

УДК577.112.083/577.152.199.1

**Ю. А. Шестеренко, І. І. Романовська, О. В. Севастьянов, О. С. Карпенко**  
Фізико-хімічний інститут ім. О.В. Богатського НАН України,  
Люстдорфська дорога, 86, Одеса, 65080,  
e-mail:romairina@gmail.com

## **БЕНЗИЛДЕНАНІЛІНИ І СПОРІДНЕНІ СПОЛУКИ ЯК ІНГІБІТОРИ ТИРОЗИНАЗИ**

Показано, що бензилден-2-амінофенол і бензилден-4-амінофенол є ефективними інгібіторами монофенолазної активності тирозинази ( $IC_{50}$  7,8 і 31,2 мкмоль/дм<sup>3</sup>, відповідно), і значно перевищують стандартний інгібітор – койєву кислоту за інгібуючою здатністю.

Досліджений вплив інших альдімінів на активність ензиму. Показано, що сполуки, які містять нафталіновий фрагмент, гетероатом у ароматичному фрагменті аніліну, а також біс-альдіміни (в концентраціях 2 – 250 мкмоль/дм<sup>3</sup>) не є інгібіторами тирозинази. Виявлено, що 3-(2-гідроксифеніліміно)-1,3-дигідроіндол-2-он проявив значну інгібуючу здатність (8,8 мкмоль/дм<sup>3</sup>), близьку до такої бензилден-2-амінофенолу.

**Ключові слова:** тирозиназа *Agaricus bisporus*, інгібітор, похідні бензилденаніліну, альдіміни.

Утворення меланіну в організмі людини відіграє важливу роль у захисті від шкідливого ультрафіолетового випромінювання, яке може сприяти тяжким захворюванням, а саме злоякісним новоутворенням шкіри [3].

Однак надмірне накопичення меланіну також призводить до низки захворювань та косметологічних проблем, а саме токсичних і лікарських меланодермій, мелази, лентіго та ін. [13].

Провідна роль в утворенні меланіну належить тирозиназі, ферменту класу оксидоредуктаз (КФ 1.14.18.1), що каталізує о-гідроксилування L-тирозину до L-ДОФА (L-дигідроксифенілаланін) і подальше окиснення L-ДОФА до L-ДОФА-хінону – перші стадії утворення пігменту [8].

Тирозинази різних організмів характеризуються широким спектром молекулярних мас (29 – 130 кДа). Більшість тирозиназ є мономерними, однак існують і олігомерні протеїни, що складаються з декількох субодиниць, наприклад тирозиназа *Agaricus bisporus*. Активний центр тирозинази містить два іони купруму, координованих з шістьма залишками гістидину [8].

Для попередження або лікування гіперпігментації шкіри використовують засоби, які містять інгібітори тирозинази. На сьогоднішній день відомо багато інгібіторів як природного, так і синтетичного походження [5, 6, 10, 12]. Однак існуючі інгібітори характеризуються рядом суттєвих недоліків, таких як нестабільність, неекономічність, токсичність, складні методи синтезу чи виділення з природних об'єктів.

Тому метою даної роботи було дослідження бензилденаніліну, його похідних і споріднених сполук як інгібіторів тирозинази.

## МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

Мас-спектри FAB реєстрували на спектрометрі VG 70-70 EQ. Іонізація здійснювалася пучком атомів аргону з енергією 10 кВ (речовини розчиняли у 3-нітробензиловому спирті).

Мас-спектри електронного удару (ЕУ) реєстрували на спектрометрі МХ-1332. Іонізація здійснювалася пучком електронів з енергією 220 еВ.

**Бензиліден-2-амінофенол (1).** Синтезований, як описано у [1]: До 10 см<sup>3</sup> гарячого спиртового розчину ароматичного альдегіду (0,01 моль/дм<sup>3</sup>) додавали 10 см<sup>3</sup> гарячого спиртового розчину ароматичного аміну (0,01 моль/дм<sup>3</sup>). Кристали, що випали, відокремлювали на скляному фільтрі. Осад промивали 50 % охолодженим метанолом та перекристалізували із 50 % етилового спирту. Вихід 55 %; М = 197 г/моль, Т. пл. - 93 – 94 °С; Мас-спектр FAB, m/z (I, %): 198 (100 %) [M + H]<sup>+</sup>.

