

# Topikalna antifungalna terapija

---

Domladovac, Morana

Postgraduate specialist thesis / Završni specijalistički

2024

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Zagreb, Faculty of Pharmacy and Biochemistry / Sveučilište u Zagrebu, Farmaceutsko-biokemijski fakultet**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:163:836955>

Rights / Prava: [In copyright](#) / [Zaštićeno autorskim pravom.](#)

Download date / Datum preuzimanja: **2025-01-18**



Repository / Repozitorij:

[Repository of Faculty of Pharmacy and Biochemistry University of Zagreb](#)



**SVEUČILIŠTE U ZAGREBU**  
**FARMACEUTSKO-BIOKEMIJSKI FAKULTET**

**Morana Domladovac**

**TOPIKALNA ANTIFUNGALNA TERAPIJA**

**Specijalistički rad**

**Zagreb, 2024.**

PSS studij: Klinička farmacija

Mentor: prof.dr.sc. Jelena Filipović-Grčić

Specijalistički rad obranjen je dana 28. svibnja 2024. godine na Farmaceutsko-biokemijskom fakultetu Sveučilišta u Zagrebu, pred povjerenstvom u sastavu:

1. dr. sc. Vesna Bačić Vrca, red.prof. u mir.

Sveučilište u Zagrebu

Farmaceutsko-biokemijski fakultet

2. prof.dr.sc. Jelena Filipović-Grčić

Sveučilište u Zagrebu

Farmaceutsko-biokemijski fakultet

3. prof.dr.sc. Karmela Barišić

Sveučilište u Zagrebu

Farmaceutsko-biokemijski fakultet

Rad ima 77 lista.

## **PREDGOVOR**

Specijalistički rad je izrađen pod vodstvom prof. dr. sc. Jelene Filipović-Grčić na Zavodu za farmaceutsku tehnologiju, Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu.

Zahvaljujem prof. dr. sc. Jeleni Filipović Grčić na podršci i mentorstvu tijekom izrade i pisanja specijalističkog rada.

Zahvaliti želim i Zdravstvenoj ustanovi Ljekarna DiD Pharma koja mi je omogućila školovanje na poslijediplomskom specijalističkom studiju Klinička farmacija i pruženoj prilici na daljnjem stručnom usavršavanju.

Posebno želim zahvaliti svom suprugu i djeci na strpljenju, razumijevanju i pomoći kod izrade ovog rada, te svojim roditeljima i sestri na neizmjerne podršci tijekom cijelog školovanja i na svim životnim putevima. Hvala vam!

# SAŽETAK

## **Cilj istraživanja**

Cilj specijalističkog rada je opisati topikalnu primjenu antifungika te pregledno prikazati suvremene farmaceutske oblike lijekova za topikalno liječenje gljivičnih infekcija kože koji su dostupni za kliničku primjenu ili su u kliničkim ispitivanjima.

## **Materijali i metode**

Za potrebe ovog specijalističkog rada prikupljeni podatci iz kliničkih studija, metaanaliza, preglednih članaka te sažetaka o svojstvima lijeka. Izvori su dobiveni pretraživanjem baza podataka: PubMed (Medline), Cochrane Library, ScienceDirect te HALMED prema sljedećim ključnim riječima i njihovim kombinacijama: antifungal topical treatment, antifungal therapy, antifungal medication. Pri proučavanju izvora izdvojeni su rezultati, rasprave i zaključci koji su prikazani u ovom specijalističkom radu.

## **Rezultati**

Prva linija liječenja površinskih mikoza je topikalna primjena antifungalnih lijekova. Trenutno na tržištu prisutni pripravci dolaze u obliku kreme, gela, losiona, otopine, laka ili spreja. Vrsta formulacije te fizikalno-kemijska svojstva molekule lijeka određuju uspješnost provedene terapije. Rezistenciju na antifungalne lijekove možemo smanjiti primjenom antifungalnog lijeka s mehanizmom djelovanja koji ne uključuje staničnu stijenku, kao što je slučaj kod prvih antifungalnih lijekova, već ima mehanizam djelovanja koji uključuje metaboličke puteve. Kod kompliciranih infekcija, koje su praćene upalom i svrbežom, provođenjem kombinirane terapije s kortikosteroidima dolazi do kumulativnog djelovanja i smanjenja upale i svrbeža ali i izlječenja primarne gljivične infekcije. Adherencija pacijenata je izuzetno bitna kod primjene topikalnih antifungalnih lijekova jer zbog dugotrajnog liječenja

(2 do 4 tjedna) i režima doziranja (uglavnom 1 do 2 puta dnevno) velik broj pacijenata prestaje primjenjivati terapiju ili smanji učestalost primjene lijeka nakon prvih simptoma poboljšanja.

## **Zaključak**

Topikalna primjena antifungalnih lijekova prva je linija liječenja nekompliciranih površinskih mikoza. Topikalnom primjenom izbjegava se sistemska apsorpcija i nuspojave, primjena je jednostavna i pacijentu prihvatljiva te je povećana adherencija i samim time provedeno liječenje je visoke djelotvornosti. Upravo zbog adherencije formulacija koja se primjenjuje mora biti jednostavna, djelotvorna a sama primjena što kraća. Bolja adherencija pacijenata postiže se primjenom antifungalnih lijekova koji su već dugo na tržištu ali uklopljeni u nove podloge čime im je poboljšano djelovanje a suradljivost pacijenata je veća. Zbog čestih mješanih infekcija, ekcema i svrbeži koje sam antifungik ne može riješiti potrebna je kombinacijom s kortikosteroidima, čiji se kumulativan učinak očituje smanjenjem ekcema i svrbeži te liječenjem gljivične infekcije. Pravilnom primjenom lijeka, odnosno primjenom lijeka u odgovarajućoj dozi i odgovarajućem obliku kroz dovoljno dug period za pojedinog pacijenta postiže se optimalno liječenje i povećanje suradljivosti pacijenata te izlječenje.

## **SUMMARY**

### **Objectives**

The aim of this work is to describe the topical application of antifungals and to present an overview of modern pharmaceutical forms of drugs for the topical treatment of fungal skin infections that are available for clinical use or are in clinical trials.

### **Materials and methods**

For the purpose of this work, the results of clinical studies, meta-analyses, review articles and summaries on the properties of the drug. Sources were obtained by searching the databases: PubMed (Medline), Cochrane Library, ScienceDirect and HALMED using the following key words and their combinations: antifungal topical treatment, antifungal therapy, antifungal drugs. During the study of the sources, the results, discussions and conclusions that are presented in this specialist paper were extracted.

### **Results**

The first line of treatment for superficial mycoses is the topical application of antifungal drugs. The currently available preparations on the market come in the form of cream, gel, lotion, solution, varnish or spray. The type of formulation and the physicochemical properties of the drug molecule determine the success of the therapy. Resistance to antifungal drugs can be reduced by using an antifungal drug with a mechanism of action that does not involve the cell wall, as is the case with the first antifungal drugs, but has a mechanism of action that involves metabolic pathways. In the case of complicated infections, which are accompanied by inflammation and itching, the implementation of combined therapy with corticosteroids results in a cumulative effect and a reduction of inflammation and itching, but also cures the primary fungal infection. Patient adherence is extremely important when using topical

antifungal drugs, due to the length of treatment (2 to 4 weeks) and the dosing regimen (mostly 1 to 2 times a day), a large number of patients stop using the therapy or reduce the frequency of drug use after the first symptoms of improvement.

## **Conclusion**

Topical application of antifungal drugs is the first line of treatment for uncomplicated superficial mycoses. With topical application, systemic absorption and side effects are avoided, the application is simple and acceptable to the patient, and adherence is increased, and therefore the treatment carried out is highly effective. Precisely because of adherence, the applied formulation must be simple, effective, and the application itself as short as possible. Better patient adherence is achieved by the use of antifungal drugs that have been on the market for a long time, but incorporated into new bases, which improves their effectiveness and thus increases patient cooperation. The combination with corticosteroids further increases adherence, due to frequent mixed infections, as well as eczema and itching, which the antifungal alone cannot solve. The correct application of the drug, i.e. the application of the drug in the appropriate dose and in the appropriate form over a sufficiently long period for an individual patient, results in optimal treatment and increased patient cooperation and healing.



## SADRŽAJ

1. UVOD I PREGLED PODRUČJA ISTRAŽIVANJA.....	1
2. CILJ ISTRAŽIVANJA.....	5
3. MATERIJALI I METODE - SUSTAVNI PREGLED SAZNANJA O TEMI.....	6
3.1. MEHANIZAM DJELOVANJA ANTIFUNGIKA.....	6
3.2. SISTEMATIZACIJA TOPIKALNIH ANTIFUNGIKA.....	7
3.2.1. AZOLI.....	9
3.2.1.1. KLOTRIMAZOL.....	10
3.2.1.2. MIKONAZOL.....	10
3.2.1.3. KETOKONAZOL.....	11
3.2.1.4. BIFONAZOL.....	11
3.2.2. ALILAMINI.....	12
3.2.2.1. TERBINAFIN.....	12
3.2.2.2. NAFTIFIN.....	13
3.2.3. POLIENI.....	13
3.2.3.1. NISTATIN.....	14
3.2.4. Ehinokandini.....	14
3.2.5. OSTALI.....	15
3.2.5.1. Morfolini.....	15

3.2.5.1. AMOROLFIN.....	15
3.2.5.2. HIDROKSIPIRIDONI.....	15
3.2.5.2.1. CIKLOPIROKS.....	16
3.2.5.3. OKSABOROLI.....	16
3.2.5.3.1. TAVABOROL.....	17
3.2.5.4. TIOKARBAMTI.....	17
3.2.5.4.1. TOLNAFTAN.....	17
3.3. POVEĆANJE DJELOTVORNOSTI TOPIKALNIH ANTIFUNGIKA.....	18
3.3.1. RAZVOJ NOVOG MEHANIZMA DJELOVANJA.....	18
3.3.1.1. STANIČNI EFLUKS.....	18
3.3.1.2. BIOSINTEZA ERGOSTEROLA I EKSPRESIJA ERG11.....	19
3.3.1.3. PROTEINI.....	19
3.3.1.4. BIOFILM I HIFE.....	20
3.3.1.5. MITOHONDRIJI.....	21
3.3.1.6. METABOLIČKI PUT.....	21
3.3.1.7. STANIČNA STIJENKA GLJIVA.....	22
3.3.2. PODLOGE.....	22
3.3.2.1. KOLOIDNI NOSAČI.....	23
3.3.2.1.1. MIKROEMULZIJE.....	23

3.3.2.1.2. MICELE.....	25
3.3.2.1.3. NANOEMULZIJE.....	26
3.3.2.2. VEZIKULARNI NOSAČI.....	27
3.3.2.2.1. LIPOSOMI.....	27
3.3.2.2.2. ETOSOMI.....	30
3.3.2.2.3. NIOSOMI.....	31
3.3.2.2.4. TRANSFERSOMI.....	33
3.3.2.3. ČESTIČNI NANOSUSTAVI.....	35
3.3.2.3.1. ČVRSTE LIPIDNE NANOČESTICE (SLN).....	36
3.3.2.3.2. NANOSTRUKTURIRANI LIPIDNI NOSAČI (NLC).....	37
3.3.2.4. POLIMERNI NOSAČI.....	38
3.3.3. KOMBINACIJA S KORTIKOSTEROIDIMA.....	40
3.4. LOKALIZACIJA I SPECIFIČNOST PRIMJENE TOPIKALNIH ANTIFUNGIKA.....	42
3.4.1. DERMATOMIKOZE.....	42
3.4.2. VULVOVAGINOZE.....	45
3.4.3. OTOMIKOZE.....	46
3.4.4. OFTALMIČKE MIKOZE.....	47

3.4.5. ONIHOMIKOZE.....	49
3.4.6. ORALNA MIKOZA.....	51
3.5. RAZVOJ NOVIH TOPIKALNIH ANTIFUNGIKA.....	51
3.6. ADHERENCIJA KAO BITAN ČIMBENIK OZDRAVLJENJA.....	55
4. RASPRAVA.....	58
5. ZAKLJUČAK.....	63
6. POPIS SKRAĆENICA.....	64
7. LITERATURA.....	66
8. ŽIVOTOPIS.....	75

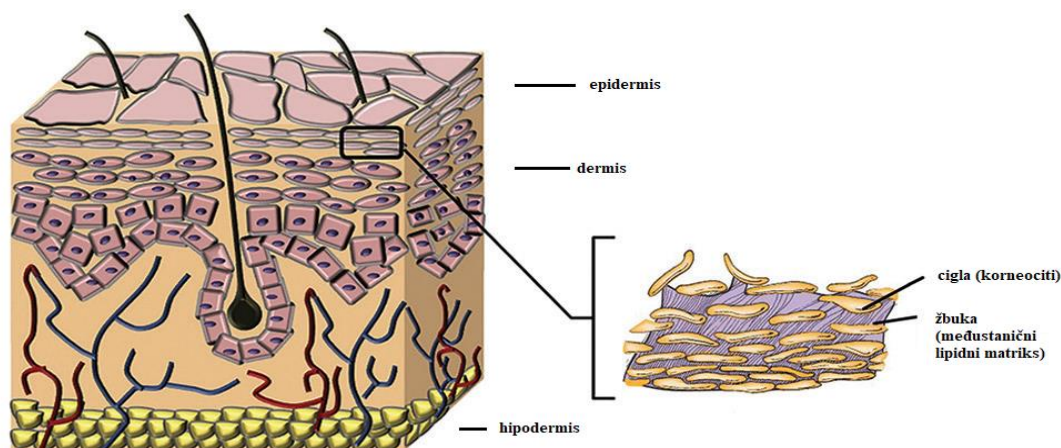
## 1. UVOD I PREGLED PODRUČJA ISTRAŽIVANJA

Gljivične su infekcije jedno od najčešćih oboljenja kože. Topikalna antifungalna terapija smatra se prvom linijom liječenja za nekomplikirane, površinske dermatomikoze zbog njihovog malog potencijala za neželjene sistemske nuspojave i visoke djelotvornosti (1, 2). Topikalni pripravci koji su trenutno prisutni na tržištu dolaze u obliku kreme, gela, losiona, otopine, laka i spreja (3). Uspješnost topikalno primijenjene terapije ovisi o fizikalno-kemijskim karakteristikama molekule i vrsti formulacije (2). Nanošenjem na površinu kože, antifungici prodiru kroz rožnati sloj što dovodi do ubijanja gljiva ili inhibicije njihova rasta (3). Istraživanja su usmjerena na razvijanje formulacija postojećih lokalnih antifungika koji uklopljeni u nove podloge poboljšavaju učinkovitost liječenja i suradljivost, smanjuju broj potrebnih dnevnih doza te vrijeme trajanja primjene lijeka (1, 2).

Najveći organ u tijelu je koža čija površina iznosi između 1,5 do 2 m<sup>2</sup>. Uloga kože je višestruka te uključuje zaštitu od raznih mehaničkih i kemijskih oštećenja, temperaturnih promjena, patogena, UV zračenja te dehidracije. Sastoji se od tri sloja: epidermis, dermis i hipodermis (Slika 1.). Epidermis je površinski sloj kože čija je funkcija spriječiti gubitak vode iz tijela i prodor patogena iz okoline. Epidermis se sastoji od gustih staničnih slojeva, uglavnom keratinocita, koji sintetiziraju keratin, fosfolipide i sfingolipide te pridonose funkciji kože kao barijere. U dermisu su najbrojnije stanice fibroblasti, koji su odgovorni za sintezu i remodeliranje složenog izvanstaničnog matriksa koji sadrži kolagen, elastin i glikozaminoglikane koji su odgovorni za elastičnost i čvrstoću kože (4). Dermis je bogat krvnim žilama, limfnim žilama i živčanim završecima. Raširena mreža kapilara povezuje se sa sustavnom cirkulacijom te povezuje kapilare folikula dlake i žlijezde. U dermisu se nalaze i žlijezde lojnice, žlijezde znojnice, masne stanice, mastociti i leukociti. Hipodermis, koji se nalazi ispod dermisa, sastavljen je od masnog i vezivog tkiva (masnih stanica, fibroblasta i makrofaga). Hipodermis je odgovoran za izolaciju od utjecaja topline i hladnoće (4, 5). U

jednom četvornom centimetru kože u prosjeku se nalazi oko 10 folikula dlake, 15 žlijezda lojnica, 12 živaca, 100 žlijezda znojnica, 360 cm živaca i 3 krvne žile (5).

Stratum corneum (rožnati sloj), vanjski sloj epidermisa sastavljen je od mrtvih epidermalnih stanica (korneocita) te čini glavnu barijeru kože. Sastoji od 18 do 21 redova korneocita ugrađenih u lipidni matriks koje se neprestano ljušte i obnavljaju. Korneociti su spljoštene, izdužene, mrtve stanice, kojima nedostaju jezgre i drugi organeli te imaju slabiji kapacitet vezanja vode. Struktura rožnatog sloja može se opisati kao „cigla i žbuka“, gdje su „cigle“ korneociti a „žbuka“ međustanični lipidni matriks (Slika 1.). Lipidi koji se nalaze u rožnatom sloju su raspoređeni u obliku višestrukih dvosloja koje nazivamo lamele (5, 6).



**Slika 1.** Prikaz strukture kože (6)

Molekula lijeka prolazi kroz rožnati sloj na jedan od sljedeća tri načina: preko kožnih dodataka, kroz unutarstanične lipidne domene ili međustaničnim putem (6). Nakon topikalne primjene, antifungalni lijekovi moraju proći rožnati sloj kako bi došli do vijabilnog dermisa (sastoji se od keratinocita u raznim fazama diferencijacije (5)) gdje postižu svoj maksimalni učinak. Kako bi se poboljšao prodor lijeka kroz rožnati sloj upotrebljavaju se nove formulacije poput mikroemulzija, vezikularnih nosača (liposoma, etosoma i niosoma), te lipidnih i polimernih sustava nosača (2).

Za održavanje zdravlja kože odgovorna je interakcija između stanica kože domaćina, imunskog sustava i stanica mikrobiote. Poremećajem te osjetljive ravnoteže, mijenjanjem kožne barijere ili invazivnim napadom štetnih patogena dolazi do oštećenja i kompromitacije funkcija kože te kao posljedica toga dolazi do raznih infekcija. Ako se radi o gljivičnoj infekciji kože nazivamo ju mikoza (7). Od 5 milijuna gljivičnih vrsta koje naseljavaju Zemlju, samo njih oko 300 uzrokuju bolest kod ljudi. Da bi gljive uzrokovale bolest kod ljudi moraju zadovoljiti četiri karakteristike: moraju imati sposobnost rasta na ili iznad 37 °C; moraju imati sposobnost dosezanja tkiva povezanih s njihovom patogenezom; moraju moći probaviti i apsorbirati elemente ljudskih tkiva za vlastitu prehranu; i na kraju moraju se oduprijeti ljudskom imunskom sustavu. Gljive koje ispunjavaju navedene kriterije mogu izazvati brojne infekcije koje se kreću od infekcija kože i sluznica pa do po život opasnih invazivnih infekcija. Manje od 30 vrsta gljiva odgovorno je za 99 % gljivičnih infekcija (8). Na broj ili vrstu mikroorganizama koji se nalaze na koži značajan učinak ima okruženje. Tako će na vlažnim dijelovima tijela poput prepona i nožnog prsta prevladavati povoljni uvjeti za rast gljiva i mikroba dok na suhim dijelovima tijela poput podlaktice nema toliko mikrobiološke raznolikosti. Područja kože sa značajnim brojem lojnih žlijezda (npr. glava i vrat) pružaju optimalnu okolinu za mnoge lipofilne mikroorganizme (npr. rod *Malassezia*) (7).

Gljive su eukariotski jednostanični ili višestanični organizmi. Stanična stijenka i citoplazmatska membrana sastoje se od sterola, prvenstveno ergosterola (membranski lipid kojeg nema u životinjskim i biljnim stanicama) (9), niza polisaharida (npr. glukana, hitina) i (gliko)proteina. Znatno broj biosintetskih i signalnih puteva uključen je u sintezu i održavanje stanične stijenke gljiva, čime je sadržaj stanice očuvan od raznih naprezanja. Time je definirana njena struktura i oblik (7). Gljive koje su uzročnici bolesti kod ljudi morfološki mogu biti kvasci, plijesni i dvofazne (dimorfne) gljive. Ovisno o tipu, mikoze kod ljudi mogu biti egzogene (npr. dermatomikoze), endogene (npr. kandidijaza) i egzo-endogene (npr.

kriptokokoza). Mikoze se, ovisno o lokaciji, dijele na površinske te invazivne odnosno sistemske. Površinske mikoze osim same kože (dermatomikoza) najčešće zahvaćaju nokat (onihomikoza), oko (keratomikoza) ili uho (otomikoza). Sistemske se mikoze teško dijagnosticiraju, njihovo liječenje je kompleksno te obično zahvaćaju duboka tkiva i organe (pluća, jetra, kosti, srce i ostalo) (9). Većina gljiva koje se nalaze na koži, kosi i noktima razgrađuje keratin (strukturni protein odgovoran za održavanje stabilnosti i integriteta kože), te ga koristi kao izvor hrane. Gljive, nakon što napadnu kožu, osobito gornji sloj epidermisa bogat keratinom, sintetiziraju keratinazu kojom razgrađuju tkivo te dolazi do upale kože koja je često popraćena svrbežom. Te vrste gljiva su poznate kao keratofilni dermatofiti te uključuju nekoliko rodova gljiva koji uzrokuju površinske gljivične infekcije kože različitih dijelova tijela. Najpoznatiji rodovi su *Epidermophyton*, *Microsporum* i *Trichophyton*. Dermatofiti uzrokuju sljedeće bolesti: *Tinea corporis* (lišaj, lokaliziran ili prstenast osip na tijelu), *Tinea pedis* (atletsko stopalo, gljivična infekcija između prstiju), *Tinea unguium* (gljivična infekcija noktiju (onihomikoza)), *Tinea cruris* (gljivična infekcija područja prepona praćena svrbežom) te *Tinea capitis* (gljivična infekcija glave ili vlasišta). Dvadesetak vrsta *Candide* odgovorno je za infekcije ljudske kože, a najčešća je vrsta gljiva slična kvascu, *Candida albicans*, koja može uzrokovati i površinske i sistemske vrste gljivičnih infekcija (pelenski osip, genitalne infekcije i ostalo). Dijagnostički simptomi za gljivičnu infekciju uzrokovanu vrstama roda *Candida* su hiperkeratoza (zadebljanje vanjskog sloja epidermisa povezanog s abnormalnosti keratina) te hipertrofija (povećanje gustoće slojeva keratinocita) s prisutnom upalom (7).



