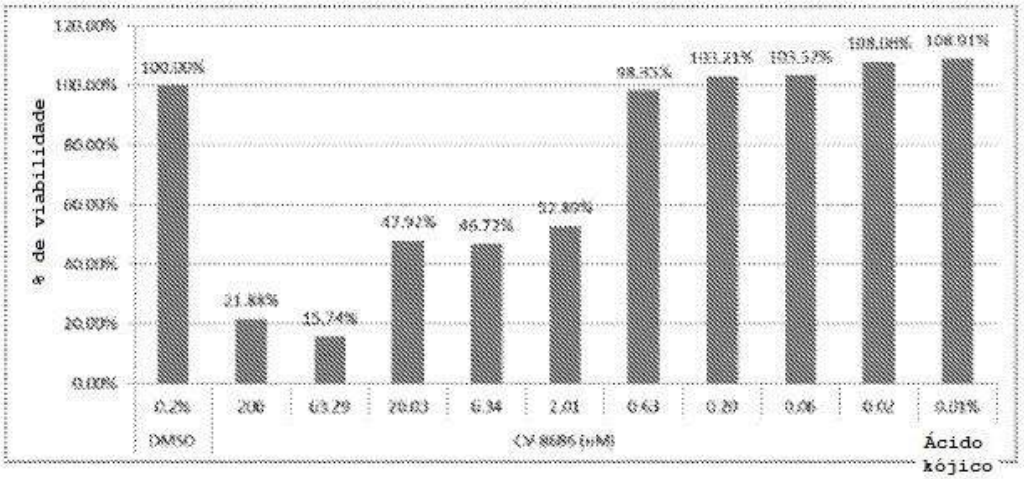


**Fig. 89** (Continuação)

**G**




**H**

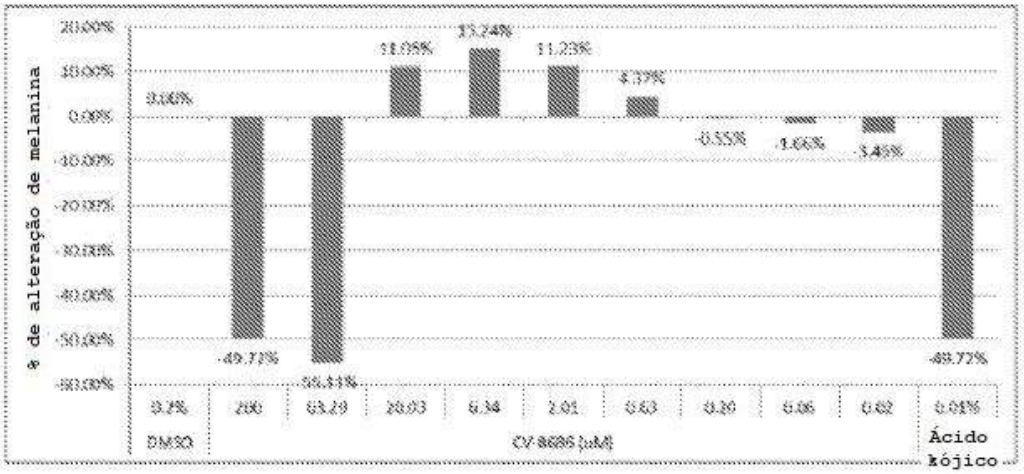
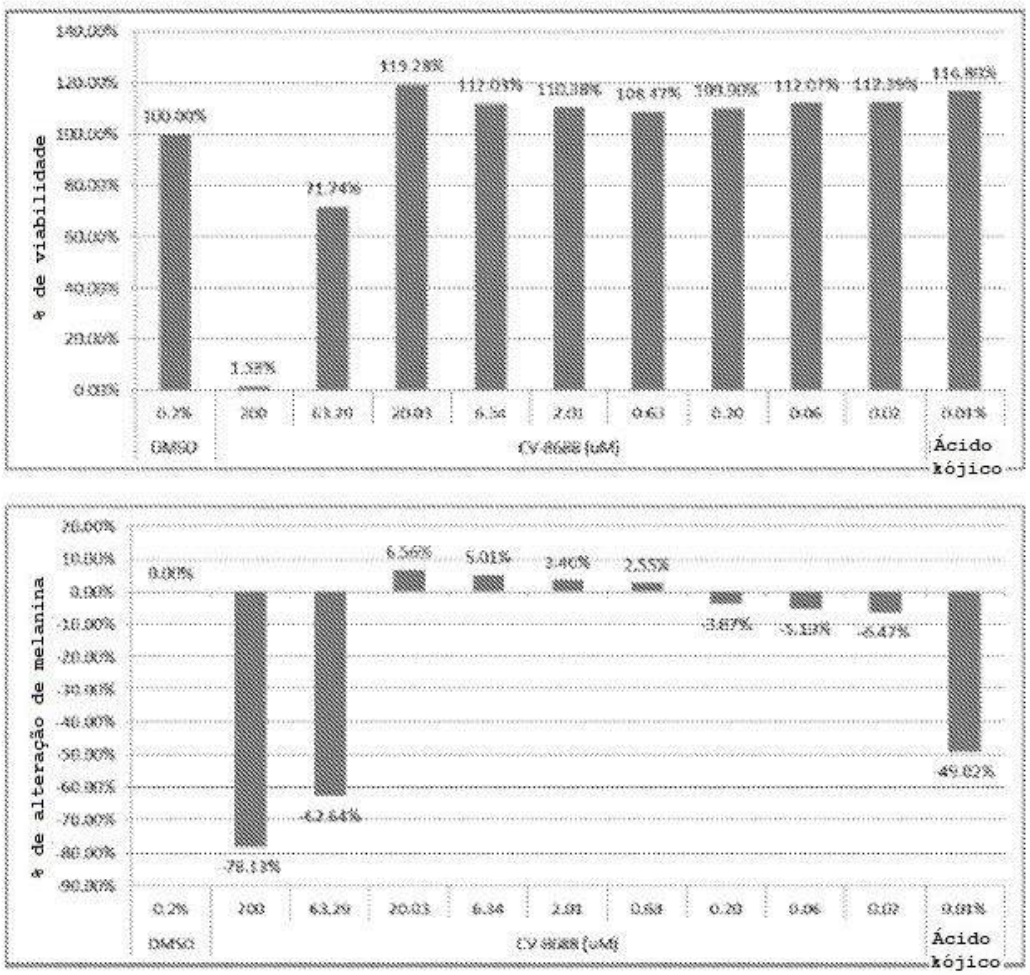
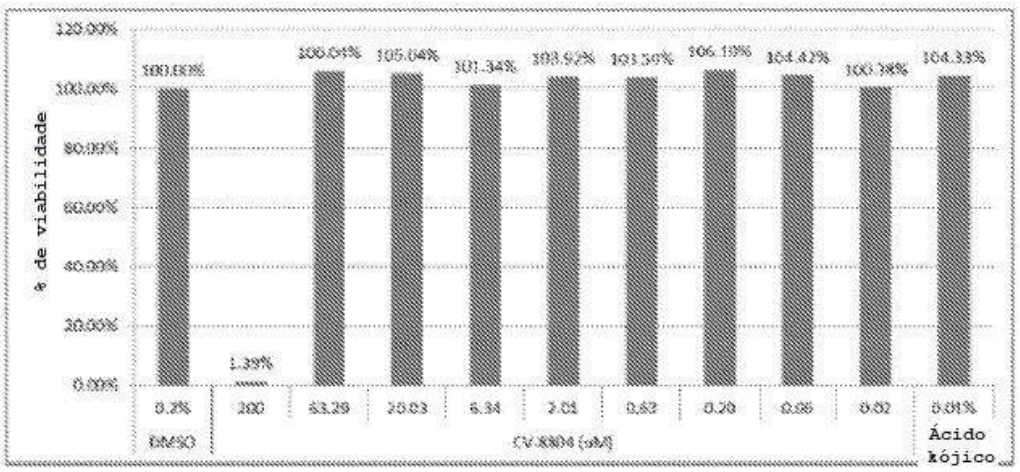


**Fig. 89** (Continuação)



# Fig. 89 (Continuação)

K




L

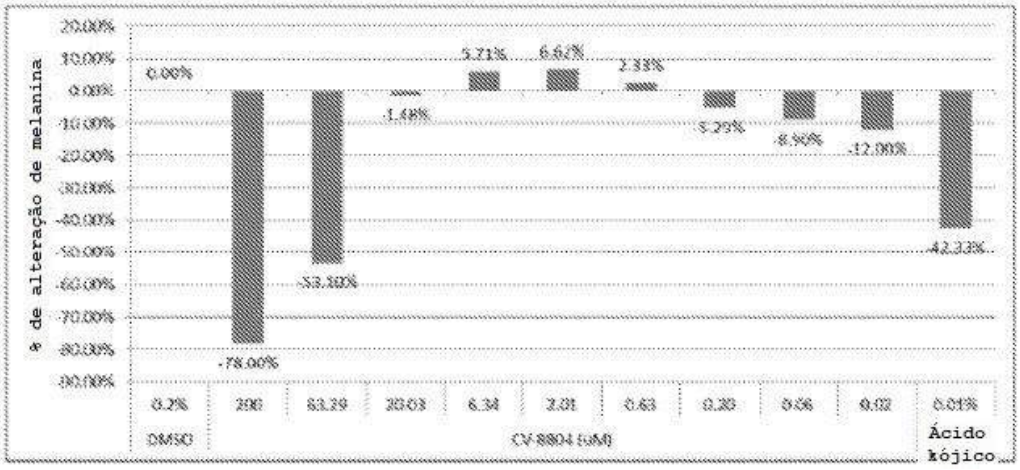
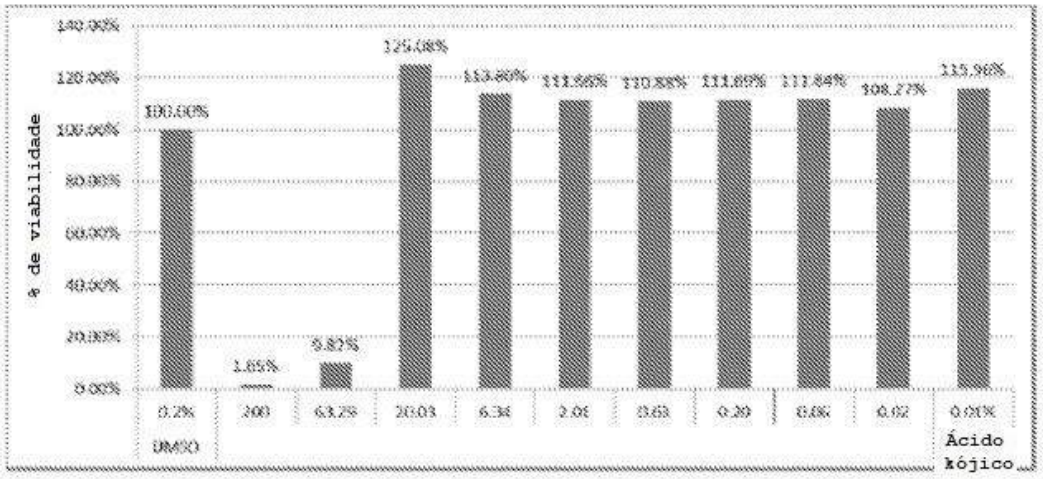


**Fig. 89** (Continuação)

M




N

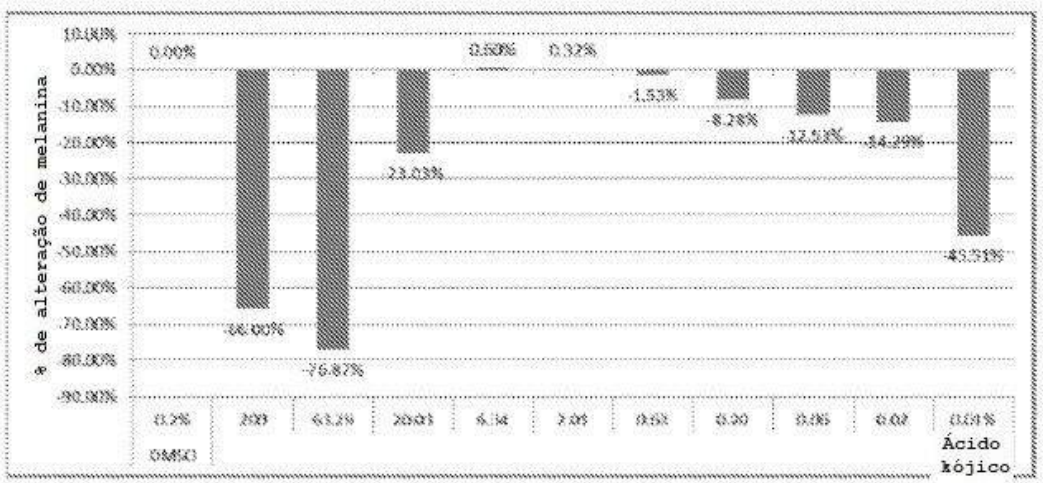
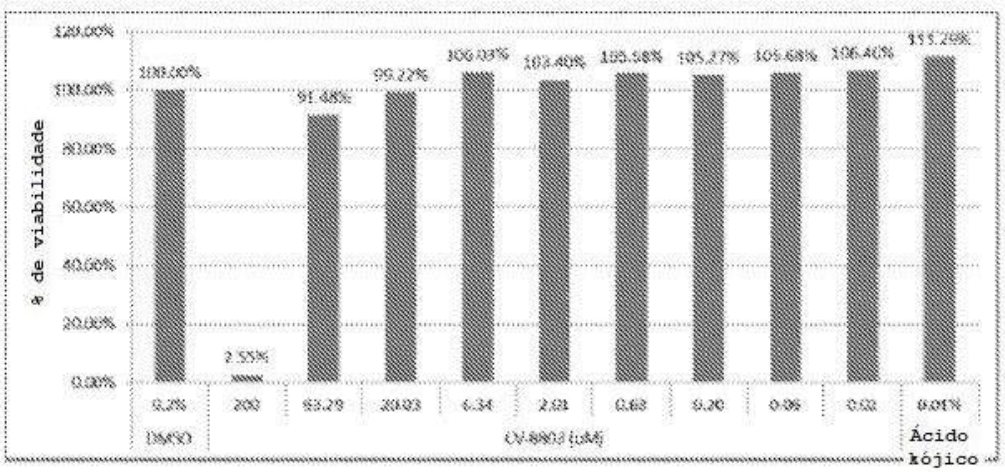


**Fig. 89** (Continuação)

O




P

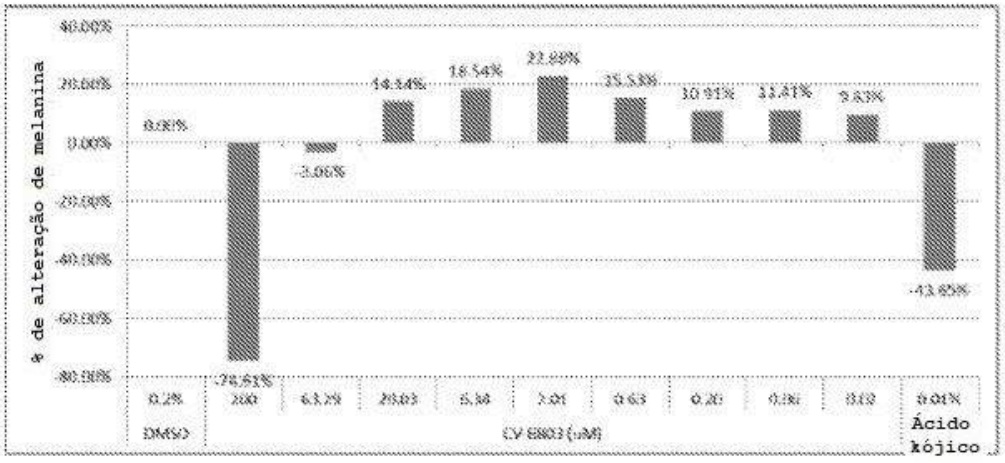
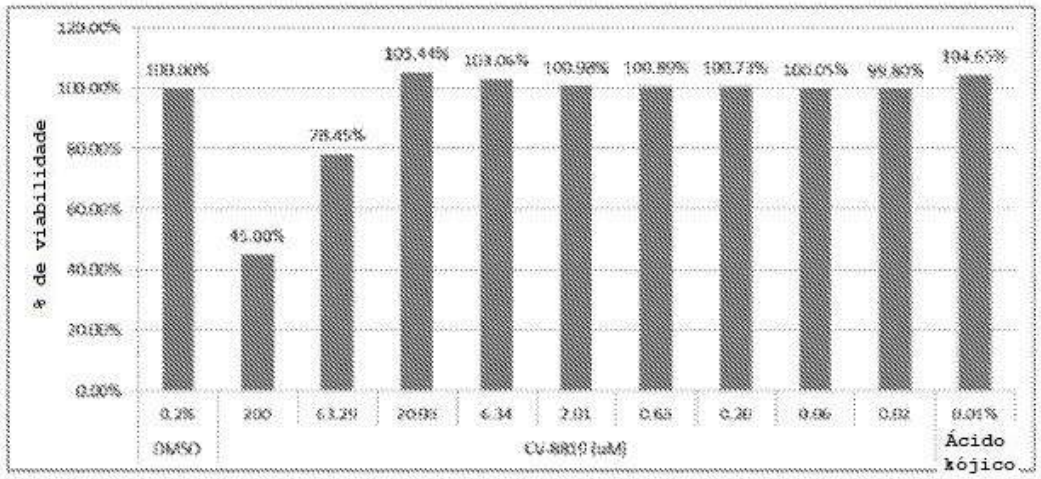


**Fig. 89** (Continuação)

Q




R

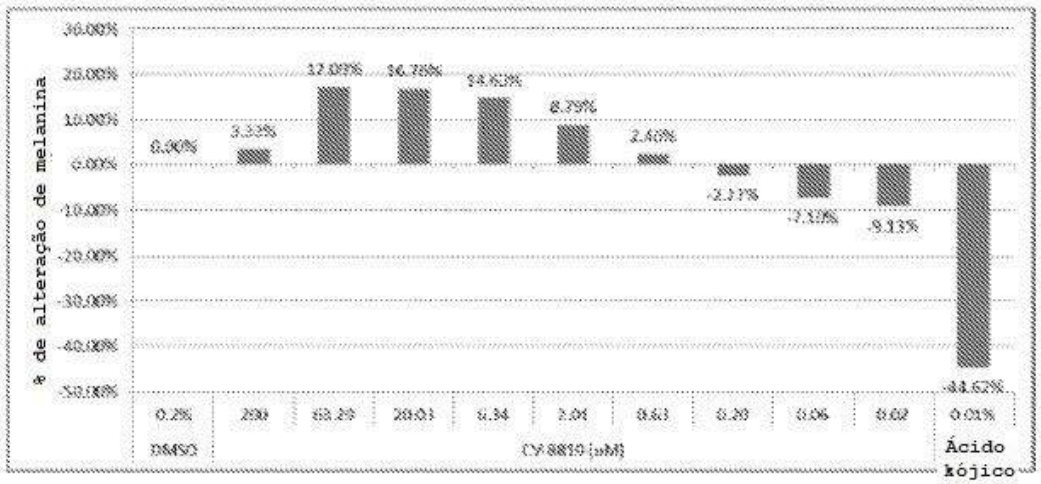
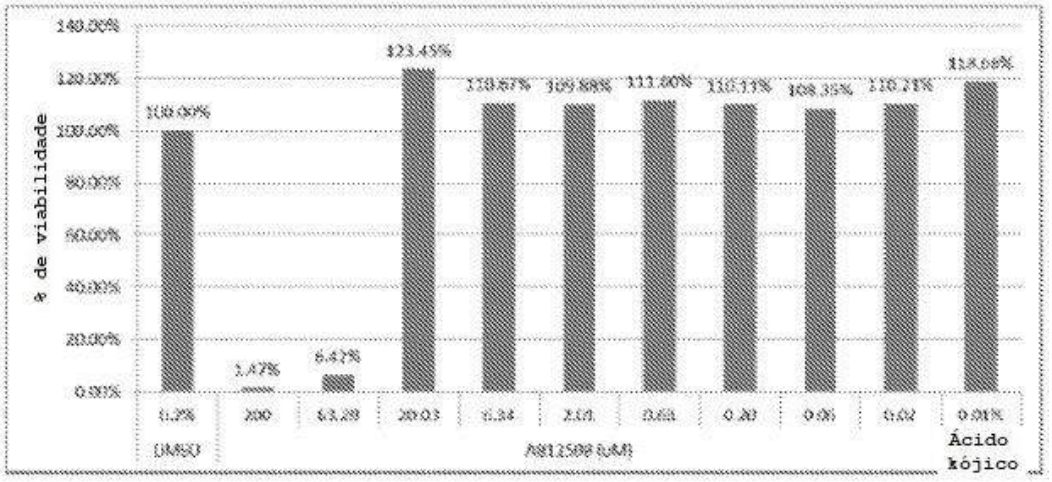


**Fig. 89** (Continuação)

S




T

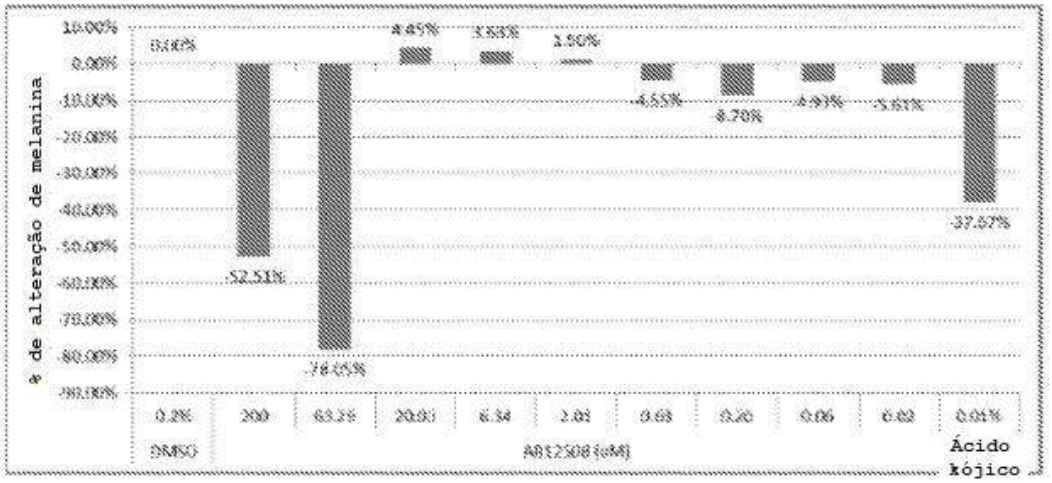
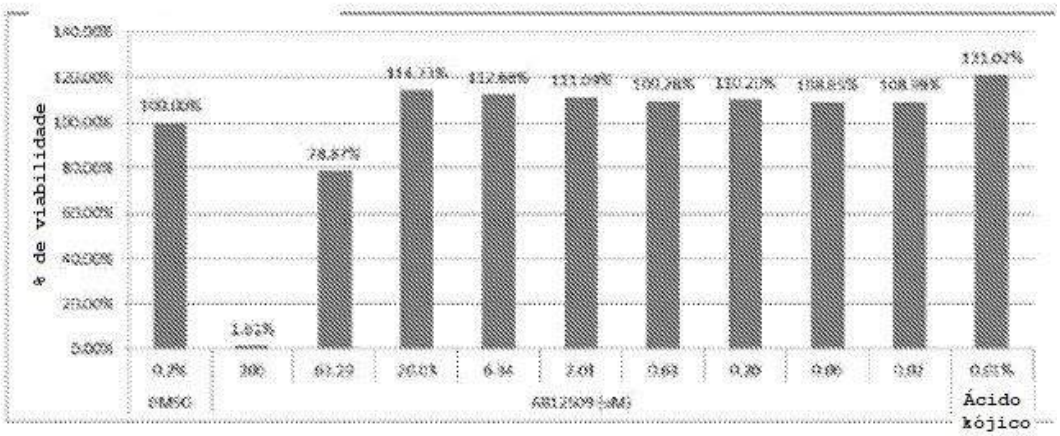