**Бензиліден-4-амінофенол (2).** Синтезований, як описано у [1]. Вихід 55 %; М = 197 г/моль, Т. пл. – 187 – 189 °С; Мас-спектр FAB, m/z (I, %): 198 (100 %) [M + H]<sup>+</sup>.

**Бензиліденанілін (3).** Синтезований, як описано у [1]. Вихід 55 %; М = 181 г/моль, Т. пл. - 51 – 53 °С; Мас-спектр FAB, m/z (I, %): 182 (100 %) [M + H]<sup>+</sup>.

**Бензиліден-1-амінонафталін (5).** Синтезований, як описано у [1]. Вихід 55 %; М = 231 г/моль, Т. пл. - 67 – 69 °С; Мас-спектр FAB, m/z (I, %): 232 (100 %) [M + H]<sup>+</sup>.

**Бензиліден-2-амінонафталін (6).** Синтезований, як описано у [10]. Вихід 55 %; М = 231 г/моль, Т. пл. - 102 – 103 °С; Мас-спектр FAB, m/z (I, %): 232 (100 %) [M + H]<sup>+</sup>.

**Бензиліден-2-амінопіридин (7).** Синтезований, як описано у [1]. Вихід 55 %; М = 182 г/моль, Т. пл. - 105 – 107 °С; Мас-спектр FAB, m/z (I, %): 183 (100 %) [M + H]<sup>+</sup>.

**Біс-(2-гідроксибензиліден)-етилендіамін (8).** Синтезований, як описано у [1]. Вихід 55 %; М = 267 г/моль, Т. пл. - 126 – 127 °С; Мас-спектр FAB, m/z (I, %): 269 (100 %) [M + H]<sup>+</sup>.

**Гліоксаль-біс(2-гідроксианілін) (9).** Синтезований, як описано у [1]. Вихід 55 %; М = 239 г/моль, Т. пл. – з розкладанням > 204 °С; Мас-спектр FAB, m/z (I, %): 240 (100 %) [M + H]<sup>+</sup>.

**3-(2-Гідроксифеніламіно)-1,3-дигідро-індол-2-он (10).** Суміш 736 мг (5 ммоль) індол-2,3-діону, 546 мг (5 ммоль) 2-гідроксианіліну та 1 краплю концентрованої хлористоводневої кислоти кип'ятили в 20 см<sup>3</sup> етанолу протягом 5 годин. Осад, який випав після охолодження, відфільтрували і висушили на повітрі. Осад очистили за допомогою колонкової хроматографії на силікагелі (елюент – суміш хлороформу з метанолом в співвідношенні 20:1). Вихід – 30 % оранжевої кристалічної речовини. М = 238 г/моль. Т. пл. (кап.) – 214 – 216 °С. Мас-спектр ЕУ m/z (I, %): 238(20%), 210(100%), 181(35%).

У роботі використовували препарат тирозинази з грибів *Agaricus bisporus*, отриманий згідно методу [15].

У виділеному препараті тирозинази визначали вміст білка за методом Лоурі в модифікації Хартрі [7], вміст поліфенолів [14], активність за L-ДОФА [9] і L-тирозином згідно методу [11] з деякими модифікаціями: у пробірку, що містить 2,5 см<sup>3</sup> 2,5 ммоль/дм<sup>3</sup> розчину L-тирозиону в натрій-фосфатному буферному розчині (0,05 моль/дм<sup>3</sup>, рН 6,5), вносили 0,5 см<sup>3</sup> розчину ферменту. Через 10 хв інкубації при 25 °С фотометрували при 475 нм в кюветі з довжиною ходу променя 1 см.