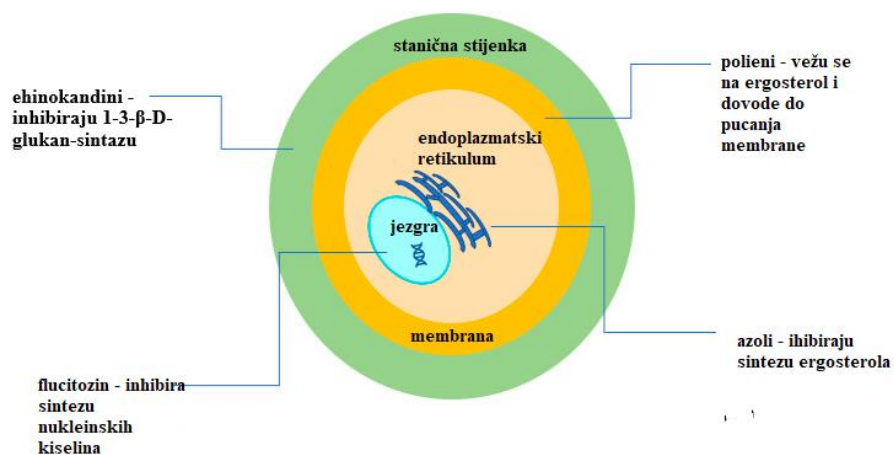
## **2. CILJ ISTRAŽIVANJA**

Gljivično oboljenje kože vrlo je čest problem s kojim se susrećemo u praksi. Liječenje takvih infekcija je dugotrajno. Prva linija liječenja su topikalni antifungici. Primjenom topikalnih antifungika moguće je izbjeći nuspojave koje su rezultat sistemske primjene lijeka te povećati bioraspoloživost lijeka primjenom na ciljno mjesto djelovanja. Poznavanje mehanizma djelovanja antifungika, povećanja njegove djelotvornosti promjenom podloga te kombinacijom s lokalnim kortikosteroidima uvelike doprinosi optimizaciji terapije kao i njenom pozitivnom ishodu. Cilj ovoga specijalističkog rada jest opisati topikalne antifungalne lijekove i njihovu biofarmaceutsku posebnost te pregledno prikazati suvremene farmaceutske oblike lijekova za topikalno liječenje dermatomikoza koji su dostupni za kliničku primjenu ili su u kliničkim ispitivanjima.

### 3. MATERIJALI I METODE - SUSTAVNI PREGLED SAZNANJA O TEMI

#### 3.1. MEHANIZAM DJELOVANJA ANTIFUNGIKA

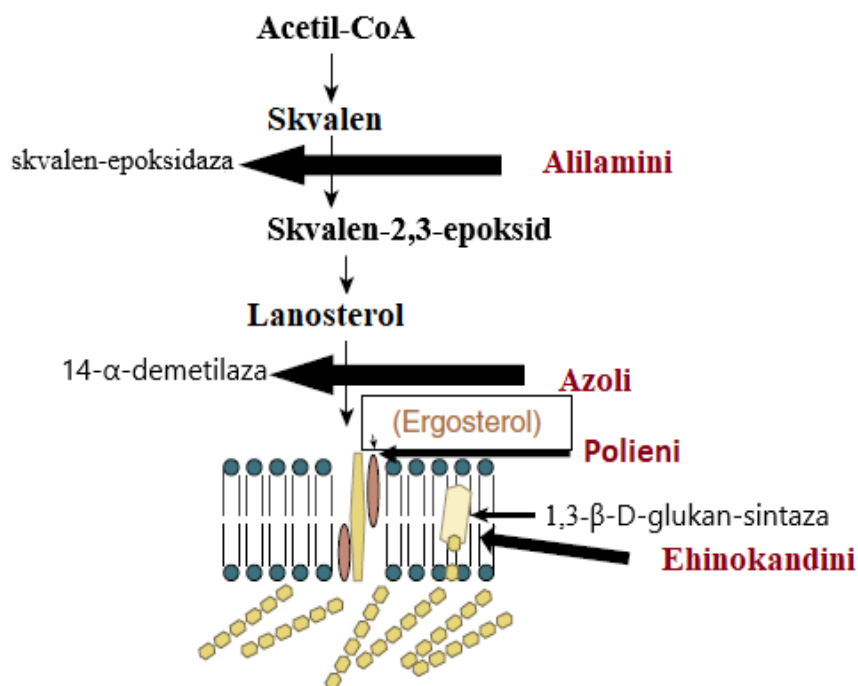
Gljive, kao i eukarioti kojima pripadaju, imaju kompleksnu staničnu strukturu i organizaciju. Biološki i stanični procesi koji se odvijaju kod gljiva, odvijaju se na sličan način i u ljudskim stanicama stoga je vrlo zahtjevno razviti antifungalni lijek koji bi imao malo nuspojava u ljudskim stanicama a istovremeno bio visokoselektivan i djelotvoran na stanice gljiva. Glavna razlika između ljudskih stanica i gljiva je što stanice gljiva imaju staničnu stijenku i ergosterol, a ljudske to nemaju. Upravo je ta razlika ciljno mjesto djelovanja antifungika (7). Inhibicijom normalne funkcije jednog ili više staničnih entiteta dolazi do ometanja normalnog životnog ciklusa gljiva. Dolazi do promijenjenih obrazaca rasta, diferencijacije, transformacije, ultrastruktura i održivosti gljive (1). Mehanizam djelovanja pojedinog antifungika bit će objašnjen u sklopu sistematizacije antifungika (Slika 2, Tablica 1).



**Slika 2.** Prikaz mehanizma djelovanja pojedine skupine antifungika (8)

### 3.2. SISTEMATIZACIJA TOPIKALNIH ANTIFUNGIKA

Antifungici se međusobno razlikuju po spektru aktivnosti, potenciji i sigurnosnom profilu. Razlike među njima određene su načinom djelovanja i farmakokinetikom. Ovisno o načinu i mjestu djelovanja (Tablica 1, Slika 3), antifungik će djelovati fungicidno i uzorkovati nekrozu stanica i/ili kao fungistatik i inhibirati njihov daljnji rast (1). Kako je glavna razlika između stanica gljiva i ljudskih stanica prisutnost ergosterola i stanične stijenke kod stanica gljiva te njihova odsutnost kod ljudskih stanica, većina antifungika usmjerena je na njihovu degradaciju ili ometanje funkcija stanične stijenke te inhibiciju ključnih biosintetskih puteva i mehanizama infekcije. Ergosterol je jedan od bitnih sterola i kritičnih komponenti za održavanje gljivičnih stanica, budući da koordinira heterogenost membrane, sprječava prodiranje vode, te čuva cjelovitost, čvrstoću i fluidnost stanične membrane (7).



Slika 3. Mehanizam djelovanja antifungalnih lijekova (10)

**Tablica 1.** Klasifikacija i mehanizam djelovanja antifungika (3)

<b>KLASIFIKACIJA I MEHANIZAM DJELOVANJA ANTIFUNGIKA</b>				
<b>RAZRED</b>	<b>LIJEK</b>	<b>MEHANIZAM DJELOVANJA</b>	<b>OBLIK</b>	<b>PRIMJENA</b>
<b>AZOLI (IMIDAZOLI)</b>	klotrimazol	Inhibicija gljivične lanosterol 14- $\alpha$ -demetilaze koja rezultira smanjenjem ergosterola i nakupljanjem	krema, gel, otopina, losion, puder	DD
	ketokonazol	toksičnih sterola u staničnoj membrani gljiva.	krema, losion, šampon, sapun, puder	JD
	ekonazol		krema	JD-DD
	bifonazol		krema	JD
	mikonazol		krema, losion, gel	DD
	lanokonazol		krema, otopina	JD
<b>AZOLI (TRIAZOLI)</b>	flukonazol		krema, gel, šampon, puder, losion	JD-DD
	itrakonazol		krema	JD-DD
	efinakonazol		otopina	JD
<b>ALILAMINI</b>	naftifin	Omota sintezu ergosterola	krema, gel	JD-DD
	terbinafin	inhibiranjem skvalen-2,3-epoksidaze koja je odgovorna za pretvaranje skvalena u skvalen-oksidi.	krema, gel, otopina, losion, puder	JD-DD
<b>BENZILAMINI</b>	butenafin		krema	JD-DD
<b>HIDROKSIPIRIDON</b>	ciklopiroks rilopiroks	Inhibicija esencijalnih enzima stvaranjem velikog polivalentnog kationa kroz kelaciju, ometajući tako mitohondrijske procese transporta elektrona i proizvodnju energije.	krema, lak, otopina	DD, lak jednom do dva puta tjedno
<b>MORFOLINI</b>	amorolfin	Inhibicija C-14-sterol-reduktaze i C-8-sterol-izomeraze u sintezi ergosterola.	krema, lak	DD, lak jednom do dva puta tjedno
<b>POLIENI</b>	nistatin	Veže se s ergosterolom što dovodi do stvaranja vodenih kanala,	krema, mast, oralna suspenzija	DD-TD
	amfotericin	povećane propusnosti membrane i naknadnog istjecanja unutarstaničnog sadržaja	gel (liposomalni oblik amfotericina)	DD
<b>EHINOKANDINI</b>	anidulafungin	Inhibicija gljivične (1,3)-glukan-sintaze koja rezultira	nema	/
	kapsoufungin		topikalnu primjenu	

<b>TIOKARBAMATI</b>		iscrpljivanjem glukana stanične stijenke i osmotske nestabilnosti.		
	tolnaftan tolciklat	Inhibira pretvorbu skvalena u 2,3-oksidoskvalen putem enzima skvalen-epoksidaze.	krema, losion, otopina	DD
<b>OKSABOROLI</b>	tavaborol	Inhibira citoplazmatsku izoleucil-tRNA-sintetazu, ometa sintezu proteina gljiva.	otopina	JD

\*JD: jednom dnevno, DD: dva puta dnevno, TD: tri puta dnevno

### 3.2.1. AZOLI

U kliničkoj uporabi nalaze se azolni antifungici koji sadrže dva ili tri dušika u azolnom prstenu te se stoga klasificiraju kao imidazoli s dva dušika (klotrimazol, ketokonazol, lanokonazol, fentikonazol, oksikonazol, eberkonazol, bifonazol, ekonazol, mikonazol, izokonazol, tiokonazol, sertakonazol, lulikonazol, butokonazol i sulkonazol) i triazoli s tri dušika (itakonazol, flukonazol, efinakonazol i terkonazol) (1,2,9).

Mehanizam djelovanja azola (Slika 3) jest blokiranje gljivične lanosterol 14- $\alpha$ -demetilaze koja je potrebna za sintezu ergosterola (1). Ergosterol je esencijalna komponenta stanične membrane gljiva. Snižene razine ergosterola u staničnoj membrani i nakupljanje unutarstaničnog 14- $\alpha$ -metilsterola dovode do povećane krtosti membrane, povećane propusnosti membrane, poremećaja enzima vezanih za membranu, inhibicije rasta i konačno smrti stanice (3). Djelovanje azola prvenstveno je fungistatsko iako u visokim koncentracijama neki djeluju fungicidno na određen broj gljivičnih vrsta (1). Azoli svoje fungicidno djelovanje pripisuju činjenici da mogu utjecati na rast i proliferaciju gljiva stvaranjem velikog broja toksičnih sterola koji na kraju dovode do smrti gljivične stanice. Prvi su izbor liječenja gljivičnih infekcija zbog njihovog snažnog fungicidnog djelovanja i širokog

spektra djelovanja uključujući dermatomikoze, kandidijaze te sistemske mikoze (7). Topikalni azolni antifungici dostupni na hrvatskom tržištu detaljnije su obrađeni.

### **3.2.1.1. KLOTRIMAZOL**

Klotrimazol je imidazolski antifungik širokog spektra djelovanja i jedan od najraširenijih antifungika u topikalnoj primjeni. Fungistatsko djelovanje ima u manjim dozama, dok u većim djeluje fungicidno na *C.albicans*, *Trichophyton rubrum*, *Trichophyton mentagrophytes*, *Epidermophyton floccosum*, *Microsporum canis* i *Malassezia furfur* (9). Klotrimazol djeluje i na neke Gram-pozitivne bakterije (*Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pyogenes* i *Corynebacterium minutissimum*), koje su često prisutne u mješovitim infekcijama (11). Na zahvaćenu kožu klotrimazol se primjenjuje dva puta dnevno (ujutro i navečer). Trajanje terapije je od 2 do 4 tjedna ovisno o proširenosti i težini infekcije a mora se nastaviti još tijekom 2 tjedna nakon nestanka simptoma radi sprječavanja ponavljanja bolesti (11,12). U odgovarajućim pokusnim uvjetima, MIK (minimalna inhibitorna koncentracija) vrijednosti za vrste gljivica na koje klotrimazol djeluje, bile su u području manjem od 0,062 do 8 µg/mL supstrata. Nakon topikalne primjene dobro prodire u kožu, manje apsorbirane količine brzo se metaboliziraju u jetri u neaktivne metabolite i izlučuju putem žuči (11). Farmakokinetским ispitivanjima nakon primjene na koži utvrđeno je da se klotrimazol gotovo ne apsorbira kroz neozlijeđeno ili upaljeno područje kože u krvotok (12). Preparti za topikalnu primjenu, u obliku kreme (10 mg/mL), otopine za kožu (10 mg/mL) ili u kombinaciji s antibiotikom i kortikosteroidom, nalaze se na hrvatskom tržištu.

### **3.2.1.2. MIKONAZOL**

Pri topikalnoj primjeni mikonazol prodire u rožnati sloj i zadržava se otprilike 4 dana. Apsorpcija kroz kožu i sluznice nakon topikalne primjene je mala, a manje od 1 % mikonazola se apsorbira u krvotok. Male količine mikonazola koje se apsorbiraju,

metaboliziraju se u jetri u inaktivne metabolite, a izlučuju se urinom i fecesom, kao nepromijenjeni lijek i kao metaboliti. Nanosi se 2 puta dnevno na oboljelo mjesto u periodu od 2 do 6 tjedana ovisno o lokalizaciji i težini lezija, te se nastavlja još najmanje tjedan dana nakon povlačenja svih znakova i simptoma bolesti (13). Osim u obliku kreme, za lokalno liječenje gljivičnih infekcija orofarinksa i probavnog trakta dolazi u obliku oralnog gela. U obliku oralnog gela se primjenjuje ovisno o dobi u dozi od 1,25 do 2,5 mL (što odgovara 28 do 55 mg mikonazola) 4 puta dnevno nakon obroka (14). U SAD-u postoji nekoliko pripravaka odobrenih za OTC prodaju koji sadrže 2 – 4 % mikonazola (7). Preparati za topikalnu primjenu, u obliku 20 mg/mL kreme te 20 mg/mL oralnog gela nalaze se na hrvatskom tržištu.

### **3.2.1.3. KETOKONAZOL**

Ketokonazol dolazi u obliku kreme i šampona za lokalnu upotrebu te u obliku tableta za sistemska upotrebu (9). Uz antifungalna svojstva ketokonazol ima izravno protuupalno djelovanje što može pridonijeti ublažavanju simptoma peruti i seboreičnog dermatitisa. Poslije lokalne primjene ketokonazola na vlasište, koncentracije ketokonazola u plazmi nisu bile mjerljive. Prisutnost ketokonazola u plazmi utvrđena je tek nakon lokalne primjene ketokonazol 20 mg/g šampona na kožu cijelog tijela. (15). Preparat za topikalnu primjenu u obliku 20 mg/g šampona nalazi se na hrvatskom tržištu. Liječenje traje 2 do 4 tjedna, kosa se pere svaka 3 do 4 dana, dok se u slučaju prevencije primjenjuje jednom tjedno, odnosno jednom u dva tjedna (15).

### **3.2.1.4. BIFONAZOL**

Bifonazol ima široki spektar djelovanja. Djeluje na dermatofite, kvasnice, plijesni i druge gljive (npr. *M.furfur*), te na bakteriju *Corynebacterium minutissimum*. Dobro prodire u zaražene dijelove kože. Šest sati nakon primjene koncentracija se ovisno o slojevima kože,

kreće između 1000  $\mu\text{g}/\text{cm}^3$  (rožnati soj) i 5  $\mu\text{g}/\text{cm}^3$  (papilarni sloj). U nekoliko ispitivanja pokazalo se da bifonazol ispoljava protuupalne učinke usporedive s hidrokortizonom. Uočena je mala apsorpcija nakon primjene na upaljenu kožu (2 – 4 %). Nakon topikalne primjene nije vjerojatan sistemski učinak. Liječenje se provodi u periodu od 2 do 4 tjedna ovisno o indikaciji jednom dnevno, najbolje navečer prije spavanja (16). Preparat za topikalnu primjenu u obliku 10 mg/g kreme nalazi se na hrvatskom tržištu.

### **3.2.2. ALILAMINI**

Alilamini, slično poput azola, ometaju sintezu ergosterola ali djeluju u ranijoj fazi inhibicijom stvaranja skvalen-epoksidaze (Slika 3). Skvalen-epoksidaza esencijalni je flavin-adenin-dinukelotid (FAD) ovisan enzim u biosintetskim putevima ergosterola i kolesterola s ulogom kataliziranja stereospecifične epoksidacije skvalena u 2,3-(S)-oksidoskvalen. Prekursor je lanosterola te sudjeluje u stvaranju staničnih membrana. Ti antifungici selektivno djeluju na enzime gljiva s minimalnim učinkom na sintezu kolesterola kod sisavaca (9). Tom inhibicijom stvara se visoka unutarstanična koncentracija skvalena što rezultira povećanjem permeabilnosti membrane, poremećaja stanične organizacije te naposljetku smrti stanice. Među alilamine ubrajamo terbinafin i naftifin, te butenafin (derivat benzilamina koji ima mehanizam djelovanja sličan alilaminima) (3).

#### **3.2.2.1. TERBINAFIN**

U nižim koncentracijama terbinafin ima fungicidno djelovanje na dermatofite, plijesni i neke dimorfne gljive. Na kvasce djeluje fungicidno ili fungistatski, što ovisi o vrsti kvasca. Djeluje tako da inhibira skvalen-epoksidazu u staničnoj stijenci gljive i uzorkuje smrt stanice. Ublažavanje kliničkih simptoma obično nastupa unutar nekoliko dana (9). Ovisno o indikaciji nanosi se jednom do dva puta dnevno. Prerano prekidanje liječenja ili neredovita upotreba donose rizik od recidiva. Nakon lokalne primjene apsorbira se manje od 5 % doze te je



sistemska izloženost mala (17). Preparati za topikalnu primjenu u obliku kreme, laka za nokte i gela nalaze se na hrvatskom tržištu.

### **3.2.2.2. NAFTIFIN**

Naftifin je topikalni alilamin koji ima fungicidno djelovanje na površinske dermatomikoze. Djelovanjem na skvalen-epoksidazu suprimira rast i umnažanje gljivica. Pokazuje samo umjerenu djelotvornost na kvasce (npr. *Candida* vrste), plijesni (*Aspergillus* vrste) i na druge gljive (npr. *Sporothrix schenckii*). Pokazuje i antibakterijsko djelovanje protiv određenih Gram-pozitivnih i Gram-negativnih mikroorganizama koji se često pojavljuju zajedno s gljivičnim infekcijama. U kliničkoj primjeni je uočen i protuupalni učinak koji dovodi do smanjenja znakova upale, osobito svrbeža. Sistemska izloženost organizma je vrlo mala jer se apsorbira oko 4 % primijenjene doze. Primjenjuje se jednom dnevno kroz 2 do 4 tjedna, te još 2 tjedna nakon povlačenja simptoma (3,18). Preparati za topikalnu primjenu u obliku otopine i kreme nalaze se na hrvatskom tržištu.

### **3.2.3. POLIENI**

Polieni su karakterizirani makrolidnim prstenom ugljikovih atoma s konjugiranim dvostrukim vezama. Proizvode se fermentacijom vrsta *Streptomyces*. Općenito, polienski antifungici imaju veći afinitet prema ergosterolu, koji je specifičan za gljive, nego što imaju za stanični kolesterol čovjeka. Ireverzibilno se vežu za ergosterol, što rezultira promjenom propusnosti membrane te propuštanja unutarstaničnog sadržaja kroz nastale pore i u konačnici dovodi do propadanja stanice (19). U skupinu polienskih makrolida ubrajaju se nistatin, amfotericin B i natamicin(9). Mehanizam njihovog djelovanja se razlikuje. Amfotericin B u interakciji s membranom gljiva stvara pore u membrani stanica, tako što izvlači ergosterol iz lipidnog dvosloja što uzorkuje propuštanje unutarstaničnog sadržaja kroz nastale pore u staničnoj membrani (8). Usprkos širokom spektru aktivnosti *in vitro*, amfotericin B i nistatin imaju

ograničenu upotrebu za kožne infekcije. Korisni su uglavnom za površinske infekcije *Candidom* jer ne djeluju na dermatofite (20, 21). Natamicin svoj antifungalni potencijal ostvaruje putem reverzibilne inhibicije transportnih proteina membrane, koja je ergosterol specifična, te time blokira rast gljiva (9).

### **3.2.3.1. NISTATIN**

Nistatin ima fungistatsko i fungicidno djelovanje. Zbog karakteristične strukture veže se na molekule ergosterola i stvara pore u membrani, što uzrokuje njezinu povećanu permeabilnosti, propuštanje unutarstaničnog sadržaja i naposljetku smrt stanice (9). Zbog izražene toksičnosti pri intravenskoj primjeni ograničen je za lokalnu primjenu. Apsorpcija nistatina kroz neoštećenu kožu i sluznice je beznačajna. U topikalnoj primjeni djelotvoran je u liječenju mukokutane kandidijaze uzrokovane *Candidom* vrste *C. albicans*, *C. parapsilosis*, *C. krusei* i *C. tropicalis* (19). Na tržištu se nalazi u obliku krema, masti, oralnih suspenzija 100 000 IU/mL ili obloženih tableta, te često dolazi u kombinaciji s antimikoticima ili kortikosteroidima (21). Preparati za topikalnu primjenu u obliku masti, u obliku kreme u kombinaciji s antimikoticima, te kapsule ili tablete za rodnicu nalaze se na hrvatskom tržištu.

### **3.2.4. EHINGANDINI**

Ehinokandini su klasa antifungika s cikličkim neribosomskim heksapeptidima i lipofilnim bočnim lancima. Te spojeve proizvode filamentozne gljive koje se koriste za biosintezu i razvoj polusintetskih derivata kao što su kaspofungin i anidulafungin (antifungici prve linije za liječenje invazivnih mikoza). Mehanizam djelovanja im se temelji na inhibiciji 1,3- $\beta$ -D-glukan-sintaze. Inhibicija 1,3- $\beta$ -D-glukan-sintaze ometa sintezu  $\beta$ -(1,3)-D-glukana koji je bitan strukturni polisaharid u staničnoj stijenci, što uzrokuje osmotsku krhkost stanice gljive i lizu. Zbog raznih mutacija na FKS1 i FKS2 genu dolazi do rezistencije (1,9). Ehinokandini se,

zbog izazova u topikalnoj primjeni azola i poliena kod liječenja gljivičnih infekcija oka, istražuju kao potencijalni novi lijekovi u liječenju gljivičnih infekcija oka (22).

### **3.2.5. OSTALI**

#### **3.2.5.1. MORFOLINI**

##### **3.2.5.1.1. AMOROLFIN**

Mehanizam djelovanja amorolfina, derivata morfolina, jest inhibicija biosinteze ergosterola u staničnoj membrani gljiva. Usljed promjene sadržaja sterola u staničnoj membrani dolazi do promjena u propusnosti membrane i poremećaja ključnih metaboličkih procesa gljiva (21). Amorolfin djeluje na dva različita enzima uključena u biosintezu sterola, 14- $\delta$ -reduktazu i 7,8- $\delta$ -izomerazu, što rezultira nakupljanjem metabolita u staničnoj membrani koji su strukturno različitih od ergosterola te posljedično promjena u njezinim svojstvima vezanim za normalno funkcioniranje transportnih enzima (1, 24). Dvostruki mehanizam djelovanja čini amorolfin snažnim fungistatikom i fungicidom (25). U liječenju površinskih mikoza, djelotvornost amorolfina koji se primjenjuje jednom na dan, usporediva je s topikalno primijenjenim azolima. Glavna je prednost ovog lijeka u primjeni kod liječenja onihomikoze uzrokovane dermatofitima i vrstama roda *Candida* (1). U liječenju onihomikoza primjenjuje se jednom do dva puta tjedno kroz period od 6 mjeseci (23). Preparat za topikalnu primjenu u obliku 5 % laka za nokte nalazi se na hrvatskom tržištu.

