

## 纳米药物递释系统在抗真菌感染治疗中的应用及机制

陈水生<sup>1#</sup>, 周可倩<sup>2#</sup>, 李晓东<sup>1</sup>, 吕权真<sup>1</sup>, 俞媛<sup>1\*</sup>

(1. 海军军医大学药理学系, 上海 200433; 2. 海军军医大学麻醉系, 上海 200433)

**摘要:** 真菌感染对人类健康的威胁呈螺旋式上升, 尤其临床中侵袭性真菌感染影响重症或免疫功能改变的患者, 感染的发病率和死亡率很高。药物治疗中, 脱靶毒性以及耐药真菌问题日益严峻。随着生物材料和纳米技术广泛应用于生物医药, 针对抗真菌药物展开了很多研究, 如成功上市的两性霉素B脂质体制剂极大降低了药物肾脏毒性。纳米载体结构与其微观的物理化学特性, 可降低药物的毒副作用, 提高稳定性, 改善药物的体内生物利用度, 由特异性结构修饰实现组织的选择性作用于靶组织和靶细胞。本文针对抗真菌药物的临床应用和局限性, 围绕这些药物研究的纳米药物系统包括脂质体、类脂囊泡、脂质纳米粒、微乳、聚合物纳米粒、树枝状聚合物和无机纳米载体等进行了综述。纳米技术和纳米药物递释系统为提高抗真菌活性、克服抗真菌药物耐药性的新型制剂的研发提供了有希望的策略。

**关键词:** 真菌病; 抗真菌制剂; 耐药性; 纳米药物; 生物材料

中图分类号: R943 文献标识码: A 文章编号: 0513-4870(2021)07-1893-09

## Application and mechanism of nanomedicine in antifungal infection therapy

CHEN Shui-sheng<sup>1#</sup>, ZHOU Ke-qian<sup>2#</sup>, LI Xiao-dong<sup>1</sup>, LÜ Quan-zhen<sup>1</sup>, YU Yuan<sup>1\*</sup>

(1. School of Pharmacy, Naval Medical University, Shanghai 200433, China; 2. Anesthesiology Department, Naval Medical University, Shanghai 200433, China)

**Abstract:** The threat of fungal diseases is increasingly rigorous. The clinically invasive fungal infections remain a main cause of morbidity and mortality in certain high-risk groups, especially in critical patients or immunocompromised patients. In drug therapy, the problems of off-target toxicity and antifungal drug resistance are still challenging. With the wide application of biomaterials and nanotechnology, more nanomedicine studies have been carried out on antifungal drugs, such as the amphotericin B liposome which greatly reduced the renal toxicity of drugs has been successfully marketed. For the unique physical and chemical properties, the nano-drug delivery system possessed great potential in improving the bioavailability, reducing the side effects of drugs, increasing the stability of drugs, and achieving cells or tissue-specificity through the modification. This review summarized the applications and limitations of antifungal drugs. Some nanomedicines were summarized in discussion oriented around the antifungal therapy, including liposomes, niosomes, lipid nanoparticles, polymer nanoparticles, micro-emulsion, dendrimers, inorganic nanocarriers. Nanotechnology and nano-drug delivery system provide promising strategies for the research and development of new formulations that can improve antifungal activity and possibly overcome antifungal drug resistance.

**Key words:** fungal disease; antifungal agent; drug resistance; nanomedicine; biomaterial

收稿日期: 2021-01-12; 修回日期: 2021-02-25.

基金项目: 海军教育理论立项研究课题 (2019128); 海军军医大学大学生创新能力培养计划 (MS2019005).

#共同第一作者.