**Fig. 89** (Continuação)

U




V

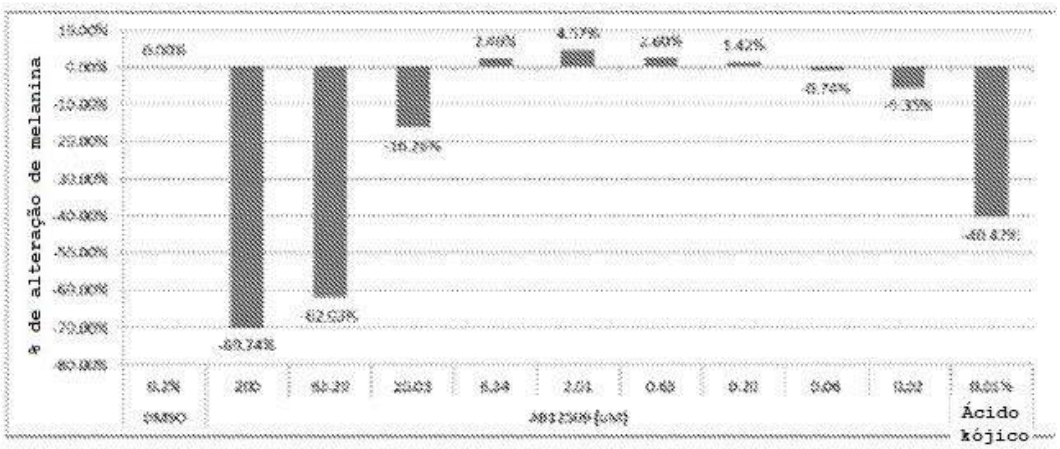
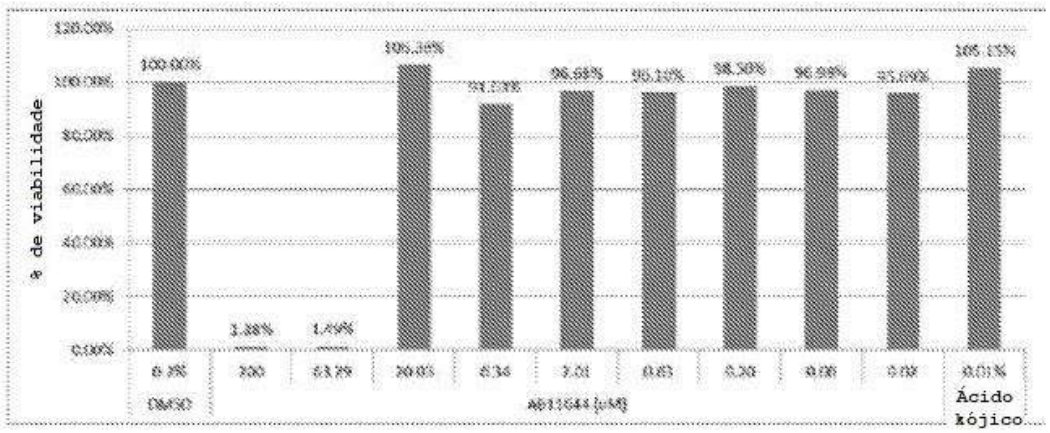
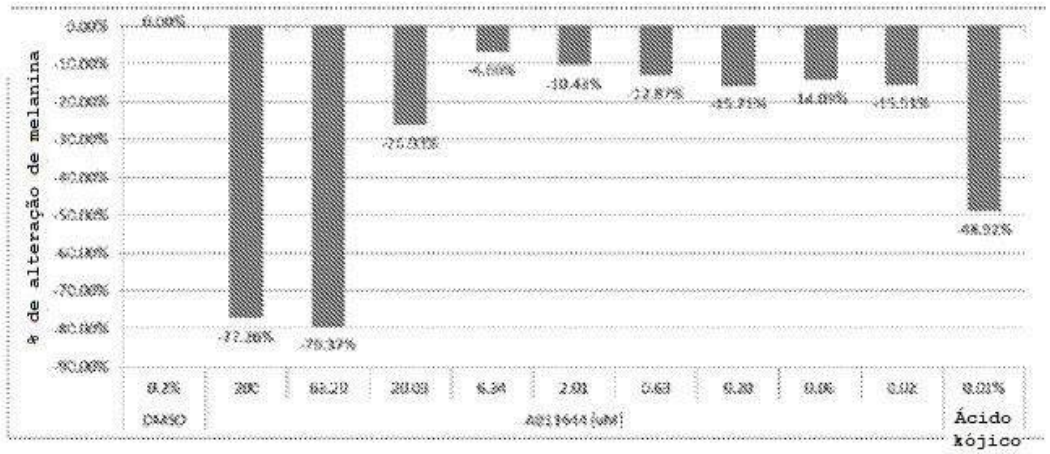


**Fig. 89** (Continuação)

W




X



# Fig. 90

| Estaurosporina | % médio de positivos | | | DP | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | 100 uM | 10 uM | 1 uM | 100 uM | 10 uM | 1 uM |
| 6 h | 5.10 | 3.62 | 3.74 | 3.48 | 0.39 | 0.63 |
| 24 h | 13.30 | 11.43 | 9.07 | 3.32 | 0.50 | 0.12 |
| 48 h | 22.97 | 25.87 | 21.27 | 1.10 | 1.21 | 1.30 |
| 72 h | 16.87 | 21.47 | 18.27 | 2.21 | 3.68 | 2.15 |

| Estaurosporina | % médio de positivos | | | DP | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | 100 uM | 10 uM | 1 uM | 100 uM | 10 uM | 1 uM |
| 6 h | 83.67 | 7.36 | 5.97 | 2.63 | 0.91 | 0.19 |
| 24 h | 69.43 | 56.27 | 8.95 | 1.99 | 2.12 | 0.95 |
| 48 h | 3.56 | 19.70 | 9.40 | 0.32 | 0.69 | 0.46 |
| 72 h | 2.34 | 16.00 | 12.63 | 0.40 | 1.32 | 0.84 |

| Estaurosporina | % médio de positivos | | | DP | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | 100 uM | 10 uM | 1 uM | 100 uM | 10 uM | 1 uM |
| 6 h | 38.73 | 38.00 | 28.13 | 2.66 | 9.78 | 2.22 |
| 24 h | 35.30 | 30.60 | 20.40 | 1.32 | 4.68 | 1.82 |
| 48 h | 63.03 | 72.10 | 25.87 | 4.82 | 4.39 | 1.07 |
| 72 h | 58.57 | 66.23 | 28.27 | 7.21 | 3.33 | 1.53 |

| Estaurosporina | % médio de positivos | | | DP | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | 100 uM | 10 uM | 1 uM | 100 uM | 10 uM | 1 uM |
| 6 h | 61.47 | 15.23 | 4.45 | 5.12 | 0.51 | 1.19 |
| 24 h | 57.00 | 50.63 | 15.13 | 1.95 | 2.61 | 0.64 |
| 48 h | 42.83 | 32.83 | 9.66 | 2.40 | 1.22 | 0.21 |
| 72 h | 38.90 | 25.83 | 8.98 | 7.29 | 1.82 | 1.92 |

# Fig. 90 (Continuação)

| Estaurosporina | % médio de positivos | | | DP | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | 100 uM | 10 uM | 1 uM | 100 uM | 10 uM | 1 uM |
| 6 h | 7.97 | 8.38 | 3.66 | 1.80 | 2.32 | 0.75 |
| 24 h | 11.34 | 13.57 | 6.25 | 1.86 | 1.10 | 0.56 |
| 48 h | 30.67 | 33.37 | 25.20 | 1.36 | 5.51 | 4.85 |
| 72 h | 26.40 | 46.97 | 27.00 | 4.55 | 7.27 | 4.45 |

| Estaurosporina | % médio de positivos | | | DP | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | 100 uM | 10 uM | 1 uM | 100 uM | 10 uM | 1 uM |
| 6 h | 20.17 | 1.54 | 0.95 | 1.27 | 0.47 | 0.48 |
| 24 h | 82.23 | 30.47 | 3.23 | 2.25 | 0.61 | 0.73 |
| 48 h | 73.93 | 48.43 | 16.47 | 1.70 | 2.32 | 0.81 |
| 72 h | 66.63 | 52.87 | 33.47 | 1.94 | 2.35 | 3.58 |

# Fig. 91

**A**

| Composto H (AB12509) | % médio de positivos | | | DP | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | 100 uM | 10 uM | 1 uM | 100 uM | 10 uM | 1 uM |
| 6 h | 1.96 | 3.93 | 3.39 | 0.08 | 0.31 | 0.42 |
| 24 h | 6.72 | 4.09 | 3.88 | 1.29 | 0.71 | 0.90 |
| 48 h | 12.86 | 3.66 | 3.05 | 4.11 | 0.36 | 0.28 |
| 72 h | 12.70 | 1.28 | 1.38 | 2.74 | 0.12 | 0.07 |

**B**

| Composto H (AB12509) | % médio de positivos | | | DP | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | 100 uM | 10 uM | 1 uM | 100 uM | 10 uM | 1 uM |
| 6 h | 4.45 | 4.54 | 1.42 | 0.74 | 0.51 | 0.27 |
| 24 h | 3.19 | 2.55 | 1.21 | 0.36 | 0.56 | 0.20 |
| 48 h | 8.24 | 1.06 | 1.01 | 2.61 | 0.09 | 0.04 |
| 72 h | 13.77 | 0.74 | 0.61 | 2.66 | 0.23 | 0.10 |

**C**

| Composto H (AB12509) | % médio de positivos | | | DP | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | 100 uM | 10 uM | 1 uM | 100 uM | 10 uM | 1 uM |
| 6 h | 6.85 | 3.61 | 3.23 | 2.12 | 0.69 | 0.26 |
| 24 h | 31.23 | 2.67 | 2.59 | 1.29 | 0.51 | 0.10 |
| 48 h | 51.10 | 2.43 | 2.51 | 6.17 | 0.54 | 0.26 |
| 72 h | 34.00 | 2.24 | 2.21 | 4.31 | 0.31 | 0.51 |

**D**

| Composto H (AB12509) | % médio de positivos | | | DP | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | 100 uM | 10 uM | 1 uM | 100 uM | 10 uM | 1 uM |
| 6 h | 2.11 | 1.77 | 1.49 | 0.70 | 0.20 | 0.31 |
| 24 h | 39.83 | 1.47 | 1.00 | 8.26 | 0.61 | 0.31 |
| 48 h | 57.17 | 1.05 | 0.72 | 7.92 | 0.23 | 0.08 |
| 72 h | 37.20 | 0.87 | 0.75 | 6.68 | 0.06 | 0.16 |

# Fig. 91 (Continuação)

| Composto H (AB12509) | % médio de positivos | | | DP | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | 100 uM | 10 uM | 1 uM | 100 uM | 10 uM | 1 uM |
| 6 h | 3.12 | 1.43 | 1.40 | 0.74 | 0.46 | 0.24 |
| 24 h | 8.05 | 1.50 | 2.22 | 0.41 | 0.52 | 0.93 |
| 48 h | 26.03 | 2.46 | 2.19 | 1.18 | 0.98 | 0.84 |
| 72 h | 31.63 | 2.01 | 1.85 | 2.74 | 0.74 | 0.35 |

| Composto H (AB12509) | % médio de positivos | | | DP | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | 100 uM | 10 uM | 1 uM | 100 uM | 10 uM | 1 uM |
| 6 h | 1.35 | 0.53 | 0.50 | 0.43 | 0.20 | 0.06 |
| 24 h | 2.46 | 0.62 | 1.05 | 0.75 | 0.18 | 0.51 |
| 48 h | 14.87 | 1.35 | 0.72 | 1.56 | 0.42 | 0.18 |
| 72 h | 27.40 | 1.28 | 0.83 | 4.40 | 0.46 | 0.16 |

# Fig. 92

A

| Malassezina | % médio de positivos | | | DP | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | 100 uM | 10 uM | 1 uM | 100 uM | 10 uM | 1 uM |
| 6 h | 4.16 | 3.09 | 3.03 | 0.27 | 0.29 | 0.52 |
| 24 h | 6.78 | 4.12 | 3.84 | 2.23 | 0.60 | 0.89 |
| 48 h | 13.03 | 2.91 | 2.96 | 0.67 | 0.31 | 0.18 |
| 72 h | 10.34 | 0.91 | 1.27 | 1.15 | 0.05 | 0.13 |

B

| Malassezina | % médio de positivos | | | DP | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | 100 uM | 10 uM | 1 uM | 100 uM | 10 uM | 1 uM |
| 6 h | 5.68 | 4.15 | 2.36 | 0.52 | 0.40 | 0.72 |
| 24 h | 2.53 | 2.10 | 1.24 | 0.86 | 0.63 | 0.24 |
| 48 h | 5.08 | 0.94 | 0.95 | 0.33 | 0.03 | 0.05 |
| 72 h | 5.82 | 0.62 | 0.73 | 0.97 | 0.11 | 0.11 |

C

| Malassezina | % médio de positivos | | | DP | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | 100 uM | 10 uM | 1 uM | 100 uM | 10 uM | 1 uM |
| 6 h | 5.71 | 3.35 | 3.68 | 0.68 | 0.16 | 0.47 |
| 24 h | 23.17 | 2.12 | 2.09 | 4.04 | 0.19 | 0.15 |
| 48 h | 55.13 | 3.00 | 2.44 | 8.38 | 0.55 | 0.41 |
| 72 h | 44.47 | 2.36 | 1.87 | 3.62 | 0.77 | 0.15 |

D

| Malassezina | % médio de positivos | | | DP | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | 100 uM | 10 uM | 1 uM | 100 uM | 10 uM | 1 uM |
| 6 h | 2.12 | 1.74 | 1.35 | 0.31 | 0.24 | 0.14 |
| 24 h | 27.50 | 1.18 | 1.00 | 2.14 | 0.10 | 0.12 |
| 48 h | 64.90 | 1.24 | 0.97 | 1.87 | 0.02 | 0.16 |
| 72 h | 62.57 | 0.95 | 0.71 | 0.92 | 0.20 | 0.18 |

# Fig. 92 (Continuação)

| Malassezina | % médio de positivos | | | DP | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | 100 uM | 10 uM | 1 uM | 100 uM | 10 uM | 1 uM |
| 6 h | 1.24 | 1.39 | 1.68 | 0.21 | 0.58 | 0.40 |
| 24 h | 5.24 | 1.11 | 1.34 | 0.61 | 0.32 | 0.62 |
| 48 h | 33.20 | 2.26 | 1.50 | 8.64 | 0.88 | 0.19 |
| 72 h | 34.67 | 2.85 | 1.51 | 5.34 | 0.44 | 0.27 |

| Malassezina | % médio de positivos | | | DP | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | 100 uM | 10 uM | 1 uM | 100 uM | 10 uM | 1 uM |
| 6 h | 0.56 | 0.66 | 0.60 | 0.34 | 0.38 | 0.13 |
| 24 h | 2.55 | 0.49 | 0.90 | 0.28 | 0.09 | 0.48 |
| 48 h | 43.57 | 0.97 | 0.75 | 1.29 | 0.36 | 0.33 |
| 72 h | 56.70 | 1.64 | 0.84 | 3.08 | 0.45 | 0.09 |

# Fig. 93

A

| Composto B (CV-8877) | % médio de positivos | | | DP | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | 100 uM | 10 uM | 1 uM | 100 uM | 10 uM | 1 uM |
| 6 h | 14.90 | 3.83 | 3.59 | 2.52 | 0.44 | 0.08 |
| 24 h | 33.47 | 4.42 | 5.75 | 4.52 | 0.39 | 0.56 |
| 48 h | 39.63 | 4.94 | 3.59 | 4.20 | 0.08 | 0.29 |
| 72 h | 27.93 | 1.64 | 1.64 | 3.55 | 0.07 | 0.35 |

B

| Composto B (CV-8877) | % médio de positivos | | | DP | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | 100 uM | 10 uM | 1 uM | 100 uM | 10 uM | 1 uM |
| 6 h | 80.03 | 4.69 | 2.02 | 1.95 | 0.21 | 0.98 |
| 24 h | 69.50 | 1.99 | 1.21 | 7.47 | 0.13 | 0.33 |
| 48 h | 59.47 | 1.44 | 0.96 | 3.06 | 0.12 | 0.05 |
| 72 h | 55.83 | 0.74 | 0.72 | 7.38 | 0.09 | 0.06 |

C

| Composto B (CV-8877) | % médio de positivos | | | DP | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | 100 uM | 10 uM | 1 uM | 100 uM | 10 uM | 1 uM |
| 6 h | 56.00 | 3.26 | 3.63 | 4.64 | 0.75 | 0.23 |
| 24 h | 36.07 | 2.13 | 2.24 | 4.15 | 0.51 | 0.70 |
| 48 h | 67.77 | 1.82 | 2.70 | 6.01 | 0.58 | 0.66 |
| 72 h | 49.43 | 1.85 | 1.64 | 5.44 | 0.28 | 0.11 |

D

| Composto B (CV-8877) | % médio de positivos | | | DP | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | 100 uM | 10 uM | 1 uM | 100 uM | 10 uM | 1 uM |
| 6 h | 63.67 | 1.44 | 1.41 | 7.44 | 0.24 | 0.19 |
| 24 h | 75.20 | 1.06 | 0.89 | 4.26 | 0.31 | 0.03 |
| 48 h | 67.20 | 0.62 | 0.79 | 5.80 | 0.05 | 0.22 |
| 72 h | 62.80 | 0.62 | 0.72 | 5.28 | 0.05 | 0.10 |

**Fig. 93** (Continuação)

**E**

| Composto B (CV-8877) | % médio de positivos | | | DP | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | 100 uM | 10 uM | 1 uM | 100 uM | 10 uM | 1 uM |
| 6 h | 14.03 | 1.15 | 1.66 | 2.66 | 0.19 | 0.57 |
| 24 h | 36.27 | 1.37 | 1.65 | 1.15 | 0.25 | 0.44 |
| 48 h | 44.00 | 0.90 | 1.91 | 1.95 | 0.10 | 0.45 |
| 72 h | 35.60 | 2.11 | 1.63 | 2.02 | 0.67 | 0.54 |

**F**

| Composto B (CV-8877) | % médio de positivos | | | DP | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | 100 uM | 10 uM | 1 uM | 100 uM | 10 uM | 1 uM |
| 6 h | 12.08 | 0.42 | 0.53 | 5.49 | 0.04 | 0.06 |
| 24 h | 36.30 | 0.75 | 0.60 | 2.17 | 0.13 | 0.13 |
| 48 h | 73.17 | 0.63 | 0.70 | 2.95 | 0.20 | 0.17 |
| 72 h | 49.13 | 1.41 | 0.86 | 2.10 | 0.52 | 0.24 |

# Fig. 94

**A**

| Composto I (CV-8686) | % médio de positivos | | | DP | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | 100 uM | 10 uM | 1 uM | 100 uM | 10 uM | 1 uM |
| 6 h | 6.73 | 3.26 | 3.19 | 0.07 | 0.10 | 0.73 |
| 24 h | 13.67 | 2.87 | 2.89 | 3.06 | 0.79 | 1.33 |
| 48 h | 13.90 | 2.36 | 2.77 | 2.39 | 0.68 | 0.25 |
| 72 h | 11.57 | 0.76 | 1.01 | 0.29 | 0.05 | 0.10 |

**B**

| Composto I (CV-8686) | % médio de positivos | | | DP | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | 100 uM | 10 uM | 1 uM | 100 uM | 10 uM | 1 uM |
| 6 h | 13.03 | 4.06 | 1.23 | 3.23 | 0.21 | 0.46 |
| 24 h | 12.65 | 1.66 | 1.25 | 3.76 | 0.38 | 0.48 |
| 48 h | 3.98 | 0.71 | 0.75 | 1.11 | 0.17 | 0.06 |
| 72 h | 4.19 | 0.41 | 0.60 | 0.45 | 0.06 | 0.05 |

**C**

| Composto I (CV-8686) | % médio de positivos | | | DP | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | 100 uM | 10 uM | 1 uM | 100 uM | 10 uM | 1 uM |
| 6 h | 10.94 | 3.14 | 3.35 | 4.93 | 0.60 | 0.15 |
| 24 h | 24.30 | 2.46 | 2.14 | 2.82 | 0.69 | 0.61 |
| 48 h | 29.20 | 2.72 | 2.29 | 2.89 | 0.36 | 0.57 |
| 72 h | 24.03 | 2.40 | 1.88 | 5.47 | 0.19 | 0.02 |

**D**

| Composto I (CV-8686) | % médio de positivos | | | DP | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | 100 uM | 10 uM | 1 uM | 100 uM | 10 uM | 1 uM |
| 6 h | 6.15 | 1.13 | 1.26 | 3.96 | 0.16 | 0.12 |
| 24 h | 27.30 | 1.15 | 1.36 | 5.37 | 0.31 | 0.44 |
| 48 h | 19.83 | 1.15 | 0.89 | 4.75 | 0.19 | 0.08 |
| 72 h | 15.77 | 0.93 | 0.65 | 5.54 | 0.08 | 0.28 |

**Fig. 94** (Continuação)

**E**

| Composto I (CV-8686) | % médio de positivos | | | DP | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | 100 uM | 10 uM | 1 uM | 100 uM | 10 uM | 1 uM |
| 6 h | 1.61 | 1.18 | 1.17 | 0.76 | 0.38 | 0.44 |
| 24 h | 4.46 | 1.11 | 1.24 | 0.90 | 0.30 | 0.13 |
| 48 h | 27.50 | 2.11 | 1.40 | 2.46 | 0.41 | 0.39 |
| 72 h | 28.90 | 2.05 | 1.54 | 2.49 | 0.38 | 0.47 |

**F**

| Composto I (CV-8686) | % médio de positivos | | | DP | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | 100 uM | 10 uM | 1 uM | 100 uM | 10 uM | 1 uM |
| 6 h | 0.49 | 0.33 | 0.52 | 0.11 | 0.21 | 0.25 |
| 24 h | 1.71 | 0.59 | 0.72 | 0.19 | 0.24 | 0.15 |
| 48 h | 21.53 | 1.21 | 0.71 | 0.46 | 0.23 | 0.29 |
| 72 h | 26.50 | 1.31 | 1.15 | 3.87 | 0.12 | 0.42 |