##### **3.2.5.2. HIDROKSIPIRIDONI**

Hidroksipiridoni su slabe kiseline koje pokazuju antimikrobno djelovanje širokog spektra. Keliranjem kationa trovalentnih metala uzrokuju inhibiciju enzima koji su ovisni o metalima što uzrokuje manju razgradnju citoplazmatskih peroksida, povećanu osjetljivost stanica na oksidacijski stres i smanjenu razinu permeaze ili transportera željeza. Zbog višerazinskog i

jedinstvenog mehanizma djelovanja niska je učestalost rezistencije. U ovu skupinu lijekova ubrajaju se ciklopiroks, rilopiroks i oktopiroks (pirokton olamin) (3).

### **3.2.5.2.1. CIKLOPIROKS**

Ciklopiroks je sintetski derivat hidroksipiridona. Ima antifungalna, antibakterijska i protuupalna svojstva. Ima kemijsku formulu 6-cikloheksil-1-hidroksi-4-metil-2[1H]-piridon. Mehanizam djelovanja ciklopiroksa je stvaranje velikih polivalentnih kationa kelacijom s  $Al^{3+}$  i  $Fe^{3+}$  zbog čega dolazi do inhibicije bitnih enzima, uključujući one sa citokromom, te poremećaja mitohondrijskih procesa prijenosa elektrona i proizvodnje energije. Ciklopiroks inhibira stanični unos esencijalnih spojeva i narušava cjelovitost stanične membrane gljiva. Protuupalno djelovanje nastaje zbog inhibicije 5-lipooksigenaze i ciklooksigenaze te inhibicije prostaglandina i leukotriena (19). Značajno se nakuplja unutar gljivične stanice čime se ireverzibilno veže na određene strukture i organele kao što su stanična stijenka, stanična membrana, mitohondriji, ribosomi i mikrosomi (26). Nakon lokalne primjene brzo prodire u kožu te putem žlijezda lojnica kroz epidermu i folikul kose u kosu. Dostupan je u obliku kreme (1 %), losiona (1 %), gela (0,77 %), topikalne suspenzije te laka za nokte (8 %) (19). U obliku otopine za kožu primjenjuje se dva puta dnevno kroz period od 2 tjedna uz preporuku nastavka terapije kroz tjedan ili dva kako bi se spriječio povratak infekcije (26). U obliku laka za nokte primjenjuje se tijekom prvih mjesec dana svaki drugi dan, drugi mjesec liječenja može se učestalost liječenja smanjiti na najmanje dva puta tjedno, te naposljetku jednom tjedno tijekom trećeg mjeseca liječenja (27). Preparati za topikalnu primjenu u obliku otopine i laka za nokte nalaze se na hrvatskom tržištu.

### **3.2.5.3. OKSABOROLI**

Oksakarboli su nova skupina lijekova koji djeluju blokiranjem sinteze proteina putem inhibicije leucilaminoacil-tRNA-sintetaze uzrokujući prijevremeni prekid sinteze proteina, a

tyme inhibiciju rasta i antifungalno djelovanje širokog spektra protiv dermatofita, *Candide* i nedermatofitnih plijesni (3).

### **3.2.5.3.1. TAVABOROL**

Prvi oksaborol odobren za lokalnu terapiju onihomikoza je tavaborol. Selektivnost za gljivičnu aminoacil-tRNA-sintetazu (AARS) u usporedbi s onom sisavaca je 1000 puta veća. Niske je molekularne mase (152 kDa) što pridonosi prodiranju kroz ploču nokta. Djeluje inhibiranjem leucil-tRNA-sintetaze, esencijalnog enzima potrebnog za sintezu gljivičnih proteina (10) i katalizu vezanja L-leucina na tRNA. Preporučuje se primjena jednom dnevnom tijekom 48 tjedana te se nanosi na cijelu površinu nokta i ispod vrha nokta (3). Iako mu spektar djelovanja ne uključuje samo dermatofite, koristi se za topikalno liječenje onikomikoza (10). Trenutno na hrvatskom tržištu nema registriranog pripravka tavaborola za topikalnu primjenu.

### **3.2.5.4. TIOKARBAMTI**

#### **3.2.5.4.1. TOLNAFTAT**

Koristi se kao lokalno antifungalno sredstvo protiv blagih do umjerenih površinskih dermatofitnih gljivičnih infekcija kože i noktiju na nogama. Koristi se za liječenje *Tinea pedis*, *Tinea cruris*, *Tinea corporis*, *Tinea manuum* i *Tinea versicolor*. Nije učinkovit protiv kvasaca poput *C. albicans*. Točan mehanizam djelovanja nije još poznat ali pretpostavlja se da uključuje djelomičnu inhibiciju gljivične skvalen-epoksidaze i tako interferira s biosintezom ergosterola (10). Na hrvatskom tržištu trenutno nema registriranog pripravka s tolnaftatom za topikalnu primjenu.

### 3.3. POVEĆANJE DJELOTVORNOSTI TOPIKALNIH ANTIFUNGIKA

Gljive su razvile širok spektar čimbenika virulencije kako bi uspostavile infekcije. Zapažen je porast kroničnih gljivičnih infekcija te porast otpornosti na često korištene topikalne (i oralne) antifungike (8). U svrhu poboljšanja djelotvornosti istraživane su i razne podloge koje služe kao nosači lijeka te mu omogućuju dublje prodiranje u kožu, a time bolje djelovanje. Kako je struktura gljiva godinama pod povećalom znanosti nađena su i potencijalna nova ciljna mjesta djelovanja antifungalnih lijekova.

#### 3.3.1. RAZVOJ NOVOG MEHANIZMA DJELOVANJA

Ciljno mjesto djelovanja antifungika ne mora biti vezano samo uz staničnu stijenkku i membranu gljive, ono može uključivati i metabolički put (glioksilatni ciklus, biosinteza pirimidina, enzim citokrom-P450 (CYP), metabolizam željeza, biosinteza hema i metabolizam acetata), prijenosni signalni put (MAP-kinaza, PDK1 i prijenos kalcija) te ekspresiju gena (9).

##### 3.3.1.1. STANIČNI EFLUKS

Glavni mehanizam visoke razine otpornosti na azole kod patogenih gljiva jest efluks membranskim prijenosnicima ovisan o energiji. Superobitelj ABC prijenosnika (engl. *ATP Binding Cassete*; ABC) je od primarne važnosti kod efluksa membranskim prijenosnicima. ABC prijenosnici hidroliziraju ATP i odgovorni su za uklanjanje neželjenih (toksičnih) molekula iz stanica. Prekomjerna ekspresija ABC prijenosnika događa se u prisutnosti lijekova što može rezultirati rezistencijom na njih (28). Kod sojeva *Candidae* otpornih na azole jedan od mehanizama rezistencije je pojačana regulacija ATP-vezujućih kasetnih prijenosnih gena *CDR1* i *CDR2* (*Candida drug resistance 1 and 2*). Inhibicijom pumpe i ponovnom senzibilizacijom gljiva rezistentnih na azole može se riješiti problem otpornosti. Istraživanja su usmjerena na nove lijekove koji bi u kombinaciji s azolima djelovali na pumpe

i istovremeno povećali djelovanje azola. U istraživanju gdje je sedam flavonoida proučavano za smanjenje ekspresije *CDR1*, najveći utjecaj kod smanjenja ekspresije gena *CDR1* imali su apigenin i apigetrin. Na smanjenu ekspresiju *CDR1* povoljan je utjecaj imao i astragalin, dok je kaempferol djelovao i na *CDR1* i na *CDR2* kod *C. albicans* rezistentne na flukonazol (9).

### **3.3.1.2. BIOSINTEZA ERGOSTEROLA I EKSPRESIJA ERG11**

Steroli su esencijalni za stanicu gljive s obzirom na sprječavanje penetracije vode, koordiniranje heterogenosti membrane te doprinose očuvanju integriteta, rigidnosti i fluidnosti plazmatske membrane. Najzastupljeniji sterol kod kvasaca je ergosterol. Paleta lijekova usmjerenih na biosintezu ergosterola prisutnih na farmaceutskom tržištu je velika i uključuje azole koji su usmjereni na lanosterol 14- $\alpha$ -demetilazu; poliene koji ometaju distribuciju ergosterola u membrani i alilamine koji inhibiraju skvalen sintazu. 14- $\alpha$ -lanosterol-demetilaza kodirana je genom *ERG11* (28). Među kliničkim sojevima gljiva koje su otporne na azole česte su mutacije *ERG11*. Kao posljedica mutacija u regulatoru transkripcije Upc2 ili povećanjem broja kopija kromosoma 5 (na kojem se nalazi *ERG11*) dolazi do pretjerane ekspresije *ERG11* i smanjene osjetljivosti na azole. U studijama je otkriveno da apigenin, rutin i palmitinska kiselina smanjuju ekspresiju *ERG11* (9). Kod dermatofita ovaj mehanizam još nije opisan (28).

### **3.3.1.3. PROTEINI**

Kao mehanizam prilagodbe na promjenu okoliša i stres zbog izloženosti lijeku dermatofiti luče mnoge proteine. Neki od tih proteina su proteini toplinskog šoka (Hsp70, Hsp90 i PacC) te su važan čimbenik virulencije dermatofita. Smatra se da prilagodba na stres stabilizira stanicu u prisutnosti lijeka i omogućuje joj da s vremenom razvije snažnije mehanizme otpornosti. Inhibicija Hsp potencijalna je meta za buduća istraživanja antifungika (28). Hsp90 je uključen u regulaciju stanične signalizacije eukariota. Proteini toplinskog šoka potencijalna

su meta lijekova jer su uključeni u rezistenciju gljiva koje se nalaze u obliku biofilma ili stanica. U istraživanju četiri komercijalno dostupna inhibitora Hsp90 (AUY922, ganetesib, PU-H71 i CH5138303), najveću je aktivnost pokazao ganestesib i to u kombinaciji s flukonazolom gdje dolazi do smanjenja ekspresije gena vezanog za rezistenciju azola. Djelotvornost kaspofungina pojačana je u prisutnosti seskviterpenkinona. Seskviterpenkinon ometa aktivnosti Hsp90 i dolazi do narušavanja integriteta stanične stijenke kod gljivičnih patogena (9).

#### **3.3.1.4. BIOFILM I HIFE**

Formiranjem struktura u kojima su gljivične stanice ugrađene u izvanstanični matriks nastaje biofilm. Imunosne stanice poput neutrofila i monocita otežano prodiru u biofilm te je otežana eradikacija gljiva. Raznim mehanizmima je povećana otpornost biofilma na antifungike – gusta struktura stanica, rast i ograničenost nutrijenata potrebnih za rast, postojanje perzistentnih stanica, ekspresija gena za antifungalnu rezistenciju te povećan udio sterola u stanicama gljiva. Morfološke promjene su uobičajena strategija za preživljavanje brojnih patogena; gljivični patogeni mogu rasti u više morfologija koje uključuju kvasce, pseudohife i hife. Zbog sveprisutne rezistencije biofilma potrebno je pronaći antifungike koji bi djelovali i na morfološku tranziciju. U istraživanjima su neke aktivne tvari pokazale djelotvornost. Ružmarinska kiselina bi mogla spriječiti stvaranje biofilma kroz umjereno smanjenje sadržaja egzopolisaharida (EPS) u matriksu biofilma. Kanabidiol smanjuje debljinu biofilma i stvaranje EPS-a u *C. albicans*. Ekstrakt *Artemisiae absinthium* narušava integritet membrane i smanjuje stvaranje EPS-a. Istraživanja koja su provedena na biološkim aktivnostima određenih flavonoida pokazala su da oni imaju umjerenu aktivnost u smanjenju rasta hifa. Najznačajniji utjecaj na rast hifa uočen je kod apigenina i apigetrina. Izokvercetin je imao najizraženiju antibiofilm aktivnost (9).



### 3.3.1.5. MITOHONDRIJI

Za preživljavanje većine stanica patogenih gljiva neophodni su mitohondriji te su zbog toga potencijalna meta za razvoj novih antifungika. Provedena su brojna istraživanja u kojima je ispitivan utjecaj biljnih ekstrakata na mitohondrije gljiva. Aktivnost mitohondrija *C. albicans* je znatno smanjena nakon primjene ružmarinske kiseline. Berberin se nakuplja u mitohondrijima gljiva i ometa njihovu aktivnost oštećivanjem mitohondrijske membrane i mitohondrijskog kompleksa 1. Ekstrakt sjemenke papaje pokazao je inhibitorno djelovanje prema *C. albicans* koristeći različite mehanizme, uključujući nakupljanje reaktivnih vrsta kisika i smanjenja membranskog potencijala mitohondrijske membrane (9).

### 3.3.1.6. METABOLIČKI PUTEVI I ENZIMI

U razvoju novih antifungalnih strategija nova ciljna mjesta djelovanja antifungalnih lijekova mogu biti različiti metabolički putevi. Neki od njih su metabolički putevi poput metabolizma N-acetilglukozamina i trehaloze, biosinteze lipida i drugih bitnih procesa u stanicama gljiva. Razni enzimi mogu biti također meta za razvoj lijekova jer su oni neophodni za rast i virulentnost gljiva. AMP-17, antimikrobni peptid ometa bitne metaboličke puteve *C. albicans*, uključujući one povezane s oksidacijskom fosforilacijom, razgradnjom RNA, metabolizmom propanoata i metabolizmom masnih kiselina (9). CYP su superobitelj proteina koji kataliziraju mnogo metaboličkih reakcija i time su zanimljiva meta za razvoj novih antifungalnih lijekova. Selektivnom inhibicijom gljivične 14- $\alpha$ -demetilaze CYP-a djeluju dobro nam poznati azoli. Rezistencija na azole je široko rasprostranjena pa su nova istraživanja usmjerena na otkrivanje inhibitora drugih enzima čijom inhibicijom bi se postiglo antifungalno djelovanje. U istraživanjima se nalazi nekoliko metaloenzimskih inhibitora CYP51 uključujući VT-1598, VT-11trans i VT-1161 koji su pokazali antifungalno djelovanje (29).

### **3.3.1.7. STANIČNA STIJENKA GLJIVA**

Stanična stijenka gljiva ima drugačiju strukturu od ljudskih stanica te je stoga primamljiva meta za razvoj novih antifungika. Sastav stanične stijenke se razlikuje od vrste do vrste ali glavni sastojak je polisaharid  $\beta$ -(1,3)-glukan koji je kovalentno umrežen u hitin i tvori primarnu strukturu. Hitin sintaze, enzimi odgovorni za proizvodnju hitina, se sintetiziraju u citoplazmi te prenose u staničnu stijenku za sintezu hitina. Potencijalna su meta antifungalnih lijekova (9). Nikomicini su skupina peptidilnih nukleozidnih antimikrobnih tvari koji su kompetitivni inhibitori hitin-sintetaze i inhibiraju rast filamentoznih gljiva i kvasaca (29). Manoproteini stanične stijenke gljiva su također potencijalna meta antifungalnih lijekova. Jedan od glavnih dijelova manoproteina stanične stijenke su proteini modificirani glikozil-fosfatidil-inozitolom (GPI) preko kojih se sidre u plazmatsku membranu i potencijalno su mjesto djelovanja novih antifungalnih lijekova (9, 29). Ehinokandini su bili među prvim antimikoticima čije je ciljno mjesto djelovanja stanična stijenka gljiva. Oni inhibiraju sintezu  $\beta$ -(1,3)-glukana glavnog biopolimera stanične stijenke gljiva. Imaju široku kliničku primjenu u liječenju sistemskih mikoza (29).

### **3.2. PODLOGE**

Prednosti lokalnog liječenja gljivičnih infekcija su sljedeće: ciljanje mjesta infekcije, smanjenje rizika od sistemskih nuspojava, povećanje učinkovitosti liječenja i visoka suradljivost bolesnika. Učinkovitost topikalnog antifungalnog liječenja ovisi o penetraciji lijeka do ciljnog mjesta, odnosno koncentracija lijeka na mjestu djelovanja trebala bi biti zadovoljavajuća. Kod topikalne primjene antifungik mora proći kroz rožnati sloj pa sve do vijabilnog dermisa gdje postiže učinkovitu terapijsku razinu. Kao alternativni pristupi lokalnom liječenju gljivičnih infekcija kože uključuju se novi sustavi nosača za odabrane poznate lijekove i ispitivane nove spojeve. Cilj lokalne primjene je spriječiti ili minimalizirati

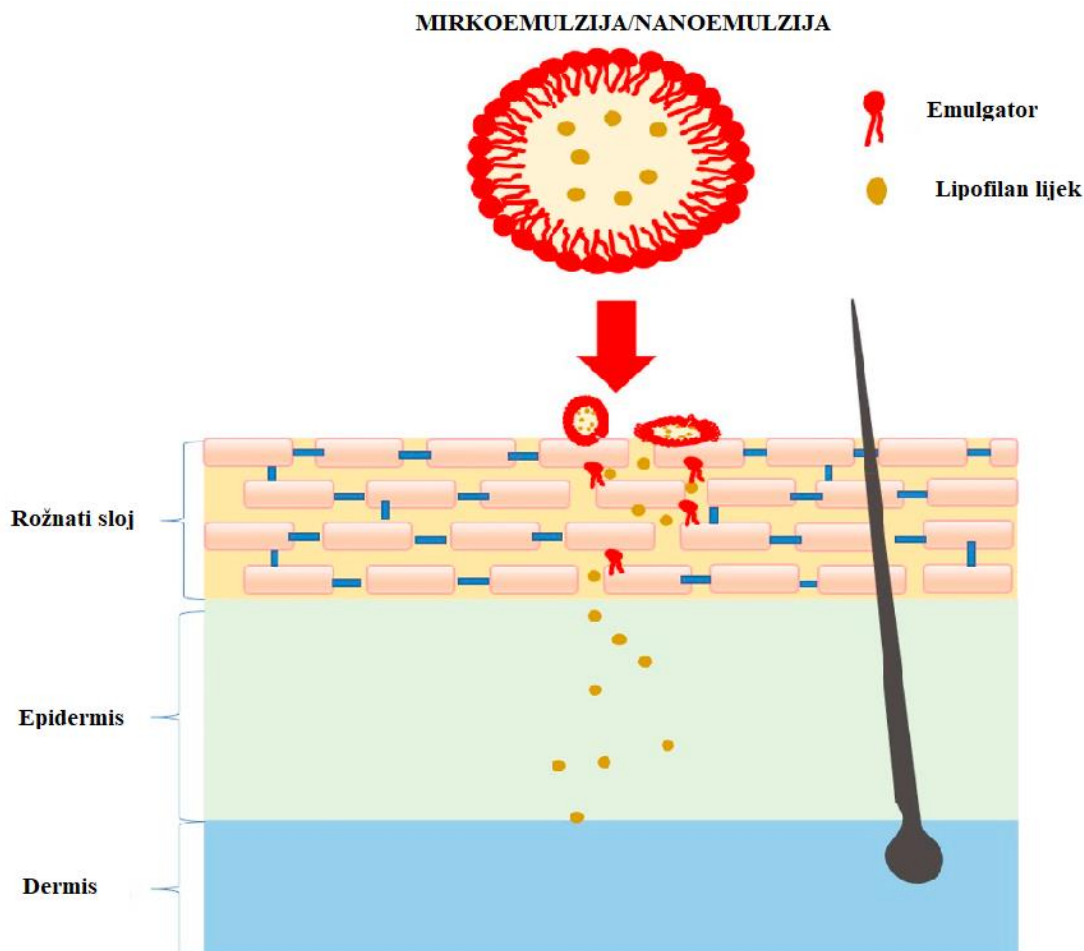
ulazak lijeka u sistemsku cirkulaciju (2). Učinkovitost topikalnih sredstava ne ovisi samo o vrsti lezije i mehanizmu djelovanja lijeka, nego i o viskoznosti, hidrofobnosti i kiselosti formulacije (21). Kako bi se poboljšala permeabilnost lijeka, istraživane su nove formulacije koje uključuju mikroemulzije, vezikularne nosače (liposome, etosome i niosome) te sustave lipidnih i polimernih čestica (2). Čestice raspodjele veličina unutar nanometarskog područja (< 1000 nm) različite građe, oblika i površinskih svojstava nazivamo nanočesticama. Osnovne fizičke značajke nanočestica su veliki broj nanočestica po jedinici površine i veliki omjer površine i volumena. Glavne prednosti korištenja nanočestica u topikalnoj primjeni su: poboljšana dermalna bioraspoloživost u određenom sloju kože, optimalno iskorištenje, poboljšana stabilnost, kontrolirano oslobađanje sa smanjenom mogućnosti iritacije kože te olakšano nanošenje i uklanjanje pripravka (30).

### **3.3.2.1. KOLOIDNI NOSAČI**

#### **3.3.2.1.1. MIKROEMULZIJE**

Mikroemulzije su termodinamički stabilne disperzije dvije tekuće faze koje se međusobno ne miješaju, uz dodatak emulgatora i koemulgatora koji stabiliziraju mikroemulzijski sustav (30). Mikroemulzije povećavaju apsorpciju lijeka prilikom topikalne primjene, zbog učinka nosača na pojačanu penetraciju kroz kožu. Utvrđeno je da je topljivost lijeka u mikroemulziji veća u usporedbi s topljivosti u pojedinačnim komponentama mikroemulzije (5). Klasificiraju se kao mikroemulzije voda u ulju (V/U), mikroemulzije ulje u vodi (U/V) te bikontinuirane mikroemulzije (udio vodene i uljne faze je podjednak). Veličina kapljica dispergirane faze je između 10 i 100 nm (31, 32). Ulja i emulgatori koji su uključeni u sustav mikroemulzija djeluju kao pojačivači prodiranja lijeka kroz rožnati sloj kože (2). Razne su prednosti mikroemulzija poput jednostavnosti pripreme, povećane topljivosti lijeka što omogućuje uklapanje hidrofilnih kao i lipofilnih lijekova, termodinamičke stabilnosti (duga stabilnost

nakon pripreme), modificiranog oslobađanja lijeka i poboljšane bioraspodivnosti lijekova, te niske cijene (2, 31). Mehanizam penetracije lijeka u kožu nije do kraja definiran (Slika 4). Prijenos lijeka iz mikroemulzija u kožu uglavnom je posljedica osiguranog koncentracijskog gradijenta od podloge s lijekom do kože. Prisutnost emulgatora i koemulgatora također povećava penetraciju lijeka, baš kao što i povećan udio vode u mikroemulziji može dovesti do povećane hidratacije kože i njezine bolje permeabilnosti za lijek. Fizikalno-kemijska svojstva poput veličine kapljice i koncentracije emulgatora i koemulgatora, udjela vodene faze i kapaciteta uklapanja lijeka mogu utjecati na penetraciju mikroemulzije u/kroz kožu (31).