Інгібування тирозинази досліджували, визначаючи моно- і дифенолазну активності ензиму за описаними вище методиками у присутності інгібітора в діапазоні концентрацій від 2 до 250 мкмоль/дм<sup>3</sup>. Концентрацію напівмаксимального інгібування тирозинази IC<sub>50</sub> визначали з графіка залежності активності ферменту від концентрації інгібітора, використовуючи лінійну ділянку кривої та екстраполюючи її до 50 % збереження активності ензиму.

### РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

З грибів *Agaricus bisporus* виділено препарат тирозинази з виходом за білком 0,82 мг/г грибів, вмістом іонів купруму 0,19 %, питомою активністю 390 і 4340 од/мг білка за хв за L-тирозином і L-ДОФА, відповідно.

Відомо, що бензиліденаніліни є високоефективними інгібіторами монофенолазної активності тирозинази [2]. Однак, у літературі відсутні дані, щодо впливу гідроксипохідних бензиліденаніліну на дифенолазну активність ензиму.

Для дослідження впливу бензиліденанілінів на монофенолазну і дифенолазну активність тирозинази були використані бензиліден-2-амінофенол, бензиліден-4-амінофенол і бензиліденанілін (рис. 1).

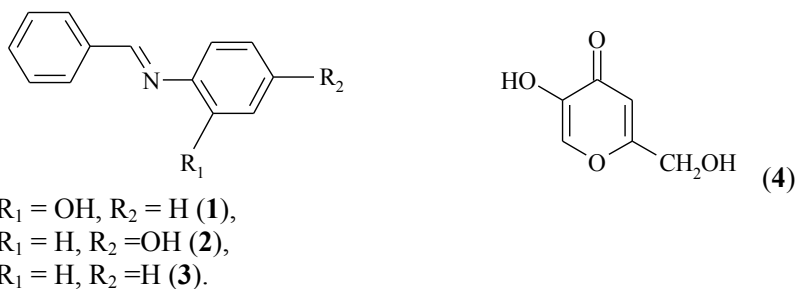


Рис. 1. Структури досліджуваних бензиліденанілінів (1-3) і стандартного інгібітора – койєвої кислоти (4)

Для вивчення ефективності інгібування тирозинази представленими сполуками їх IC<sub>50</sub> порівнювали з такою відомого інгібітора меланогенезу койєвої кислоти [10, 12].

Для койєвої кислоти значення IC<sub>50</sub> становило 60,8 і 31,9 мкмоль/дм<sup>3</sup> за L-тирозином і L-ДОФА, відповідно.

Визначення впливу сполук **1** і **2** на монофенолазну активність тирозинази показало значне зниження активності ензиму, значення напівмаксимального інгібування становило 7,8 і 31,2 мкмоль/дм<sup>3</sup> відповідно (рис. 2). Отже сполуки **1** і **2** значно перевищують койєву кислоту за інгібуючою здатністю. Дослідження інгібування дифенолазної активності ензиму сполуками **1** і **2** показало, що бензиліденаніліни не впливають на окиснення L-ДОФА, що каталізується тирозиназою.

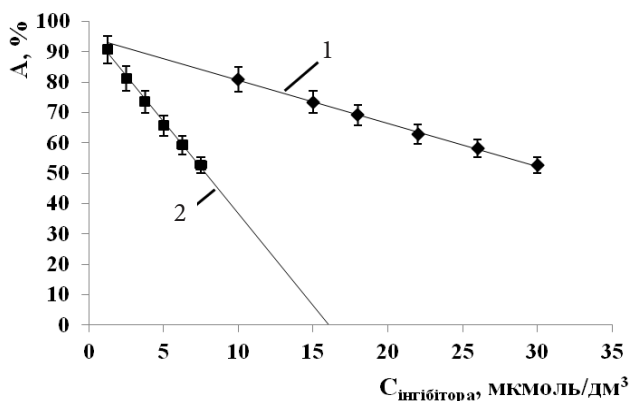


Рис. 2 Залежність монофенолазної активності тирозинази від концентрації інгібіторів (1 – бензиліден-2-амінофенол, 2 – бензиліден-4-амінофенол)

Інгібування окиснення лише L-тироzinу свідчить про те, що сполуки 1 і 2 зв'язують іони купруму активного центру ензиму, адже при утворенні комплексу інгібіторів з купрумом, окиснення L-ДОФА також було б неможливим.