# Fig. 95

**A**

| Composto | % médio de positivos | | | DP | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| B10 | 100 uM | 10 uM | 1 uM | 100 uM | 10 uM | 1 uM |
| 6 h | 2.95 | 3.24 | 3.58 | 1.27 | 0.50 | 0.26 |
| 24 h | 24.20 | 3.10 | 3.42 | 8.03 | 0.88 | 0.90 |
| 48 h | 30.27 | 3.80 | 2.86 | 3.17 | 0.13 | 0.43 |
| 72 h | 28.13 | 1.91 | 1.50 | 5.29 | 0.23 | 0.09 |

**B**

| Composto | % médio de positivos | | | DP | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| B10 | 100 uM | 10 uM | 1 uM | 100 uM | 10 uM | 1 uM |
| 6 h | 32.50 | 4.16 | 1.64 | 4.95 | 0.03 | 0.27 |
| 24 h | 68.20 | 1.77 | 1.10 | 2.29 | 0.19 | 0.19 |
| 48 h | 66.13 | 1.07 | 1.02 | 3.43 | 0.11 | 0.13 |
| 72 h | 56.13 | 1.09 | 0.72 | 8.00 | 0.14 | 0.04 |

**C**

| Composto | % médio de positivos | | | DP | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| B10 | 100 uM | 10 uM | 1 uM | 100 uM | 10 uM | 1 uM |
| 6 h | 38.70 | 3.34 | 2.95 | 3.56 | 0.23 | 0.37 |
| 24 h | 24.60 | 2.08 | 2.45 | 8.86 | 0.15 | 0.40 |
| 48 h | 56.63 | 2.31 | 2.44 | 2.45 | 0.12 | 0.33 |
| 72 h | 44.03 | 2.33 | 1.77 | 1.15 | 0.32 | 0.44 |

**D**

| Composto | % médio de positivos | | | DP | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| B10 | 100 uM | 10 uM | 1 uM | 100 uM | 10 uM | 1 uM |
| 6 h | 61.37 | 1.31 | 1.49 | 2.44 | 0.20 | 0.13 |
| 24 h | 54.73 | 0.99 | 1.00 | 1.26 | 0.11 | 0.21 |
| 48 h | 56.33 | 0.74 | 0.83 | 3.65 | 0.07 | 0.16 |
| 72 h | 40.63 | 0.74 | 0.77 | 1.27 | 0.15 | 0.17 |

**Fig. 95** (Continuação)

**E**

| Composto B10 | % médio de positivos | | | DP | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | 100 uM | 10 uM | 1 uM | 100 uM | 10 uM | 1 uM |
| 6 h | 11.11 | 1.50 | 1.60 | 1.73 | 0.43 | 0.47 |
| 24 h | 30.73 | 1.03 | 1.88 | 2.99 | 0.33 | 0.35 |
| 48 h | 52.13 | 1.80 | 1.51 | 4.13 | 0.31 | 0.10 |
| 72 h | 47.20 | 2.42 | 2.14 | 2.00 | 0.61 | 0.55 |

**F**

| Composto B10 | % médio de positivos | | | DP | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | 100 uM | 10 uM | 1 uM | 100 uM | 10 uM | 1 uM |
| 6 h | 4.42 | 0.66 | 0.63 | 1.68 | 0.15 | 0.07 |
| 24 h | 74.10 | 0.62 | 0.95 | 4.68 | 0.21 | 0.28 |
| 48 h | 80.37 | 1.06 | 0.78 | 1.37 | 0.17 | 0.07 |
| 72 h | 51.10 | 1.40 | 1.10 | 15.37 | 0.39 | 0.43 |

# Fig. 96

**A**

| Composto II (CV-8688) | % médio de positivos | | | DP | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | 100 uM | 10 uM | 1 uM | 100 uM | 10 uM | 1 uM |
| 6 h | 4.31 | 2.42 | 2.13 | 0.34 | 0.71 | 0.40 |
| 24 h | 9.58 | 3.35 | 2.95 | 1.48 | 0.39 | 1.75 |
| 48 h | 23.80 | 3.12 | 2.72 | 3.27 | 0.32 | 0.27 |
| 72 h | 27.00 | 1.42 | 1.07 | 0.66 | 0.02 | 0.36 |

**B**

| Composto II (CV-8688) | % médio de positivos | | | DP | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | 100 uM | 10 uM | 1 uM | 100 uM | 10 uM | 1 uM |
| 6 h | 5.48 | 3.32 | 2.28 | 0.68 | 0.64 | 1.02 |
| 24 h | 4.06 | 2.02 | 1.10 | 0.41 | 0.25 | 0.20 |
| 48 h | 21.93 | 1.14 | 0.83 | 0.90 | 0.24 | 0.06 |
| 72 h | 39.37 | 0.93 | 0.65 | 6.12 | 0.07 | 0.16 |

**C**

| Composto II (CV-8688) | % médio de positivos | | | DP | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | 100 uM | 10 uM | 1 uM | 100 uM | 10 uM | 1 uM |
| 6 h | 6.56 | 2.95 | 3.52 | 0.48 | 0.49 | 0.38 |
| 24 h | 36.87 | 2.26 | 1.93 | 6.67 | 0.47 | 0.31 |
| 48 h | 50.97 | 2.18 | 2.30 | 4.01 | 0.42 | 0.34 |
| 72 h | 51.10 | 2.27 | 2.03 | 2.96 | 0.65 | 0.43 |

**D**

| Composto II (CV-8688) | % médio de positivos | | | DP | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | 100 uM | 10 uM | 1 uM | 100 uM | 10 uM | 1 uM |
| 6 h | 2.59 | 1.21 | 1.11 | 0.06 | 0.34 | 0.04 |
| 24 h | 51.07 | 1.43 | 1.06 | 8.35 | 0.31 | 0.22 |
| 48 h | 68.83 | 1.03 | 0.89 | 3.73 | 0.24 | 0.09 |
| 72 h | 64.43 | 0.95 | 0.69 | 3.40 | 0.23 | 0.08 |

**Fig. 96** (Continuação)

**E**

| Composto II | % médio de positivos | | | DP | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| (CV-8688) | 100 uM | 10 uM | 1 uM | 100 uM | 10 uM | 1 uM |
| 6 h | 1.43 | 1.20 | 1.11 | 0.41 | 0.75 | 0.33 |
| 24 h | 14.63 | 1.20 | 0.84 | 3.26 | 0.40 | 0.05 |
| 48 h | 34.90 | 1.51 | 1.11 | 3.27 | 0.15 | 0.26 |
| 72 h | 28.60 | 2.31 | 1.34 | 4.07 | 0.50 | 0.17 |

**F**

| Composto II | % médio de positivos | | | DP | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| (CV-8688) | 100 uM | 10 uM | 1 uM | 100 uM | 10 uM | 1 uM |
| 6 h | 0.46 | 0.47 | 0.39 | 0.21 | 0.16 | 0.14 |
| 24 h | 9.28 | 0.59 | 0.43 | 2.07 | 0.23 | 0.11 |
| 48 h | 61.43 | 0.76 | 0.66 | 1.10 | 0.10 | 0.24 |
| 72 h | 68.87 | 1.59 | 0.89 | 2.90 | 0.42 | 0.33 |

# Fig. 97

A

| Precursor de malassezina | % médio de positivos | | | DP | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | 100 uM | 10 uM | 1 uM | 100 uM | 10 uM | 1 uM |
| 6 h | 2.88 | 2.87 | 3.29 | 0.78 | 0.18 | 0.77 |
| 24 h | 3.89 | 3.78 | 4.35 | 0.45 | 0.64 | 0.75 |
| 48 h | 2.88 | 3.33 | 3.52 | 0.35 | 0.12 | 0.10 |
| 72 h | 1.34 | 1.51 | 1.55 | 0.35 | 0.17 | 0.21 |

B

| Precursor de malassezina | % médio de positivos | | | DP | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | 100 uM | 10 uM | 1 uM | 100 uM | 10 uM | 1 uM |
| 6 h | 3.34 | 3.66 | 1.92 | 0.45 | 0.55 | 0.17 |
| 24 h | 1.80 | 1.64 | 1.17 | 0.47 | 0.04 | 0.40 |
| 48 h | 0.90 | 0.99 | 0.94 | 0.14 | 0.26 | 0.03 |
| 72 h | 0.93 | 0.88 | 0.69 | 0.04 | 0.30 | 0.05 |

C

| Precursor de malassezina | % médio de positivos | | | DP | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | 100 uM | 10 uM | 1 uM | 100 uM | 10 uM | 1 uM |
| 6 h | 3.28 | 3.07 | 3.33 | 0.42 | 0.15 | 0.42 |
| 24 h | 2.37 | 2.23 | 2.03 | 0.23 | 0.27 | 0.35 |
| 48 h | 2.76 | 1.85 | 1.66 | 0.37 | 0.22 | 0.23 |
| 72 h | 1.82 | 1.73 | 1.73 | 0.20 | 0.26 | 0.36 |

D

| Precursor de malassezina | % médio de positivos | | | DP | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | 100 uM | 10 uM | 1 uM | 100 uM | 10 uM | 1 uM |
| 6 h | 0.89 | 1.19 | 1.56 | 0.26 | 0.07 | 0.11 |
| 24 h | 1.11 | 1.23 | 1.09 | 0.04 | 0.18 | 0.33 |
| 48 h | 1.12 | 0.76 | 0.69 | 0.10 | 0.10 | 0.18 |
| 72 h | 0.60 | 0.73 | 0.75 | 0.04 | 0.00 | 0.13 |

# Fig. 97 (Continuação)

**E**

| Precursor de malassezina | % médio de positivos | | | DP | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | 100 uM | 10 uM | 1 uM | 100 uM | 10 uM | 1 uM |
| 6 h | 1.57 | 1.27 | 1.46 | 0.49 | 0.31 | 0.58 |
| 24 h | 1.55 | 1.23 | 1.72 | 0.71 | 0.33 | 0.76 |
| 48 h | 1.37 | 1.13 | 1.07 | 0.12 | 0.10 | 0.31 |
| 72 h | 1.85 | 1.72 | 1.60 | 0.54 | 0.37 | 0.56 |

**F**

| Precursor de malassezina | % médio de positivos | | | DP | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | 100 uM | 10 uM | 1 uM | 100 uM | 10 uM | 1 uM |
| 6 h | 0.65 | 0.51 | 0.49 | 0.39 | 0.17 | 0.31 |
| 24 h | 0.76 | 0.69 | 0.95 | 0.47 | 0.20 | 0.45 |
| 48 h | 0.80 | 0.69 | 0.55 | 0.05 | 0.15 | 0.04 |
| 72 h | 1.36 | 1.21 | 0.91 | 0.35 | 0.23 | 0.37 |

# Fig. 98

A

| Indol Carbazol (CV-8685) | % médio de positivos | | | DP | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | 100 uM | 10 uM | 1 uM | 100 uM | 10 uM | 1 uM |
| 6 h | 2.43 | 2.64 | 2.53 | 0.28 | 0.28 | 0.27 |
| 24 h | 1.02 | 2.08 | 2.61 | 0.97 | 0.44 | 0.09 |
| 48 h | 2.23 | 2.16 | 2.72 | 0.14 | 0.20 | 0.51 |
| 72 h | 1.06 | 1.04 | 1.34 | 0.26 | 0.39 | 0.13 |

B

| Indol Carbazol (CV-8685) | % médio de positivos | | | DP | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | 100 uM | 10 uM | 1 uM | 100 uM | 10 uM | 1 uM |
| 6 h | 1.42 | 1.58 | 1.34 | 0.20 | 0.27 | 0.23 |
| 24 h | 1.17 | 1.78 | 1.38 | 0.34 | 0.27 | 0.43 |
| 48 h | 0.89 | 0.80 | 0.98 | 0.24 | 0.16 | 0.09 |
| 72 h | 0.78 | 0.67 | 0.87 | 0.20 | 0.17 | 0.03 |

C

| Indol Carbazol (CV-8685) | % médio de positivos | | | DP | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | 100 uM | 10 uM | 1 uM | 100 uM | 10 uM | 1 uM |
| 6 h | 1.41 | 3.35 | 2.96 | 0.35 | 0.20 | 0.43 |
| 24 h | 0.86 | 2.73 | 2.40 | 0.16 | 0.87 | 0.67 |
| 48 h | 0.80 | 2.06 | 2.39 | 0.14 | 0.32 | 0.08 |
| 72 h | 0.87 | 1.84 | 1.78 | 0.15 | 0.20 | 0.06 |

D

| Indol Carbazol (CV-8685) | % médio de positivos | | | DP | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | 100 uM | 10 uM | 1 uM | 100 uM | 10 uM | 1 uM |
| 6 h | 0.85 | 1.39 | 1.28 | 0.14 | 0.32 | 0.16 |
| 24 h | 0.51 | 1.35 | 0.98 | 0.21 | 0.13 | 0.22 |
| 48 h | 0.34 | 0.82 | 1.09 | 0.05 | 0.17 | 0.07 |
| 72 h | 0.40 | 0.88 | 0.64 | 0.11 | 0.25 | 0.27 |

# Fig. 98 (Continuação)

E

| Indol Carbazol (CV-8685) | % médio de positivos | | | DP | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | 100 uM | 10 uM | 1 uM | 100 uM | 10 uM | 1 uM |
| 6 h | 0.73 | 1.56 | 1.15 | 0.25 | 0.67 | 0.36 |
| 24 h | 0.98 | 0.69 | 1.23 | 0.03 | 0.22 | 0.60 |
| 48 h | 2.52 | 1.83 | 1.13 | 1.19 | 0.74 | 0.38 |
| 72 h | 3.25 | 2.53 | 1.30 | 1.79 | 1.15 | 0.30 |

F

| Indol Carbazol (CV-8685) | % médio de positivos | | | DP | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | 100 uM | 10 uM | 1 uM | 100 uM | 10 uM | 1 uM |
| 6 h | 0.23 | 0.71 | 0.38 | 0.09 | 0.48 | 0.18 |
| 24 h | 0.39 | 0.32 | 0.63 | 0.11 | 0.05 | 0.38 |
| 48 h | 1.30 | 0.92 | 0.63 | 0.73 | 0.38 | 0.19 |
| 72 h | 2.11 | 1.83 | 0.90 | 1.46 | 1.35 | 0.33 |

# Fig. 99

A

| AB17151 | % médio de positivos | | | DP | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | 100 uM | 10 uM | 1 uM | 100 uM | 10 uM | 1 uM |
| 6 h | 35.13 | 2.92 | 2.97 | 2.06 | 0.18 | 0.18 |
| 24 h | 37.63 | 3.75 | 3.50 | 1.71 | 0.77 | 0.47 |
| 48 h | 45.97 | 3.10 | 2.68 | 0.72 | 0.42 | 0.08 |
| 72 h | 29.20 | 1.49 | 1.58 | 3.20 | 0.23 | 0.06 |

B

| AB17151 | % médio de positivos | | | DP | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | 100 uM | 10 uM | 1 uM | 100 uM | 10 uM | 1 uM |
| 6 h | 72.23 | 4.14 | 3.13 | 3.37 | 0.46 | 0.46 |
| 24 h | 63.77 | 1.94 | 1.10 | 7.85 | 0.35 | 0.35 |
| 48 h | 36.47 | 1.20 | 0.94 | 1.60 | 0.27 | 0.12 |
| 72 h | 28.17 | 0.82 | 0.77 | 2.80 | 0.22 | 0.06 |

C

| AB17151 | % médio de positivos | | | DP | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | 100 uM | 10 uM | 1 uM | 100 uM | 10 uM | 1 uM |
| 6 h | 51.80 | 2.95 | 2.47 | 0.72 | 0.28 | 0.16 |
| 24 h | 39.27 | 2.40 | 2.15 | 2.00 | 0.26 | 0.20 |
| 48 h | 75.63 | 2.12 | 2.25 | 2.47 | 0.37 | 0.40 |
| 72 h | 60.07 | 1.70 | 1.94 | 9.45 | 0.30 | 0.27 |

D

| AB17151 | % médio de positivos | | | DP | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | 100 uM | 10 uM | 1 uM | 100 uM | 10 uM | 1 uM |
| 6 h | 57.10 | 1.34 | 1.36 | 11.96 | 0.20 | 0.11 |
| 24 h | 72.17 | 1.36 | 1.14 | 7.60 | 0.18 | 0.12 |
| 48 h | 70.43 | 0.86 | 0.75 | 8.09 | 0.25 | 0.13 |
| 72 h | 42.00 | 0.71 | 0.74 | 2.78 | 0.09 | 0.22 |

**Fig. 99** (Continuação)

| AB17151 | % médio de positivos | | | DP | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | 100 uM | 10 uM | 1 uM | 100 uM | 10 uM | 1 uM |
| 6 h | 21.70 | 1.25 | 2.18 | 0.66 | 0.36 | 0.16 |
| 24 h | 31.77 | 1.87 | 1.90 | 6.35 | 0.51 | 0.40 |
| 48 h | 52.63 | 1.70 | 1.09 | 2.63 | 0.27 | 0.19 |
| 72 h | 40.77 | 2.34 | 2.32 | 3.06 | 0.92 | 0.59 |

| AB17151 | % médio de positivos | | | DP | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | 100 uM | 10 uM | 1 uM | 100 uM | 10 uM | 1 uM |
| 6 h | 19.63 | 0.57 | 0.78 | 4.06 | 0.16 | 0.27 |
| 24 h | 60.77 | 1.01 | 1.01 | 5.71 | 0.28 | 0.26 |
| 48 h | 49.63 | 0.82 | 0.62 | 8.83 | 0.24 | 0.24 |
| 72 h | 25.43 | 1.66 | 1.60 | 9.83 | 1.08 | 0.57 |

# Fig. 100

A

| Composto IV (CV-8687) | % médio de positivos | | | DP | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | 100 uM | 10 uM | 1 uM | 100 uM | 10 uM | 1 uM |
| 6 h | 2.73 | 2.58 | 2.92 | 0.56 | 1.47 | 0.47 |
| 24 h | 0.95 | 3.00 | 2.87 | 0.46 | 0.64 | 1.08 |
| 48 h | 2.94 | 2.69 | 2.70 | 0.41 | 0.68 | 0.29 |
| 72 h | 1.30 | 1.27 | 1.16 | 0.30 | 0.22 | 0.15 |

B

| Composto IV (CV-8687) | % médio de positivos | | | DP | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | 100 uM | 10 uM | 1 uM | 100 uM | 10 uM | 1 uM |
| 6 h | 1.88 | 2.09 | 1.64 | 0.17 | 0.15 | 0.48 |
| 24 h | 1.32 | 1.91 | 1.41 | 0.06 | 0.25 | 0.38 |
| 48 h | 0.79 | 1.18 | 0.99 | 0.14 | 0.39 | 0.16 |
| 72 h | 0.78 | 0.77 | 0.76 | 0.20 | 0.06 | 0.12 |

C

| Composto IV (CV-8687) | % médio de positivos | | | DP | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | 100 uM | 10 uM | 1 uM | 100 uM | 10 uM | 1 uM |
| 6 h | 1.10 | 3.39 | 3.11 | 0.10 | 0.38 | 0.28 |
| 24 h | 0.80 | 2.15 | 2.31 | 0.13 | 0.33 | 0.34 |
| 48 h | 0.66 | 2.07 | 2.77 | 0.08 | 0.34 | 0.46 |
| 72 h | 0.74 | 2.14 | 2.25 | 0.08 | 0.79 | 0.24 |

D

| Composto IV (CV-8687) | % médio de positivos | | | DP | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | 100 uM | 10 uM | 1 uM | 100 uM | 10 uM | 1 uM |
| 6 h | 0.49 | 0.99 | 1.26 | 0.06 | 0.31 | 0.27 |
| 24 h | 0.37 | 1.17 | 1.23 | 0.10 | 0.21 | 0.10 |
| 48 h | 0.22 | 0.84 | 1.43 | 0.08 | 0.13 | 0.30 |
| 72 h | 0.26 | 0.76 | 0.76 | 0.01 | 0.20 | 0.07 |

# Fig. 100 (CONTINUAÇÃO)

**E**

| Composto IV (CV-8687) | % médio de positivos | | | DP | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | 100 uM | 10 uM | 1 uM | 100 uM | 10 uM | 1 uM |
| 6 h | 0.65 | 0.91 | 0.91 | 0.05 | 0.22 | 0.27 |
| 24 h | 1.19 | 1.03 | 1.00 | 0.29 | 0.48 | 0.27 |
| 48 h | 0.78 | 1.37 | 1.05 | 0.08 | 0.58 | 0.30 |
| 72 h | 1.15 | 1.41 | 1.06 | 0.28 | 0.26 | 0.10 |

**F**

| Composto IV (CV-8687) | % médio de positivos | | | DP | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | 100 uM | 10 uM | 1 uM | 100 uM | 10 uM | 1 uM |
| 6 h | 0.18 | 0.28 | 0.30 | 0.07 | 0.19 | 0.12 |
| 24 h | 0.36 | 0.56 | 0.56 | 0.04 | 0.24 | 0.16 |
| 48 h | 0.33 | 0.69 | 0.59 | 0.07 | 0.15 | 0.18 |
| 72 h | 0.55 | 0.85 | 0.55 | 0.08 | 0.36 | 0.05 |

# Fig. 101

A

| AB17011 | % médio de positivos | | | DP | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | 100 uM | 10 uM | 1 uM | 100 uM | 10 uM | 1 uM |
| 6 h | 2.83 | 3.05 | 3.14 | 0.32 | 0.66 | 0.76 |
| 24 h | 3.18 | 3.41 | 4.40 | 0.37 | 1.31 | 0.50 |
| 48 h | 2.93 | 3.43 | 3.34 | 0.60 | 0.21 | 0.35 |
| 72 h | 1.46 | 1.72 | 2.28 | 0.26 | 0.55 | 0.19 |

B

| AB17011 | % médio de positivos | | | DP | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | 100 uM | 10 uM | 1 uM | 100 uM | 10 uM | 1 uM |
| 6 h | 4.34 | 4.03 | 1.87 | 0.81 | 0.59 | 0.61 |
| 24 h | 2.10 | 1.87 | 1.13 | 0.30 | 0.15 | 0.29 |
| 48 h | 0.81 | 1.18 | 0.81 | 0.31 | 0.10 | 0.12 |
| 72 h | 1.03 | 0.91 | 0.74 | 0.34 | 0.14 | 0.05 |

C

| AB17011 | % médio de positivos | | | DP | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | 100 uM | 10 uM | 1 uM | 100 uM | 10 uM | 1 uM |
| 6 h | 3.42 | 3.03 | 3.37 | 0.69 | 0.12 | 0.26 |
| 24 h | 3.23 | 2.25 | 2.39 | 1.00 | 0.50 | 0.19 |
| 48 h | 2.91 | 1.80 | 2.18 | 0.52 | 0.23 | 0.40 |
| 72 h | 2.24 | 1.55 | 1.89 | 0.51 | 0.34 | 0.45 |