**Slika 4.** Mehanizam prodiranja mikroemulzija i nanoemulzija u/kroz kožu (31)

Patel i suradnici (33) istraživali su učinak komponenti formulacije mikroemulzije s uklopljenim flukonazolom na *in vitro* prodiranje kroz kožu. Zona inhibicije (aktivnost

antifungika) ispitivane mikroemulzije bila je veća u usporedbi s referentnom formulacijom. Učinkovitost lokalne primjene mikroemulzijske formulacije flukonazola ovisila je o sadržaju vode i laurilnog alkohola (uljna faza) te o omjeru labrasola (surfaktanta) i etanola (kosurfaktant). Perkutana apsorpcija flukonazola iz mikroemulzije rasla je s porastom laurilnog alkohola i vode, uz smanjenje omjera labrasola i etanola no potrebna su daljnja istraživanja u razvoju navedene formulacije (33). Slično istraživanje Patela i suradnika (34) provedeno je s mikroemulzijom ketokonazola. Kao i u istraživanju mikoremulzije s flukonazolom, perkutana apsorpcija ketokonazola raste s porastom lauril alkohola i vode te smanjenjem omjera labrasola i etanola. Zaključak je kako bi uz dodatna istraživanja, mikroemulzija ketokonazola mogla biti održiva alternativa trenutnim topikalnim formulacijama dostupnim za liječenje kandidijaze (34).

#### **3.3.2.1.2. MICELE**

Micele su koloidni nosači nanometarskih dimenzija izgrađeni od hidrofobne unutrašnjosti i hidrofilnog vanjskog dijela. Koriste se kao nosači za lijekove netopljive u vodi i pružaju povećanu bioraspoloživost (2). Najčešće su izgrađeni od polimernih površinski aktivnih tvari (PAT) koje se samoorganiziraju u vodenoj (polarnoj) sredini. Sferične micele stvaraju se kada je hidrofilni dio molekule PAT-a dulji od hidrofobnog, dok cilindrične, štapićaste ili lamelarne micele nastaju kada je dulji hidrofobni dio molekule PAT-a. Kritična micelizacijska koncentracija (cmc) jest minimalna koncentracija PAT-a pri kojoj u otopini nastaju micele (30). Specifičnost i učinkovitost micelnog sustava može se poboljšati primjenom blok kopolimera osjetljivih na pH, temperaturu, ultrazvuk ili svjetlo i vezanjem ciljanih liganda na micele (2).

Bachhava i suradnici (35) usmjerili su istraživanje na sposobnost micela u poboljšanju bioraspoloživost lijeka u koži. Napravljene su vodene micelarne otopine klotrimazola,

ekonazol-nitrata i flukonazola korištenjem amifilnog blok kopolimer metoksi-poli(etilen glikol)-heksil-polilaktida (MPEG-hexPLA). Azoli imaju slabu topljivost u vodi te su vrlo lipofilni, zbog toga se bez problema mogu raspodijeliti u međustanični prostor rožnatog sloja koji je bogat lipidima, dok je za raspodjelu u dublje slojeve potrebno optimizirati podlogu. Tim istraživanjem je dokazano da se uklapanjem ekonazol-nitrata u MPEG-dihexPLA micelle postiže značajno poboljšanje njegove bioraspoloživosti u koži (2, 35).

### **3.3.2.1.3. NANOEMULZIJE**

Nanoemulzije su termodinamički nestabilne, ali kinetički stabilne, koloidne disperzije ulja u vodi (U/V) ili vode u ulju (V/U) s nano veličinom dispergiranih kapljica, stabilizirane međufaznim filmom emulgatora i koemulgatora. Veličina kapljica dispergirane faze kreće se između 50 i 200 nm. Proizvode se visokoenergetskom emulzifikacijom (npr. homogenizacija pod visokim pritiskom) ili niskoenergetskom emulzifikacijom (koristeći fizikalno-kemijska svojstva komponenata). Nanoemulzije se dijele na U/V nanoemulzije, V/U nanoemulzije i bikontinuirane nanoemulzije. Visoka stabilnost, povećano međufazno područje, moguća poboljšana topljivost lijekova te poboljšana bioraspoloživost lijekova neke su od prednosti nanoemulzija u odnosu na konvencionalne emulzije. Nanoemulzija stupa u interakciju s rožnatim slojem što dovodi do ekstrakcije lipida iz rožnatog sloja te poboljšanog prodiranja lijeka u kožu (Slika 4). Neke nanoemulzije mogu inducirati denaturaciju keratina i tako pospješiti transcelularni prijenos lijeka. Na prodiranje nanoemulzije u kožu utječu fizikalno-kemijska svojstva poput veličine kapljica, površinskog naboja i sastava (npr. omjer emulgatora i koemulgatora te koncentracije) (2, 31).

Nistatin je polienski antibiotik koji ima fungicidni i fungistatski učinak a koristi se u liječenju kožnih infekcija *Candidom*. Njegova je uporaba ograničena zbog slabe topljivosti u vodenom mediju i posljedično niske bioraspoloživosti. U vodenom mediju stvara agregate koji su

neselektivni i mogu dovesti do toksičnosti i smrti stanica domaćina. U istraživanju Fernández-Camposa i suradnika (36) razvijena je nanoemulzija nistatina za lokalnu primjenu kako bi se izbjegle nuspojave poput sistemske apsorpcije i toksičnosti. *Ex vivo* studije prodiranja u ljudsku kožu pokazale su da se nistatin nije apsorbirao u sistemska cirkulaciju i da je zadržana količina lijeka bila dovoljna za antifungalni učinak. Antifungalni učinak je bio veći kod primjene nistatina u obliku nanoemulzije u uspoređivanju s primjenom nistatina u obliku masti (2, 36).

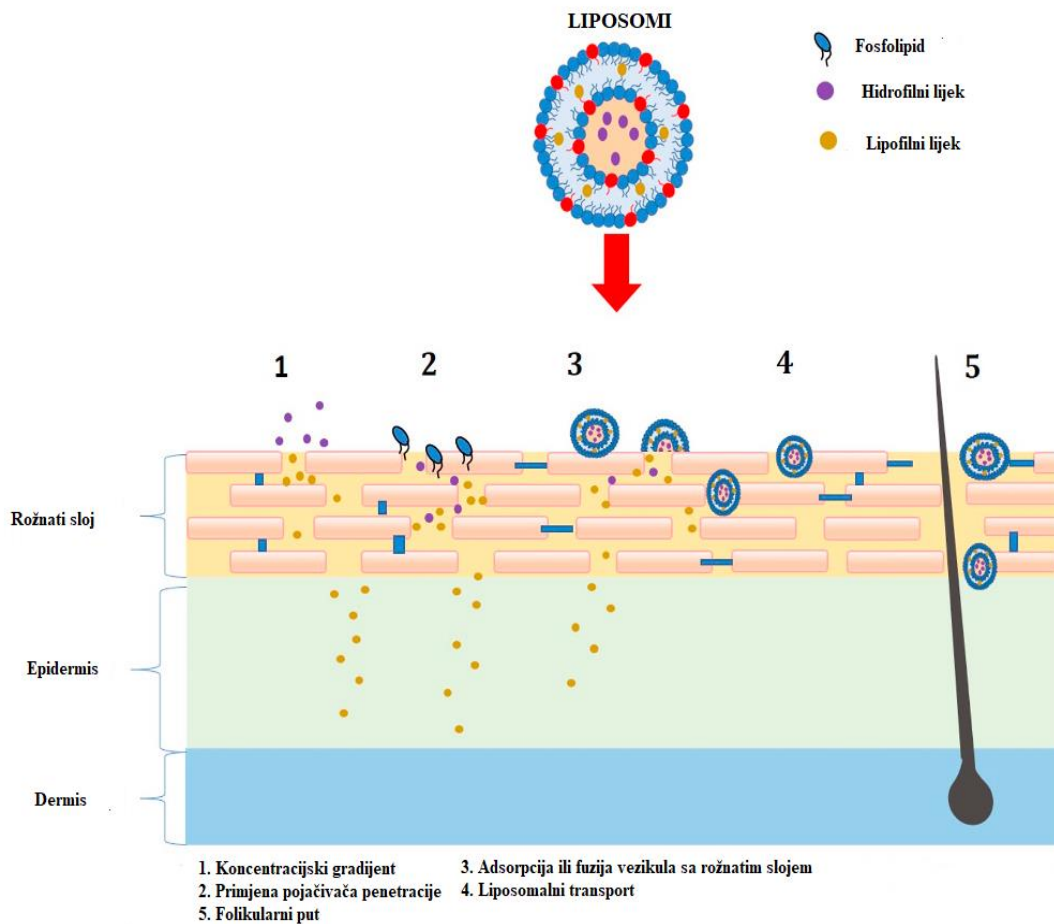
### **3.3.2.2. VEZIKULARNI NOSAČI**

Vezikularni nosači razvijeni su za optimizaciju prodiranja lijeka kroz rožnati sloj. Brojne su prednosti vezikularnih nosača poput kontrole brzine oslobađanja lijeka iz primijenjene formulacije te lokalna primjena lijeka u ciljani sloj kože (2). Vezikularni nosači su pojačivači penetracije lijeka kroz kožu koji su biorazgradivi, netoksični, amfifilni i učinkoviti u modulaciji svojstava oslobađanja lijeka. Učinkovitost im ovisi o fizičko-kemijskim svojstvima poput sastava, veličine, naboja, lamelnosti i o fiziološkim uvjetima na mjestu primjene. Njihovom primjenom moguće je povećati koncentraciju lijeka u različitim slojevima kože, a da se pritom sistemska apsorpcija kao i nuspojave vezane uz nju izbjegnu ili čak smanje (37).

#### **3.3.2.2.1. LIPOSOMI**

Vezikule nanometarskih dimenzija građene od fosfolipida nazivaju se liposomi. Fosfolipidi se u vodenoj (polarnoj sredini) samoorganiziraju u fosfolipidne dvoslojeve sferičnog oblika. Prema unutrašnjosti su usmjereni hidrofobni nepolarni dijelovi molekula fosfolipida, dok su polarne glave fosfolipida usmjerene prema vanjskoj strani sferične lamelarne strukture. Liposomi su ovisno o vrsti fosfolipida i metodama pripreme građeni od jednog (unilamelarni: mali 20 – 100 nm, srednji 100 – 500 nm, veliki > 1000 nm) ili više slojeva (multilamelarni >

100 nm). Hidrofobne tvari uklapaju se u fosfolipidni odjeljak dok se hidrofilne uklapaju u vodeni odjeljak (30). Sastoje se od prirodnih fosfolipida (npr. fosfatidilkolin iz soje ili žumanjka jaja) s ili bez kolesterola (2). Čimbenici koji utječu na prodiranje liposoma u kožu uključuju veličinu, temperaturu pri kojoj se odvija fazni prijelaz, naboj, lamernost i sastav lipida (31). Zbog sposobnosti mijenjanja profila biodistribucije uklopljenih lijekova, liposomi su prihvaćeni kao idealni nosači hidrofilnih i hidrofobnih dermalnih lijekova (2). Liposomi imaju mogućnost stvaranja depoa na mjestu primjene, te mogu kontinuirano oslobađati lijek, a to omogućuje smanjenje doze i učestalosti doziranja.



**Slika 5.** Mehanizam prodiranja liposoma u kožu (31)

Prodiranje liposoma u kožu (Slika 5) može biti posljedica raznih mehanizama koji uključuju (i) koncentracijski gradijent, (ii) primjenu pojačivača penetracije, (iii) mehanizam adhezije ili



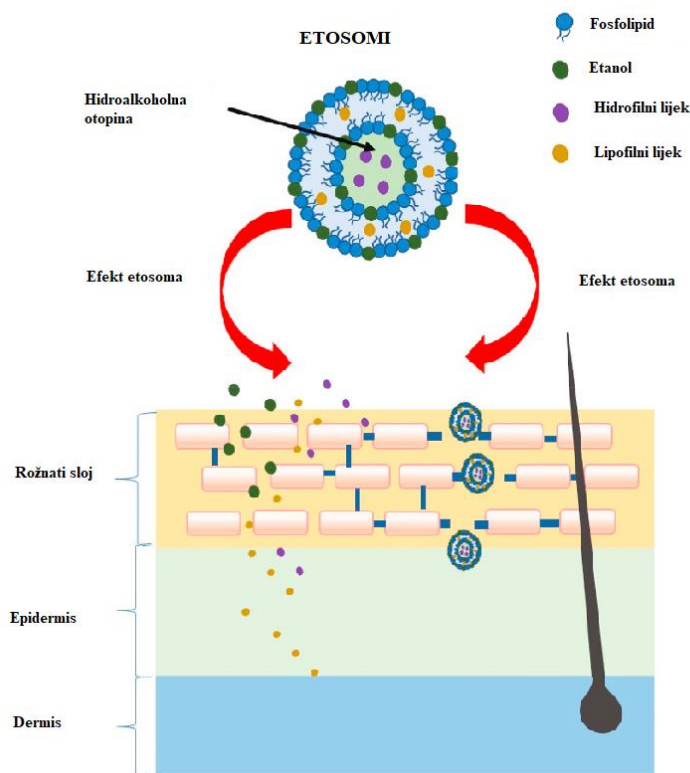
fuzije liposoma, (iv) liposomalni transport te (v) transport kožnim privjescima (31). Prodiranje liposoma u kožu, prije nego dođe do fuzije s međustaničnim lipidima rožnatog sloja, dovodi do taloženja lijeka u tkivu. Tim mehanizmom se liposomi mogu lokalizirati u različite slojeve kože (2).

Biorazgradivost, neimunogesnost i netoksičnost su prednosti liposoma dok su im fizička i/ili kemijska nestabilnost nedostaci. Oblaganje liposoma polietilenglikolom povećava fizičku stabilnost i sprječava agregaciju liposoma pri skladištenju. Kemijska nestabilnost može se izbjeći dodatkom antioksidansa koji sprječavaju oksidaciju fosfolipida te prilagođavanjem pH od 6 do 7 kako bi se spriječila hidroliza fosfolipida (30).

Mikonazol je antifungik sa širokim spektrom djelovanja ali s određenim izazovima u formuliranju topikalnih pripravaka. Elmoslemany i suradnici (38) istraživali su liposome s propilenglikolom kao sustav za isporuku mikonazol-nitrata u usporedbi s konvencionalnim liposomima. Uspoređena su kemijsko-fizikalna svojstva i *in vitro* antifungalna aktivnost obje vrste formulacija liposoma. Nadalje, učinak uklapanja mikonazol-nitrata u liposome propilenglikola na *in vitro* prodiranje lijeka u kožu i zadržavanje u ljudskoj koži procijenjen je u usporedbi s konvencionalnim liposomima i praznim liposomima pomiješanim s lijekom suspendiranim u vodi. Istraživanje je pokazalo da propilenglikol poboljšava isporuku lijeka jer djeluje sinergistički s vezikulama te pridonosi povećanju njihove deformabilnosti (2, 38). Ketokonazol i mikonazol, azolni antifungici u istraživanju De Logu i suradnika, pokazali su drugačije vrijednosti MIC-a ovisno o vrsti korištenih vezikula. Uzrok tome su različite koncentracije fosfolipida, kako se koncentracija fosfolipida povećava dolazi do smanjene aktivnosti antifungika te je dostupnost uklopljenih antifungika manja (2, 39).

### 3.3.2.2.2. ETOSOMI

Etosomi su meke vezikule sastavljene od fosfolipida, vode i etanola. Udio etanola je 20 – 45 % dok je udio fosfolipida između 2 i 5 %. Udio fosfolipida ima utjecaj na veličinu etosoma. Mogu uklopiti hidrofobne i hidrofilne lijekove (5, 31). Visok udio etanola može povećati topljivost lipofilnih lijekova (2). Etanol je poznat kao pojačivač penetracije u kožu jer otapa lipide rožnatog sloja te na taj način pospješuje prodiranje etosoma/lijeka u dublje slojeve kože. Visoka fleksibilnost vezikularnih membrana koja je nastala kao posljedica dodatka etanola omogućuje elastičnim vezikulama da prolaze kroz pore mnogo manjeg promjera nego što je njihov (Slika 6).



**Slika 6.** Mehanizam prodiranja etosoma u kožu (31)

Etosomi su učinkovitiji od konvencionalnih liposoma u smislu količine isporučenog lijeka i dubine prodiranja u kožu. Istraživanja su pokazala da imaju dobru stabilnost pri skladištenju upravo zbog prisutnosti etanola, koji osigurava negativni površinski naboj, a time

elektrostatsku stabilizaciju sustava, odnosno dispergiranost vezikula (40). Prodiranje etosoma u kožu ovisi o mnogo faktora poput veličine čestica, sastavu fosfolipida te koncentracije etanola (31). Etosomi ekonazol-nitrata optimizirani su uklapanjem u gel te su uspoređeni s liposomalnim i hidroetanolnim gelom. Etosomalni gel je pokazao najveći potencijal za topikalnu primjenu. Glavne prednosti etosomalnog gela ekonazol-nitrata su bolja antifungalna aktivnost, kontrolirano oslobađanje lijeka te stabilnost pri skladištenja. Ti rezultati ukazuju na nove mogućnosti primjene ekonazol-nitrata za lokalno liječenje gljivičnih oboljenja (2, 40).

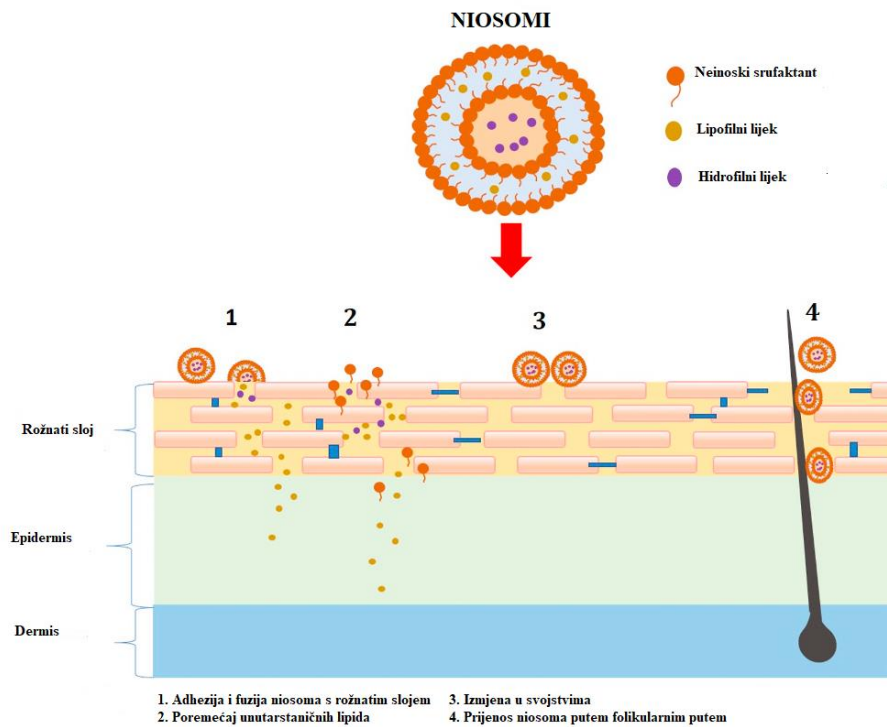
### **3.3.2.2.3. NIOSOMI**

Niosomi su vezikule sastavljene od neionskih površinskih aktivnih tvari, koje uključuju kolesterol kao pomoćnu tvar. Prednosti niosoma u odnosu na liposome jesu veća kemijska stabilnost, niska toksičnost zbog neionske prirode komponenata, niska cijena, praktično skladištenje neionskih površinski aktivnih tvari i velik broj površinski aktivnih tvari dostupnih za dizajn niosoma. Niosomi su veličine između 30 nm i 20 µm. Često je potrebno stabilizirati njihovu površinu kako bi se spriječila agregacija, odnosno povećati njihovu koloidnu stabilnost (37).

Prodiranje niosoma u kožu ovisi o potencijalu površinski aktivnih tvari od kojih su građeni za povećanje penetracije, potom o penetraciji samih vezikula u rožnat sloj, nakupljanju vezikula na površini kože i/ili povećanju termodinamičke aktivnosti lijeka na površini kože. Ti mehanizmi ovise o fizičko-kemijskim svojstvima lijeka, vezikule i korištenih površinski aktivnih tvari (2).

Niosomi s uklopljenim lijekom pranjaju na površinu kože, a kolesterol (koji daje čvrstoću niosomima) je odgovoran za interakciju s kožom. Pranje niosoma na rožnati sloj stvara okluzijske uvjete, odnosno povećava hidrataciju kože a time i njezinu propusnost. Transfolikularni put je jedan od mogućih putova za isporuku lijeka uklopljenog u niosome

(Slika 7) (31). Učinkovitost nisoma ovisi o njihovim fizičko-kemijskim svojstvima, veličini, naboju, lamelarnosti i uvjetima primjene (41).