Однак окиснення L-тироzinу є першою і швидкість-лімітуючою стадією у тирозиназному каталізі [8], тому відсутність впливу на окиснення L-ДОФА не знижує наукової і практичної значимості вивчаємих інгібіторів.

В ході дослідження ми припустили, що незаміщений бензиліденанілін (3) не буде інгібувати активність тирозинази, тому що найважливішим фактором для більшості інгібіторів тирозинази є наявність і розташування гідроксильних груп у ароматичному чи гетероциклічному циклі [4, 10]. Проте було виявлено, що сполука 3 проявляє певну інгібуючу здатність ( $IC_{50}$  110,4 мкмоль/дм³) (рис. 3), хоча і значно поступається такій гідроксизаміщених похідних і койєвої кислоти.

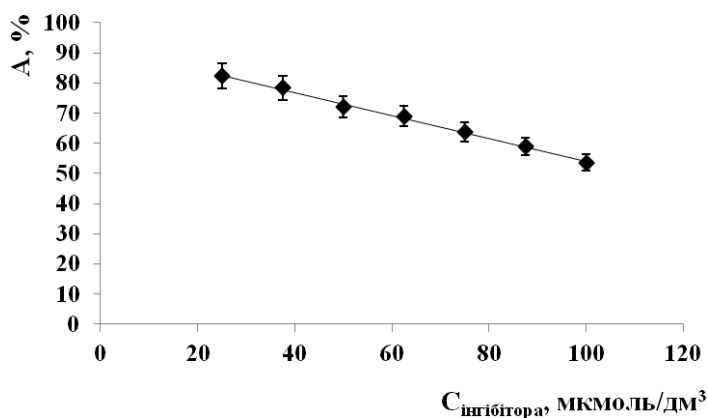


Рис. 3. Залежність монофенолазної активності тирозинази від концентрації бензиліденаніліну

Отримані дані свідчать про те, що наявність азометинової групи у структурі інгібітора відіграє важливу роль у інгібуванні активності тирозинази.

Протягом подальших досліджень інші альдіміни (рис. 4, **5-9**) були вивчені як інгібітори тирозинази.

Визначено вплив нафталінового фрагменту, гетероатома у ароматичному фрагменті аніліну, а також біс-альдімінів на активність тирозинази.