\*通讯作者 Tel / Fax: 86-21-81871289, E-mail: pharmyuu@163.com

DOI: 10.16438/j.0513-4870.2021-0053

真菌种类超过 30 万种, 真菌感染可诱发从表皮、皮肤到深部组织乃至全身性感染, 全球范围每年约 200 万人受到不同程度和种类的真菌感染。临床常见的真菌感染多为条件致病菌感染, 影响重症或免疫功能改变的患者<sup>[1,2]</sup>。最常见为白色念珠菌、烟曲霉和新隐球菌, 死亡率分别为 20%~40%、50%~90% 和 20%~70%。此外, 其他念珠菌、曲霉以及接合菌、透明霉菌和暗色丝孢霉菌等引起的感染频率正在增加, 且具有更强的耐药性<sup>[3,4]</sup>。

## 1 抗真菌药物及作用机制

按照对病原菌的作用靶位, 抗真菌感染药物分为 4 大类: 影响真菌细胞膜的药物包括多烯类(两性霉素 B、制霉菌素)、唑类(克霉唑、氟康唑)、丙烯胺类(特比萘芬)和吗啉类(阿莫罗芬); 影响真菌细胞壁的药物包括棘白菌素类(卡泊芬净、米卡芬净)、几丁质合成抑制剂(多氧霉素、尼可霉素); 抑制 DNA 和 RNA 多聚酶的药物(氟胞嘧啶); 影响微管蛋白聚合的药物(灰黄霉素)。此外, 一些中药天然产物的抗真菌作用逐步得到验证, 如黄芩素、汉防己甲素和姜黄素等。

### 1.1 影响真菌细胞膜的抗真菌药物

**1.1.1 多烯类抗真菌药** 多烯类化合物是大环内酯类有机分子, 与真菌细胞膜上的麦角固醇结合后形成甾醇-多烯复合物, 使细胞膜上形成微孔, 细胞内成分不可逆丢失造成真菌死亡<sup>[5]</sup>。该类药有很强的抗真菌活性和较宽的抗菌谱, 耐药率较低, 代表药物为两性霉素 B、制霉菌素和那他霉素<sup>[6]</sup>。两性霉素 B 对酵母菌和丝状菌有较强的活性, 用于治疗与癌症、器官移植和其他疾病有关的侵袭性真菌感染。制霉菌素和那他霉素对隐球菌、念珠菌和曲霉菌有很强的抗真菌活性。多烯类药物易与胆固醇结合, 从而导致不良反应发生, 如两性霉素 B 长期使用引起严重的肾毒性, 限制其临床应用<sup>[7]</sup>。

**1.1.2 唑类抗真菌药物** 唑类为麦角甾醇的生物合成抑制剂, 麦角甾醇是真菌细胞膜的主要成分, 可以维持细胞膜的完整性、流动性和膜结合酶的活性。唑类药物通过与细胞色素 P-450 结合竞争性抑制羊毛固醇去甲基酶, 阻碍麦角甾醇的生物合成, 破坏细胞膜的渗透性继而造成真菌死亡<sup>[8]</sup>, 包括咪唑类和三氮唑类。咪唑类常用药物有咪康唑和酮康唑; 三氮唑类常用药物有氟康唑、伊曲康唑等。氟康唑是抗真菌药物的一个重要里程碑, 是治疗局部和深部真菌感染的一线药物, 但已产生广泛的耐药性。念珠菌感染是最常见的真菌感染, 对免疫系统和抗真菌治疗的耐受能力较强, 因此此类感染难以治愈, 而白色念珠菌属对氟康唑类的耐药最为普遍<sup>[9]</sup>。目前, 此类药物的衍生物相继上市, 包括伊曲康唑用于治疗烟曲霉、孢子丝菌引起的真菌感染; 泊沙康唑用于预防侵袭性曲霉; 伏立康唑等

用于治疗致死性深部真菌感染<sup>[10]</sup>。伏立康唑和泊沙康唑具有广谱抗真菌作用, 可以替代两性霉素 B, 缺点是与作为细胞色素 P450 底物的药物之间的相互作用, 以及念珠菌之间的抗药性<sup>[11]</sup>。