**Slika 7.** Mehanizam prodiranja niosoma u kožu (31)

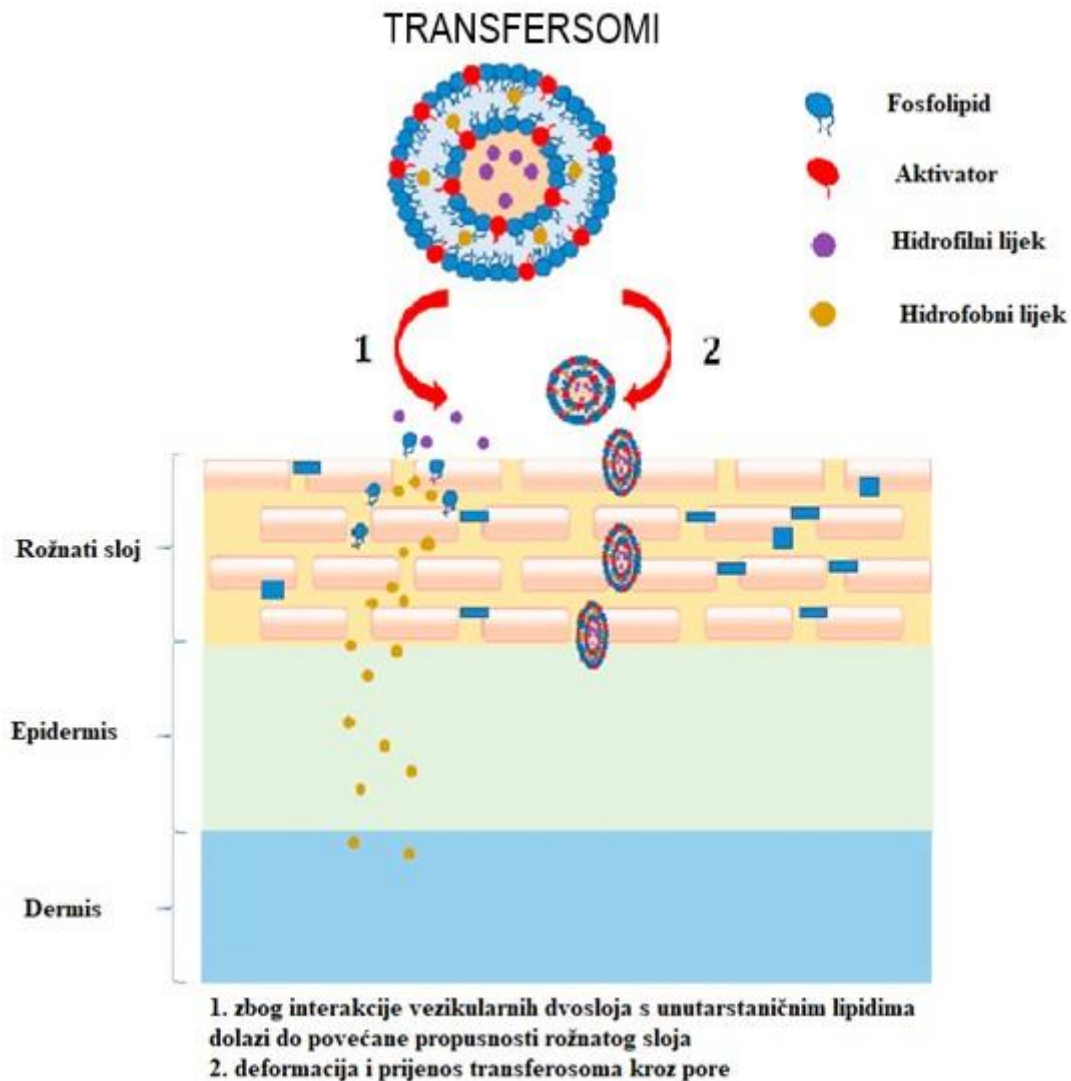
Razvijena je 1 % niosomalna gel formulacija naftifin-hidroklorida. Ona omogućava lokalizaciju lijeka na mjesto infekcije i time povećanu učinkovitost te formulaciju lijeka u obliku hidrogela, u odgovarajućoj koncentraciji, a bez potrebe za suotapalom. Uklapanjem naftifin-hidroklorida u vezikule poboljšana je njegova topljivost te olakšana lokalizirana dostava i odlaganje na mjestu djelovanja. Ta formulacija naftifina pokazala je veliki potencijal za topikalnu antifungalnu terapiju (42). U istraživanju Shirsand i suradnika (41) ispitivana je učinkovitost topikalne primjene ketokonazola, antifungalnog lijeka s puno nuspojava, u obliku niosomalnog gela. Niosomalni oblik ketokonazola trebao bi povećati vrijeme

zadržavanja lijeka u rožnatom sloju i epidermisu uz smanjenu sistemska apsorpciju. Zaključak je istraživanja da gel formulacija koja sadrži niosome s uklopljenim ketokonazolom ima produljeno djelovanje u usporedbi s formulacijom koja sadrži ketokonazol u neniosomskom obliku (41). Niosomi s uklopljenim flukonazolom, građeni od Span-a 40, Span-a 60 i Brij-a 72, formulirani su metodom hidratacije suhog filma. *In vitro* studije permeabilnosti i retencije u koži pokazale su da niosomi stvaraju lokalizirane depoe lijeka u koži, što omogućuje produljeno oslobađanje lijek i produljeno djelovanje (43).

#### **3.3.2.2.4. TRANSFERSOMI**

Transfersomima se nazivaju visoko deformabilni ili elastični liposomi. Sastoje se od fosfolipida i surfaktanta koji im osigurava elastičnost te im pomaže u dubljem prodoru u kožu (2). Slični su liposomima s obzirom na strukturalna svojstva i način pripreme, no razlikuju se po mehanizmu prodora i mogućnosti promjene oblika pri istom. Za mogućnost promjene oblika odgovorni su rubni aktivatori koji su uglavnom jednolančani surfaktanti poput natrij-kolata, natrij-deoksikolata i slično. Fizičko-kemijska svojstva poput veličine, učinkovitosti uklapanja lijeka i površinskog naboja pod utjecajem su rubnih aktivatora i njihovog omjera prema fosfolipidima. Kod manjeg omjera udjela rubnih aktivatora u odnosu na fosfolipide transfersomi su kruti, dok pri većem udjelu aktivatora u odnosu na fosfolipide postaju dovoljno elastični da mogu prolaziti kroz vrlo uske prolaze i ugurati se u kožne dodatke, a da se pritom ne oštete. Dva su mehanizma prodiranja transfersoma u kožu (Slika 8). Prvi se mehanizam oslanja na fleksibilnu strukturu transfersoma te je pretpostavljeno da se u dodiru s kožom vezikule deformiraju i istiskuju kroz intersticijski prostor između keratiniziranih stanica rožnatog sloja. Kako je rožnati sloj u usporedbi s dubljim slojevima epidermisa razmjerno suh, postoji hidratacijski gradijent između slojeva epidermisa koji omogućava prodor transfersoma u dublje slojeve. Drugi mehanizam sugerira da rubni aktivatori smanjuju međufaznu napetost između transfersoma i kožnih lipida što omogućava prijenos

transfersoma kroz međustanične lipidne domene. Razni su čimbenici poput veličine čestica, vrste i količine rubnog aktivatora, vrste i količine fosfolipida te površinskog naboja koji utječu na permeabilnost kože za transfersome (31).



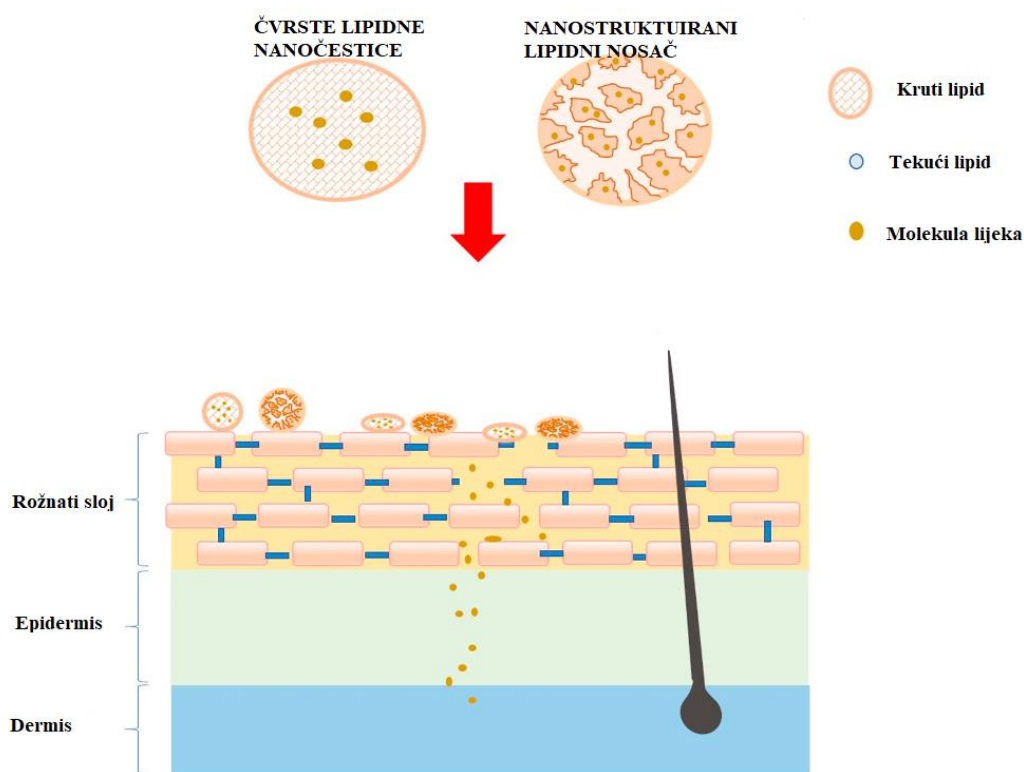
**Slika 8.** Mehanizam prodiranja transfersoma u kožu (31)

U istraživanju Abdellatif i suradnika (44) proučavani su nanovezikularni sustavi sertakonazol-nitrata za topikalnu primjenu. Transfersomski gel s sertakonazol-nitratom pokazao je vrhunske karakteristike s malom veličinom vezikula, visokom učinkovitosti te učinkovitijim

zadržavanjem u slojevima kože u odnosu na komercijalnu kremu. Studije *in vitro*, *ex vivo* i *in vivo* pokazale su da je razvijen transfersomski gel lokalizirao lijek u slojevima kože te pokazao superiorno antifungalno djelovanje na gljivične infekcije kože izazvane *C. albicans* (44).

### 3.3.2.3. ČESTIČNI NANOSUSTAVI

Lipidne nanočestice kao što su čvrste lipidne nanočestice (SLN) i nanostrukturirani lipidni nosači (NLC) postali su zanimljivi za primjenu u lokalnom liječenju gljivičnih infekcija jer olakšavaju prodor lijeka u kožu (Slika 9) (2).



**Slika 9.** Mehanizam prodiranja čvrstih lipidnih nanočestica (SLN) i nanostrukturiranih lipidnih nosača (NLC) u kožu (31)

Pomoću tih nosača moguće je kontrolirano oslobađanje mnogih bioaktivnih tvari. Količinu lijeka koja prodire kroz rožnati sloj može povećati mala veličina lipidnih čestica koja osigurava blizak kontakt s rožnatim slojem (45).

### 3.3.2.3.1. ČVRSTE LIPIDNE NANOČESTICE (SLN)

Čvrste lipidne nanočestice (SLN) pripravlja se taljenjem čvrstih lipida ili smjese čvrstih lipida (2). Lipidi koji se koriste za stvaranje nanočestica čvrsti su pri sobnoj temperaturi i sposobni su uklapati hidrofilne i hidrofobne lijekove. SLN se sastoje od čvrstih lipida poput triglicerida, masnih kiselina, djelomičnih glicerida, voskova i steroida u rasponu od 0,1 do 30 %. Suspendirani su u vodenoj fazi i stabilizirani surfaktantima kao što su fosfolipidi, poloksameri, esteri sorbitana i drugi koji se koriste u rasponu koncentracija 0,5 – 5 % . Prosječna veličina SLN-a kreće se između 50 i 1000 nm. Neke od prednosti SLN-a jesu zaštita aktivnih tvari od kemijske razgradnje i metabolizma nakon inkapsulacije u SLN, veći kapacitet uklapanja lipofilnih tvari, kontrolirano oslobađanje te poboljšano prodiranje i zadržavanje u koži, posebno u folikulama dlaka. Adhezivnost SLN-a odgovorna je za prodiranje i zadržavanje lijeka u koži. Lipidi stupaju u interakciju s rožnatim slojem te je olakšano prodiranje lijeka. Na adheziju utječe i veličina čestica. Smanjenje veličine čestica dovodi do povećane adhezije i površine koja je u kontaktu s kožom te tako i do povećanja prodiranja lijeka u kožu. Lipidni film na površini kože, koji nastaje nanošenjem SLN-a, pomaže obnovi lipidnog filma kože u bolesnim stanjima te pruža okluzivni učinak. Upravo taj okluzivni učinak dovodi do povećane hidratacije rožnatog sloja, te se gusto zbijene stanice korneocita odmiču jedna od druge i tako dolazi do poboljšanog prodora lijeka u dublje slojeve kože. Čimbenici, poput veličine čestica, površinskog naboja, sastava lipida, vrste i koncentracije surfaktanata, utječu na propusnost kože (31). SLN imaju nekoliko nedostataka uključujući slabu sposobnost uklapanja lijeka i istiskivanje lijeka tijekom skladištenja (46).

Čvrste lipidne nanočestice ekozanol-nitrata za topikalnu primjenu na kožu napravljene su metodom homogenizacije koristeći se različitim omjerima lipida i lijeka (5:1 i 10:1) (47). U *ex-vivo* testovima pokazano je da mogu kontrolirati oslobađanje lijeka, a brzina oslobađanja lijeka ovisila je o sadržaju lipida u nanočesticama. *In vitro* studija pokazala je da SLN potiču



brzo prodiranje ekonazol-nitrata kroz rožnati sloj 1 sat nakon primjene te da je poboljšana difuzija lijeka u dublje slojeve kože 3 sata nakon primjene. Rezultati *in vivo* sugeriraju da SLN s nižom koncentracijom lipida poboljšavaju brzinu prodora u kožu kroz kraći period nakon nanošenja te kao takvi mogu biti koristani za dostavu lijekova na određena područja u koži (47). U istraživanju usmjerenom na razvoj i evaluaciju formulacije SLN-a terbinafin hidroklorida dokazano je da primjenom te formulacije dolazi do usmjeravanja lijeka u kožu, čime se smanjuje sistemska apsorpcija lijeka i nuspojave. U usporedbi s komercijalnim proizvodima dokazana je veća učinkovitost te smanjenje gljivične infekcije u kraćem periodu (48).

### **3.3.2.3.2. NANOSTRUKTURIRANI LIPIDNI NOSAČI (NLC)**

Nanostrukturirani lipidni nosači (NLC) sastoje se od heterogenog lipidnog matriksa (čvrstog pri sobnoj i tjelesnoj temperaturi) sastavljenog od čvrstih lipida (sličnih onima SLN-a) i tekućih lipida poput kaprilnih/kaprinskih triglicerida, lauril-polioksiglicerida, monoacil-glicerola i drugih koji se miješaju u raznim omjerima sa površinski aktivnim tvarima (koncentracija u rasponu između 1,5 i 5 %), što dovodi do boljeg uklapanja lijeka, modulacije oslobađanja lijeka i dugoročne stabilnosti (31, 46). U usporedbi sa SLN-icama, NLC sadrže tekuće lipide koji smanjuju kristalizaciju čvrstih lipida i ometaju rast kristala te na taj način sprječavaju nestabilnost sustava i istiskivanje lijeka. Kako su NLC čestice nano veličine, osiguravaju veliku kontaktnu površinu s rožnatim slojem nakon primjene na kožu te nastajanje hidrationskog gradijenta što omogućuje povećano prodiranje lijeka. Na dostavu lijeka putem NLC-a utječe nekoliko faktora uključujući veličinu čestica, tip i koncentraciju surfaktanta, naboj površine NLC-a te vrstu lipida (31). U istraživanju Gupta i Vyas (45) napravljeni su sustavi SLN-a i NLC-a s flukonazolom s ciljem pronalaska najefikasnijeg sustava za njegovu topikalnu primjenu. Istraživana je lokalizacija flukonazola u raznim slojevima kože, zadržavanje lijeka te učinak flukonazola na eradikaciju *Candida*. NLC su

omogućili poboljšano zadržavanje lijeka i višu razinu lokalizacije s kontinuiranim i kontroliranim oslobađanjem flukonazola. Pokazana je i dobra sposobnost nakupljanja u različitim slojevima kože bez transdermalne isporuke uz stvaranje depo-efekta i maksimalna terapijska antifungalna učinkovitost (45). Lulikonazol, noviji imidazolski antifungik korišten za infekciju uzrokovanu *Candidom* i *Trichophyton spp.* (djeluje i na sojeve otporne na flukonazol) na tržištu je dostupan u obliku 1 % kreme. Zbog niske topljivosti u vodenom mediju smanjena mu je klinička učinkovitost i dermalna bioraspoloživost. Bolja djelotvornost NLC gela lulikonazola u usporedbi s kontrolnom grupom i tržišnom lulikonazol kremom dokazana je većom zonom inhibicije NLC gela protiv *Trichophyton rubrum*. *Ex-vivo* studija pokazala je da NLC gel pokazuje veće zadržavanje na koži (49).

#### **3.3.2.4. POLIMERNI NOSAČI**

Polimerne nanočestice su čvrste koloidne čestice, sastoje od polimera koji su dobiveni iz prirodnih, sintetskih ili polusintetskih izvora te mogu biti biorazgradive. Istraživan je velik broj nanonosaa sa svrhom poboljšanja prodora lijeka kroz rožnati sloj kože, kontroliranog i produljenog oslobađanja te poboljšane učinkovitost lokalnog liječenja. Prema strukturi, odnosno prema proizvodnim i „arhitektonskim“ metodama, polimerne nanočestice dijele se na nanosfere (matriksni sustavi), nanokapsule (spremišni sustavi) i polimerne micidele (asocijacijski koloidi).

Nanokapsule su koloidne čestice s jezgrom koja je tekuća ili polučvrsta pri sobnoj temperaturi okružena čvrstom polimernom ovojnicom. Lipofilno otapalo, obično ulje, čini jezgru nanokapsule u koju su uklopljeni hidrofobni lijekovi. Nanosfere su čvrste nanočestice tipa koloidnog matriksa u kojem je djelatna tvar više ili manje homogeno raspršena, a može biti i adsorbirana na površini čestica. Ugradnjom antifungalnih lijekova u nanosfere i nanokapsule produljuje se njihovo oslobađanje, povećava antifungalna aktivnost te smanjuje toksičnost.

Polimerne micelle su specifična klasa micela. Čine ih najčešće kopolimeri koji se sastoje od hidrofilnih i hidrofobnih blokova monomernih jedinica (blok kopolimeri). Oni se samoorganiziraju u vodenom mediju pri čemu se hidrofobni dio otklanja od vode i čini jezgru a hidrofilni dio se okreće prema vodi i čini ovojnica/plašt koji nazivamo i koronom. Jezgra ima sposobnost solubilizacije slabo topljivih lijekova dok je plašt mjesto za smještaj hidrofilnih spojeva (6). Polimerne micelle su zbog solubilizacijskog kapaciteta, biorazgradivosti i/ili biokompatibilnosti jedna od najperspektivnijih platformi za dostavu lijekova. Mogu ciljati određena tkiva u tijelu i postići visoke koncentracije lijeka u tumorskim i upalnim tkivima te povećati učinkovitost antifungalnih lijekova. Imaju specifičnu sposobnost uklapanja hidrofilnih sastojaka, te mogu poboljšati terapijsku učinkovitost i minimizirati sistemske nuspojave lijekova (46).

U istraživanju El-Sheridy i suradnika (50) uspoređivana je učinkovitost itraconazola uklopljenog u nanostrukturirane lipidne nosače i u lipidne nanokapsule. Oba nosača su pokazala visoku učinkovitost uklapanja. Znatno manja veličina čestica (oko 50 naspram 155 nm), uža raspodjela veličina (0,09 naspram 0,38), brža početna brzina oslobađanja pri uvjetima osigurane topljivosti te veća in vitro antifungalna aktivnost protiv *C. albicans* (zona inhibicije 29,4 naspram 26,4 mm) pokazana je za lipidne nanokapsule s itraconazolom. Oba nosača su u usporedbi s konvencionalnim gelom pokazala pobošaljno dermalno zadržavanje itraconazola. Rezultati studije pokazuju učinkovitost itraconazola kao topikalnog antifungalnog sredstva i njegovu pojačanu lokalnu antifungalnu aktivnosti kad je uklopljen u lipidne nanokapsule (50).

### 3.3.3. KOMBINACIJA S KORTIKOSTEROIDIMA

Upalna komponenta gljivične infekcije često može pogoršati stanje i ometati liječenje. Kombinacija lokalnog antifungika i kortikosteroida predstavlja potencijalno iznimno korisnu strategiju liječenja gljivične infekcije. Antifungici se često kombiniraju s kortikosteroidima različite jačine kako bi se istovremeno ublažila upala, smanjio ciklus grebanja, ograničilo širenje i posljedično suzbila gljivična infekcija.

Tijekom površinske mikoze ili dermatomikoze razgradnja keratina izaziva koži specifičan imunski odgovor. Dolazi do oslobađanja proupalnih medijatora poput čimbenika tumorske nekroze (TNF) i interleukina 6 (IL-6), što uzrokuje upalne simptome poput svrbeža, eritema, oticanja i peckanja na mjestu infekcije. Koža postaje oštećena, ugrožena i podložna sekundarnim gljivičnim ili bakterijskim infekcijama ili bakterijskim superinfekcijama. Primjenom kortikosteroida dolazi do smanjenja upale i svrbeža. Lokalno primijenjeni kortikosteroidi mogu smanjiti širenje infekcije i rizik od sekundarne infekcije i u konačnici rezultirati bržim i poželjnijim kliničkim ishodom. Za lokalizirane upalne, površinske gljivične infekcije tijela (isključujući dijelove tijela s tanjom kožom poput lica i prepona) i stopala početna primjena lokalnog antifungika i kortikosteroida je dva puta dnevno u trajanju od 1 – 2 tjedna, nakon čega slijedi liječenje samo topikalnim antifungikom. Za blage do umjerene upalne infekcije koristi se antifungik, po mogućnosti azoli poput mikonazola ili klotrimazola u kombinaciji s blagim do umjerenim kortikosteroidom poput hidrokortizona (koji je siguran kod primjene u pedijatriji), dok se za jače upalne infekcije koriste diflukortolon, betametazon ili klobetazol. Kako bi se smanjio rizik bakterijskih superinfekcija neke od topikalnih kombinacija sadrže i antibakterijsku komponentu poput neomicina ili gentamicina.

Idealna kombinacija antifungika i kortikosteroida mora dati brz i učinkovit protuupalni odgovor, imati visoku stopu rezolucije i nisku stopu relapsa, imati visoku suradljivost

bolesnika, kratko vrijeme primjene, bez ili uz minimalne nuspojave. Izbor kombinacije treba biti specifičan i prilagođen individualnim potrebama i mora se koristiti na odgovarajući način i u skladu s preporukama i smjernicama za liječenje (7, 51).

Kada je prisutna upala i/ili jak svrbež, liječenje može započeti kombiniranom terapijom topikalnog antifungika i kortikosteroida kako bi se smanjili simptomi upale, nakon čega slijedi titracija doze na niže pa sve do monoterapije antifungikom. Primjenom kortikosteroida postoji mogućnost razvoja atrofije kože i visoke osjetljivosti na bakterijske superinfekcije. Odabirom lokalnog kortikosteroida s dokazanim sigurnosnim profilom i dodavanjem lokalnog antifungika možemo smanjiti rizik od nastanka nuspojava. Primjer kombinirane terapije je izokonazol-nitrat (ISN) s diflukortolonvaleratom (DFV) koji kroz trotjednu primjenu nisu pokazali oštećenja kožne barijere te je sistemska apsorpcija kortikosteroida vrlo niska. Navedene činjenice čine kombinaciju ISN-a i DFV-a korisnom opcijom za bolesnike s upalnim dermatomikozama. Ta kombinacija iskorjenjuje uzročnika i potiče brzo poboljšanje simptoma pruritusa što naposljetku pridonosi poticanju pacijenata pridržavanju terapije. DFV kao monoterapija ima nizak potencijal za razvoj atrofije i teleangiektazije u usporedbi s drugim lokalnim kortikosteroidima (npr. betametazon-17-valerat, betametazon-17-21-dipropionat, fluocinolon acetonid, triamcinolon aceponat, halcinonid i klobetazon-17-valerat). Kombinacija DFV-a s ISN-om povećava bioraspoloživost antifungalnog agensa, produljujući tako njegovo fungicidno djelovanje. Rizik od iritacije i alergijskog kontaktnog dermatitisa povezan s nekim lokalnim antifungicima također može biti smanjen primjenom kortikosteroidne komponente. Smanjenjem pruritusa i češanja smanjuje se i rizik od bakterijske superinfekcije (52).