D

| AB17011 | % médio de positivos | | | DP | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | 100 uM | 10 uM | 1 uM | 100 uM | 10 uM | 1 uM |
| 6 h | 1.23 | 1.19 | 1.46 | 0.43 | 0.16 | 0.23 |
| 24 h | 1.49 | 1.33 | 1.36 | 0.29 | 0.34 | 0.09 |
| 48 h | 1.17 | 0.89 | 0.90 | 0.37 | 0.17 | 0.25 |
| 72 h | 0.53 | 0.64 | 0.72 | 0.06 | 0.04 | 0.15 |

# Fig. 101 (Continuação)

E

| AB17011 | % médio de positivos | | | DP | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | 100 uM | 10 uM | 1 uM | 100 uM | 10 uM | 1 uM |
| 6 h | 1.52 | 1.38 | 1.75 | 0.46 | 0.15 | 0.95 |
| 24 h | 0.92 | 1.85 | 1.46 | 0.12 | 1.02 | 0.46 |
| 48 h | 1.75 | 1.29 | 1.59 | 0.47 | 0.32 | 0.41 |
| 72 h | 1.80 | 1.70 | 1.50 | 0.55 | 0.40 | 0.58 |

F

| AB17011 | % médio de positivos | | | DP | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | 100 uM | 10 uM | 1 uM | 100 uM | 10 uM | 1 uM |
| 6 h | 0.55 | 0.66 | 0.84 | 0.23 | 0.07 | 0.60 |
| 24 h | 0.46 | 0.94 | 0.73 | 0.05 | 0.53 | 0.28 |
| 48 h | 1.11 | 0.79 | 0.99 | 0.55 | 0.40 | 0.46 |
| 72 h | 1.21 | 1.22 | 1.21 | 0.48 | 0.67 | 0.45 |

# Fig. 102

A

| AB11644 | % médio de positivos | | | DP | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | 100 uM | 10 uM | 1 uM | 100 uM | 10 uM | 1 uM |
| 6 h | 5.25 | 2.25 | 2.13 | 2.46 | 0.89 | 0.27 |
| 24 h | 15.37 | 2.07 | 2.53 | 2.78 | 0.41 | 0.76 |
| 48 h | 29.57 | 2.82 | 2.51 | 3.35 | 0.20 | 0.08 |
| 72 h | 31.03 | 1.78 | 1.74 | 3.71 | 0.01 | 0.12 |

B

| AB11644 | % médio de positivos | | | DP | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | 100 uM | 10 uM | 1 uM | 100 uM | 10 uM | 1 uM |
| 6 h | 56.80 | 4.16 | 2.29 | 4.64 | 0.54 | 0.88 |
| 24 h | 60.67 | 1.25 | 1.28 | 13.22 | 0.38 | 0.53 |
| 48 h | 32.47 | 1.19 | 0.70 | 3.20 | 0.31 | 0.21 |
| 72 h | 26.97 | 0.70 | 0.64 | 3.96 | 0.06 | 0.10 |

C

| AB11644 | % médio de positivos | | | DP | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | 100 uM | 10 uM | 1 uM | 100 uM | 10 uM | 1 uM |
| 6 h | 40.07 | 3.02 | 3.35 | 7.17 | 0.43 | 0.40 |
| 24 h | 37.40 | 2.04 | 2.92 | 1.20 | 0.13 | 0.99 |
| 48 h | 49.90 | 2.01 | 2.53 | 5.93 | 0.67 | 0.25 |
| 72 h | 30.53 | 1.56 | 1.73 | 2.85 | 0.36 | 0.15 |

D

| AB11644 | % médio de positivos | | | DP | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | 100 uM | 10 uM | 1 uM | 100 uM | 10 uM | 1 uM |
| 6 h | 65.17 | 0.95 | 1.45 | 9.81 | 0.51 | 0.27 |
| 24 h | 68.20 | 1.15 | 1.47 | 0.61 | 0.11 | 0.34 |
| 48 h | 55.37 | 0.87 | 1.12 | 2.48 | 0.37 | 0.33 |
| 72 h | 58.03 | 0.84 | 0.75 | 5.21 | 0.22 | 0.16 |

# Fig. 102 (Continuação)

**E**

| AB11644 | % médio de positivos | | | DP | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | 100 uM | 10 uM | 1 uM | 100 uM | 10 uM | 1 uM |
| 6 h | 3.20 | 0.89 | 1.18 | 1.60 | 0.25 | 0.20 |
| 24 h | 19.07 | 0.59 | 0.77 | 2.02 | 0.11 | 0.03 |
| 48 h | 44.50 | 1.12 | 1.08 | 1.73 | 0.35 | 0.09 |
| 72 h | 40.83 | 1.18 | 1.25 | 2.67 | 0.20 | 0.23 |

**F**

| AB11644 | % médio de positivos | | | DP | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | 100 uM | 10 uM | 1 uM | 100 uM | 10 uM | 1 uM |
| 6 h | 2.74 | 0.42 | 0.44 | 2.29 | 0.27 | 0.08 |
| 24 h | 17.33 | 0.31 | 0.33 | 2.64 | 0.05 | 0.05 |
| 48 h | 51.43 | 0.74 | 0.62 | 4.26 | 0.06 | 0.03 |
| 72 h | 57.17 | 0.85 | 0.84 | 5.13 | 0.21 | 0.20 |

# Fig. 103

A

| AB17014 | % médio de positivos | | | DP | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | 100 uM | 10 uM | 1 uM | 100 uM | 10 uM | 1 uM |
| 6 h | 8.56 | 2.72 | 4.22 | 0.78 | 0.03 | 0.32 |
| 24 h | 4.24 | 3.34 | 2.92 | 1.31 | 0.42 | 0.17 |
| 48 h | 11.22 | 2.38 | 2.20 | 2.65 | 1.32 | 1.23 |
| 72 h | 9.49 | 1.75 | 2.02 | 1.84 | 0.20 | 0.20 |

B

| AB17014 | % médio de positivos | | | DP | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | 100 uM | 10 uM | 1 uM | 100 uM | 10 uM | 1 uM |
| 6 h | 15.03 | 4.97 | 2.91 | 1.00 | 0.35 | 0.48 |
| 24 h | 6.86 | 1.86 | 0.96 | 3.07 | 0.47 | 0.21 |
| 48 h | 5.74 | 1.30 | 1.13 | 0.37 | 0.56 | 0.39 |
| 72 h | 3.46 | 0.74 | 0.82 | 0.45 | 0.17 | 0.28 |

C

| AB17014 | % médio de positivos | | | DP | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | 100 uM | 10 uM | 1 uM | 100 uM | 10 uM | 1 uM |
| 6 h | 25.10 | 3.18 | 2.59 | 6.37 | 0.41 | 0.54 |
| 24 h | 39.50 | 2.72 | 2.50 | 3.18 | 0.23 | 0.26 |
| 48 h | 49.40 | 2.23 | 1.86 | 4.33 | 0.11 | 0.31 |
| 72 h | 52.60 | 1.95 | 2.12 | 3.75 | 0.29 | 0.24 |

D

| AB17014 | % médio de positivos | | | DP | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | 100 uM | 10 uM | 1 uM | 100 uM | 10 uM | 1 uM |
| 6 h | 17.67 | 1.64 | 1.60 | 2.34 | 0.38 | 0.27 |
| 24 h | 36.57 | 1.40 | 1.04 | 0.75 | 0.18 | 0.14 |
| 48 h | 36.73 | 1.14 | 0.96 | 3.51 | 0.20 | 0.11 |
| 72 h | 28.00 | 0.84 | 0.81 | 3.65 | 0.19 | 0.20 |

# Fig. 103 (Continuação)

E

| AB17014 | % médio de positivos | | | DP | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | 100 uM | 10 uM | 1 uM | 100 uM | 10 uM | 1 uM |
| 6 h | 8.06 | 1.72 | 1.95 | 1.09 | 0.79 | 0.49 |
| 24 h | 20.83 | 1.02 | 2.03 | 0.92 | 0.21 | 0.91 |
| 48 h | 36.57 | 1.68 | 1.16 | 1.86 | 0.70 | 0.25 |
| 72 h | 34.77 | 1.96 | 1.51 | 3.53 | 0.37 | 0.36 |

F

| AB17014 | % médio de positivos | | | DP | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | 100 uM | 10 uM | 1 uM | 100 uM | 10 uM | 1 uM |
| 6 h | 3.41 | 0.88 | 0.94 | 0.74 | 0.46 | 0.26 |
| 24 h | 22.17 | 0.52 | 1.10 | 4.00 | 0.11 | 0.49 |
| 48 h | 34.77 | 0.94 | 0.61 | 1.85 | 0.67 | 0.21 |
| 72 h | 32.77 | 1.33 | 0.95 | 5.74 | 0.26 | 0.14 |

# Fig. 104

A

| Composição desconhecida | % médio de positivos | | | DP | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | 100 uM | 10 uM | 1 uM | 100 uM | 10 uM | 1 uM |
| 6 h | 5.42 | 2.48 | 2.77 | 1.06 | 1.24 | 0.63 |
| 24 h | 14.53 | 2.83 | 3.10 | 1.05 | 0.74 | 0.22 |
| 48 h | 38.67 | 3.79 | 2.94 | 6.27 | 0.84 | 0.60 |
| 72 h | 37.97 | 1.98 | 1.80 | 6.05 | 0.49 | 0.17 |

B

| Composição desconhecida | % médio de positivos | | | DP | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | 100 uM | 10 uM | 1 uM | 100 uM | 10 uM | 1 uM |
| 6 h | 9.82 | 3.64 | 2.55 | 1.01 | 1.08 | 0.72 |
| 24 h | 28.00 | 2.08 | 1.17 | 2.26 | 0.31 | 0.25 |
| 48 h | 54.40 | 1.79 | 1.45 | 1.82 | 0.67 | 0.18 |
| 72 h | 52.93 | 1.00 | 0.72 | 2.10 | 0.39 | 0.14 |

C

| Composição desconhecida | % médio de positivos | | | DP | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | 100 uM | 10 uM | 1 uM | 100 uM | 10 uM | 1 uM |
| 6 h | 26.63 | 3.27 | 2.87 | 7.05 | 0.39 | 0.34 |
| 24 h | 29.13 | 2.11 | 2.28 | 2.86 | 0.22 | 0.34 |
| 48 h | 57.27 | 2.44 | 2.27 | 7.40 | 0.28 | 0.45 |
| 72 h | 47.30 | 1.99 | 2.12 | 4.74 | 0.36 | 0.33 |

D

| Composição desconhecida | % médio de positivos | | | DP | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | 100 uM | 10 uM | 1 uM | 100 uM | 10 uM | 1 uM |
| 6 h | 20.97 | 1.22 | 1.26 | 9.37 | 0.27 | 0.41 |
| 24 h | 52.87 | 1.09 | 1.35 | 1.25 | 0.13 | 0.30 |
| 48 h | 58.80 | 1.12 | 1.03 | 1.91 | 0.14 | 0.15 |
| 72 h | 57.50 | 0.81 | 0.91 | 0.40 | 0.13 | 0.30 |

# Fig. 104 (Continuação)

**E**

| Composição desconhecida | % médio de positivos | | | DP | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | 100 uM | 10 uM | 1 uM | 100 uM | 10 uM | 1 uM |
| 6 h | 1.84 | 0.90 | 0.86 | 0.67 | 0.08 | 0.24 |
| 24 h | 17.07 | 0.75 | 1.07 | 1.46 | 0.18 | 0.27 |
| 48 h | 45.93 | 1.15 | 1.05 | 4.27 | 0.23 | 0.56 |
| 72 h | 36.10 | 1.65 | 0.85 | 3.03 | 0.63 | 0.34 |

**F**

| Composição desconhecida | % médio de positivos | | | DP | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | 100 uM | 10 uM | 1 uM | 100 uM | 10 uM | 1 uM |
| 6 h | 0.72 | 0.33 | 0.31 | 0.34 | 0.11 | 0.08 |
| 24 h | 21.50 | 0.44 | 0.51 | 5.90 | 0.04 | 0.08 |
| 48 h | 74.53 | 0.69 | 0.65 | 0.99 | 0.21 | 0.49 |
| 72 h | 61.83 | 1.17 | 0.54 | 0.68 | 0.49 | 0.21 |

# Fig. 105

A

| AB17225 | % médio de positivos | | | DP | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | 100 uM | 10 uM | 1 uM | 100 uM | 10 uM | 1 uM |
| 6 h | 2.35 | 1.96 | 3.20 | 1.15 | 0.31 | 0.31 |
| 24 h | 2.70 | 4.23 | 5.61 | 0.69 | 0.98 | 0.19 |
| 48 h | 4.87 | 3.93 | 4.44 | 0.76 | 0.25 | 0.71 |
| 72 h | 4.90 | 2.77 | 2.60 | 0.15 | 0.50 | 0.13 |

B

| AB17225 | % médio de positivos | | | DP | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | 100 uM | 10 uM | 1 uM | 100 uM | 10 uM | 1 uM |
| 6 h | 2.09 | 1.85 | 1.05 | 0.17 | 0.19 | 0.33 |
| 24 h | 1.97 | 1.98 | 1.25 | 0.15 | 0.17 | 0.22 |
| 48 h | 1.60 | 1.67 | 1.39 | 0.51 | 0.22 | 0.18 |
| 72 h | 1.62 | 1.00 | 0.87 | 0.45 | 0.08 | 0.06 |

C

| AB17225 | % médio de positivos | | | DP | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | 100 uM | 10 uM | 1 uM | 100 uM | 10 uM | 1 uM |
| 6 h | 1.52 | 3.22 | 3.27 | 0.34 | 0.19 | 0.39 |
| 24 h | 1.58 | 2.96 | 2.17 | 0.30 | 0.76 | 0.15 |
| 48 h | 0.87 | 2.10 | 2.05 | 0.11 | 0.09 | 0.34 |
| 72 h | 1.49 | 1.84 | 1.69 | 0.09 | 0.54 | 0.36 |

D

| AB17225 | % médio de positivos | | | DP | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | 100 uM | 10 uM | 1 uM | 100 uM | 10 uM | 1 uM |
| 6 h | 0.37 | 1.26 | 1.35 | 0.14 | 0.11 | 0.32 |
| 24 h | 0.47 | 0.89 | 0.88 | 0.10 | 0.14 | 0.09 |
| 48 h | 0.25 | 0.72 | 0.68 | 0.06 | 0.14 | 0.35 |
| 72 h | 0.35 | 0.57 | 0.72 | 0.14 | 0.18 | 0.16 |

# Fig. 105 (Continuação)

**E**

| AB17225 | % médio de positivos | | | DP | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | 100 uM | 10 uM | 1 uM | 100 uM | 10 uM | 1 uM |
| 6 h | 2.28 | 1.56 | 1.36 | 0.38 | 0.54 | 0.93 |
| 24 h | 6.79 | 1.80 | 1.34 | 2.72 | 0.64 | 0.61 |
| 48 h | 5.26 | 1.21 | 0.94 | 0.89 | 0.23 | 0.25 |
| 72 h | 6.10 | 1.54 | 1.79 | 1.51 | 0.60 | 0.76 |

**F**

| AB17225 | % médio de positivos | | | DP | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | 100 uM | 10 uM | 1 uM | 100 uM | 10 uM | 1 uM |
| 6 h | 0.32 | 0.46 | 0.54 | 0.13 | 0.09 | 0.39 |
| 24 h | 1.96 | 0.70 | 0.64 | 0.91 | 0.17 | 0.42 |
| 48 h | 2.20 | 0.48 | 0.51 | 0.38 | 0.06 | 0.17 |
| 72 h | 3.10 | 0.75 | 1.19 | 0.54 | 0.26 | 0.49 |

# Fig. 106

A

| Composto A5 (CV-8819) | % médio de positivos | | | DP | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | 100 uM | 10 uM | 1 uM | 100 uM | 10 uM | 1 uM |
| 6 h | 1.77 | 2.88 | 2.57 | 0.18 | 0.41 | 0.33 |
| 24 h | 2.34 | 3.05 | 3.03 | 1.47 | 1.39 | 0.25 |
| 48 h | 3.36 | 2.19 | 2.51 | 0.29 | 0.46 | 0.23 |
| 72 h | 1.65 | 0.90 | 1.48 | 0.25 | 0.04 | 0.13 |

B

| Composto A5 (CV-8819) | % médio de positivos | | | DP | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | 100 uM | 10 uM | 1 uM | 100 uM | 10 uM | 1 uM |
| 6 h | 3.89 | 4.46 | 1.79 | 0.23 | 0.71 | 0.52 |
| 24 h | 1.74 | 2.12 | 1.43 | 0.53 | 0.29 | 0.11 |
| 48 h | 1.45 | 0.95 | 0.88 | 0.20 | 0.36 | 0.28 |
| 72 h | 0.87 | 0.46 | 0.75 | 0.05 | 0.14 | 0.24 |

C

| Composto A5 (CV-8819) | % médio de positivos | | | DP | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | 100 uM | 10 uM | 1 uM | 100 uM | 10 uM | 1 uM |
| 6 h | 3.10 | 3.10 | 3.38 | 0.56 | 0.58 | 0.16 |
| 24 h | 3.11 | 2.43 | 2.56 | 0.45 | 0.41 | 0.62 |
| 48 h | 5.04 | 2.13 | 2.79 | 0.89 | 0.30 | 0.46 |
| 72 h | 4.87 | 2.42 | 2.58 | 0.49 | 0.61 | 0.48 |

D

| Composto A5 (CV-8819) | % médio de positivos | | | DP | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | 100 uM | 10 uM | 1 uM | 100 uM | 10 uM | 1 uM |
| 6 h | 2.18 | 1.32 | 1.44 | 0.48 | 0.31 | 0.07 |
| 24 h | 1.99 | 1.25 | 1.51 | 0.42 | 0.07 | 0.52 |
| 48 h | 2.48 | 1.17 | 1.24 | 0.55 | 0.17 | 0.16 |
| 72 h | 2.27 | 0.99 | 0.89 | 0.18 | 0.13 | 0.37 |

**Fig. 106** (Continuação)

**E**

| Composto A5 (CV-8819) | % médio de positivos | | | DP | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | 100 uM | 10 uM | 1 uM | 100 uM | 10 uM | 1 uM |
| 6 h | 0.98 | 0.96 | 0.74 | 0.19 | 0.34 | 0.25 |
| 24 h | 1.94 | 1.32 | 0.83 | 0.34 | 0.07 | 0.14 |
| 48 h | 6.97 | 2.18 | 1.20 | 0.32 | 1.00 | 0.46 |
| 72 h | 10.56 | 3.26 | 1.94 | 1.61 | 0.44 | 1.35 |

**F**

| Composto A5 (CV-8819) | % médio de positivos | | | DP | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | 100 uM | 10 uM | 1 uM | 100 uM | 10 uM | 1 uM |
| 6 h | 0.49 | 0.49 | 0.26 | 0.10 | 0.15 | 0.12 |
| 24 h | 0.89 | 0.50 | 0.39 | 0.23 | 0.12 | 0.20 |
| 48 h | 3.79 | 1.25 | 0.61 | 0.27 | 0.61 | 0.24 |
| 72 h | 6.50 | 1.64 | 1.02 | 0.84 | 0.74 | 0.42 |

# Fig. 107

A

| AB12976 | % médio de positivos | | | DP | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | 100 uM | 10 uM | 1 uM | 100 uM | 10 uM | 1 uM |
| 6 h | 2.54 | 3.34 | 3.42 | 0.40 | 0.66 | 0.80 |
| 24 h | 6.38 | 4.34 | 3.34 | 1.27 | 0.19 | 0.77 |
| 48 h | 8.41 | 3.10 | 2.72 | 0.95 | 0.16 | 0.57 |
| 72 h | 8.18 | 1.98 | 2.14 | 1.48 | 0.19 | 0.27 |

B

| AB12976 | % médio de positivos | | | DP | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | 100 uM | 10 uM | 1 uM | 100 uM | 10 uM | 1 uM |
| 6 h | 4.87 | 4.71 | 2.30 | 0.23 | 0.60 | 0.52 |
| 24 h | 2.55 | 2.29 | 1.30 | 0.24 | 0.15 | 0.49 |
| 48 h | 2.05 | 0.95 | 0.83 | 0.15 | 0.22 | 0.03 |
| 72 h | 1.84 | 0.76 | 0.83 | 0.60 | 0.20 | 0.25 |

C

| AB12976 | % médio de positivos | | | DP | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | 100 uM | 10 uM | 1 uM | 100 uM | 10 uM | 1 uM |
| 6 h | 4.17 | 3.53 | 3.17 | 0.53 | 0.45 | 0.31 |
| 24 h | 15.67 | 3.10 | 2.41 | 1.11 | 0.20 | 0.31 |
| 48 h | 27.23 | 3.06 | 2.50 | 6.55 | 0.53 | 0.58 |
| 72 h | 26.97 | 2.11 | 2.46 | 2.19 | 0.47 | 0.38 |

D

| AB12976 | % médio de positivos | | | DP | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | 100 uM | 10 uM | 1 uM | 100 uM | 10 uM | 1 uM |
| 6 h | 1.75 | 1.14 | 1.44 | 0.31 | 0.48 | 0.27 |
| 24 h | 4.01 | 1.43 | 1.32 | 0.70 | 0.17 | 0.30 |
| 48 h | 15.50 | 1.21 | 0.86 | 0.75 | 0.30 | 0.33 |
| 72 h | 7.11 | 0.71 | 0.86 | 0.94 | 0.11 | 0.06 |

# Fig. 107 (Continuação)

**E**

| AB12976 | % médio de positivos | | | DP | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | 100 uM | 10 uM | 1 uM | 100 uM | 10 uM | 1 uM |
| 6 h | 1.16 | 1.77 | 1.66 | 0.36 | 0.47 | 0.64 |
| 24 h | 3.97 | 1.59 | 0.90 | 0.28 | 0.15 | 0.28 |
| 48 h | 11.00 | 1.80 | 1.43 | 0.50 | 0.87 | 0.31 |
| 72 h | 18.30 | 1.67 | 1.44 | 2.78 | 0.45 | 0.39 |

**F**

| AB12976 | % médio de positivos | | | DP | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | 100 uM | 10 uM | 1 uM | 100 uM | 10 uM | 1 uM |
| 6 h | 0.47 | 0.76 | 0.72 | 0.16 | 0.19 | 0.20 |
| 24 h | 1.17 | 0.85 | 0.45 | 0.11 | 0.10 | 0.15 |
| 48 h | 5.70 | 0.99 | 0.80 | 0.25 | 0.53 | 0.31 |
| 72 h | 7.60 | 1.26 | 0.92 | 2.46 | 0.30 | 0.26 |

# Fig. 108

A

| Composto E (AB12508) | % médio de positivos | | | DP | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | 100 uM | 10 uM | 1 uM | 100 uM | 10 uM | 1 uM |
| 6 h | 6.11 | 3.65 | 2.36 | 0.73 | 1.22 | 0.61 |
| 24 h | 22.90 | 3.22 | 3.63 | 3.74 | 0.87 | 0.21 |
| 48 h | 33.23 | 3.35 | 2.64 | 5.71 | 0.74 | 0.46 |
| 72 h | 42.03 | 2.47 | 1.98 | 2.15 | 0.20 | 0.34 |