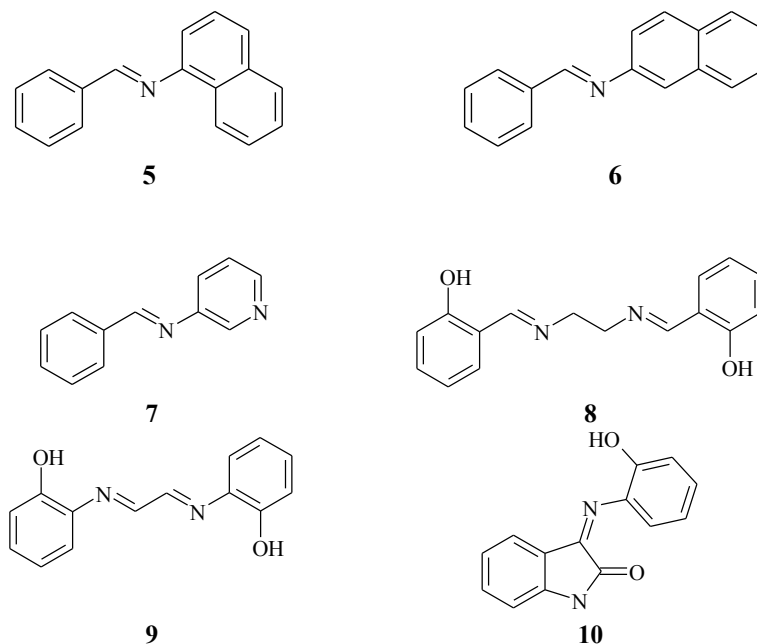


Рис. 4. Структури досліджуваних сполук

При визначенні впливу представлених речовин на монофенолазну і дифенолазну активність ензиму в концентраціях 2 – 250 мкмоль/дм<sup>3</sup> не виявлено їхньої інгібуючої дії.

Вивчення інгібування ензиму даними альдімінами в більших концентраціях є недоцільним, адже IC<sub>50</sub> ефективних інгібіторів тирозинази значно нижчі [5, 6, 10, 12]. Отже, вивчені сполуки не є придатними для подальших досліджень.

Визначення інгібування тирозинази сполукою **10**, що структурно подібна до бензиліденанілінів, показало значне зниження монофенолазної активності ензиму. Значення IC<sub>50</sub> для сполуки **10** було близьким до такого бензиліден-2-амінофенолу і становило 8,8 мкмоль/дм<sup>3</sup> (рис. 5). Отримане значення також значно нижче IC<sub>50</sub> койевої кислоти. Однак сполука **10**, так само, як і інші, не інгібує дифенолазну активність тирозинази.

Отже перспективним є дослідження інгібуючих властивостей сполук, що мають подібну до бензиліденаніліну структуру.

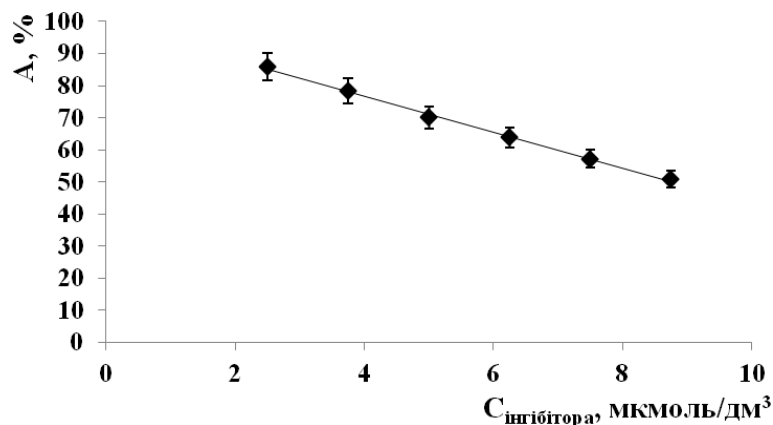


Рис. 5 Залежність монофенолазної активності тирозинази від концентрації 3-(2-гідроксифеніліміно)-1,3-дигідроіндол-2-ону

Таким чином, досліджено вплив бензиліденанілінів і споріднених сполук на активність тирозинази. Показано, що бензиліден-2-амінофенол і бензиліден-4-амінофенол значно перевищують за інгібуючою здатністю стандартний інгібітор тирозинази – койєвукислоту. Визначено, що досліджені бензиліденаніліни знижують лише монофенолазну активність ензиму і не впливають на дифенолазну. Показано, що 3-(2-гідроксифеніліміно)-1,3-дигідроіндол-2-он проявив інгібуючу здатність, близьку до такої бензиліден-2-амінофенолу.

## СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Argawer R.I., White C.E. Effect of substituent groups on fluorescence of metal chelates. // *Anal. Chem.* – 1964. – Vol. 36. – P. 2141-2144.
2. Bae S.J., Ha Y.M., Park Y.J., Park J.Y., Song Y.M., Ha T.K., Chun P., Moon H.R., Chung H.Y. Design, synthesis, and evaluation of (E)-N-substituted benzylidene-aniline derivatives as tyrosinase inhibitors. // *Eur. J. Med. Chem.* – 2012. – Vol. 57. – P. 383-390. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2012.09.026>
3. Borovansky J., Riley P.A. Melanins and Melanosomes: Biosynthesis, Structure, Physiological and Pathological Functions. – John Wiley & Sons, 2011. – 424 p.
4. Chang T.Sh. An updated review of tyrosinase inhibitors. // *Int. J. Mol. Sci.* – 2009. – Vol. 10. – P. 2440–2475. <https://doi.org/10.3390/ijms10062440>.
5. Deri B., Kantee M., Goldfeder M., Lecina D., Guallar V., Adir N., Fishman A. The unravelling of the complex pattern of tyrosinase inhibition. // *Sci. Rep.* – 2016. – Vol. 6, N 1. – 34993. <https://doi.org/10.1038/srep34993>.
6. Fernandes M.S., Kerka S. Microorganisms as a source of tyrosinase inhibitors: a review // *Annals Microbiol.* – 2017. – Vol. 67. – P. 343–358. <https://doi.org/10.1007/s13213-017-1261-7>.
7. Hartree E.F. Determination of protein: a modification of the Lowry method, that gives a linear photometric response. // *Anal. Biochem.* – 1972. – Vol. 48. – P. 422-427. [http://dx.doi.org/10.1016/0003-2697\(72\)90094-2](http://dx.doi.org/10.1016/0003-2697(72)90094-2).
8. Halaoui S., Asther M., Sigoillot I.-C. Fungal tyrosinases: new prospects in molecular characteristics, bioengineering and biotechnological application // *J. Appl. Microbiol.* – 2006. – Vol. 100. – P. 219-232. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.2006.02866.x>
9. Ikehata K., Nicell J.A. Color and toxicity removal following tyrosinase – catalyzed oxidation of phenols. // *Biotechnol. Progr.* – 2000. – Vol. 16, N 4. – P. 533-540. <https://doi.org/10.1021/bp0000510>
10. Lee S.Y., Baek N., Nam T.G. Natural, semisynthetic and synthetic tyrosinase inhibitors // *J. Enzyme Inhibition Med. Chem.* – 2015. – Vol. 31. – P. 1-13. <http://dx.doi.org/10.3109/14756366.2015.1004058>
11. Leeuwen J.V., Wichers H.J. Tyrosinase activity and isoform composition in separate tissues during

- development of *Agaricus bisporus* fruit bodies. // *Mycological Res.* – 1999. – Vol. 103. – P. 413-418. <http://dx.doi.org/10.1017/S095375629800731X>
12. Pillaiyar T., Manickam M., Namasivayam V. Skin whitening agents: medicinal chemistry perspective of tyrosinase inhibitors // *J. Enzyme Inhib. Med. Chem.* – 2017. – Vol. 32. – P. 403-425. <https://doi.org/10.1080/14756366.2016.1256882>.
  13. Rossi A.M., Perez M.I. Treatment of hyperpigmentation // *Facial plastic surgery clinics of North America.* – 2011. – Vol. 19. – P. 313-324. <https://doi.org/10.1016/j.fsc.2011.05.010>
  14. Singleton V.L., Othofer R., Lamnela-Raventos R. Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu reagent. *Meth. Enzymol.* – 1999. – Vol. 299. – P. 152-178. [https://doi.org/10.1016/S0076-6879\(99\)99017-1](https://doi.org/10.1016/S0076-6879(99)99017-1)
  15. Шестеренко Ю.А., Романовська І.І., Севастьянов О.В., Карпенко О.С., Заноза С.О. Пошук нових синтетичних інгібіторів тирозинази // *Вісник ОНУ. Хімія.* – 2017. – Т.22, №. 4. – С. 69-79. [https://doi.org/10.18524/2304-0947.2017.4\(64\).115929](https://doi.org/10.18524/2304-0947.2017.4(64).115929)

Стаття надійшла до редакції 05.09.2018

**Ю. А. Шестеренко, И. И. Романовская, О. В. Севастьянов,  
А. С. Карпенко**

Физико-химический институт им. А. В. Богатского НАН Украины,  
Люстдорфская дорога, 86, Одесса, 65080,  
e-mail: romairina@gmail.com