Kombinacija klotrimazola i betametazona se pokazala djelotvorna za *Tinea cruris* i *Tinea corporis* u dvije randomizirane studije. U bolesnika s *Tinea cruris* ispitivana je kombinacija 1 % klotrimazola i 0,05 % betametazon-dipropionata u odnosu na svaku od pojedinačnih

komponenti. Kombinirana terapija pokazala se učinkovitijom od pojedinačnih komponenti. U drugoj studiji se uspoređivala djelotvornost i sigurnost 1 % klotrimazola i 0,05 % betametazon-dipropionata u odnosu na svaku od pojedinačnih komponenti kod bolesnika s *Tinea cruris* ili *Tinea corporis*. Terapija je trajala dva tjedna a primjena lijeka bila je dva puta dnevno. Nakon dva tjedna, skupina s kombiniranom terapijom imala je povećano povlačenje znakova i simptoma povezanih s infekcijom u usporedbi s pojedinačno primijenjenim komponentama. U sve tri terapijske skupine nije bilo neželjenih događaja te je utvrđeno da je njihova primjena sigurna. Međutim potreban je oprez kod dugotrajne primjene (> 2 tjedna) betametazona, osobito u području prepona (razvoj nuspojava poput pečenja na mjestu primjene, suhoće, svrbeži, stanjivanja kože te nastanak strija) (53).

### **3.3.4. LOKALIZACIJA I SPECIFIČNOST PRIMJENE TOPIKALNIH ANTIFUNGIKA**

#### **3.4.1. DERMATOMIKOZE**

Površinske gljivične infekcije zahvaćaju 20 % – 25 % svjetske populacije (54). Dermatomikoze su bolesti kože i adneksa (vlasište, nokti) uzrokovane gljivama. Dermatomikoze se mogu podijeliti u: a) dermatomikoze uzrokovane dermatofitima ili dermatofitoze, b) dermatomikoze uzrokovane kvascima i c) dermatomikoze uzrokovane plijesnima (55). Najčešća infekcija je dermatofitoza, uzrokovana dermatofitima, ali značajnu ulogu imaju i neki kvasci poput *M. furfur* i *Candida spp.* (56). Dermatofiti, kao najčešći uzročnici rasprostranjeni su svugdje. Neke vrste gljiva prirodno žive u tlu (geofilne gljive) ili parazitiraju na životinjama (zoofilne gljive), odnosno samo na čovjeku (antropofilne gljive). Sve tri vrste mogu biti uzročnici bolesti u čovjeka. Najjaču upalnu reakciju uzrokuju zoofilne gljive, što se manifestira akutnim tijekom bolesti (55). Za dijagnozu gljivičnih infekcija kože

potrebna je mikroskopska laboratorijska pretraga tkiva kako bi se otkrila prisutnost gljiva i kultura kako bi se omogućila identifikacija patogena (54). Dermatofiti patogeni za čovjeka dijele se na sljedeća tri roda: *Trichophyton* (uzrokuje infekcije kože, kose i noktiju), *Microsporum* (uzrokuje infekcije kože i kose) i *Epidermophyton* (uzrokuje infekcije kože i noktiju) (57). Neki autori dijele dermatofitoze prema anatomskoj lokaciji promjena bez obzira na rod dermatofita koji ih uzrokuje (*Tinea pedis*, *Tinea corporis* i slično, tablica 2) (54). U liječenju se koristi velik broj antifungika u različitim oblicima poput masti, kreme, posipa ili otopine. To su uglavnom derivati imidazola (klotrimazol, mikonazol, ekonazol) i alilamina (terbinafin). Dva puta dnevno kroz 2 do 4 tjedna je prosječno korištenje lokalne terapije. U slučaju upalnih ili sekundarno inficiranih promjena potrebno je dodatno protuupalno i antibiotsko liječenje (55).

U meta analizi koju su proveli Rotta i suradnici (56), uspoređivani su azoli (bifonazol, klotrimazol, ekonazol, ketokonazol, mikonazol, oksikonazol, sertakonazol i tiokonazol) s placebo. Koncentracije uspoređivanih azola su bile 1 – 2 % i primjenjivani su 2 – 6 tjedana. Utvrđena je djelotvornost azola u tim koncentracijama i tom periodu primjene u usporedbi s placebo. Nije nađena statistički značajna razlika među antifungicima u pogledu ishoda mikološkog liječenja. U istoj analizi uspoređeni su alilamini (naftifin i terbinafin) u koncentraciji od 1 – 3 % koji su primjenjivani 1 – 4 tjedna. Utvrđena je djelotvornost alilamina u usporedbi s placebo. Kod usporedbe azola i alilamina nešto bolje djelovanje je utvrđeno za alilamine, terbinafin i naftifin (koncentracije 1 – 2 % i trajanja liječenja 1 – 6 tjedana) u odnosu na azole, klotrimazol, bifonazol, ekonazol, fentikonazol, mikonazol i oksikonazol (koncentracije 1 – 2 % i trajanja liječenja 2 – 6 tjedana). Iako je utvrđeno nešto bolje djelovanje nisu nađeni isključivi dokazi da je liječenje alilaminima superiornije u odnosu na liječenje azolima. Kako je liječenje azolima jeftinije oni su i dalje preporučeni kao prva linija liječenja, a u slučaju neuspješnog liječenja prelazi se na liječenje alilaminima. No

za potvrdu te preporuke potrebno je provesti farmakoekonomske studije za procjenu stvarnog omjera cijene i učinkovitosti pojedine terapijske opcije (56).

Glavni problemi topikalne terapije i razlozi neuspjeha su loše pridržavanje liječenja, ponovna infekcija iz bliskog kontakta, otpornost na lijekove, pogrešna dijagnoza i infekcija neuobičajenim vrstama.

**Tablica 2.** Površinske mikoze, uzročnici i česte kliničke manifestacije (54)

TKIVO	INFEKCIJA	UZROK	KLINIČKE ZNAČAJKE
KOSA	Crna Piedra	<i>Piedraia horteae</i>	Tamne, tvrde kvržice na dlaci
	Bijela Piedra	<i>Trichosporon</i> kvasci	Bijele, meke kvržice na dlaci
	<i>Tinea capitis</i>	Dermatofiti, uglavnom <i>Trichophyton</i> i <i>Microsporum</i> vrste	Ljuskanje, svrbež, eritem, gubitak kose, slomljena kosa na ili neposredno iznad površine vlasišta, može dovesti do upalne lezije
NOKAT	<i>Tinea unguium</i>	Dermatofiti, uglavnom <i>Trichophyton</i> i <i>Epidermophyton</i> vrste	Diskoloracija, hiperkeratoza i pruge
	Onikomikoza	termin koji obilježava bilo koju infekciju uzrokovanu gljivicama	Diskoloracija, pruge i hiperkeratoza, paronihija, oniholiza
	<i>Candida</i>	vrste roda <i>Candida</i>	Paronihija, oniholiza i diskoloracija
KOŽA	<i>Tinea</i>	vrste roda <i>Dermatophyte</i>	Ljuskanje, eritem, prisutnost uzdignutog prednjeg ruba iza kojeg se nazire koža koja je zacijelila. Svrbež
	<i>Candida</i>	vrste roda <i>Candida</i>	Ljuskanje, eritem, maceracija, satelitske lezije koje se formiraju dalje od ruba lezije, može biti bolno
	<i>Pityriasis versicolor</i>	vrste roda <i>Malassezia</i>	Ljuštenje, hipo/hiperpigmentacija, svrbež
	<i>Tinea nigra</i>	<i>Hortea werneckii</i>	Ljuštenje, tamna diskoloracija



Kod upaljenih lezija upotreba kombinacije antifungika i kortikosteroida je preporučena, jer je dokazano istraživanjima da dodatak topikalnog kortikosteroida povećava bioraspoloživost topikalnog antifungika (uglavnom imidazola) te bolje simptomatsko olakšanje simptoma. Zbog česte zlouporabe kortikosteroida, teži se primjeni sertakonazola i lulikonazola koji imaju protuupalna svojstva (57). Razlika između pojedinih topikalnih antimikotika je uglavnom u učestalosti primjene i duljini trajanja liječenja. Poboljšana bioraspoloživost i bolji terapijski odgovor se postiže korištenjem čestičnih terapijskih sustava kod kojih je lijek vezan za ili uklopljen u čestice/nosače poput micela nanostrukturiranih lipidnih nosača i vezikularnih sustava kao što su liposomi, niosomi, transfersomi, etosomi ili mikro- i nano-emulzija koji pospješuju penetraciju lijeka.

### **3.4.2. VULVOVAGINOZE**

Vulvovaginalna kandidijaza (VVC) je gljivična infekcija koju karakterizira upala vulvarnog i vaginalnog epitela (58), a koja se može proširiti izvan malih usana, velikih usana do interkruralne i perianalne regije (59). Jednu epizodu vulvovaginalne kandidijaze tijekom svog života ima do 75 % žena (najčešće tijekom reproduktivnih godina), dok njih 40 – 45 % imaju dvije ili više epizoda (60). Rekurentna vulvovaginalna kandidijaza (RVVC) definirana je kao  $\geq 3$  simptomatske akutne epizode VVC-a unutar razdoblja od 12 mjeseci. Potvrđeno je da je *C. albicans* odgovorna za 85 – 95 % VVC infekcija i za većinu infekcija RVVC također (58). Određeni čimbenici mogu potaknuti sporadične VVC i povezani su s povećanim rizikom ponovne VVC (npr. nekontrolirani dijabetes melitus, trudnoća, uporaba oralnih kontraceptiva, kortikosteroidna ili druga imunosupresivna terapija, ponavljani ciklusi topikalnih ili sistemskih antibakterijskih lijekova i ostalo). Infekcija vagine ili vulve može izazvati jak svrbež, peckanje, bol, iritaciju i bjelkasti iscjedak nalik svježem siru. U liječenju VVC-a lokalni antifungici primjenjuju se jednom dnevno prije spavanja 1 do 7 dana za redom. Kreme se primjenjuju u količini od oko 5 grama, a 3 – 10 % vaginalno primijenjenog lijeka se

apsorbira (60). Za liječenje VVC-a koriste se azoli (inhibiraju pretvorbu lanosterola u ergosterol), polieni (s ergosterolom membrane kvasaca čine komplekse te dolazi do povećane propusnosti membrane) i ciklopirokosolaminom (keliranjem dolazi do inhibicije važnog enzima ovisnog o željezu), dok se kod RVVC-e uvodi i oralna terapija flukonazolom (59). Za liječenje *C. albicans* najčešće se koriste azoli, dok kod infekcija koje su uzrokovane takozvanim ne-albicans vrstama (*C. glabrata*, *C. tropicalis* i *C. dubliniensis*) javlja se lošiji odgovor na liječenje azolnim antifungicima (61). Mikonazol se primjenjuje u obliku kreme dva puta dnevno. Manje od 1 % primijenjenog mikonazola se apsorbira u krv (60). Kod liječenja gljivične infekcije spolnih organa klotrimazol se treba primjenjivati 1 - 2 tjedna (11).

### **3.4.3. OTOMIKOZE**

Infekcija zvukovoda, otitis eksterna u 10 % slučajeva može biti uzrokovana gljivičnom infekcijom (otomikozom). Gljivične infekcije uha mogu biti akutne ili subakutne te izazvati upalu i svrbež. Incidencija otomikoze najveća je u toplim i vlažnim periodima tijekom godine a najmanja tijekom zime. Najčešći uzročnik su gljivice roda *Candida* i *Aspergillus*. U ranoj fazi infekcije *Candidom* dolazi do prekomjerne eksudacije dok kasnu fazu karakterizira granulomatozna upala. Upala može biti asimptomatska, no gljivice se mogu razmnožavati i nakupljati se, stvarajući mase koje mogu blokirati vanjski slušni kanal i time uzrokovati osjećaj začepljenosti. Pogoršanjem stanja može doći do zahvaćenosti bubnjića, što dovodi do oštećenja sluha, tinitusa te vrtoglavica. Lijekovi protiv gljivica poput klotrimazola ili terbinafina, povezani su s manje komplikacija i imaju bolju stopu izlječenja, ali suradljivost pacijenata je mala s obzirom na to da ne dolazi dovoljno brzo do smanjenja boli u uhu. Tradicionalni antiseptici, poput borne kiseline, povezani su s komplikacijama koje utječu na suradljivost i završetak liječenja (62). Kod dugotrajnog liječenja *otitisa externe* uzrokovanog bakterijama, topikalnom prijemnom antibakterijskih kapi dolazi do promjena u flori uha i dolazi do proliferacije gljivica i otomikoze. Za liječenje gljivične infekcije uha dostupno je 6

glavnih vrsta lijekova: azoli, polieni, nukleozidni analozi, ehinokandini, antiseptici i hidoksikinoloni. Topikalni azoli su zbog njihove dostupnosti, niskog rizika ototoksičnosti i niske stope razvoja rezistencije najčešće korišteni. Najčešće primjenjivan topikalni azol za liječenje otomikoze je klotrimazol. U koncentraciji od 1 % dolazi u obliku kapi ili kreme a primjenjuje se od nekoliko dana do četiri tjedna. Od ostalih azola u liječenju otomikoze mogu se koristiti i bifonazol, eberkonazol, flukonazol ili mikonazol. Topikalni azoli sigurni su za primjenu i kada je došlo do perforacije bubnjića. Tijekom liječenja otomikoze uobičajena je praksa ukloniti ostatke iz ušnog kanala, odnosno primijeniti mikrosukciju ili suho brisanje neposredno prije primjene lokalnog lijeka (63). U liječenju se također koriste alilamini poput terbinafina i naftifina, zatim nistatin u kombinaciji s oksitetraciklinom, polimiksinom B te deksametazonom i ciklopiroksolamin. Antifungalne masti i kreme imaju jasne prednosti u odnosu na tekuće formulacije. Zbog veće viskoznosti, kreme ostaju duže na površini kože i smatraju se sigurnije za upotrebu kod pacijenata s perforiranim bubnjićima, zbog manje vjerojatnosti da lijek uđe u uho. Kod primjene tekućih formulacija antimikotika preporuka je namočiti vatu ili gazu u otopinu i ostaviti ih u ušnom kanalu 5 – 10 minuta, 2 – 4 puta dnevno. Ključno je uspostaviti fiziološke uvjete u zvukovodu izbjegavanjem pretjerane uporabe lokalnih lijekova te zaštititi zvukovod od daljnjih oštećenja koja bi mogla narušiti lokalnu homeostazu. Zbog nedostatka službenih smjernica liječenja otomikoze dolazi do razilaženja mišljenja stručnjaka o optimalnom liječenju otomikoza i trajanju samog. Pažljivo razmatranje dokaza, klinička prosudba i pojedinačni pristup pacijentu presudni su u odabiru optimalne terapije (64).

#### **3.4.4. OFTALMIČKE MIKOZE**

Godišnje od gljivičnih infekcija oka oboli više od milijun ljudi diljem svijeta sa značajnim porastom u prošlom desetljeću. Keratitis (infekcija rožnice) najčešći je oblik no zahvaćene mogu biti i orbita, kapci, suzni aparat, konjunktiva, bjeloočnica te intraokularne strukture

(endoftalmitis). Ove oftalmološke bolesti su vrlo raširene u zemljama u razvoju s nižim srednjim dohotkom s vrućom i vlažnom klimom. Najčešći uzročnici su gljive roda *Fusarium*, *Aspergillus* te *Candida*. Iako je kontaminacija iz okoliša moguća, potreban je predisponirajući faktor da bi došlo do infekcije. Trauma oka, bilo biljnog porijekla ili kontaminirano strano tijelo, upotreba kontaktnih leća (oštećenje rožnice ili kontaminacija otopine za pohranu), oftalmološka kirurgija, očne bolesti te terapija kortikosteroidima samo su neki od mogućih uzroka nastanka gljivične infekcije. U liječenju gljivičnih oftalmoloških infekcija preferiran put primjene lijeka je topikalni zbog visoke suradljivosti pacijenata, jednostavnosti upotrebe, neinvazivnosti, bezbolnosti te smanjenih nuspojava i selektivnog liječenja prednje komore oka. Izazovi poput niske razine prodiranja lijeka kroz različite slojeve oka, činjenice da spojevi molekulske mase  $> 500$  Daltona (Da) jedva prodiru kroz netaknuti epitel rožnice, visoka učestalost primjene, kratko vrijeme zadržavanja i toksičnost uzrokovana dugotrajnom primjenom nisu zanemarivi. Natamicin u obliku 5 % otopine koristi se kao prva linija liječenja. Topikalna 5 % suspenzija iako viskozna ima bolju podnošljivost u usporedbi s ostalim antifungicima te ne uzrokuje bol i sekundarna oštećenja rožnice. Koristi se za površinska oboljenja oka. Amfotericin B koristi se u obliku za sistemsku primjenu, obliku 0,15 % otopine u sterilnoj vodi te 0,5 – 2,0 % masti. Zbog velike molekularne težine i niske topljivosti u vodi dolazi do većih poteškoća u prodiranju kroz rožnicu i krv-mrežnica barijeru. Primjena amfotericina B kroz kolagenske leće može poboljšati usklađenost i osigurati konstantnu brzinu isporuke lijeka kod mikotičnog keratitisa. Od azola u liječenju gljivičnih oboljenja oka koristi se flukonazol, u obliku 0,1 % otopine i/ili oralno te vorikonazol u obliku 1 – 2 % otopine, oralno, intrastromalno, intrakameralno ili intravitrealno. Flukonazol se smatra isplativim i sigurnim antifungikom s profilom niske toksičnosti. Glavni minusi su mu brzi razvoj rezistencije i unakrsne rezistencije na gljivične vrste nakon duljeg vremena izloženosti ili zbog nepotpunog terapijskog režima. Vorikonazol, preferiran lijek izbora među

azolima, ima visoku intraokularnu penetraciju i dobro se podnosi. U očnoj vodici, nakon topikalne primjene postiže koncentraciju iznad minimalne inhibitorne (MIC). Samo amfotericin B, natamicin i vorikonazol imaju dovoljno dokaza u vezi učinkovitosti, sigurnosti i kliničke indikacije u liječenju gljivičnih oboljenja oka. Zbog izazova povezanih s polienima i azolima, lijekovi iz najnovije klase antimikotika, ehinokandini, opsežno se istražuju kao potencijalni terapijski agensi kod gljivičnih oboljenja oka (65, 66).

### 3.4.5. ONIHOMIKOZE

Onihomikoza je infekcija nokta uzrokovana gljivicama (dermatofiti, ne-dermatofitne plijesni te kvasci) koja se očituje diskoloracijom nokta, oniholizom i zadebljanjem nokta. Zahvaćen može biti bilo koji dio nokta uključujući ploču, matriks i ležište nokta. Onihomikoza je odgovorna za 50 % oboljenja nokta. *T. mentagrophytes* i *T. rubrum* odgovorni su za 90 % oboljenja nožnih noktiju, te 75 % noktiju na rukama. Ne-dermatofitne plijesni odgovorne su za oko 10 % onihomikoza u svijetu, a najčešće su to *Aspergillus spp.*, *Fusarium spp.* i drugi. Kvasci su odgovorni za 10 – 20 % onihomikoza te je za oko 70 % njih odgovoran rod *Candida*. U 3 – 11 % slučajeva javlja se miješana onihomikoza, odnosno infekcija nokta s dva ili više organizama te ju je teže liječiti. Predispozicija za obolijevanje od onihomikoze uključuje gljivičnu infekciju negdje drugdje na koži, kroničnu paronihiju, prethodnu onihomikoza, nošenje okluzivnih i tijesnih cipela, hiperhidroza, sudjelovanje u sportskim aktivnostima, trauma nokta, loša njega nokta, korištenje bazena i zajedničko kupanje, život s članovima obitelji s gljivičnim infekcijama, genetski čimbenici i imunodeficijencija. Razgradnji nokta pridonosi gljivično stvaranje enzima s proteolitičkim, keratolitičkim i lipolitičkim aktivnostima kojima dolazi do razgradnje keratina u ploči nokta i olakšane gljivične invazije (67, 68). Mogućnosti liječenja onihomikoze su ograničene zbog, često duboko usađene infekcije i nepropusne prirode nokta koju pripisujemo stabilnim i jakim disulfidnim i vodikovim vezama u keratinu (69). Topikalna prijemna antifungalnih lijekova za

liječenje onihomikoze dolazi u obliku laka i otopine. Nokat je propusniji za topikalno antifungalno sredstvo formulirano u vodenom nosaču. Liječenje topikalnim antifungicima se dobro podnosi s minimalnim nuspojavama (67). Djelatna tvar nakon topikalne primjene mora prodrijeti kroz ploču nokta. Prijenos djelatne tvari ovisi o fizičko-kemijskim značajkama djelatne tvari (veličina, lipofilnost, oblik), značajkama formulacije (pH, koncentracija djelatne tvari), značajkama barijere nokta (stadij bolesti, hidratacija) te međudjelovanjem djelatne tvari i keratinskih struktura ploče nokta (70). Glavni nedostatak je duljina liječenja, koja je često 48 tjedana i duže. Prodor lijeka u nokat možemo povećati abrazijom nokta, podrezivanje i debridmanom nokta. Lokalna primjena keratolitika poput uree i salicilne kiseline može omekšati nokat i povećati učinkovitost terapije (67, 68). Dodatkom kemijskih pojačivača prodora u topikalne formulacije dolazi do ometanja kemijskog vezanja u strukturama noktiju i olakšava prožimanje kidanjem postojećih veza (69). Najčešće korišteni topikalni antifungici za liječenje onihomikoze uključuju efikonazol (10 % otopina), tavaborol (5 % otopina), ciklopiroksikam (8 % lak), amorolfin (5 % lak) te terbinafin (10 % otopina) (67). Ciklopiroksikam u obliku 8 % laka primjenjuje se svaki drugi dan tijekom prvog mjeseca liječenja, te se u drugom mjesecu liječenja smanjuje na dva puta tjedno a u trećem na jednom tjedno (27). Uspješnost liječenja raste tjednim podrezivanjem nokta i mjesečnim debridmanom. Lak za nokte bi se trebao ukloniti alkoholom jednom tjedno. Amorolfin dolazi u obliku 5 % laka za nokte te se nanosi jednom ili dva puta tjedno na čistu ploču nokta i ostavi se posušiti 3 – 5 minuta (68). Terbinafin dolazi u obliku laka, koji se primjenjuje prvih mjesec dana jednom dnevno a nakon toga jednom tjedno, nanosi se navečer prije spavanja na čistu ploču nokta te se ne smije močiti vodom barem 6 sati nakon nanošenja (71).

### **3.4.6. ORALNA MIKOZA**

Kompromitirana obrana domaćina ili prekid normalnog rada oralne sluznice, te drugi vanjski čimbenici poput uporabe antibiotika širokog spektra ili loše oralne higijene dovode do infekcije oralne sluznice. Infekcija je najčešće oportunistička i uzrokovana *Candidom*, u čak 90 % radi se o *C. albicans*. Za neinvazivne slučajeve oralne kandidijaze, prva linija liječenja su lokalni antifungici poput nistatina, mikonazola, amfotericina B i klotrimazola. Kod pacijenata koji ne podnose ili ne reagiraju na lokalne oblike liječenja ili su u većoj opasnosti od sistemskih infekcija koriste se sistemski antifungici poput flukonazola, itrakonazola i mikonazola. Noviji triazoli i ehinokandini imaju visok raspon antifungalnog djelovanja i bolju suradljivosti pacijenata u smislu doziranja i bolje podnošljivosti, no glavno uporište u liječenju oralne kandidijaze je i dalje nistatin zbog njegove povećane učinkovitosti, niske cijene i manje nuspojava (72). Oralna sluznica nudi nekoliko prednosti za isporuku lijeka, kao što su visoka vaskularizacija, izbjegavanje metabolizma prvog prolaza i niska enzimska aktivnost, što bi moglo poboljšati bioraspoloživost lijeka i suradljivost bolesnika. Lijek dispergiran u mukoadhezivnom polimeru, koji bubri u prisutnosti vode i pokazuje bioadhezivna svojstva, otpušta se postupno i dulje vrijeme te uz manje fluktuacije u koncentraciji (73). Na hrvatskom tržištu dostupan je mikonazol u obliku gela, ovisno o dobnoj skupini primjenjuje se 1,25 ml do 2,5 ml četiri puta dnevno nakon jela. Gel je potrebno čim duže zadržati u usnoj šupljini i nakon toga progutati. Liječenje je potrebno nastaviti najmanje tjedan dana nakon što se simptomi povuku (14).