B

| Composto E (AB12508) | % médio de positivos | | | DP | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | 100 uM | 10 uM | 1 uM | 100 uM | 10 uM | 1 uM |
| 6 h | 11.33 | 4.87 | 2.21 | 2.34 | 1.45 | 0.55 |
| 24 h | 58.80 | 1.63 | 1.43 | 1.71 | 0.23 | 0.20 |
| 48 h | 66.13 | 1.26 | 0.77 | 1.53 | 0.12 | 0.35 |
| 72 h | 58.20 | 0.96 | 0.88 | 0.98 | 0.08 | 0.21 |

C

| Composto E (AB12508) | % médio de positivos | | | DP | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | 100 uM | 10 uM | 1 uM | 100 uM | 10 uM | 1 uM |
| 6 h | 36.83 | 3.46 | 4.05 | 3.09 | 0.50 | 1.43 |
| 24 h | 29.60 | 2.62 | 3.42 | 2.99 | 0.11 | 0.38 |
| 48 h | 69.77 | 2.53 | 2.68 | 0.64 | 0.67 | 0.51 |
| 72 h | 59.47 | 2.10 | 2.49 | 2.80 | 0.18 | 0.29 |

D

| Composto E (AB12508) | % médio de positivos | | | DP | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | 100 uM | 10 uM | 1 uM | 100 uM | 10 uM | 1 uM |
| 6 h | 25.90 | 1.35 | 1.29 | 2.76 | 0.28 | 0.70 |
| 24 h | 57.60 | 1.44 | 1.60 | 2.70 | 0.18 | 0.32 |
| 48 h | 54.43 | 0.94 | 1.21 | 2.55 | 0.27 | 0.16 |
| 72 h | 55.90 | 0.77 | 0.74 | 2.03 | 0.04 | 0.06 |

**Fig. 108** (Continuação)

**E**

| Composto E (AB12508) | % médio de positivos | | | DP | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | 100 uM | 10 uM | 1 uM | 100 uM | 10 uM | 1 uM |
| 6 h | 1.82 | 1.24 | 1.59 | 0.35 | 0.62 | 0.90 |
| 24 h | 15.97 | 0.82 | 1.02 | 1.56 | 0.07 | 0.24 |
| 48 h | 39.73 | 1.31 | 1.58 | 2.84 | 0.26 | 0.38 |
| 72 h | 31.43 | 1.61 | 1.59 | 3.67 | 0.62 | 0.34 |

**F**

| Composto E (AB12508) | % médio de positivos | | | DP | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | 100 uM | 10 uM | 1 uM | 100 uM | 10 uM | 1 uM |
| 6 h | 0.66 | 0.50 | 0.78 | 0.35 | 0.25 | 0.57 |
| 24 h | 15.53 | 0.42 | 0.40 | 1.90 | 0.03 | 0.05 |
| 48 h | 70.33 | 0.69 | 1.05 | 1.27 | 0.24 | 0.35 |
| 72 h | 63.90 | 1.01 | 0.97 | 2.10 | 0.35 | 0.11 |

# Fig. 109

A

| Estaurosporina | % médio de positivos | | | DP | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | 100 uM | 10 uM | 1 uM | 100 uM | 10 uM | 1 uM |
| 6 h | 252.66 | 288.58 | 205.17 | 32.59 | 18.92 | 8.33 |
| 24 h | 43.73 | 233.84 | 122.30 | 2.74 | 2.38 | 4.77 |
| 48 h | 12.71 | 49.62 | 63.67 | 0.38 | 1.35 | 0.57 |
| 72 h | 8.06 | 30.53 | 44.74 | 0.19 | 1.21 | 3.06 |

B

| Estaurosporina | % médio de positivos | | | DP | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | 100 uM | 10 uM | 1 uM | 100 uM | 10 uM | 1 uM |
| 6 h | 1640.60 | 1793.52 | 861.27 | 23.55 | 173.30 | 67.18 |
| 24 h | 542.74 | 714.33 | 260.20 | 18.87 | 36.02 | 7.93 |
| 48 h | 225.87 | 300.78 | 137.96 | 5.84 | 4.56 | 5.04 |
| 72 h | 146.22 | 187.20 | 107.95 | 4.98 | 12.93 | 6.55 |

C

| Estaurosporina | % médio de positivos | | | DP | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | 100 uM | 10 uM | 1 uM | 100 uM | 10 uM | 1 uM |
| 6 h | 2557.92 | 2254.35 | 376.37 | 93.23 | 269.97 | 19.88 |
| 24 h | 877.32 | 1369.69 | 574.22 | 100.95 | 83.00 | 41.02 |
| 48 h | 657.98 | 806.41 | 497.07 | 33.08 | 4.42 | 12.79 |
| 72 h | 495.53 | 466.72 | 275.95 | 4.57 | 28.07 | 5.44 |

# Fig. 110

A

| Malassezina | % médio de positivos | | | DP | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | 100 uM | 10 uM | 1 uM | 100 uM | 10 uM | 1 uM |
| 6 h | 82.23 | 111.00 | 108.22 | 5.94 | 7.78 | 9.59 |
| 24 h | 63.95 | 114.80 | 101.36 | 6.36 | 10.70 | 4.94 |
| 48 h | 38.35 | 84.86 | 97.57 | 4.02 | 7.17 | 8.28 |
| 72 h | 16.70 | 92.24 | 98.65 | 0.93 | 1.60 | 3.18 |

B

| Malassezina | % médio de positivos | | | DP | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | 100 uM | 10 uM | 1 uM | 100 uM | 10 uM | 1 uM |
| 6 h | 242.36 | 110.34 | 110.33 | 9.61 | 6.10 | 3.58 |
| 24 h | 336.31 | 97.99 | 100.53 | 16.48 | 13.31 | 9.61 |
| 48 h | 257.67 | 113.80 | 96.52 | 21.85 | 6.85 | 13.86 |
| 72 h | 176.88 | 127.07 | 96.64 | 8.65 | 15.57 | 10.04 |

C

| Malassezina | % médio de positivos | | | DP | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | 100 uM | 10 uM | 1 uM | 100 uM | 10 uM | 1 uM |
| 6 h | 134.18 | 110.28 | 110.10 | 18.33 | 16.69 | 5.07 |
| 24 h | 581.89 | 120.29 | 95.01 | 54.30 | 9.46 | 11.22 |
| 48 h | 742.01 | 131.31 | 102.41 | 35.68 | 11.82 | 9.88 |
| 72 h | 451.77 | 145.38 | 114.07 | 5.41 | 14.12 | 8.57 |

# Fig. 111

**A**

| Composto I (CV-8686) | % médio de positivos | | | DP | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | 100 uM | 10 uM | 1 uM | 100 uM | 10 uM | 1 uM |
| 6 h | 84.18 | 98.34 | 102.95 | 9.84 | 3.06 | 6.15 |
| 24 h | 51.36 | 102.94 | 102.74 | 7.25 | 11.79 | 11.07 |
| 48 h | 22.86 | 94.71 | 95.01 | 1.55 | 4.24 | 8.86 |
| 72 h | 17.90 | 94.42 | 106.39 | 2.22 | 3.37 | 7.85 |

**B**

| Composto I (CV-8686) | % médio de positivos | | | DP | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | 100 uM | 10 uM | 1 uM | 100 uM | 10 uM | 1 uM |
| 6 h | 132.19 | 102.28 | 101.03 | 19.56 | 9.13 | 7.48 |
| 24 h | 139.11 | 119.78 | 111.28 | 12.10 | 17.20 | 14.41 |
| 48 h | 95.28 | 112.70 | 99.39 | 9.10 | 2.95 | 7.67 |
| 72 h | 85.18 | 116.99 | 102.49 | 5.64 | 7.89 | 4.11 |

**C**

| Composto I (CV-8686) | % médio de positivos | | | DP | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | 100 uM | 10 uM | 1 uM | 100 uM | 10 uM | 1 uM |
| 6 h | 123.90 | 106.52 | 117.43 | 12.72 | 14.48 | 9.08 |
| 24 h | 378.52 | 107.06 | 100.56 | 17.88 | 4.35 | 15.37 |
| 48 h | 453.06 | 136.07 | 121.27 | 47.51 | 5.93 | 5.03 |
| 72 h | 296.88 | 119.77 | 118.22 | 38.11 | 4.44 | 5.18 |

# Fig. 112

**A**

| Composto II | % médio de positivos | | | DP | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| (CV-8688) | 100 uM | 10 uM | 1 uM | 100 uM | 10 uM | 1 uM |
| 6 h | 94.08 | 106.91 | 105.81 | 6.39 | 10.93 | 8.61 |
| 24 h | 91.22 | 116.50 | 113.68 | 0.50 | 8.00 | 6.03 |
| 48 h | 92.04 | 101.71 | 104.65 | 6.80 | 13.85 | 4.46 |
| 72 h | 46.56 | 101.58 | 102.52 | 2.23 | 6.53 | 9.03 |

**B**

| Composto II | % médio de positivos | | | DP | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| (CV-8688) | 100 uM | 10 uM | 1 uM | 100 uM | 10 uM | 1 uM |
| 6 h | 295.69 | 96.44 | 97.69 | 10.17 | 14.53 | 14.23 |
| 24 h | 488.09 | 121.95 | 112.68 | 13.16 | 9.74 | 12.52 |
| 48 h | 226.04 | 114.86 | 106.01 | 32.52 | 11.58 | 7.82 |
| 72 h | 155.68 | 112.80 | 88.49 | 8.40 | 7.40 | 2.53 |

**C**

| Composto II | % médio de positivos | | | DP | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| (CV-8688) | 100 uM | 10 uM | 1 uM | 100 uM | 10 uM | 1 uM |
| 6 h | 151.43 | 105.97 | 104.95 | 18.11 | 5.33 | 11.23 |
| 24 h | 1221.34 | 105.29 | 100.25 | 46.41 | 10.51 | 15.59 |
| 48 h | 829.38 | 137.47 | 113.78 | 57.97 | 14.65 | 19.61 |
| 72 h | 609.51 | 111.34 | 111.32 | 9.90 | 9.13 | 6.82 |

# Fig. 113

A

| Indol Carbazol (CV-8685) | % médio de positivos | | | DP | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | 100 uM | 10 uM | 1 uM | 100 uM | 10 uM | 1 uM |
| 6 h | 93.22 | 99.82 | 96.58 | 3.56 | 1.49 | 11.22 |
| 24 h | 106.71 | 93.63 | 102.40 | 9.39 | 7.90 | 12.26 |
| 48 h | 94.52 | 96.01 | 99.02 | 15.03 | 5.73 | 8.67 |
| 72 h | 96.76 | 99.07 | 100.68 | 7.83 | 7.69 | 3.98 |

B

| Indol Carbazol (CV-8685) | % médio de positivos | | | DP | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | 100 uM | 10 uM | 1 uM | 100 uM | 10 uM | 1 uM |
| 6 h | 91.09 | 102.51 | 102.29 | 8.55 | 3.06 | 7.53 |
| 24 h | 98.03 | 103.99 | 97.30 | 5.91 | 15.72 | 7.18 |
| 48 h | 102.39 | 105.47 | 101.43 | 8.99 | 5.50 | 5.25 |
| 72 h | 105.89 | 98.18 | 99.03 | 6.66 | 2.97 | 14.80 |

C

| Indol Carbazol (CV-8685) | % médio de positivos | | | DP | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | 100 uM | 10 uM | 1 uM | 100 uM | 10 uM | 1 uM |
| 6 h | 95.44 | 105.89 | 107.26 | 11.96 | 13.21 | 5.84 |
| 24 h | 93.92 | 97.11 | 101.06 | 18.71 | 5.88 | 6.21 |
| 48 h | 119.33 | 120.92 | 109.88 | 19.93 | 23.27 | 1.25 |
| 72 h | 108.75 | 113.34 | 98.09 | 7.07 | 13.45 | 9.06 |

# Fig. 114

**A**

| Composto IV (CV-8687) | % médio de positivos | | | DP | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | 100 uM | 10 uM | 1 uM | 100 uM | 10 uM | 1 uM |
| 6 h | 97.25 | 106.41 | 105.78 | 4.65 | 6.01 | 6.30 |
| 24 h | 108.13 | 95.28 | 95.59 | 11.58 | 3.85 | 3.66 |
| 48 h | 94.00 | 97.10 | 113.75 | 11.83 | 5.25 | 6.48 |
| 72 h | 98.41 | 106.67 | 107.05 | 13.36 | 9.55 | 9.61 |

**B**

| Composto IV (CV-8687) | % médio de positivos | | | DP | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | 100 uM | 10 uM | 1 uM | 100 uM | 10 uM | 1 uM |
| 6 h | 101.34 | 106.73 | 102.23 | 4.65 | 8.25 | 6.07 |
| 24 h | 104.05 | 110.50 | 107.58 | 2.60 | 2.69 | 9.78 |
| 48 h | 100.45 | 104.30 | 95.78 | 3.00 | 2.80 | 9.24 |
| 72 h | 92.93 | 98.23 | 97.45 | 8.66 | 4.85 | 8.57 |

**C**

| Composto IV (CV-8687) | % médio de positivos | | | DP | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | 100 uM | 10 uM | 1 uM | 100 uM | 10 uM | 1 uM |
| 6 h | 112.34 | 106.90 | 92.02 | 10.47 | 12.90 | 5.52 |
| 24 h | 117.82 | 97.92 | 97.08 | 19.61 | 9.30 | 3.11 |
| 48 h | 106.44 | 114.45 | 117.04 | 6.87 | 3.71 | 17.43 |
| 72 h | 104.25 | 109.76 | 106.65 | 11.07 | 9.21 | 4.70 |

# Fig. 115

A

| AB11644 | % médio de positivos | | | DP | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | 100 uM | 10 uM | 1 uM | 100 uM | 10 uM | 1 uM |
| 6 h | 543.44 | 98.41 | 100.71 | 47.46 | 3.65 | 5.68 |
| 24 h | 173.35 | 93.76 | 94.24 | 16.69 | 4.77 | 10.00 |
| 48 h | 45.39 | 93.00 | 107.98 | 4.81 | 10.10 | 6.17 |
| 72 h | 22.60 | 102.71 | 110.87 | 1.08 | 4.74 | 5.82 |

B

| AB11644 | % médio de positivos | | | DP | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | 100 uM | 10 uM | 1 uM | 100 uM | 10 uM | 1 uM |
| 6 h | 711.88 | 99.64 | 97.77 | 115.47 | 7.14 | 18.30 |
| 24 h | 223.51 | 114.96 | 103.72 | 22.54 | 7.99 | 12.33 |
| 48 h | 79.15 | 98.61 | 92.59 | 13.38 | 11.43 | 18.13 |
| 72 h | 70.81 | 99.25 | 97.44 | 26.36 | 6.92 | 4.13 |

C

| AB11644 | % médio de positivos | | | DP | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | 100 uM | 10 uM | 1 uM | 100 uM | 10 uM | 1 uM |
| 6 h | 319.07 | 97.69 | 98.29 | 185.81 | 6.49 | 10.57 |
| 24 h | 498.77 | 86.57 | 96.43 | 79.84 | 25.88 | 4.46 |
| 48 h | 402.70 | 109.09 | 130.02 | 15.65 | 4.73 | 11.57 |
| 72 h | 288.29 | 97.00 | 101.89 | 15.83 | 13.39 | 4.81 |

# Fig. 116

**A**

| Composição desconhecida | % médio de positivos | | | DP | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | 100 uM | 10 uM | 1 uM | 100 uM | 10 uM | 1 uM |
| 6 h | 121.44 | 101.66 | 102.43 | 5.57 | 8.74 | 5.00 |
| 24 h | 272.77 | 104.65 | 99.80 | 28.62 | 12.34 | 15.01 |
| 48 h | 63.24 | 92.04 | 91.93 | 2.47 | 5.08 | 5.07 |
| 72 h | 30.40 | 107.58 | 112.13 | 1.81 | 2.12 | 7.07 |

**B**

| Composição desconhecida | % médio de positivos | | | DP | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | 100 uM | 10 uM | 1 uM | 100 uM | 10 uM | 1 uM |
| 6 h | 766.35 | 91.67 | 91.91 | 84.08 | 14.96 | 27.33 |
| 24 h | 326.51 | 111.68 | 105.76 | 3.75 | 17.07 | 8.96 |
| 48 h | 143.34 | 112.33 | 92.62 | 7.01 | 10.53 | 5.46 |
| 72 h | 103.82 | 110.26 | 98.68 | 2.73 | 6.15 | 5.80 |

**C**

| Composição desconhecida | % médio de positivos | | | DP | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | 100 uM | 10 uM | 1 uM | 100 uM | 10 uM | 1 uM |
| 6 h | 342.01 | 100.28 | 92.15 | 175.64 | 2.02 | 12.88 |
| 24 h | 735.36 | 87.88 | 94.65 | 122.37 | 13.58 | 5.61 |
| 48 h | 542.64 | 116.20 | 116.63 | 12.39 | 14.43 | 11.88 |
| 72 h | 373.58 | 106.11 | 109.29 | 16.75 | 13.14 | 12.91 |

# Fig. 117

**A**

| Composto A5 | % médio de positivos | | | DP | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| (CV-8819) | 100 uM | 10 uM | 1 uM | 100 uM | 10 uM | 1 uM |
| 6 h | 94.07 | 96.84 | 103.86 | 8.65 | 7.26 | 5.94 |
| 24 h | 85.08 | 100.31 | 106.09 | 1.35 | 4.15 | 2.76 |
| 48 h | 47.69 | 70.72 | 88.90 | 1.23 | 11.62 | 15.97 |
| 72 h | 43.64 | 68.86 | 99.79 | 3.90 | 7.05 | 8.67 |

**B**

| Composto A5 | % médio de positivos | | | DP | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| (CV-8819) | 100 uM | 10 uM | 1 uM | 100 uM | 10 uM | 1 uM |
| 6 h | 102.38 | 102.47 | 97.50 | 4.30 | 6.55 | 5.15 |
| 24 h | 97.65 | 100.97 | 109.93 | 9.69 | 15.67 | 27.84 |
| 48 h | 112.40 | 110.47 | 94.22 | 4.86 | 12.65 | 3.27 |
| 72 h | 119.68 | 132.40 | 115.93 | 3.18 | 4.47 | 10.98 |

**C**

| Composto A5 | % médio de positivos | | | DP | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| (CV-8819) | 100 uM | 10 uM | 1 uM | 100 uM | 10 uM | 1 uM |
| 6 h | 111.85 | 94.90 | 96.92 | 18.80 | 14.19 | 3.65 |
| 24 h | 114.60 | 105.47 | 99.99 | 11.21 | 16.14 | 2.31 |
| 48 h | 177.61 | 173.08 | 131.36 | 21.00 | 22.77 | 4.20 |
| 72 h | 217.84 | 197.03 | 112.51 | 25.75 | 17.05 | 14.02 |

# Fig. 118

A

| Composto E | % médio de positivos | | | DP | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| (AB12508) | 100 uM | 10 uM | 1 uM | 100 uM | 10 uM | 1 uM |
| 6 h | 195.89 | 102.44 | 92.17 | 49.14 | 11.42 | 2.30 |
| 24 h | 314.25 | 101.20 | 104.55 | 15.37 | 11.93 | 11.73 |
| 48 h | 60.81 | 92.71 | 98.13 | 1.74 | 4.03 | 6.11 |
| 72 h | 28.76 | 97.21 | 98.60 | 1.48 | 1.18 | 3.46 |

B

| Composto E | % médio de positivos | | | DP | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| (AB12508) | 100 uM | 10 uM | 1 uM | 100 uM | 10 uM | 1 uM |
| 6 h | 1146.53 | 98.67 | 102.47 | 45.78 | 6.36 | 10.28 |
| 24 h | 497.44 | 94.97 | 113.88 | 42.07 | 10.36 | 24.98 |
| 48 h | 210.71 | 99.65 | 90.89 | 17.79 | 8.33 | 4.47 |
| 72 h | 147.68 | 99.53 | 100.41 | 2.95 | 5.11 | 3.40 |

C

| Composto E | % médio de positivos | | | DP | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| (AB12508) | 100 uM | 10 uM | 1 uM | 100 uM | 10 uM | 1 uM |
| 6 h | 400.57 | 94.71 | 96.91 | 162.22 | 6.65 | 3.50 |
| 24 h | 757.10 | 106.16 | 94.73 | 97.16 | 6.11 | 6.88 |
| 48 h | 710.00 | 115.55 | 102.98 | 47.08 | 9.40 | 3.72 |
| 72 h | 446.78 | 105.58 | 99.23 | 5.97 | 9.07 | 2.67 |

# Fig. 119

**A**

| Composto H | % médio de positivos | | | DP | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| (AB12509) | 100 uM | 10 uM | 1 uM | 100 uM | 10 uM | 1 uM |
| 6 h | 82.55 | 110.03 | 106.27 | 15.06 | 7.02 | 10.33 |
| 24 h | 102.16 | 98.53 | 96.46 | 14.10 | 10.40 | 3.82 |
| 48 h | 46.81 | 97.94 | 93.22 | 4.90 | 4.12 | 6.25 |
| 72 h | 24.17 | 99.39 | 91.57 | 5.27 | 12.98 | 7.55 |

**B**

| Composto H | % médio de positivos | | | DP | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| (AB12509) | 100 uM | 10 uM | 1 uM | 100 uM | 10 uM | 1 uM |
| 6 h | 334.59 | 105.53 | 102.59 | 11.76 | 10.12 | 7.32 |
| 24 h | 358.91 | 114.27 | 113.13 | 12.15 | 7.94 | 8.84 |
| 48 h | 106.76 | 92.30 | 88.07 | 5.94 | 2.66 | 9.48 |
| 72 h | 68.08 | 94.39 | 91.34 | 2.94 | 7.48 | 6.96 |

**C**

| Composto H | % médio de positivos | | | DP | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| (AB12509) | 100 uM | 10 uM | 1 uM | 100 uM | 10 uM | 1 uM |
| 6 h | 157.28 | 109.23 | 113.96 | 1.84 | 3.93 | 4.70 |
| 24 h | 295.40 | 105.72 | 88.47 | 19.74 | 7.20 | 10.68 |
| 48 h | 605.32 | 119.48 | 108.20 | 31.67 | 9.92 | 9.21 |
| 72 h | 351.27 | 114.18 | 85.85 | 18.35 | 11.30 | 9.78 |

# Fig. 120

**A**

| Composto B (CV-8877) | % médio de positivos | | | DP | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | 100 uM | 10 uM | 1 uM | 100 uM | 10 uM | 1 uM |
| 6 h | 504.38 | 105.44 | 108.04 | 75.56 | 3.78 | 4.37 |
| 24 h | 151.33 | 111.46 | 102.92 | 29.43 | 3.80 | 8.39 |
| 48 h | 39.13 | 106.54 | 86.80 | 1.00 | 2.94 | 15.76 |
| 72 h | 21.02 | 101.44 | 98.14 | 0.40 | 3.77 | 4.02 |

**B**

| Composto B (CV-8877) | % médio de positivos | | | DP | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | 100 uM | 10 uM | 1 uM | 100 uM | 10 uM | 1 uM |
| 6 h | 281.60 | 100.26 | 105.27 | 38.35 | 11.04 | 6.37 |
| 24 h | 110.82 | 103.02 | 102.76 | 7.53 | 7.86 | 5.73 |
| 48 h | 40.63 | 92.51 | 89.46 | 7.28 | 10.32 | 2.42 |
| 72 h | 31.59 | 107.55 | 89.85 | 8.08 | 4.65 | 15.54 |