## **БЕНЗИЛИДЕНАНИЛИНЫ И РОДСТВЕННЫЕ СОЕДИНЕНИЯ КАК ИНГИБИТОРЫ ТИРОЗИНАЗЫ**

Показано, что бензилиден-2-аминофенол и бензилиден-4-аминофенол являются эффективными ингибиторами монофенолазной активности тирозиназы ( $IC_{50}$  7,8 и 31,2 мкмоль/дм<sup>3</sup>, соответственно) и значительно превышают стандартный ингибитор - койевую кислоту по ингибирующей способности. Исследовано влияние других альдиминов на активность энзима. Показано, что соединения, содержащие нафталиновый фрагмент, гетероатом в ароматическом фрагменте анилина, а также бис-альдимины (в концентрациях 2-250 мкмоль/дм<sup>3</sup>) не являются ингибиторами тирозиназы. Выявлено, что 3-(2-гидроксифенилимино)-1,3-дигидроин-дол-2-он проявил значительную ингибирующую способность (8,8 мкмоль/дм<sup>3</sup>), близкую к такой бензилиден-2-аминофенола.

**Ключевые слова:** тирозиназа *Agaricus bisporus*, ингибитор, производные бензилиденанилина, альдимины.

**Yu. A. Shesterenko, I. I. Romanovska, O. V. Sevastyanov,  
A. S. Karpenko**

A.V. Bogatsky Physico-chemical Institute, NAS of Ukraine  
Odessa, Ukraine, Lyustdorfskaya doroga, 86,  
E-mail: romairina@gmail.com

## **BENZYLIDENANILINES AND RELATED COMPOUNDS AS TYROSINASE INHIBITORS**

Excessive accumulation of melanin leads to a number of skin diseases and cosmetic problems, namely toxic and medicinal melanoderma, melasma, lentigo, etc. The leading role in the formation of melanin belongs to tyrosinase, an enzyme of the class of oxidoreductases (EC 1.14.18.1), which catalyzes the first stages of pigment formation. Therefore, to prevent or treat hyperpigmentation of the skin, agents containing tyrosinase inhibitors, are used. To date, many inhibitors of

enzyme are known. However, existing compounds have significant drawbacks, such as instability, inefficiency, toxicity, complex methods of synthesis or isolation from natural sources.

The aim of this work was to study benzylidenaniline, its derivatives and related compounds as tyrosinase inhibitors.

It was shown that benzylidene-2-aminophenol and benzylidene-4-aminophenol are effective inhibitors of tyrosinase monophenolase activity ( $IC_{50}$  of 7.8 and 31.2  $\mu\text{mol}/\text{dm}^3$ , respectively) and significantly exceeds the standard inhibitor - kojic acid by inhibitory ability. It was found, that benzylideneanilines studied reduced only the monophenolase activity enzyme and did not affect the diphenolase activity.

It was found, that unsubstituted benzylideniline is also a tyrosinase inhibitor ( $IC_{50}$  110.4  $\mu\text{mol}/\text{dm}^3$ ), although it is significantly inferior in efficiency to hydroxy derivatives and kojic acid.

The influence of other aldimines on enzyme activity was studied. It has been shown that compounds, containing a naphthalene fragment, a heteroatom in the aniline ring, and a carbon bridge between the aromatic rings are not tyrosinase inhibitors. It was found, that 3-(2-hydroxyphenylimino)-1,3-dihydroindol-2-one exhibited a significant inhibitory ability (8.8  $\mu\text{mol}/\text{dm}^3$ ) close to such of benzylidene-2-aminophenol.