### **3.5. RAZVOJ NOVIH TOPIKALNIH ANTIFUNGIKA**

Zbog povećanog razvoja rezistencije na već poznate antifungalne lijekove potreban je razvoj novih topikalnih (i oralnih) antifungalnih lijekova (3). Provode se razna klinička istraživanja u

svrhu pronalaska novih antifungalnih lijekova te poboljšanja djelovanja postojećih modifikacijom oblika u kojem lijek dolazi ili prenamjenom već poznatog lijeka.

Povlaštene strukture su strukture koje mogu komunicirati s raznim dijelovima stanice (ciljnim metama za djelovanje lijeka) zbog odgovarajuće veličine i oblika. Inodoli su poznat primjer povlaštenih struktura. Oragnoselenski spojevi imaju jedinstven mehanizam djelovanja koji uključuje široko antimikrobno djelovanje. U istraživanju Quatrin i suradnika (74) sintetizirano je sedam 3-selenocijanat-indola te je ispitivano njihovo djelovanje. Difenil diselenid i njegovi analozi pokazali su inhibiciju rasta i fungistatsko djelovanje protiv filamentoznih gljiva i patogenih *Candida spp.* Testovi toksičnosti pokazali su da selenocijanati nisu pokazali mutagenost ili uzrokovali promjene na ljudskim stanicama leukocita, te su klasificirani kao ne-iritansi. Kako 3-selenocijanat-indoli ne iritiraju sluznice mogli bi se koristiti za razvoj formulacija za liječenje kroničnih infekcija uzrokovanih *Candida spp.* i rodovima dermatofita *Triophyton* i *Microsporum* (74).

Za stavljanje novog lijeka na tržište potrebno je 12 – 15 godina, te je to vrlo naporan, skup i dugotrajan proces. Prenamjena lijekova je spasonosna strategija za specifične farmaceutske i kliničke potrebe. Prenamjena bi trebala istaknuti novu farmakološku indikaciju za lijekove koje je FDA prethodno odobrila. Statini, skupina lijekova za sniženje kolesterola, inhibicijom hidrokso-metil-glutaril-koenzimA-reduktaze (HMG-CoA-reduktaza) smanjuju biosintezu sterola. Statinima je prema novim istraživanjima pripisano i protuupalno, antikancerogeno te antifungalno djelovanje. Pretpostavljen mehanizam djelovanja jest suzbijanje enzima gljivične reduktaze (HMG-CoA) što dovodi do pada razine ergosterola te dolazi do supresije gljivičnog rasta. Atorvastatin (ATO) je istraživani na životinjskim modelima formuliran u obliku emulgela za liječenje oralnih i vulvovaginalnih kandidijaza. Emulzosomi, lipidne nanovezikule koje se sastoje od vanjskog sloja fosfolipida i unutarnje lipidne jezgre, pokazali su se kao povoljni nosači lipofilnih lijekova. Emulzosomi su stabilni, niske toksičnosti te



utječu na poboljšano djelovanje lijeka zbog mogućnosti produljenog oslobađanja lijeka. *In vivo* i *in vitro* provedene mikrobiološke studije potvrdile su antifungalno djelovanje lijeka i pokazale obećavajuće rezultate za ATO – emulzomsku formulu u obliku pjene (75).

Za liječenje gljivičnih infekcija kao novi kemijski entiteti od 1981. do 2019. na tržište su plasirane 34 molekule. Jedan od njih je peptid, gama-n 1 interferon dobiven biotehnološkim postupcima, 3 spoja su određenim sintetskim modifikacijama dobivena od prirodnog proizvoda (kaspofungin acetat, mikafungin, anidlafungin), njih 27 je potpuno sintetskog porijekla (ketokonazol, ciklopiroks i ostali) dok su preostala 3 spoja dobivena sintetski, ali oponašaju prirodni proizvod (terbinafin, butenaftin i linanaftat). Spojevi dobiveni iz prirodnih izvora, poput biljnih ekstrakata i njihovih sekundarnih metabolita, eteričnih ulja, predstavljaju potencijalnu terapijsku opciju za liječenje gljivične infekcije. Kineski tradicionalni lijek dobiven iz biljke *Pseudolarix kaempferi*, pseudolarinska kiselina B, dostupan u obliku tinkture zbog visokog udjela alkohola može iritirati kožu. Uklapanjem u mikroemulziju u gelu (nanoemulgel) mu je poboljšana bioraspodivnost, smanjena iritacija kože te je pokazana povećana antifungalna aktivnost u odnosu na 2 % mikonazol-nitrata. Morski izvori prirodnih antifungalnih spojeva su morski mikroorganizmi i morski beskralježnjaci. Unatoč tome što imaju dobro antifungalno djelovanje protiv širokog spektra gljivičnih vrsta imaju nedostatke poput varijacija kemijskog sastava, zemljopisnog podrijetla i stadija rasta te mogućeg uništenja određenih spojeva korištenjem otapala potrebnih za ekstrakciju. Ispravnom kontrolom kvalitete ekstrakata i reagensa mogla bi se smanjiti varijabilnost prirodnih izvora antifungika i uvesti ih se u kliničku praksu (31).

Eterična ulja i fitokompleksi sekundarnog metabolizma biljaka, imaju visok potencijal u antifungalnoj primjeni. Imaju visku strukturnu raznolikost te sadrže, između ostalih, aldehide, fenole i terpene. Prirodni proizvodi su od velike važnosti za razvoj novih lijekova (kao što su čisti spojevi ili ekstrakti) s različitim namjenama pa tako i s antifungalnim djelovanjem (76).

**Tablica 3.** Novi antifungalni lijekovi i mehanizam djelovanja (3)

LJJEK	MEHANIZAM DJELOVANJA	KONCENTRACIJA I OBLIK
Arasertakonazol	inhibitor 14 $\alpha$ -lanosterol-demetilaze	/
BB2603	inhibicija skvalen-epoksidaze	sprej
ME1111	inhibicija sukcinat-dehidrogenaze	0,06 – 32 mg/l
AR12 (OSU-03012)	inhibicija Acetil-CoA-sintetaze	5 % (w/v)
SB208	stimulira staničnu smrt, donor dušikovog oksida	2 %, 4 %, 12 % gel, jednom dnevno kroz 2 tjedna
CD101 (ehinokandini)	inhibira sintezu glukana	subkutana primjena, 10 – 40 mg/kg/tjedno, 2 doze
NB-002	mehanički destabilizira hifu gljive	0,25 % i 0,5 % emulzija
Hidroksikavikol	uzrokuje poremećaj integriteta stanične membrane	/
Florotanini	1. djeluju na ergosterol 2. djeluju na funkcije respiratornog lanca	/

Biosurfaktanti su amfifilne prirode te u odnosu na kemijski proizvedene surfaktante pokazuju određene prednosti poput niske toksičnosti za okoliš, visoke biorazgradivosti i lake proizvodnje obnovljivim izvorima energije. Soforolipidi su glikolipidi koje proizvode razne vrste *Starmerella* kvasca koji potiču selektivno prepoznavanje gljivičnih stanica. U istraživanju Haque i sur. (77) su niosomi s amfotericinom B i soforolipidima uspoređeni s liposomskom formulacijom amfotericina B dostupnom na tržištu. Kombinacija sa soforolipidom imala je bolje djelovanje. Zaključeno je i da su soforolipidi jeftina, a učinkovita opcija za dostavu slabotopljivih lijekova poput amfotericina B. Potrebna su još brojna istraživanja na ovom području (77).

Mnogi antifungalni lijekovi nalaze se u raznim fazama kliničkih ispitivanja. Neki od njih imaju dobro poznate mehanizme djelovanja, dok drugi imaju nove mehanizme djelovanja čime je smanjen trend rezistencije koja je sve veći problem u liječenju gljivičnih infekcija. Većina lijekova u istraživanjima su namijenjeni na sistemsku primjenu. **Oteseconazol**, selektivni inhibitor gljivične sterol  $\alpha$ -demetilaze citokroma P450 za oralnu primjenu, odobrila je FDA 2022. godine za liječenje rekurentne vulvovaginalne kandidijaze. **Ibrexafunger** je prvi triterpenoid kojem je dokazana sigurnost i učinkovitost u kliničkim ispitivanjima. Ciljno mjesto djelovanja mu je glukan sintaza te posljedično smanjenje strukturnog polimera gljiva, (1,3)- $\beta$ -glukana. Slabljenjem stanične stijenke gljiva dolazi do stanične smrti. Dostupan je na tržištu SAD-a te je obećavajuća alternativa protiv vrsta roda *Candida* otpornih na azole ili ehinokandine (60). U tablici 3 prikazani su novi spojevi koji imaju antifungalno djelovanje i nalaze se u raznim fazama istraživanja i razvoja (3).

### 3.6. ADHERENCIJA KAO BITAN ČIMBENIK OZDRAVLJENJA

Adherencija, se prema Svjetskoj zdravstvenoj organizaciji definira kao „stupanj do kojeg ponašanje osobe odgovara dogovorenim preporukama pružatelja zdravstvenih usluga.“ Ona označava suradnju između pacijenta i liječnika kako bi integracijom liječnikovog medicinskog stajališta i pacijentovog životnog stila, vrijednosti i sklonosti skrbi poboljšali zdravlje pacijenta (78). Stope adherencije vrlo su različite, te ovise o mnogo čimbenika kao što je činjenica da li liječimo kronično ili akutno stanje, s tim da je adherencija veća u akutnim stanjima. Moguće posljedice nepridržavanja liječenja u kliničkoj praksi uključuju smrt, smanjenu korist od liječenja, pristrane procjene učinkovitosti liječenja te povećane troškove zdravstvene skrbi. Uzroci nepridržavanja uključuju sljedeće: problem s terapijom (nuspojave), loše upute koje je liječnik dao pacijentu, loš odnos liječnik-pacijent, loše pamćenje od strane pacijenta te nemogućnost pacijenata da plate lijekove. Mjerenje adherencije u dermatološkoj terapiji je posebno zahtjevno. U iskazima pacijenata, oni često

precjenjuju vlastitu adherenciju. Također teže je izmjeriti koliko je topikalne terapije korišteno u usporedbi s oralnom, jer je mnogo lakše izbrojati tablete (79). Uobičajeno je da pacijenti zaborave jednu dnevnu dozu, najčešće u podne ili navečer. Promjene u intervalu doziranja se događaju relativno često te mogu uzrokovati stanje u kojem je pacijent poddoziran. Preskakanje jedne ili dvije doze u nekim okolnostima može značiti apsolutni terapijski neuspjeh (80).

Dermatomikoze se najčešće liječe primjenom topikalnog antifungika dva ili tri puta dnevno tijekom 3 – 4 tjedna. Tako zahtjevnog režima pridržava se samo mali broj pacijenata (81). U Njemačkoj je 1982. godine provedeno je veliko istraživanje koje proučavalo neadherenciju kod 230 pacijenata s dermatomikozom liječenom topikalnom antifungalnom terapijom. Neaderencija je bila sveprisutna, sa sljedećim nalazima: 48 % pacijenata nije slijedilo dnevni režim doziranja; 44 % smanjilo je broj dnevnih doza, 4 % povećalo je broj dnevnih doza, dok je čak 25 % pacijenata prekinulo liječenje čim su simptomi nestali (najveći udio su bili stariji pacijenti kojima gljivične infekcije nisu bile važne).

Optimizacija adherencije postiže se kraćim i jednostavnijim režimom liječenja. Kod antifungalne topikalne terapije problem je što mnogi antifungici još uvijek imaju režim doziranja dva puta dnevno, uključujući klotrimazol, mikonazol i sertakonazol. Razni čimbenici određuju optimalno liječenje topikalnim antifungicima, uključujući tip kože, veličinu, položaj, karakteristike lezije i posebne potrebe svakog pacijenta. Liječnik pri odabiru topikalnog antifungika mora dodatno razmotriti vjerojatnost da će se pacijent pridržavati plana liječenja. Adherencija pacijenata u liječenju dermatomikoza smanjuje se s trajanjem liječenja te brojem dnevnih primjena lijeka osobito nakon što simptomi nestaju. Liječenje azolnim antifungicima povezani je s visokom stopom recidiva bolesti, to možemo djelomično pripisati neaderenciji kod primjene azolnih antifungika (79). U liječenju *Tinea pedis* u svrhu bolje adherencije provedena su brojna istraživanja i zaključeno je da je mnogo već poznatih

topikalnih antifungika djelotvorno kod primjene jednom dnevno. Klotrimazol se pokazao učinkovit u liječenju *Tinea pedis* u režimu jednom dnevno tijekom 28 dana. U liječenju *Tinea pedis* učinkovitim su se pokazali i sljedeći topikalni antifungici: dvotjedna primjena lulikonazola, primjena naftifina u obliku kreme, 2 % ketokonazola u obliku kreme, 1 % krokonazola u obliku kreme, 1 % butenafina u obliku kreme, 0,77 % ciklopiroksa u obliku gela te 0,5 – 2 % amorolfina u obliku spreja te 1 % terbinafina u obliku gela ili otopine (81). Ako su prisutni upala i svrbež, može biti korisna i kombinacija kortikosteroida i antifungalnog lijeka kao početna terapija, a nakon smanjenja simptoma upale i svrbeži nastavlja se topikalnim antifungikom. Brzo olakšanje simptoma može dovesti do bolje adherencije, time dolazi do smanjenog rizika pogoršanja i nastanka dugoročne gljivične infekcije s popratnom bakterijskom superinfekcijom (7).

Najvažniji faktor za pridržavanje je osobna motivacija pacijenta. Znanje o bolesti, uvjerenje u dogovoren proces liječenja i očekivan terapijski uspjeh ima značajan utjecaj na provedbu dogovorenog liječenja (80).

#### 4. RASPRAVA

Dermatomikoze su bolesti kože, dlaka i noktiju uzrokovane gljivama. Najčešći uzročnici bolesti u čovjeka su dermatofiti, kvasci i saprofiti, rjeđe plijesni (1). Zahvaćaju 20 – 25 % svjetske populacije u datom trenutku te često mogu uzrokovati značajan morbiditet, osobito ako je prisutna teška upalna komponenta (51). Topikalna antifungalna terapija smatra se prvom linijom liječenja za nekomplikirane, površinske dermatomikoze zbog njihovog malog potencijala za neželjene sistemske nuspojave i visoke djelotvornosti (1, 2). Topikalno primijenjen lijek za liječenje gljivičnih infekcija mora biti širokog spektra djelovanja, imati visoku stopu mikološkog izlječenja, biti prikladno doziran, imati nisku stopu učestalosti nuspojava i nisku cijenu (25). Nakon što gljive napadnu kožu, osobito rožnat sloj bogat keratinom, sintetiziraju keratinazu kojom razgrađuju tkivo i dolazi do upale koja je često praćena svrbežom. Ergosterol i stanični zid glavna su razlika između ljudskih stanica, koje ih nemaju i stanica gljive koja ih ima, te su oni ujedno i jedno od ciljnih mjesta djelovanja antifungika (7). Antifungici se ovisno o mehanizmu djelovanja dijele na: (i) azole, (ii) alilamine, (iii) poliene, (iv) ehinokandine i (v) ostale (1, 2). Mehanizam djelovanja azola je inhibicija sinteze ergosterola (esencijalne komponente stanične membrane gljiva) vezanjem na sterol-14- $\alpha$ -demetilaze (CYP51). Djelovanje azola prvenstveno je fungistatsko, iako u visokim koncentracijama neki djeluju fungicidno na određen broj gljivičnih vrsta. Upravo zbog širokog spektra pokrivenosti prvi su izbor liječenja mnogih gljivičnih infekcija (1, 9). Alilamini ometaju sintezu ergosterola ometanjem ranih koraka biosinteze ergosterola kao rezultat njihove specifične, reverzibilne i nekompetitivne inhibicije enzima skvalen-epoksidaze (32). Tom inhibicijom dolazi do akumulacije visoke razine skvalena što rezultira povećanjem permeabilnosti membrane te poremećaja stanične organizacije i naposljetku smrti stanice (1). Polienski antifungici imaju veći afinitet prema ergosterolu, koji je specifičan za gljive, nego što imaju za stanični kolesterol čovjeka. Nepovratno se vežu za ergosterol, što

rezultira promjenom propusnosti membrane i kasnijeg istjecanja unutarstaničnog sadržaja kroz pore koje su nastale u staničnoj membrani te time dolazi do propadanja stanica gljive (19). Ehinokandini, klasa antimikotika s cikličkim neribosomskim heksapeptidima i lipofilnim bočnim lancima, djelovanje temelji na inhibiciji 1,3- $\beta$ -D-glukan-sintaze. Inhibicijom 1,3- $\beta$ -D-glukan-sintaze dolazi do ometanja sinteze  $\beta$ -(1,3) d-glukana koji je bitan polisaharid u staničnoj stijenci. Dolazi do osmotske krhkosti same stanice gljive te lize. U upotrebi su uglavnom kod sistemskih infekcija (1). Mehanizam djelovanja amorfolina, derivata morfolina, je inhibicija biosinteze ergosterola u staničnoj membrani gljiva. Uslijed promjene sadržaja sterola u staničnoj membrani dolazi do promjena u propusnosti membrane i poremećaja ključnih metaboličkih procesa gljiva. Djeluje na dva različita enzima uključena u biosintezu sterola, 14- $\delta$ -reduktazu i 7,8-izomerazu (23), što rezultira nakupljanjem  $\delta$  14 sterola i gosterola u staničnoj membrani i smanjenja ergosterola (24). Mehanizam djelovanja ciklopiroksa (hidroksipiridna) je stvaranje velikih polivalentnih kationa kelacijom s  $Al^{3+}$  i  $Fe^{3+}$  te dolazi do inhibicije bitnih enzima, uključujući citokrome, ometajući mitohondrijski proces prijenosa elektrona te proizvodnju energije. Ciklopiroks inhibira stanični unos esencijalnih spojeva i narušava cjelovitost stanične membrane gljivica. Protuupalno djelovanje dolazi zbog inhibicije 5-lipoksigenaze i ciklooksigenaze te inhibicije prostaglandina i leukotriena (19). Nova klasa lijekova, oksaboroli i njihov predstavnik tavaborol, djeluje blokiranjem sinteze proteina putem inhibicije LeuRS (3). Tiokarbamati, i njihov predstavnik tolnaftat, su također novija klasa antifungika, mehanizam djelovanja još nije poznat ali pretpostavlja se da uključuje djelomičnu inhibiciju gljivične skvalen-epoksidaze i tako interferira s biosintezom ergosterola (10).

Gljive su razvile širok spektar čimbenika virulencije kako bi uspostavile infekcije. Zapažen je porast kroničnih gljivičnih infekcija te porast otpornosti na često korištene topikalne (i oralne) antifungike (8). Promjenom ciljnog mjesta djelovanja antifungika, promjenom topikalne

podloge i korištenjem novih topikalnih terapijskih sustava, kombiniranom terapijom s kortikosteroidima ili otkrićem novih antifungika moguće je riješiti problem otpornosti na antifungike trenutno prisutne na tržištu.

Ciljno mjesto djelovanja antifungika ne mora biti vezano samo uz staničnu stijenku i membranu gljive, ono može uključivati i metabolički put (glikoksilatni ciklus, biosinteza pirimidina, CYP, metabolizam željeza, biosinteza hema i metabolizam acetata), prijenosni signalni put (MAP-kinaza, PDK1 i prijenos kalcija) te ekspresiju gena (8). Smanjenje rasta patogenih gljivičnih sojeva može se postići ometanjem njihovih metaboličkih putova, djelovanjem na funkciju mitohondrija ili na staničnu stijenku. Interferencijom s gljivičnim efluksnim pumpama, biosintezom ergosterola ili proteina Hsp90 mogla bi se smanjiti sposobnost gljiva da razviju otpornost na antimikrobne lijekove (9).

Topikalni antifungalni lijekovi dolaze u raznim oblicima kao npr. kreme, losioni, gelovi ili sprejevi. Primijenjeni na kožu lako prodiru u rožnati sloj gdje djeluju fungicidno ili fungistatski (19). Uspješnost terapije ovisi o fizikalno-kemijskim karakteristikama djelatne tvari i vrsti formulacije. Ciljevi razvoja naprednih terapijskih sustava za postojeće antifungike su poboljšanje učinkovitosti liječenja, suradljivosti pacijenata i smanjenje vremena trajanja primjene lijeka te predstavljaju jedan od načina poboljšanja antifungalne terapije (1, 2). Vremenski raspon i intenzitet terapijskog učinka ovise o oslobađanju djelatne tvari i prodiranju kroz rožnati sloj te druge slojeve kože, prije nego što postignu željen učinak (72). Nedostaci konvencionalnih formulacija su visoka doza i učestalost doziranja, iritacija kože, preosjetljivost i alergijske reakcije izazvane lijekovima, opsonizacija, smanjena terapijska učinkovitost, smanjena penetracija, povećan metabolizam lokalno prisutnim CYP-ovima i dr. Poboljšanje postojećih i stavljanje na tržište novih terapijskih sustava ima potencijal za prevladavanje navedenih prepreka (31). Kako bi se poboljšala penetracija lijeka kroz rožnati



sloj upotrebljavaju se napredne formulacije poput mikroemulzija, vezikularnih nosača (liposoma, etosoma, niosoma ili transfersoma) te nanočestica lipidnih i polimernih (1, 2).

Upalna komponenta gljivične infekcije često može pogoršati stanje i ometati liječenje. Kombinacija lokalnog antifungika i kortikosteroida predstavlja potencijalno iznimno korisnu strategiju liječenja dermatomikoza. Antifungici se često kombiniraju s kortikosteroidima različite jačine kako bi se istovremeno ublažila upala, smanjio ciklus grebanja, ograničilo širenje i posljedično suzbila gljivična infekcija. Idealna kombinirana terapija mora omogućiti brz i učinkovit protuupalni odgovor, imati visoku stopu rezolucije i nisku stopu relapsa te rezultirati dobrom suradljivošću bolesnika što podrazumijeva kratko vrijeme primjene te minimalne nuspojave (1, 51).

Za liječenje gljivičnih infekcija kao novi kemijski entiteti od 1981. do 2019. na tržište su plasirane 34 molekule. Od tih molekula 1 je peptid, 3 su dobivene iz prirodnih izvora uz sintetsku modifikaciju, 27 ih je u potpunosti sintetskog porijekla dok su preostale 3 također sintetskog porijekla no oponašaju prirodne spojeve. Na tržištu prisutne molekule su uglavnom sintetskog porijekla pa molekule dobivene iz prirodnih izvora, poput biljnih ekstrakata i njihovih sekundarnih metabolita, eteričnih ulja, predstavljaju mogući izvor novih terapijskih opcija (31). Za stavljanje novog lijeka na tržište potrebno je 12 – 15 godina, te je to vrlo zahtjevan, skup i dugotrajan proces. Prenamjena lijekova je spasonosna strategija za specifične farmaceutske i kliničke potrebe. Prenamjena bi trebala istaknuti novu farmakološku indikaciju za lijekove koji su prethodno odobreni. Atorvastatin, lijek za snižavanje kolesterola, istraživao je na životinjskim modelima formuliran u obliku emulgela za liječenje oralnih i vulvovaginalnih kandidijaza te je pokazao potencijal kao antifungik (75).