**C**

| Composto B (CV-8877) | % médio de positivos | | | DP | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | 100 uM | 10 uM | 1 uM | 100 uM | 10 uM | 1 uM |
| 6 h | 963.78 | 96.09 | 95.78 | 121.12 | 13.36 | 19.24 |
| 24 h | 451.45 | 100.41 | 85.94 | 25.55 | 3.96 | 9.16 |
| 48 h | 245.94 | 101.75 | 100.53 | 27.95 | 18.46 | 11.30 |
| 72 h | 197.05 | 113.00 | 91.64 | 7.37 | 7.63 | 14.12 |

# Fig. 121

**A**

| Composto | % médio de positivos | | | DP | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| **B10** | **100 uM** | **10 uM** | **1 uM** | **100 uM** | **10 uM** | **1 uM** |
| 6 h | 130.92 | 99.64 | 106.71 | 34.47 | 2.48 | 11.50 |
| 24 h | 182.20 | 84.50 | 98.82 | 10.23 | 2.81 | 9.42 |
| 48 h | 44.43 | 88.48 | 98.23 | 3.15 | 4.10 | 10.16 |
| 72 h | 21.48 | 86.99 | 88.53 | 0.26 | 3.71 | 4.64 |

**B**

| Composto | % médio de positivos | | | DP | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| **B10** | **100 uM** | **10 uM** | **1 uM** | **100 uM** | **10 uM** | **1 uM** |
| 6 h | 578.99 | 98.25 | 103.24 | 11.25 | 6.79 | 2.77 |
| 24 h | 188.14 | 94.14 | 102.28 | 4.31 | 18.19 | 6.75 |
| 48 h | 80.58 | 98.11 | 95.82 | 5.89 | 2.54 | 8.94 |
| 72 h | 57.69 | 102.56 | 89.76 | 7.77 | 8.32 | 7.12 |

**C**

| Composto | % médio de positivos | | | DP | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| **B10** | **100 uM** | **10 uM** | **1 uM** | **100 uM** | **10 uM** | **1 uM** |
| 6 h | 1212.61 | 98.30 | 111.92 | 35.31 | 5.26 | 5.02 |
| 24 h | 398.09 | 100.15 | 98.60 | 35.22 | 4.93 | 10.69 |
| 48 h | 196.09 | 118.27 | 109.06 | 13.75 | 7.26 | 1.81 |
| 72 h | 147.93 | 91.37 | 92.41 | 14.29 | 10.11 | 1.87 |

# Fig. 122

A

| Precursor de malassezina | % médio de positivos | | | DP | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | 100 uM | 10 uM | 1 uM | 100 uM | 10 uM | 1 uM |
| 6 h | 108.53 | 116.28 | 112.21 | 15.33 | 7.69 | 7.02 |
| 24 h | 112.05 | 115.23 | 112.91 | 6.65 | 3.82 | 5.65 |
| 48 h | 105.40 | 102.63 | 111.65 | 22.09 | 3.64 | 2.02 |
| 72 h | 101.97 | 100.20 | 103.05 | 3.69 | 7.36 | 3.56 |

B

| Precursor de malassezina | % médio de positivos | | | DP | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | 100 uM | 10 uM | 1 uM | 100 uM | 10 uM | 1 uM |
| 6 h | 110.09 | 101.55 | 108.23 | 7.38 | 12.20 | 6.85 |
| 24 h | 111.21 | 97.51 | 96.23 | 4.93 | 6.48 | 2.41 |
| 48 h | 95.08 | 100.40 | 103.33 | 8.67 | 9.37 | 13.29 |
| 72 h | 105.67 | 101.24 | 96.55 | 1.88 | 4.37 | 12.53 |

C

| Precursor de malassezina | % médio de positivos | | | DP | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | 100 uM | 10 uM | 1 uM | 100 uM | 10 uM | 1 uM |
| 6 h | 117.85 | 105.17 | 103.97 | 12.02 | 15.80 | 9.15 |
| 24 h | 105.91 | 89.29 | 78.35 | 11.87 | 9.94 | 14.81 |
| 48 h | 112.25 | 113.50 | 103.68 | 14.34 | 8.22 | 19.14 |
| 72 h | 103.89 | 103.68 | 98.85 | 8.09 | 19.46 | 11.59 |

# Fig. 123

**A**

| AB17151 | % médio de positivos | | | DP | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | 100 uM | 10 uM | 1 uM | 100 uM | 10 uM | 1 uM |
| 6 h | 792.23 | 94.35 | 103.30 | 47.43 | 12.17 | 5.02 |
| 24 h | 232.22 | 109.52 | 103.23 | 42.76 | 15.33 | 10.23 |
| 48 h | 60.26 | 96.54 | 106.36 | 3.75 | 10.40 | 15.05 |
| 72 h | 31.32 | 98.86 | 104.00 | 3.21 | 5.87 | 12.88 |

**B**

| AB17151 | % médio de positivos | | | DP | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | 100 uM | 10 uM | 1 uM | 100 uM | 10 uM | 1 uM |
| 6 h | 185.76 | 102.39 | 103.35 | 26.84 | 10.63 | 4.33 |
| 24 h | 77.28 | 87.73 | 100.56 | 2.33 | 13.20 | 19.80 |
| 48 h | 37.24 | 103.58 | 97.08 | 1.16 | 7.38 | 10.94 |
| 72 h | 27.94 | 103.77 | 108.99 | 0.14 | 7.26 | 6.63 |

**C**

| AB17151 | % médio de positivos | | | DP | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | 100 uM | 10 uM | 1 uM | 100 uM | 10 uM | 1 uM |
| 6 h | 1915.95 | 100.56 | 107.82 | 96.88 | 4.21 | 0.95 |
| 24 h | 702.11 | 100.07 | 96.67 | 63.39 | 8.38 | 12.42 |
| 48 h | 418.69 | 102.86 | 114.75 | 125.67 | 5.29 | 8.19 |
| 72 h | 306.08 | 96.26 | 103.82 | 21.18 | 22.03 | 11.31 |

# Fig. 124

**A**

| AB17011 | % médio de positivos | | | DP | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | 100 uM | 10 uM | 1 uM | 100 uM | 10 uM | 1 uM |
| 6 h | 102.52 | 113.23 | 103.64 | 4.85 | 7.63 | 8.83 |
| 24 h | 88.84 | 95.91 | 103.23 | 2.74 | 0.61 | 5.71 |
| 48 h | 94.93 | 114.23 | 108.20 | 6.33 | 9.88 | 10.63 |
| 72 h | 109.04 | 105.42 | 103.05 | 8.80 | 4.68 | 7.49 |

**B**

| AB17011 | % médio de positivos | | | DP | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | 100 uM | 10 uM | 1 uM | 100 uM | 10 uM | 1 uM |
| 6 h | 89.77 | 106.86 | 108.92 | 11.31 | 4.12 | 3.95 |
| 24 h | 104.55 | 107.70 | 110.82 | 20.06 | 12.25 | 14.70 |
| 48 h | 97.24 | 97.70 | 95.57 | 4.42 | 9.05 | 3.35 |
| 72 h | 88.00 | 93.30 | 95.80 | 7.72 | 8.99 | 3.51 |

**C**

| AB17011 | % médio de positivos | | | DP | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | 100 uM | 10 uM | 1 uM | 100 uM | 10 uM | 1 uM |
| 6 h | 97.09 | 112.06 | 106.80 | 11.85 | 17.99 | 15.17 |
| 24 h | 89.80 | 93.03 | 111.47 | 3.75 | 2.19 | 17.23 |
| 48 h | 115.14 | 92.80 | 100.47 | 19.97 | 21.02 | 5.51 |
| 72 h | 100.34 | 95.18 | 98.02 | 9.64 | 9.59 | 13.50 |

# Fig. 125

A

| AB17014 | % médio de positivos | | | DP | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | 100 uM | 10 uM | 1 uM | 100 uM | 10 uM | 1 uM |
| 6 h | 107.26 | 112.73 | 106.37 | 12.91 | 11.93 | 2.62 |
| 24 h | 63.27 | 97.48 | 103.20 | 8.27 | 3.37 | 16.46 |
| 48 h | 29.50 | 82.78 | 107.35 | 3.37 | 10.88 | 10.95 |
| 72 h | 28.83 | 90.27 | 93.69 | 2.37 | 3.21 | 7.91 |

B

| AB17014 | % médio de positivos | | | DP | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | 100 uM | 10 uM | 1 uM | 100 uM | 10 uM | 1 uM |
| 6 h | 94.27 | 98.11 | 99.34 | 4.86 | 14.15 | 15.48 |
| 24 h | 116.67 | 114.65 | 115.75 | 14.69 | 5.45 | 15.74 |
| 48 h | 58.87 | 89.16 | 95.85 | 3.09 | 14.09 | 8.92 |
| 72 h | 44.46 | 91.12 | 99.15 | 1.94 | 9.51 | 6.75 |

C

| AB17014 | % médio de positivos | | | DP | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | 100 uM | 10 uM | 1 uM | 100 uM | 10 uM | 1 uM |
| 6 h | 266.58 | 93.25 | 108.01 | 51.24 | 4.33 | 8.67 |
| 24 h | 532.02 | 105.56 | 108.62 | 52.37 | 10.75 | 12.94 |
| 48 h | 521.61 | 123.83 | 111.07 | 124.57 | 5.05 | 1.72 |
| 72 h | 249.47 | 117.49 | 101.35 | 31.78 | 11.98 | 0.91 |

# Fig. 126

A

| AB17225 | % médio de positivos | | | DP | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | 100 uM | 10 uM | 1 uM | 100 uM | 10 uM | 1 uM |
| 6 h | 110.94 | 107.07 | 102.56 | 15.09 | 11.23 | 14.14 |
| 24 h | 100.53 | 106.88 | 98.19 | 11.91 | 3.87 | 11.10 |
| 48 h | 103.15 | 89.60 | 93.59 | 5.30 | 15.42 | 4.72 |
| 72 h | 105.32 | 110.43 | 92.38 | 5.85 | 3.16 | 13.17 |

B

| AB17225 | % médio de positivos | | | DP | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | 100 uM | 10 uM | 1 uM | 100 uM | 10 uM | 1 uM |
| 6 h | 96.37 | 82.94 | 94.68 | 6.95 | 13.90 | 16.19 |
| 24 h | 94.61 | 114.37 | 112.03 | 10.52 | 3.29 | 14.31 |
| 48 h | 95.85 | 94.54 | 101.78 | 2.48 | 5.59 | 10.65 |
| 72 h | 98.49 | 108.42 | 101.84 | 4.73 | 10.55 | 4.69 |

C

| AB17225 | % médio de positivos | | | DP | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | 100 uM | 10 uM | 1 uM | 100 uM | 10 uM | 1 uM |
| 6 h | 113.58 | 95.29 | 103.91 | 10.20 | 17.69 | 10.94 |
| 24 h | 160.52 | 96.87 | 90.79 | 37.31 | 13.18 | 1.68 |
| 48 h | 194.49 | 123.05 | 109.78 | 49.42 | 7.38 | 12.96 |
| 72 h | 199.83 | 110.60 | 91.09 | 18.88 | 21.37 | 6.95 |

# Fig. 127

A

| AB12976 | % médio de positivos | | | DP | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | 100 uM | 10 uM | 1 uM | 100 uM | 10 uM | 1 uM |
| 6 h | 88.59 | 103.91 | 106.27 | 5.50 | 3.65 | 7.48 |
| 24 h | 51.82 | 103.84 | 103.00 | 0.98 | 16.52 | 4.25 |
| 48 h | 27.25 | 93.64 | 104.99 | 3.83 | 16.41 | 12.48 |
| 72 h | 14.10 | 99.41 | 95.60 | 0.11 | 1.28 | 5.61 |

B

| AB12976 | % médio de positivos | | | DP | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | 100 uM | 10 uM | 1 uM | 100 uM | 10 uM | 1 uM |
| 6 h | 100.45 | 107.65 | 106.75 | 2.35 | 14.44 | 7.81 |
| 24 h | 80.48 | 94.77 | 102.29 | 4.90 | 13.29 | 25.53 |
| 48 h | 75.74 | 102.31 | 103.22 | 5.31 | 3.92 | 4.45 |
| 72 h | 76.27 | 106.88 | 100.89 | 2.97 | 11.57 | 6.38 |

C

| AB12976 | % médio de positivos | | | DP | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | 100 uM | 10 uM | 1 uM | 100 uM | 10 uM | 1 uM |
| 6 h | 95.60 | 98.80 | 115.34 | 11.19 | 12.86 | 16.94 |
| 24 h | 215.38 | 95.91 | 97.24 | 4.73 | 24.75 | 8.22 |
| 48 h | 359.83 | 90.15 | 104.05 | 40.01 | 4.49 | 22.80 |
| 72 h | 472.05 | 100.07 | 90.63 | 32.14 | 9.41 | 17.60 |

# Fig. 128

| Número do artigo de teste IIVS | Concentração | Designação do Patrocinador | pH (Dia 0, 2, 4, 6)^ | Viabilidade tec. média (%)[1] | Concentração de melanina |
|---|---|---|---|---|---|
| | | | | Dia 7 | (µg/ml) - a partir da curva linear |
| 18AB74 | Puro | 2767-09 84-030118E w/ AB17011 @ 200 ppm | 5.0; 5.0; 5.0; 5.0 | 35.6 | 31.929 |
| 18AB75 | Puro | 2767-07 84-030118C w/ AB17219 @ 200 ppm | 5.0; NCC; 5.0; 5.0 | 54.9 | 31.319 |
| 18AB76 | Puro | 2767-11 84-030118G w/ CV-8685 @ 200 ppm | 5.0; 4.5; 4.5; 4.5 | 30.8 | 33.761 |
| 18AB77 | Puro | 2767-12 84-030118H w/ CV-8687 @ 200 ppm | 5.0; 4.5; 4.5; 4.5 | 67.8 | 36.050 |
| 18AB78 | Puro | 2767-08 84-030118D w/ AB17225 @ 200 ppm | 5.0; 5.0; 5.0; 5.0 | 27.8 | 26.740 |
| 18AB79 | Puro | 2767-10 84-03011D w/ AB17220 @ 200 ppm | 5.0; 5.0; 5.0; 5.0 | 19.1 | 26.587 |
| 18AB80 | Puro | 2767-06 84-030118A w/ BASE @ 200 ppm | 5.0; NCC; 5.0; 5.0 | 71.9 | 37.882 |
| 18AD25 | Puro | Hidroquinona 4% | 3.0; 3.0; 3.0; 4.0 | 34.8 | 408.476 |
| 18AD41 | Puro | TRATAMENTO DE CLAREAMENTO | 5.0; 5.0; 5.0; 5.0 | 47.0 | 33.761 |
| 18AD42 | 500 µM | Indirrubina | 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 µM | Malassezina (CV-8684) | 8.5; 9.0; 8.0; 8.0 | 73.2 | 42.003 |
| 17AD43 | 500 µM | CV-8804 | 8.5; 8.5; 8.0; 8.5 | 86.6 | 35.898 |
| 17AD45 | 500 µM | CV-8803 | 8.5; 8.5; 8.0; 8.5 | 81.6 | 34.829 |
| 17AJ44/18AD36 | 200 µM/20% (v/v) | Composto E (AB12508)/ Ácido linoléico | 7.5; 8.0; 7.5; 8.0 | 70.2 | 38.493 |
| 17AJ44/18AA22/18 AD42 + UV | 200 µM | Composto E (AB12508)/ Pitiriacitrina (AB17014)/ Indirrubina | 8.0; 8.5; 8.5; 8.0 | 67.1 | 34.371 |
| 17AJ44/18AA22/18 AD42 Dark | 200 µM | Composto E (AB12508)/ Pitiriacitrina (AB17014)/ Indirrubina | 8.0; 8.5; 8.5; 8.0 | 64.6 | 33.914 |
| 17AJ44/18AA22 + UV | 200 µM | Composto E (AB12508)/ Pitiriacitrina (AB17014) | 8.0; 8.0; 8.0; 7.5 | 58.8 | 33.150 |
| 17AJ44/18AA22 Dark | 200 µM | Composto E (AB12508)/ Pitiriacitrina (AB17014) | 8.0; 8.0; 8.0; 7.5 | 77.7 | 29.945 |
| 17AJ41/17AJ47 | 200 µM | Malassezina (CV-8684)/ Composto A5 (CV-8819) | 8.0; 8.0; 8.0; 7.5 | 62.3 | 35.287 |

**Fig. 128** (Continuação)

| | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| 17AJ41/18AB74 | 200 µM/Neat | Malassezina (CV-8684)/ 2767-09 84-030118E w/ AB17011 @ 200 ppm | 8.0/5.0; 7.0/5.0; 7.5/5.0; 7.0/5.0 | 70.8 | 33.456 |
| 17AJ44/18AA14 | 200 µM | Composto E (AB12508)/ (AB17151) | 8.5; 7.5; 8.0; 7.5 | 30.5 | 24.908 |
| Controle positivo | 1% (w/v) | Ácido kójico | 4.0; 4.5; 4.0; 4.5 | 105.5 | 25.977 |
| Tecidos não tratados | NA | NA | NA | 1003 | 21.398 |

1 – Calculado em relação ao controle de solvente (14AA70 - DMSO)

2 – Valor do controle de solvente definido como 100% (nível de base)

3 – Valor de controle de tecidos não tratados (Dia 0) definido como 100% (nível de base)

4 – Valor de viabilidade de controle de solvente (Dia 7) definido como 100% (por padrão)

NA - Não aplicável

NCC - Nenhuma alteração de cor (no papel de pH)

# Fig. 129

| Número do artigo de teste IIVS | Concentração | Designação do Patrocinador | pH (Dia 0, 2, 4, 6)^ | Viabilidade tec. média (%)[1] Dia 7 | Concentração de melanina (µg/ml) - a partir da curva linear |
|---|---|---|---|---|---|
| 17AA70 | 0.5% (v/v) | DMSO | 8.0; 8.5; 8.5; 8.5 | 100[2] | 67.20 |
| 17AD43 | 750 µM | Composto A | 8.5; 8.5; 8.5; 8.5 | 87.4 | 53.79 |
| 17AJ41 | 500 µM | Malassezina (CV-8684) | 8.5; 8.5; 8.5; 8.5 | 72.4 | 48.07 |
| 18AE73 | 750 µM | Composto II | 8.5; 8.5; 8.5; 8.5 | 92.9 | 50.71 |
| 18AD42 | 500 µM | Indirrubina | 8.5; 8.5; 8.5; 8.5 | 62.5 | 44.77 |
| 17AD45 | 650 µM | CV-8803 | 8.5; 8.5; 8.5; 8.5 | 87.6 | 50.93 |
| | 750 µM | | 8.5; 8.5; 8.5; 8.5 | 81.9 | 51.37 |
| 17AJ43 | 650 µM | Composto B (CV-8877) | 8.5; 8.5; 8.5; 8.5 | 63.0 | 36.19 |
| | 750 µM | | 8.5; 8.5; 8.5; 8.5 | 25.9 | 32.89 |
| 17AJ44 | 600 µM | Composto E (AB12508) | 8.5; 8.5; 8.5; 8.5 | 77.4 | 37.95 |
| | 700 µM | | 8.5; 8.5; 8.5 8.5 | 56.9 | 33.11 |
| | 800 µM | | 8.5; 8.5; 8.5; 8.5 | 40.0 | 43.01 |
| 18AA14 | 225 µM | AB17151 | 8.0; 8.0; Day 4*; 8.0 | 107.5 | 37.73 |
| | 300 µM | | 8.0; 8.0; 8.5; 8.0 | 78.8 | 32.01 |
| | 375 µM | | 8.0; 8.0; 8.5; 8.5 | 53.4 | 32.89 |
| | 450 µM | | 8.0; 8.5; 8.5; 8.5 | 36.5 | 35.53 |
| 18AE71 | 650 µM | Composição desconhecida | 8.5; 8.5; 8.5; 8.5 | 87.0 | 35.09 |
| | 750 µM | | 9.0; 8.5; 8.5; 8.5 | 83.0 | 38.39 |
| 17AJ41/18AD42 | 250 µM | Malassezina (CV-8684)/ Indirrubina | 8.0; 9.0; 8.5; 8.0 | 61.8 | 36.63 |
| 18AD42/18AA14 | 250 µM | Indirubin/AB17151 | 8.5; 8.0; 8.5; 8.5 | 34.3 | 34.43 |
| 17AJ44/17AJ43 | 100 µM | Composto E (AB12508)/ Composto B (CV-8877) | 8.0; 8.5; 8.0; 8.0 | 105.9 | 47.19 |
| 17AJ43/18AA14 | 100 µM | Composto B (CV-8877)/ AB17151 | 8.0; 8.0; 8.0; 8.0 | 108.4 | 42.35 |
| 17AJ44/18AA14 | 100 µM | Composto E (AB12508)/ AB17151 | 8.0; 8.0; 8.0 ; 8.5 | 92.2 | 39.93 |
| Tecidos não tratados | NA | NA | NA | 100[3] | 31.57 |

[1] – Calculado em relação ao controle de solvente (14AA70 - DMSO)

[2] – Valor de viabilidade de controle de solvente (Dia 7) definido como 100% (nível de base)

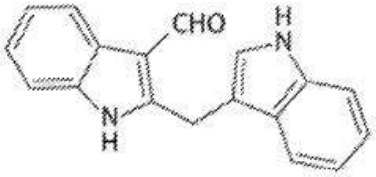
**Fig. 129** (Continuação)

[3]_ Valor de controle de tecidos não tratados (Dia 0) definido como 100% (nível de base)