**Key words:** tyrosinase, *Agaricus bisporus*, inhibitor, benzylidene aniline derivatives, aldimines.

## REFERENCES

1. Argawer R.I., White C.E. *Effect of substituent groups on fluorescence of metal chelates*. Anal. Chem., 1964, vol. 36, pp. 2141-2144.
2. Bae S.J., Ha Y.M., Park Y.J., Park J.Y., Song Y.M., Ha T.K., Chun P., Moon H. R., Chung H.Y. *Design, synthesis, and evaluation of (E)-N-substituted benzylidene-aniline derivatives as tyrosinase inhibitors*. Eur. J. Med. Chem., 2012, vol. 57, pp. 383-90. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2012.09.026>
3. Borovansky J., Riley P.A. *Melanins and Melanosomes: Biosynthesis, Structure, Physiological and Pathological Functions*. Weinheim, John Wiley & Sons, 2011. 424 p.
4. Chang T.Sh. *An updated review of tyrosinase inhibitors*. Int. J. Mol. Sci., 2009, vol. 10, pp. 2440–2475. <https://doi.org/10.3390/ijms10062440>
5. Deri B., Kantee M., Goldfeder M., Lecina D., Guallar V., Adir N., Fishman A. *The unravelling of the complex pattern of tyrosinase inhibition*. Sci. Rep., 2016, 6, 34993. <https://doi.org/10.1038/srep34993>
6. Fernandes M.S., Kerka S. *Microorganisms as a source of tyrosinase inhibitors: a review*. Annals Microbiol., 2017, vol. 67, pp 343–358. <https://doi.org/10.1007/s13213-017-1261-7>
7. Hartree E.F. *Determination of protein: a modification of the Lowry method, that gives a linear photometric response*. Anal. Biochem., 1972, vol. 48, pp. 422-427. [http://dx.doi.org/10.1016/0003-2697\(72\)90094-2](http://dx.doi.org/10.1016/0003-2697(72)90094-2).
8. Halaoui S., Asther M., Sigoillot I.-C. *Fungal tyrosinases: new prospects in molecular characteristics, bioengineering and biotechnological application*. J. Appl. Microbiol., 2006, vol. 100, pp. 219-232. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.2006.02866.x>
9. Ikehata K. Nicell J.A. *Color and toxicity removal following tyrosinase – catalyzed oxidation of phenols*. Biotechnol. Progr., 2000, vol. 16, no 4, pp. 533-540. <https://doi.org/10.1021/bp0000510>
10. Lee S.Y., Baek N., Nam T.G. *Natural, semisynthetic and synthetic tyrosinase inhibitors*. J. Enzyme Inhibition Med. Chem., 2015, vol. 31, pp. 3-13. <http://dx.doi.org/10.3109/14756366.2015.1004058>
11. Leeuwen J.V., Wichers H.J. *Tyrosinase activity and isoform composition in separate tissues during development of Agaricus bisporus fruit bodies*. Mycological Res., 1999, vol. 103, pp. 413-418. <http://dx.doi.org/10.1017/S095375629800731X>
12. Pillaiyar T., Manickam M., Namasivayam V. *Skin whitening agents: medicinal chemistry perspective of tyrosinase inhibitors*. J. Enzyme Inhib. Med. Chem., 2017, vol.32, pp. 403-425. <http://dx.doi.org/10.1080/14756366.2016.1256882>.
13. Rossi A.M., Perez M.I. *Treatment of hyperpigmentation. Facial plastic surgery clinics of North America*, 2011, vol. 19, pp. 313-324. <https://doi.org/10.1016/j.fsc.2011.05.010>
14. Singleton V. L., Othofer R., Lammela-Raventos R. *Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu reagent*. Meth. Enzymol., 1999, vol. 299, pp. 152-178. [https://doi.org/10.1016/S0076-6879\(99\)99017-1](https://doi.org/10.1016/S0076-6879(99)99017-1)
15. Shesterenko Yu., Romanovska I., Sevastyanov O., Karpenko A., Zanoza S. *Poshuk novykh syntetychnykh inhibitoriv tyrozynazy*. Visn. Odes. nac. univ., Him., 2017. vol. 22, no 4, pp. 69-79. (in Ukrainian).