Dermatomikoze se najčešće liječe primjenom topikalnog antifungika dva ili tri puta dnevno tijekom 3 – 4 tjedna. Tako zahtjevnog režima pridržava se samo mali broj pacijenata (81).

Razni čimbenici određuju optimalno liječenje topikalnim antifungicima, uključujući tip kože, veličinu, položaj, karakteristike lezije i posebne potrebe svakog pacijenta. Liječnik pri odabiru topikalnog antifungika mora dodatno razmotriti vjerojatnost da će se pacijent pridržavati plana liječenja. Adherencija pacijenata u liječenju dermatomikoza smanjuje se s trajanjem liječenja te brojem dnevnih primjena lijeka osobito nakon što simptomi nestaju. Liječenje azolnim antifungicima povezano je s visokom stopom recidiva bolesti, to možemo djelomično pripisati neadherenciji kod primjene azolnih antifungika. Optimizacija adherencije postiže se kraćim i jednostavnijim režimom liječenja (79).

## 5. ZAKLJUČAK

Gljivična oboljenja, iako u većini slučajeva nisu smrtonosna, široko su rasprostranjena i sveprisutna. Topikalna primjena antifungika je prva linija liječenja za nekomplikirane infekcije. Topikalnom primjenom izbjegava se sistemski učinak lijekova, pa tako i nuspojave koje ti lijekovi nose. Topikalnom primjenom se smatra primjena lijeka na kožu, nokte, oči, uši ili vaginalno. Lijekovi za topikalnu primjenu dolaze u raznim formulacijama, a najčešće u obliku kreme, spreja, gela, losiona ili laka. Trenutno na tržištu dostupni topikalni antifungici se dijele u skupine ovisno o mehanizmu djelovanja: (i) azoli, (ii) alilamini, (iii) polieni, (iv) ehinokandini i (v) ostali. Gljive s vremenom razvijaju rezistenciju što dovodi do otežanog liječenja poznatim topikalnim antifungicima. Provede se razna istraživanja kojima bi se doskočilo navedenom problemu. Promjena ciljnog mjesta djelovanja antifungika, samim time i mehanizma djelovanja te razvojem novih antifungalnih lijekova ili prenamjenom poznatih lijekova s drugim indikacijama u antifungike dolazimo do novih saznanja u borbi protiv gljivičnih infekcija. Promjenom formulacije, odnosno podloge u kojoj dolazi antifungalni lijek, također se može poboljšati učinkovitost poznatih antifungalnih lijekova. Korištenje suvremenih podloga ili terapijskih sustava omogućuje bolje prodiranje lijeka do ciljnog mjesta djelovanja i bolju učinkovitost. Kombinacija antifungika s kortikosteroidom, tamo gdje je prisutna upalna komponenta i jak svrbež, uvelike pomaže u adekvatnom provođenju liječenja i sprječavanju nastanka sekundarnih infekcija. Adherencija je vrlo značajna u liječenju topikalnim antifungicima. Kako se liječenje provodi najčešće u periodu od 2 do 4 tjedna s 1 do 2 aplikacije lijeka na dan, potrebno je dodatno motivirati pacijente za provođenje terapije. Neadekvatno provođenje terapije, preskakanje doze ili skraćivanje perioda provođenja terapije neki su od uzroka razvoja rezistencije. Upravo razvojem novih formulacija i otkrićem novih lijekova nastoji se smanjiti trajanje terapije te smanjiti broj dnevnih aplikacija kako bi se posljedično poboljšala adherencija.

## 6. POPIS SKRAĆENICA

AARS – aminoacil-transfer-RNA-sintetaza

AMP – antimikrobni peptid

ATO – atorvastatin

CDR1/CDR2 – *candida drug resistance 1/candida drug resistance 2*

CMC – kritična micelizacijska koncentracija

DFV – diflukortolonvalerat

EPS – egzopolisaharid

FAD – flavin-adenozin-dinukleotid

HALMED – hrvatska agencija za lijekove i medicinske proizvode

HSP – proteini toplinskog šoka

ISN – izokonazol

MIK – minimalna inhibitorna koncentracija

MPEG-hexPLA – metoksi-poli(etilen glikol)-heksil supstituirani polilaktid

NLC – nanostrukturirani lipidni nosači

PAT – površinski aktivne tvari

RVVC – rekurentna vulvovaginalna kandidijaza

SLN – čvrste lipidne nanočestice

U/V – ulje u vodi

V/U – voda u ulju

VVC – vulvovaginalna kandidijaza

## 7. LITERATURA

1. Borgers M, Degreef H, Cauwenbergh G. Fungal infections of the skin: infection process and antimycotic therapy. *Curr Drug Targets*. 2005;6(8):849-62.
2. Güngör S, Erdal MS, Aksu B. New Formulation Strategies in Topical Antifungal Therapy. *J Cosmet Dermatol Sci Appl*. 2013;3(1):56-65.
3. Sahni K, Singh S, Dogra S. Newer topical treatments in skin and nail dermatophyte infections. *Indian Dermatol Online J* 2018;9(3):149-58.
4. Galvez-Martin P, Soto-Fernandez C, Romero-Rueda J, Cabañas J, Torrent A, Castells G, Martinez-Puig D. A Novel Hyaluronic Acid Matrix Ingredient with Regenerative, Anti-Aging and Antioxidant Capacity. *Int. J. Mol. Sci*. 2023; 24(5):4774.
5. Murthy Narasimha S, Shivakumar HN. Topical and Transdermal Drug Delivery. U: Kulkarni VS. *Handbook of Non-invasive Drug Delivery Systems*. Elsevier Inc.; 2010, str. 1-36.
6. Makhmalzade BS, Chavoshy F. Polymeric micelles as cutaneous drug delivery system in normal skin and dermatological disorders. *J Adv Pharm Technol Res*. 2018;9(1):2-8.
7. Mijaljica D, Spada F, Harrison IP. Emerging Trends in the Use of Topical Antifungal-Corticosteroid Combinations. *J. Fungi* 2022;8(8):812.
8. Wall G, Lopez-Ribot JL. Current Antimycotics, New Prospects, and Future Approaches to Antifungal Therapy. *Antibiotics (Basel)*. 2020;9(8):445.
9. Ivanov M, Ćirić A, Stojković D. Emerging Antifungal Targets and Strategies. *Int J Mol Sci*. 2022;23(5):2756.

10. Park N-H, Shin K-H, Kang MK, Antifungal and antiviral agents. U: Dowd FJ, Johnson BS, Mariotti AJ. ur. Pharmacology and therapeutics for dentistry. Mosby Elsevier; 2017. str. 488-503
11. Agencija za lijekove i medicinske proizvode. Klotrimazol Pliva 10 mg/g krema. Sažetak opisa svojstava lijeka. [pristupljeno 01.04.2023]. Dostupno na: <https://www.halmed.hr/Lijekovi/Baza-lijekova/Klotrimazol-Pliva-10-mg-g-krema/13682/>
12. Agencija za lijekove i medicinske proizvode. Canifug 1% otopina za kožu. Sažetak opisa svojstava lijeka. [pristupljeno 01.04.2023]. Dostupno na: <https://www.halmed.hr/Lijekovi/Baza-lijekova/Canifug-1-otopina-za-kozu/12170/>
13. Agencija za lijekove i medicinske proizvode. Rojazol 20 mg/g krema. Sažetak opisa svojstava lijeka. [pristupljeno 03.04.2023]. Dostupno na: <https://www.halmed.hr/Lijekovi/Baza-lijekova/Rojazol-20-mg-g-krema/14260/>
14. Agencija za lijekove i medicinske proizvode. Rojazol 20 mg/g oralni gel. Sažetak opisa svojstava lijeka. [pristupljeno 03.04.2023]. Dostupno na: <https://www.halmed.hr/Lijekovi/Baza-lijekova/Rojazol-20-mg-g-oralni-gel/14259>
15. Agencija za lijekove i medicinske proizvode. Oronazol 20 mg/g šampon. Sažetak opisa svojstava lijeka. [pristupljeno 03.04.2023]. Dostupno na: <https://www.halmed.hr/Lijekovi/Baza-lijekova/Oronazol-20-mg-g-sampon/14748/>
16. Agencija za lijekove i medicinske proizvode. Canespor 10 mg/g krema. Sažetak opisa svojstva lijeka. [pristupljeno 03.04.2023]. Dostupno na: <https://www.halmed.hr/Lijekovi/Baza-lijekova/Canespor-10-mg-g-krema/15024/>
17. Agencija za lijekove i medicinske proizvode. Lamisil 10mg/ml krema. Sažetak opisa svojstava lijeka. [pristupljeno 03.04.2023]. Dostupno na : <https://www.halmed.hr/Lijekovi/Baza-lijekova/Lamisil-10-mg-g-krema/15282/>

18. Agencija za lijekove i medicinske proizvode. Exoderil 10mg/ml krema. Sažetak opisa svojstva lijeka. [pristupljeno 03.04.2023]. Dostupno na : <https://www.halmed.hr/Lijekovi/Baza-lijekova/Exoderil-10-mg-g-krema/14538/>
19. Zhang AY, Camp WL, Elewski BE. Advances in topical and systemic antifungals. *Dermatol Clin.* 2007;25(2):165-83.
20. Gupta AK, Tomas E. New antifungal agents. *Dermatol Clin.* 2003;21(3):565-76.
21. Dias MF, Bernardes-Filho F, Quaresma-Santos MV, Amorim AG, Schechtman RC, Azulay DR. Treatment of superficial mycoses: review. Part II. *An Bras Dermatol.* 2013;88(6):937-44.
22. Reginatto P, Agostinetti GJ, Fuentefria RDN, Marinho DR, Pizzol MD, Fuentefria AM. Eye fungal infections: a mini review. *Arch Microbiol.* 2023;205(6):236.
23. Falotico JM, Lipner SR. Updated Perspectives on the Diagnosis and Management of Onychomycosis. *Clin Cosmet Investig Dermatol.* 2022;15:1933-57.
24. Das A, Sil A, Sarkar TK, et al. A randomized, double-blind trial of amorolfine 0.25% cream and sertaconazole 2% cream in limited dermatophytosis. *Indian J Dermatol Venereol Leprol.* 2019;85(3):276-81.
25. Banerjee M, Ghosh AK, Basak S, Das KD, Gangopadhyay DN. Comparative evaluation of effectivity and safety of topical amorolfine and clotrimazole in the treatment of tinea corporis. *Indian J Dermatol.* 2011;56(6):657-62.
26. Agencija za lijekove i medicinske proizvode. Oxolam 10 mg/ml otopina za kožu. Sažetak opisa svojstva lijeka. [pristupljeno 27.09.2023]. Dostupno na: <https://halmed.hr/Lijekovi/Baza-lijekova/Oxolam-10-mg-ml-otopina-za-kozu/15484/>
27. Agencija za lijekove i medicinske proizvode. Oxolam 80 mg/g ljekoviti lak za nokte. Sažetak opisa svojstva lijeka. [pristupljeno 19.11.2023]. Dostupno na: <https://halmed.hr/Lijekovi/Baza-lijekova/Oxolam-80-mg-g-ljekoviti-lak-za-nokte/15485/>



28. Khurana A, Sardana K, Chowdhary A. Antifungal resistance in dermatophytes: Recent trends and therapeutic implications. *Fungal Genet Biol.* 2019;132:103255.
29. McCarthy MW, Kontoyiannis DP, Cornely OA, Perfect JR, Walsh TJ. Novel Agents and Drug Targets to Meet the Challenges of Resistant Fungi. *J Infect Dis.* 2017;216(3):474-83.
30. Pepić, I., Vujičić, M., Lovrić, J. & Filipović-Grčić, J. Nanočestice u dermatokozmetičkim pripravcima: liposomi, mikroemulzije i polimerne micide. *Farmaceutski glasnik : glasilo Hrvatskog farmaceutskog društva.* 2012;68(12):763-72
31. Nene S, Shah S, Rangaraj N, i sur. Lipid based nanocarriers: a novel paradigm for topical antifungal therapy. *J. Drug Delivery Sci. Technol.* 2021;62:102397.
32. Hammoudi Halat D, Younes S, Mourad N, Rahal M. Allylamines, Benzylamines, and Fungal Cell Permeability: A Review of Mechanistic Effects and Usefulness against Fungal Pathogens. *Membranes (Basel).* 2022;12(12):1171
33. Patel MR, Patel RB, Parikh JR, Solanki AB, Patel BG. Effect of formulation components on the *in vitro* permeation of microemulsion drug delivery system of fluconazole. *AAPS PharmSciTech.* 2009;10(3):917-23.
34. Patel MR, Patel RB, Parikh JR, Solanki AB, Patel BG. Investigating effect of microemulsion components: *In vitro* permeation of ketoconazole. *Pharm Dev Technol.* 2011;16(3):250-58.
35. Bachhav YG, Mondon K, Kalia YN, Gurny R, Möller M. Novel micelle formulations to increase cutaneous bioavailability of azole antifungals. *J Control Release.* 2011;153(2):126-32.
36. Fernández-Campos F, Clares Naveros B, López Serrano O, Alonso Merino C, Calpena Campmany AC. Evaluation of novel nystatin nanoemulsion for skin candidosis infections. *Mycoses.* 2013;56(1):70-81.

37. Choi MJ, Maibach HI. Liposomes and niosomes as topical drug delivery systems. *Skin Pharmacol Physiol*. 2005;18(5):209-19.
38. Elmoslemany RM, Abdallah OY, El-Khordagui LK, Khalafallah NM. Propylene glycol liposomes as a topical delivery system for miconazole nitrate: comparison with conventional liposomes. *AAPS PharmSciTech*. 2012;13(2):723-31.
39. De Logu A, Fadda AM, Anchisi C, et al. Effects of in-vitro activity of miconazole and ketoconazole in phospholipid formulations. *J Antimicrob Chemother*. 1997;40(6):889-93.
40. Verma P, Pathak K. Nanosized ethanolic vesicles loaded with econazole nitrate for the treatment of deep fungal infections through topical gel formulation. *Nanomedicine*. 2012;8(4):489-96.
41. Shirsand S, Para M, Nagendrakumar D, Kanani K, Keerthy D. Formulation and evaluation of Ketoconazole niosomal gel drug delivery system. *Int J Pharm Investig*. 2012;2(4):201-7.
42. Barakat HS, Darwish IA, El-Khordagui LK, Khalafallah NM. Development of naftifine hydrochloride alcohol-free niosome gel. *Drug Dev Ind Pharm*. 2009;35(5):631-37.
43. Gupta M, Vaidya B, Mishra N, Vyas SP. Effect of surfactants on the characteristics of fluconazole niosomes for enhanced cutaneous delivery. *Artif Cells Blood Substit Immobil Biotechnol*. 2011;39(6):376-84.
44. Abdellatif MM, Khalil IA, Khalil MAF. Sertaconazole nitrate loaded nanovesicular systems for targeting skin fungal infection: In-vitro, ex-vivo and in-vivo evaluation. *Int J Pharm*. 2017;527(1-2):1-11.
45. Gupta M, Vyas SP. Development, characterization and in vivo assessment of effective lipidic nanoparticles for dermal delivery of fluconazole against cutaneous candidiasis. *Chem Phys Lipids*. 2012;165(4):454-61.

46. Nagasa GD, Belete A. Review on Nanomaterials and Nano-Scaled Systems for Topical and Systemic Delivery of Antifungal Drugs. *J Multidiscip Healthc.* 2022;15:1819-40.
47. Sanna V, Gavini E, Cossu M, Rassu G, Giunchedi P. Solid lipid nanoparticles (SLN) as carriers for the topical delivery of econazole nitrate: in-vitro characterization, ex-vivo and in-vivo studies. *J Pharm Pharmacol.* 2007;59(8):1057-64.
48. Vaghasiya H, Kumar A, Sawant K. Development of solid lipid nanoparticles based controlled release system for topical delivery of terbinafine hydrochloride. *Eur J Pharm Sci.* 2013;49(2):311-22.
49. Baghel S, Nair VS, Pirani A, et al. Luliconazole-loaded nanostructured lipid carriers for topical treatment of superficial Tinea infections. *Dermatol Ther.* 2020;33(6):13959.
50. El-Sheridy NA, Ramadan AA, Eid AA, El-Khordagui LK. Itraconazole lipid nanocapsules gel for dermatological applications: *In vitro* characteristics and treatment of induced cutaneous candidiasis. *Colloids Surf., B* 2019;181:623-631.
51. Schaller M, Friedrich M, Papini M, Pujol RM, Veraldi S. Topical antifungal-corticosteroid combination therapy for the treatment of superficial mycoses: conclusions of an expert panel meeting. *Mycoses.* 2016;59(6):365-73.
52. Hube B, Hay R, Brasch J, Veraldi S, Schaller M. Dermatomycoses and inflammation: The adaptive balance between growth, damage, and survival. *J Mycol Med.* 2015;25(1):44-58.
53. Huang DB, Ostrosky-Zeichner L, Wu JJ, Pang KR, Tyring SK. Therapy of common superficial fungal infections. *Dermatol Ther.* 2004;17(6):517-22.
54. Howell SA. Dermatopathology and the Diagnosis of Fungal Infections. *Br J Biomed Sci.* 2023;80:11314.
55. Skerlev M. Bolesti kože uzrokovane gljivama i suvremeni terapijski principi. *Medicus* [Internet]. 2007 [pristupljeno 16.08.2023.];16(1):7-12.

56. Rotta I, Sanchez A, Gonçalves PR, Otuki MF, Correr CJ. Efficacy and safety of topical antifungals in the treatment of dermatomycosis: a systematic review. *Br J Dermatol.* 2012;166(5):927-33.
57. Sahoo AK, Mahajan R. Management of tinea corporis, tinea cruris, and tinea pedis: A comprehensive review. *Indian Dermatol Online J.* 2016;7(2):77-86.
58. Neal CM, Martens MG. Clinical challenges in diagnosis and treatment of recurrent vulvovaginal candidiasis. *SAGE Open Med.* 2022;10:20503121221115201.
59. Farr A, Effendy I, Frey Tirri B, et al. Guideline: Vulvovaginal candidosis (AWMF 015/072, level S2k). *Mycoses.* 2021;64(6):583-602.
60. Regidor PA, Thamkhantho M, Chayachinda C, Palacios S. Miconazole for the treatment of vulvovaginal candidiasis. *In vitro*, *in vivo* and clinical results. Review of the literature. *J Obstet Gynaecol.* 2023;43(1):2195001
61. Mahmoudabadi AZ, Najafyan M, Moghimipour E, Alwanian M, Seifi Z. Lamisil versus clotrimazole in the treatment of vulvovaginal candidiasis. *Iran J Microbiol.* 2013;5(1):86-90.
62. Wu S, Cheng Y, Lin S, Liu H. A Comparison of Antifungal Drugs and Traditional Antiseptic Medication for Otomycosis Treatment: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Front Surg.* 2021;22;8:739360.
63. Lee A, Tysome JR, Saeed SR. Topical azole treatments for otomycosis. *Cochrane Database Syst Rev.* 2021;25;5(5):CD009289.
64. Bojanović M, Stalević M, Arsić-Arsenijević V i sur. Etiology, Predisposing Factors, Clinical Features and Diagnostic Procedure of Otomycosis: A Literature Review. *J Fungi (Basel).* 2023;13;9(6):662.
65. Reginatto P, Agostinetto GJ, Fuentefria RDN, Marinho DR, Pizzol MD, Fuentefria AM. Eye fungal infections: a mini review. *Arch Microbiol.* 2023;15;205(6):236.

66. Austin A, Lietman T, Rose-Nussbaumer J. Update on the Management of Infectious Keratitis. *Ophthalmology*. 2017;124(11):1678-89.
67. Leung AKC, Lam JM, Leong KF, Hon KL, Barankin B, Leung AAM, Wong AHC. Onychomycosis: An Updated Review. *Recent Pat Inflamm Allergy Drug Discov*. 2020;14(1):32-45.
68. Falotico JM, Lipner SR. Updated Perspectives on the Diagnosis and Management of Onychomycosis. *Clin Cosmet Investig Dermatol*. 2022;15;15:1933-57.
69. Dhamoon RK, Popli H, Gupta M. Novel Drug Delivery Strategies for the Treatment of Onychomycosis. *Pharm Nanotechnol*. 2019;7(1):24-38.
70. Butković S. Suvremeni farmaceutski oblici za topikalno liječenje oboljenja nokta [Završni specijalistički]. Zagreb: Sveučilište u Zagrebu, Farmaceutsko-biokemijski fakultet; 2018 [pristupljeno 23.08.2023.] Dostupno na: <https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:163:404824>
71. Agencija za lijekove i medicinske proizvode. Exoterbyn 78,22 mg/ml ljevakoviti lak za nokte. Sažetak opisa svojstava lijeka. [pristupljeno 27.08.2023]. Dostupno na: <https://www.halmed.hr/Lijekovi/Baza-lijekova/Exoterbyn-7822-mg-ml-ljekoviti-lak-za-nokte/16310/>
72. Rai A, Misra SR, Panda S, et al. Nystatin Effectiveness in Oral Candidiasis Treatment: A Systematic Review & Meta-Analysis of Clinical Trials. *Life (Basel)*. 2022;12(11):1677.
73. Pinteá A, Vlad RA, Antonoaea P, et al. Structural Characterization and Optimization of a Miconazole Oral Gel. *Polymers (Basel)*. 2022;14(22):5011.
74. Quatrin PM, Dalla Lana DF, Bazana LCG i sur. 3-Selenocyanate-indoles as new agents to the treatment of superficial and mucocutaneous infections. *New J Chem* 2019;43:926–33.
75. Eita AS, Makky AMA, Anter A, Khalil IA. Atorvastatin-loaded emulsomes foam as a topical antifungal formulation. *Int J Pharm X*. 2022;4:100140.

76. Pereira F.d.O. A review of recent research on antifungal agents against dermatophyte biofilms. *Med. Mycol.* 2021;59(4):313–26.
77. Haque F, Sajid M, Cameotra SS, Battacharyya MS. Anti-biofilm activity of a sophorolipid-amphotericin B niosomal formulation against *Candida albicans*. *Biofouling.* 2017;33(9):768-779.
78. Jimmy B, Jose J. Patient medication adherence: measures in daily practice. *Oman Med J.* 2011;26(3):155-59.
79. Weinberg JM. Increasing patient adherence in antifungal infection treatment: once-daily dosing of sertaconazole. *J Clin Aesthet Dermatol.* 2009;2(2):38-42.
80. Čulig J. Patients' adherence to prescribed medication. *J. appl. health sci.* 2018; 4(1): 7-14.
81. Gupta G, Mallefet P, Kress DW, Sergeant A. Adherence to topical dermatological therapy: lessons from oral drug treatment. *Br J Dermatol.* 2009;161(2):221-27.