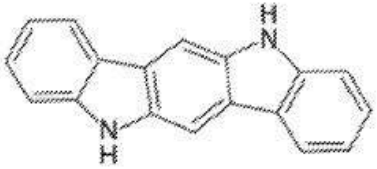
NA - Não aplicável

Petição 870210028995, de 28/03/2021, pág. 619/637

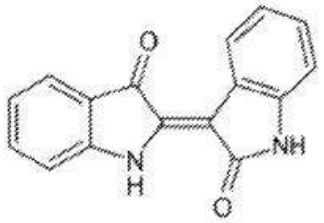
# Fig. 130



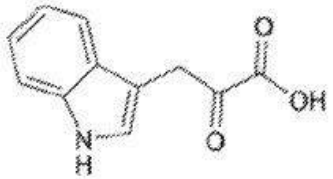

1. Malassezina (336)



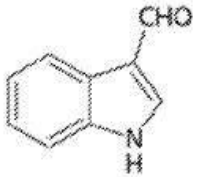

2. Indol[3,2b]carbazol (108)



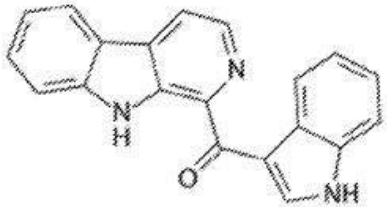

3. Indirrubina (120)



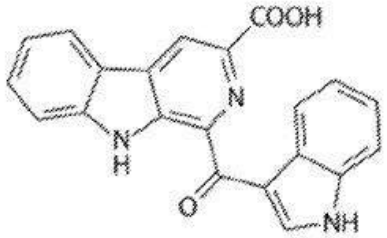

4. Ácido (indol-3-il)pirúvico



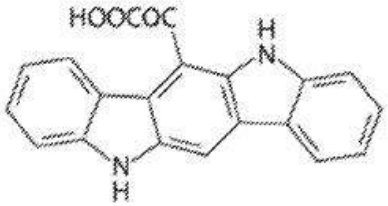

5. Indol-3-carbaldeído



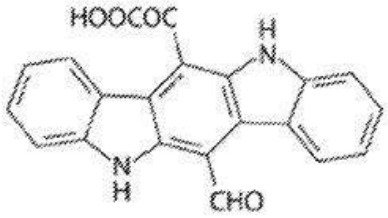

6. Pitiriacitrina (215)




7. Pitiriacitrina B (157)



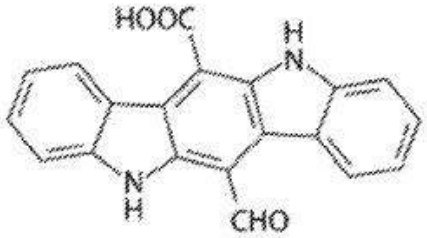

8. Malasseziazol A (158)



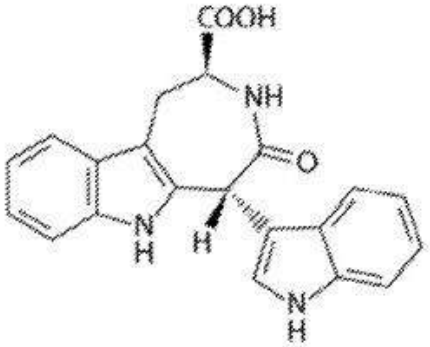

9. Malasseziazol B (158)

Petição 870210028995, de 28/03/2021, pág. 620/637

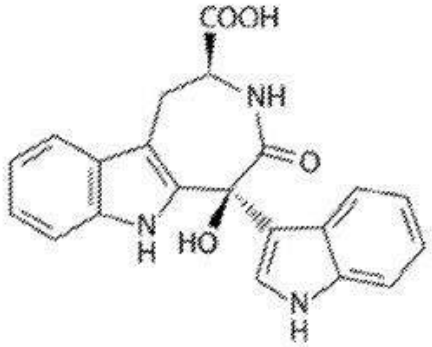
# Fig. 130 (Continuação)



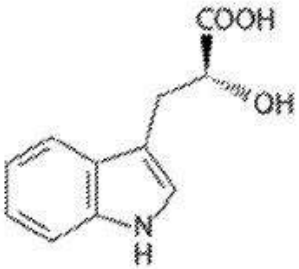

10. Malasseziazol C (158)



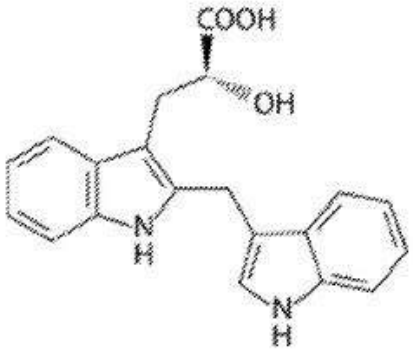

11. Malasseziazol A (157)



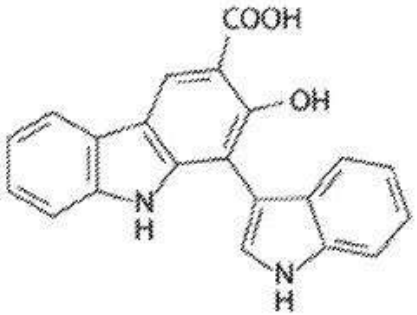

12. Malasseziazol B (157)




13. Ácido D-indol-3-lático



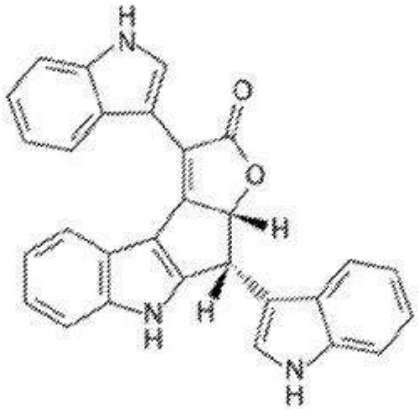

14. Ácido malassezialático (157)



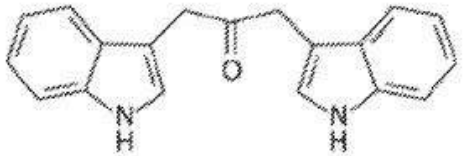

15. Pitriazol (157)

Petição 870210028995, de 28/03/2021, pág. 621/637

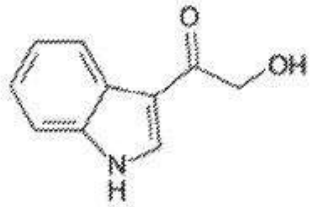
# Fig. 130 (Continuação)



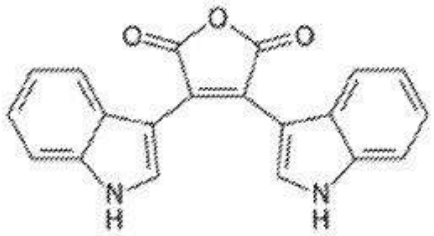
16. Malasseziatricina (157)



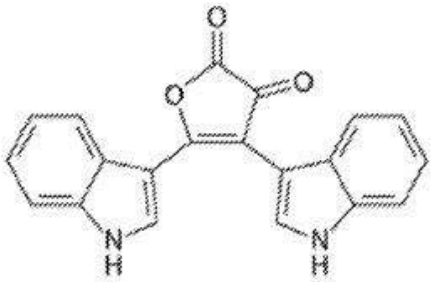
17. Malasseziona (157)



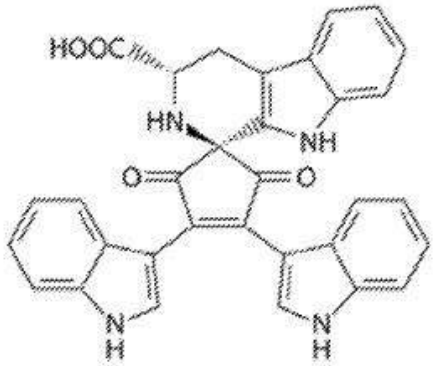
18. 2-Hidróxi-1-(1H-indol-3-il)-etanona (157)



19. Pitirianidrido(157)



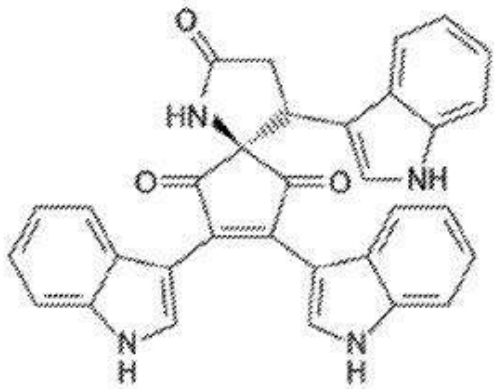
20. Pitirialactona (216)



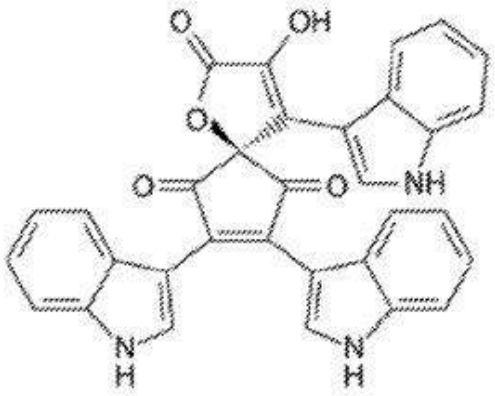
21. Pitiriarubina (158)

Petição 870210028995, de 28/03/2021, pág. 622/637

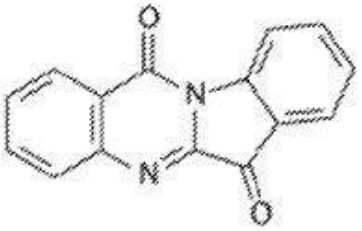
# Fig. 130 (Continuação)



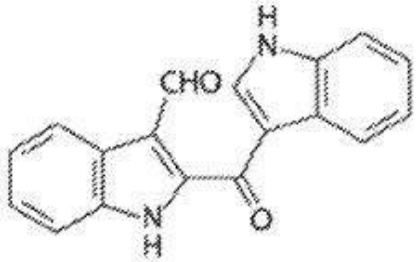

22. Pitiriarubina B (158)




23. Pitiriarubina C (158)




24. Triptantrin




25. Ceto-malassezina (71)

# Fig. 131

| Número do artigo de teste IVSS | Concentração | Designação do Patrocinador | pH | Viabilidade tec. média (%)[1] | C oncentração de melanina (µg/ml) - a partir da curva linear |
|---|---|---|---|---|---|
| | | | | Dia 7 | |
| 18AH47 | 0.5% (v/v) | DMSO (*controle de solv.*) | 8.0 | 100[2] | 66.52 |
| 17AJ41 | 500 µM | Malassezin (CV-8684) (***Positive control***) | 8.0 | 78.2 | 42.97 |
| 17AJ55 | 650 µM | O52 (AB129761) | 8.5 | 94.7 | 49.91 |
| 18AA21 | 650 µM | Malassezia Indol A (AB17011) | 8.5 | 100.1 | 55.59 |
| 18AF50 | 300 µM | Composto AB17151 | 8.0 | 57.5 | 30.99 |
| 18AH15 | 300 µM | Composto AB17590 | 8.0 | 28.6 | 34.98 |
| 18AH21 | 650 µM | AB11644 | 8.5 | 95.2 | 66.52 |
| 18AH38 | 500 µM | Indol-3-carbaldeído | 8.5 | 101.9 | 53.90 |
| 18AH39 | 500 µM | Ácido D-indol-3-lático | 8.5 | 98.8 | 64.21 |
| 17AD42/17AJ41/17AJ47/17AJ55/18AA21/18AA22/18AA24/18AD42/18AH16/18AH20/18AH24/18AH38/18AH39/18AH44 | Veja a Tabela 3 | Composição #1 | 8.5 | 61.7 | 32.67 |
| | Veja a Tabela 4 | Composição #2 | 8.5 | 75.6 | 33.72 |
| Tecidos não tratados | NA | NA | NA | 100[3] | 20.89 |

[1] – Calculado em relação ao controle de solvente (18AH47 - DMSO)

[2] – Valor da variabilidade de controle de solvente (Dia 7) definido como 100% (nível de base)

[3] – Valor de controle (Dia 0) de tecidos não tratados definido como 100% (nível de base)

NA - Não aplicável

Petição 870210028995, de 28/03/2021, pág. 624/637

# Fig. 132

| Número do artigo de teste IVSS | Concentração | Designação do Patrocinador | pH | Viabilidade tec. média (%)[1] | C oncentração de melanina (µg/ml) - a partir da curva linear |
|---|---|---|---|---|---|
| | | | | Dia 7 | |
| 18AH47 | 0.5% (v/v) | DMSO (*controle de solv.*) | 8.0 | 100[2] | 53.69 |
| 17AD42/17AJ41/17AD46/17AJ55/18AA21/18AA22/18AA24/18AD42/18AH16/18AH20/ 18AH24/18AH38/18AH39/ 18AH44 | Veja a Tabela 4 | Composição #2 (*controle positivo*) | 7.5 | 64.8 | 30.59 |
| 17AJ41/17AD46/17AJ55/18AA21/18AD42/18AH20/ 18AH24/18AH38/18AH39/ 18AH44 | Veja a Tabela 5 | Composição #3 | 8.0 | 65.2 | 25.93 |
| 17AD42/17AJ41/17AD46/17AJ55/18AA21/18AA24/18AD42/18AH20/18AH24/18AH38/18AH39/ 18AH44 | Veja a Tabela 6 | Composição #4 | 7.5 | 63.0 | 31.70 |
| 17AD42/17AJ41/18AA22/18AA24/18AD42/18AH16/ 18AH24/18AH39/18AH44 | Veja a Tabela 7 | Composição #5 | 8.0 | 63.9 | 34.15 |
| Tecidos não tratados | NA | NA | NA | 100[3] | 16.60 |

[1] – Calculado em relação ao controle de solvente (18AH47 - DMSO)

[2] – Valor da variabilidade de controle de solvente (Dia 7) definido como 100% (nível de base)

[3] – Valor de controle (Dia 0) de tecidos não tratados definido como 100% (nível de base)

NA - Não aplicável

# Fig. 133

A

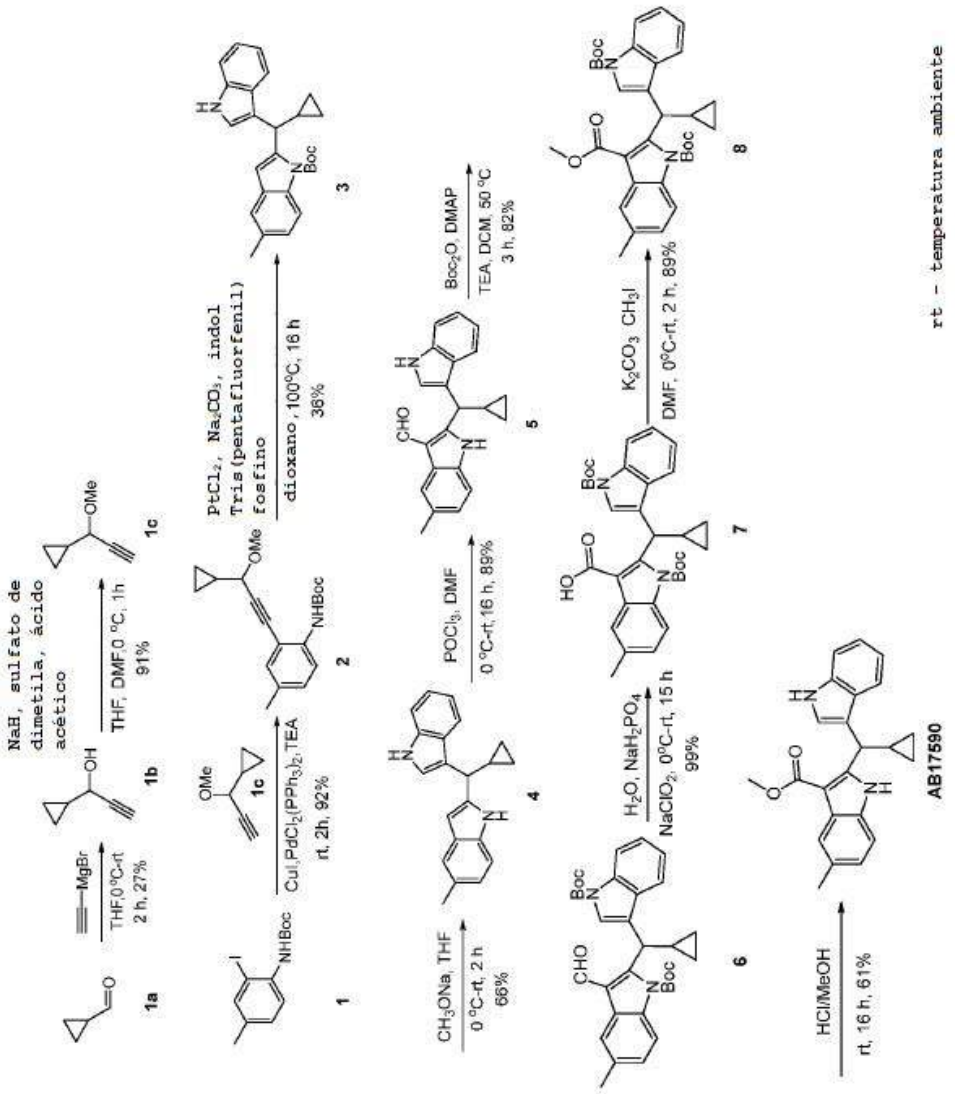

NaH, sulfato de dimetila, ácido acético
THF, DMF,0 °C, 1h
91%
THF,0 °C-rt
2 h, 27%
1a
1b
1c
CuI,PdCl2(PPh3)2,TEA
rt, 2h, 92%
PtCl2, Na2CO3, indol
Tris(pentafluorfenil) fosfino
dioxano , 100°C, 16 h
36%
1
2
3
CH3ONa, THF
0 °C-rt, 2 h
66%
POCl3, DMF
0 °C-rt, 16 h, 89%
Boc2O, DMAP
TEA, DCM, 50 °C
3 h, 82%
4
5
H2O, NaH2PO4
NaClO2, 0°C-rt, 15 h
99%
K2CO3, CH3I
DMF, 0°C-rt, 2 h, 89%
6
7
8
HCl/MeOH
rt, 16 h, 61%
AB17590
rt - temperatura ambiente

**Fig. 133** (Continuação)

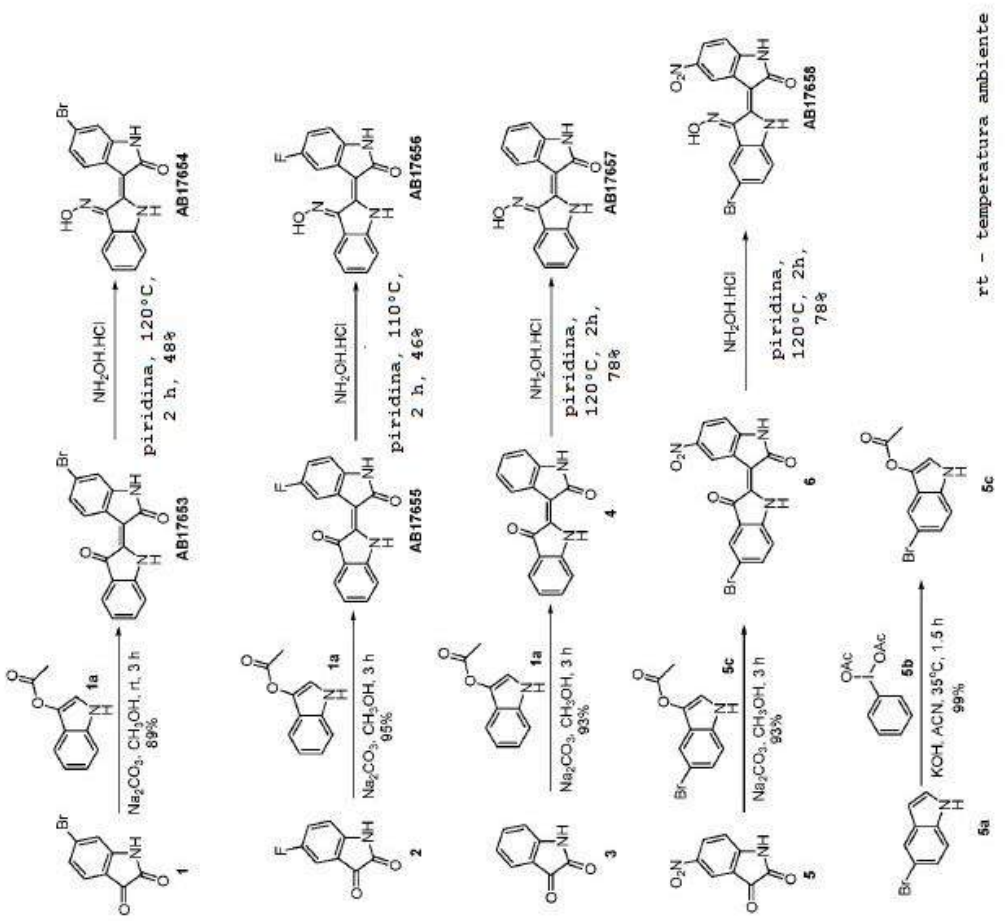
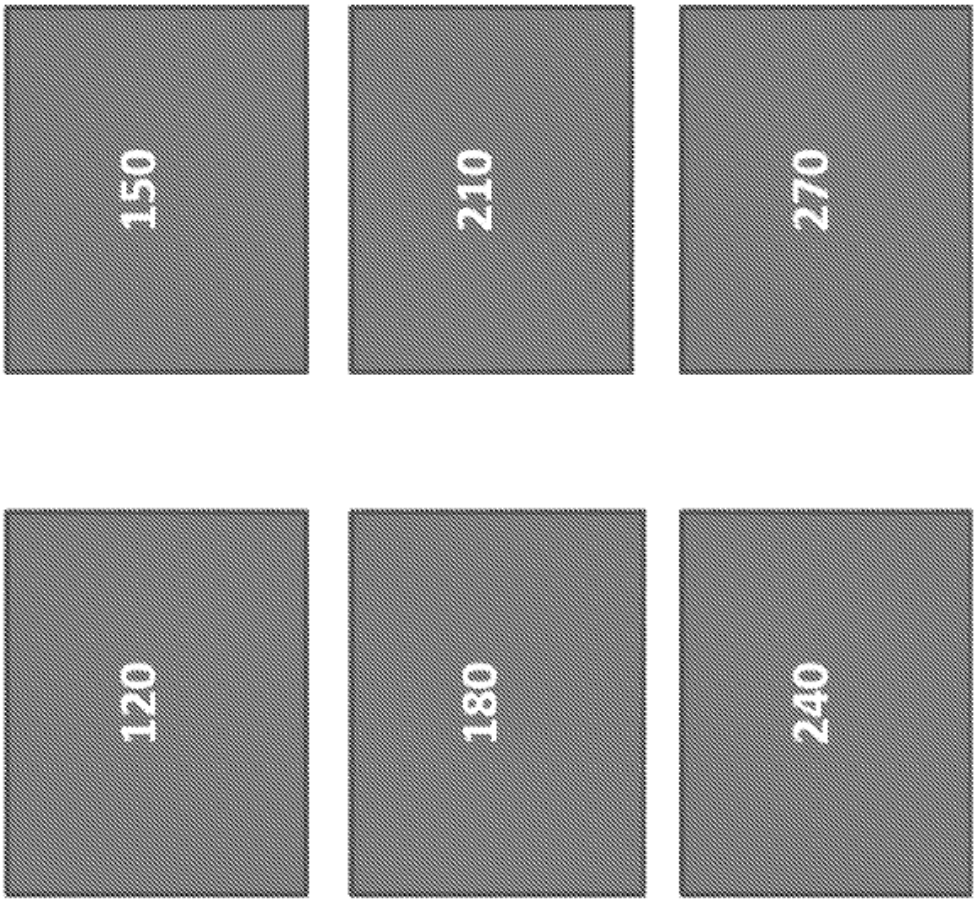


Fig. 134



Petição 870210028995, de 28/03/2021, pág. 628/637



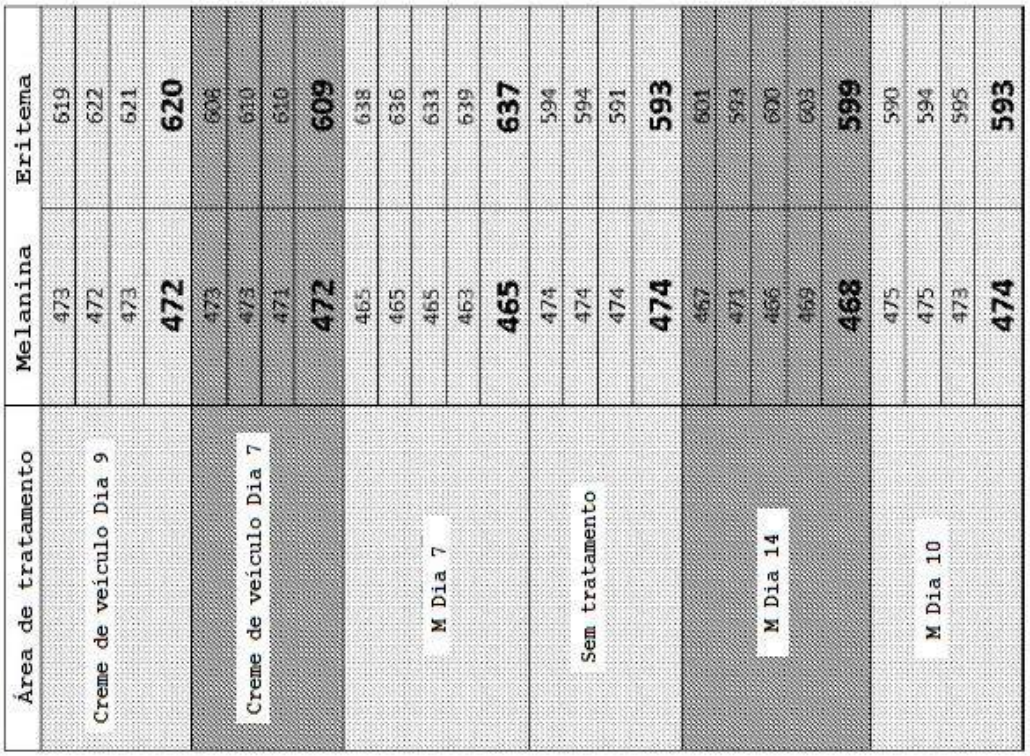
Fig. 135

| Seqüência de doses | Tipo de pele | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | I | II | III | IV | V | VI |
| 1ª | 40 | 70 | 90 | 120 | 150 | 240 |
| 2ª | 60 | 90 | 120 | 150 | 180 | 270 |
| 3ª | 70 | 105 | 150 | 180 | 210 | 300 |
| 4ª | 90 | 120 | 180 | 210 | 240 | 330 |
| 5ª | 105 | 150 | 210 | 240 | 270 | 360 |
| 6ª | 120 | 180 | 240 | 270 | 300 | 390 |

Fig. 136

| Área de tratamento | Melanina | Eritema |
|---|---|---|
| Normal | 471 | 600 |
| | 471 | 611 |
| | 470 | 610 |
| | **470** | **607** |
| Veículo envolvido | 477 | 627 |
| | 477 | 627 |
| | 475 | 627 |
| | **476** | **627** |
| Dia 7 | 459 | 615 |
| | 455 | 609 |
| | 453 | 617 |
| | 459 | 611 |
| | 456 | 619 |
| | 453 | 614 |
| | **456** | **614** |
| Dia 3 | 468 | 613 |
| | 473 | 608 |
| | 471 | 604 |
| | 469 | 600 |
| | 470 | 595 |
| | **470** | **604** |
| Dia 1 | 474 | 579 |
| | 475 | 585 |
| | 474 | 583 |
| | **474** | **582** |

# Fig. 137

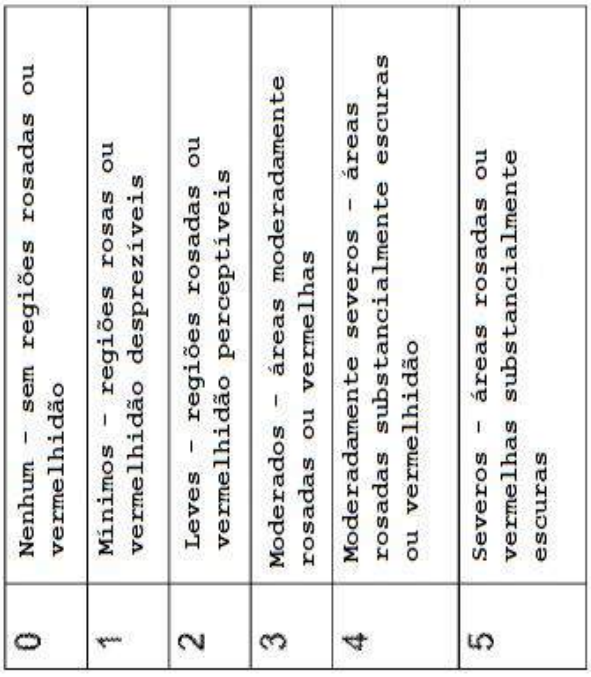


| Área de tratamento | Melanina | Eritema |
|---|---|---|
| Creme de veículo Dia 9 | 473 | 619 |
| | 472 | 622 |
| | 473 | 621 |
| | **472** | **620** |
| Creme de veículo Dia 7 | 473 | 606 |
| | 473 | 610 |
| | 471 | 610 |
| | **472** | **609** |
| M Dia 7 | 465 | 638 |
| | 465 | 636 |
| | 465 | 633 |
| | 463 | 639 |
| | **465** | **637** |
| Sem tratamento | 474 | 594 |
| | 474 | 594 |
| | 474 | 591 |
| | **474** | **593** |
| M Dia 14 | 467 | 601 |
| | 471 | 593 |
| | 466 | 600 |
| | 469 | 603 |
| | **468** | **599** |
| M Dia 10 | 475 | 590 |
| | 475 | 594 |
| | 473 | 595 |
| | **474** | **593** |

Fig. 137 (Continuação)

| Área de tratamento | Melanina | Eritema |
|---|---|---|
| M Dia 8 | 483 | 602 |
| | 483 | 602 |
| | 484 | 605 |
| | **483** | **603** |
| M Dia 3 | 474 | 609 |
| | 473 | 610 |
| | 476 | 610 |
| | **474** | **610** |
| M Dia 1 | 481 | 585 |
| | 479 | 600 |
| | 474 | 602 |
| | **478** | **596** |
| Imediato | 477 | 591 |
| | 482 | 602 |
| 15 min | 485 | 599 |
| | 492 | 605 |
| | 491 | 607 |
| | **485** | **601** |

**Fig. 138**



| | |
|---|---|
| 0 | Nenhum - sem regiões rosadas ou vermelhidão |
| 1 | Mínimos - regiões rosas ou vermelhidão desprezíveis |
| 2 | Leves - regiões rosadas ou vermelhidão perceptíveis |
| 3 | Moderados - áreas moderadamente rosadas ou vermelhas |
| 4 | Moderadamente severos - áreas rosadas substancialmente escuras ou vermelhidão |
| 5 | Severos - áreas rosadas ou vermelhas substancialmente escuras |

Fig. 139



Fig. 140

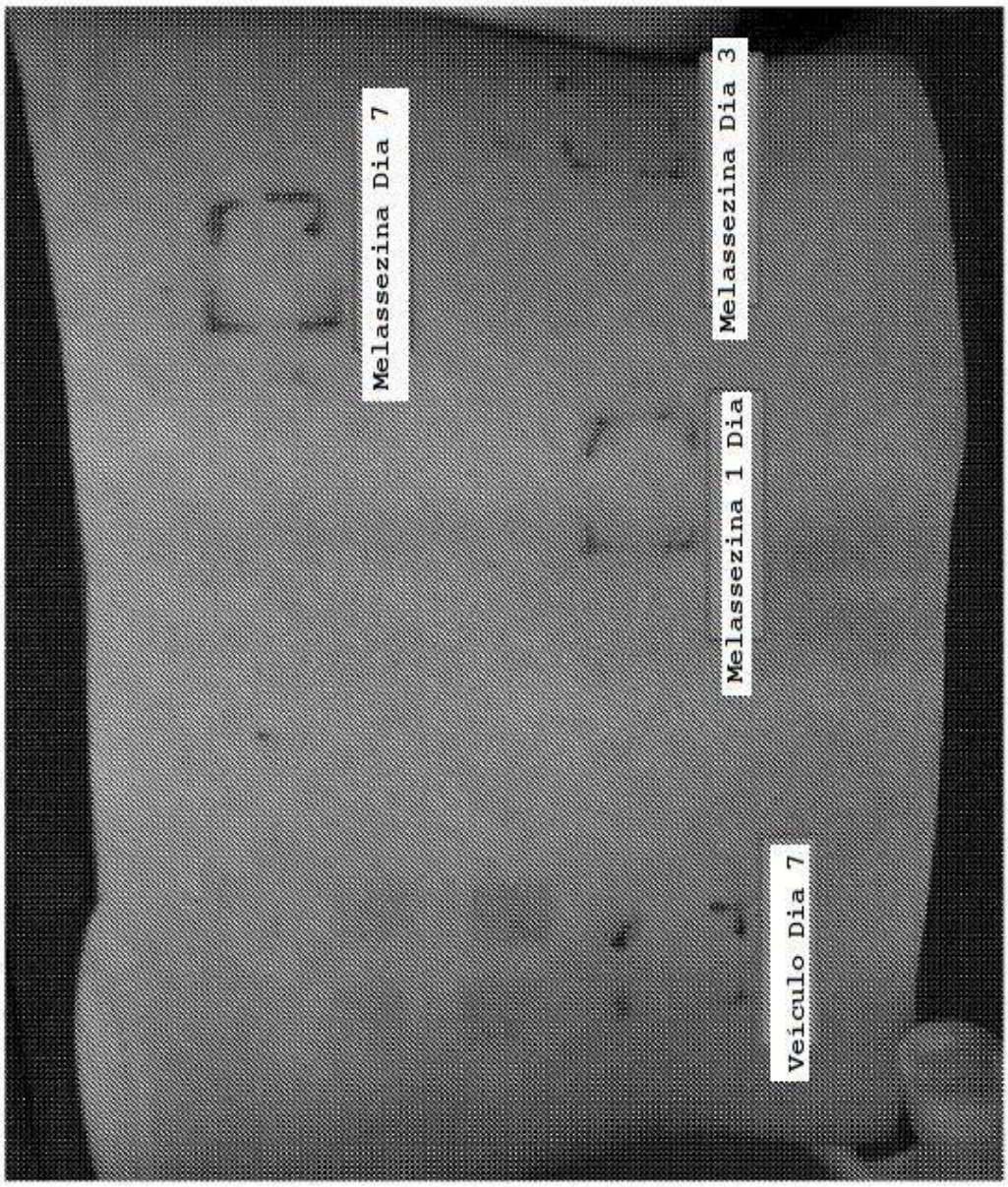

Melassezina Dia 7
Melassezina 1 Dia
Melassezina Dia 3
Veículo Dia 7

Fig. 141

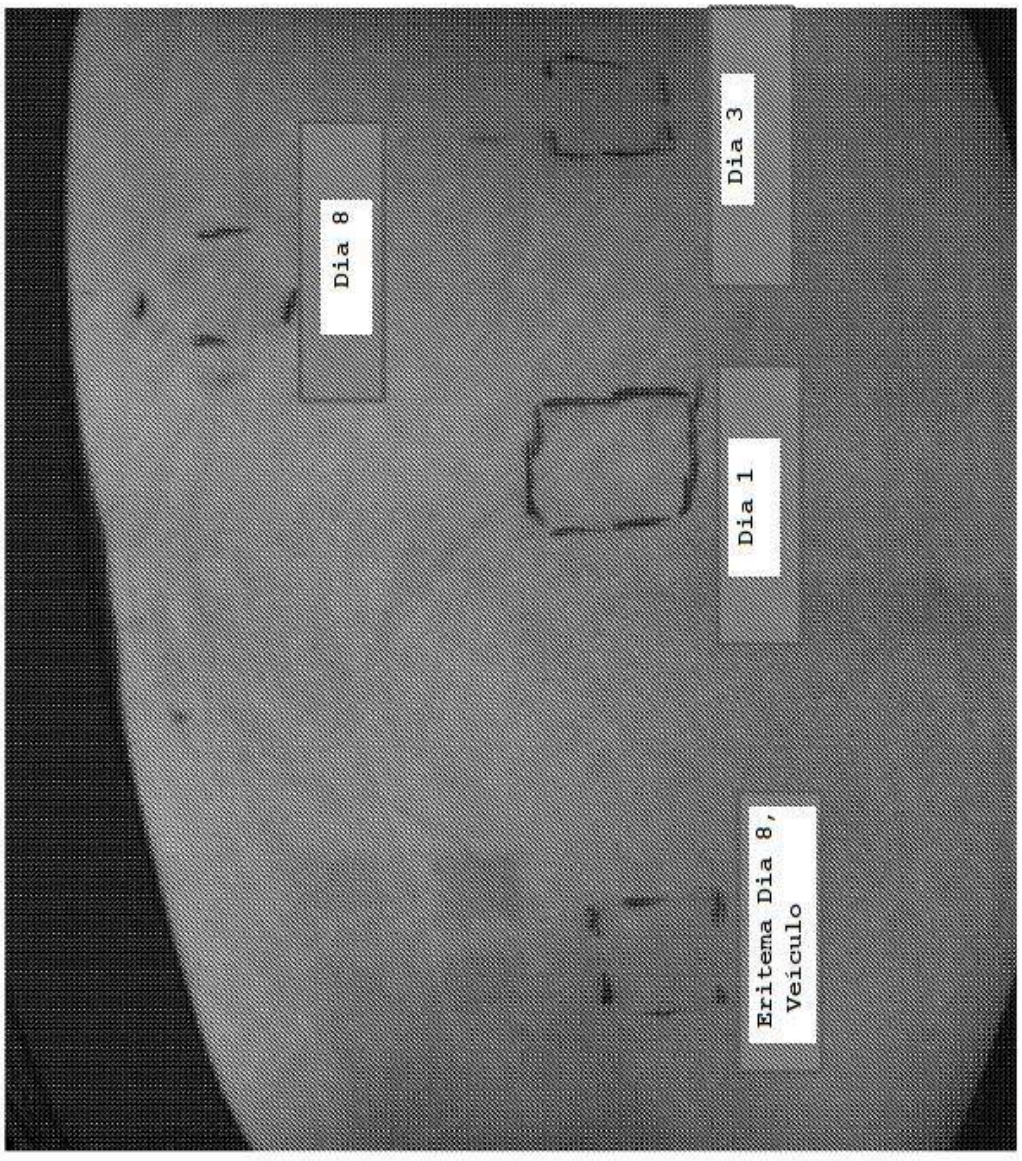


Fig. 142

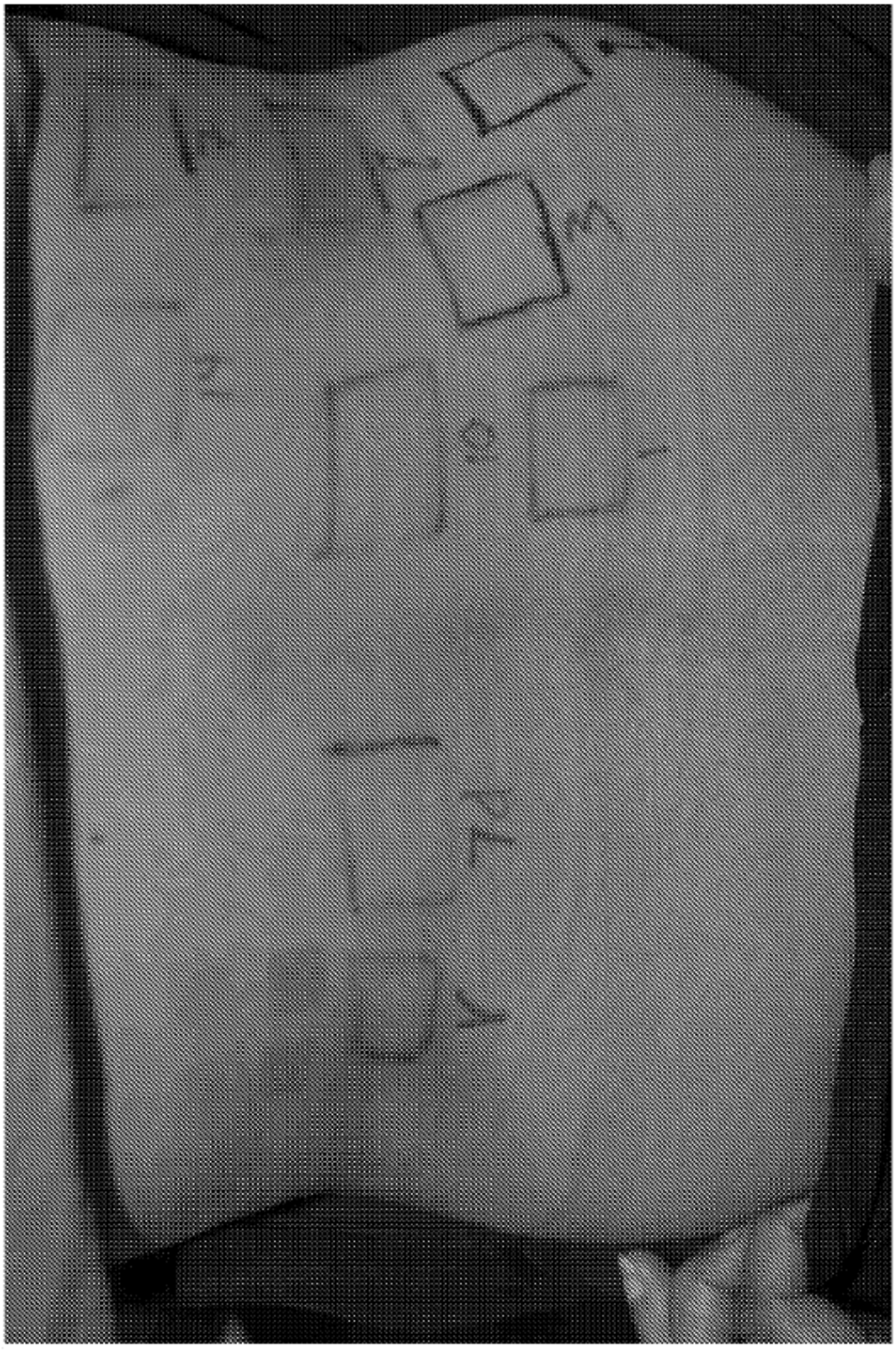
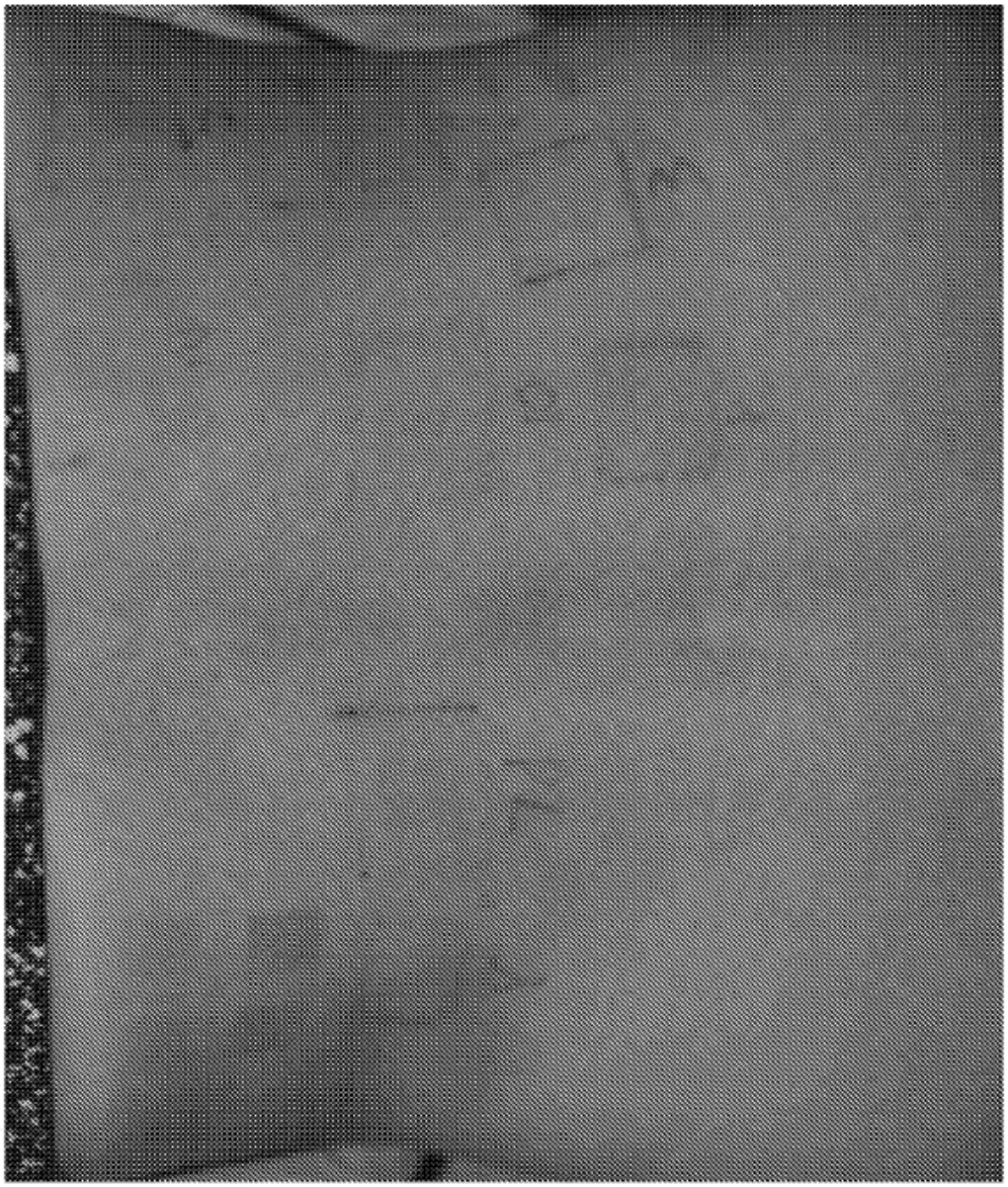


Fig. 143



RESUMO

**COMPOSIÇÕES FOTOPROTETORAS CONTENDO COMPOSTOS DERIVADOS DE MALASSEZIA E/OU ANÁLOGOS QUÍMICOS DOS MESMOS**

A presente invenção está relacionada aos compostos, composições e métodos para a modulação da pigmentação da pele e de tratamento ou prevenção de dano à pele induzido por UV, eritema, envelhecimento da pele, queimadura solar, e hiperpigmentação em um indivíduo. Os compostos, composições e métodos da presente invenção geralmente envolvem compostos derivados de *Malassezia*, incluindo malassezina e indirrubina, e/ou análogos químicos destes. Outras aplicações dos compostos e composições revelados nesse relatório descritivo incluem, sem limitação, melhora da hiperpigmentação causada por um distúrbio de hiperpigmentação, indução de apoptose de melanócitos e modulação da atividade do receptor de aril-hidrocarboneto (AhR), melanogênese, produção de melanina, biogênese de melanossoma, transferência de melanossoma, atividade de melanócitos e concentração de melanina.