**1.1.3 烯丙胺类抗真菌药物** 烯丙胺类从杂环螺旋萜衍生而来, 抑制麦角固醇生物合成的关键酶-角鲨烯环氧化酶, 麦角固醇的合成因此受到抑制, 细胞组织坏死产生抑菌作用<sup>[12]</sup>。由于角鲨烯环氧化酶对细胞色素 P450 没有依赖作用, 烯丙胺类的毒性远远小于三氮唑类, 具有广谱高效低毒抗真菌作用, 常见临床用药为特比萘芬和萘替芬等。特比萘芬对曲霉菌、镰孢菌及其他丝状真菌有很好的活性, 广泛用于治疗皮肤真菌感染<sup>[13]</sup>。

**1.1.4 吗啉类抗真菌药物** 吗啉类抗真菌药物可以抑制次麦角固醇转化成麦角甾醇所需的  $\Delta 14$  还原酶和  $\Delta 8 \rightarrow \Delta 7$  异构酶活性, 从而影响胞膜麦角固醇合成, 导致真菌胞膜结构和功能受损。阿莫罗芬是代表药物, 具有广谱抗真菌活性, 并且对角质有很好的渗透力, 对皮肤癣菌、红色毛癣菌和趾(指)间毛癣菌具有治疗作用<sup>[14]</sup>。

### 1.2 影响真菌细胞壁的药物

**1.2.1 棘白菌素类抗真菌药**  $\beta$ -(1,3)-D-葡聚糖是真菌细胞壁的重要组分, 棘白菌素通过非竞争抑制真菌  $\beta$ -(1,3)-D-葡聚糖合成酶, 抑制细胞壁的  $\beta$ -(1,3)-D-葡聚糖合成, 破坏真菌细胞壁的结构导致真菌细胞溶解死亡<sup>[15]</sup>。临床常用药物为卡泊芬净、米卡芬净和阿尼芬净。卡泊芬净对念珠菌和曲霉等有较好的抑制作用; 米卡芬净对白色念珠菌、光滑念珠菌、热带念珠菌有良好抑制活性; 阿尼芬净第 3 代棘白菌素类的半合成抗真菌药, 对白色念珠菌等的抗菌活性均优于伊曲康唑和氟康唑。棘白菌素类对一些对唑类药物有耐药性的真菌具有良好的抗菌活性, 抗菌谱广, 毒副作用小, 是目前用于治疗全身性真菌感染的一线药物, 并且无明显的交叉耐药性, 可与其他抗真菌药物联用治疗侵袭性深部真菌感染<sup>[16,17]</sup>。

**1.2.2 几丁质合成抑制剂** 几丁质是胞壁的一个次要组分, 几丁质合成酶以 UDP-N-乙酰葡糖胺 (UDP-GlcNAc) 为底物, 在细胞壁空间组装合成几丁质。几丁质与几丁质合成酶都可用作抗真菌药物的有效靶标。多氧霉素和尼可霉素是代表药物, 竞争性抑制几丁质合成酶的活性, 影响几丁质的生物合成, 抑制真菌生长<sup>[18]</sup>。

### 1.3 抑制 DNA 和 RNA 多聚酶的药物

临床常用药物为 5-氟胞嘧啶 (5-FC), 依靠胞嘧啶渗透酶进入真菌细胞, 经胞嘧啶脱氨酶转变成 5-氟尿嘧啶, 磷酸化后整合到真菌 RNA 中从而阻断蛋白质的合成。5-FC 还能够转变成磷酸氟代脱氧尿苷, 竞争性抑制胸腺嘧啶合成酶, 抑制 DNA 合成和分裂从而抑

制真菌生长<sup>[19]</sup>。5-氟胞嘧啶对念珠菌属、隐球菌属和部分暗色真菌等有抗菌活性,但由于易产生耐药性极少单独用药,通常作为辅助治疗,如与多烯类药物联用治疗隐球菌性脑膜炎<sup>[20]</sup>。

#### 1.4 影响微管蛋白聚合的药物

微管由 $\alpha$ 、 $\beta$ 2种类型的微管蛋白二聚体组成,在所有真核细胞中形成细胞骨架。灰黄霉素是从灰黄青霉菌的发酵液中分离得到的天然产物,与微管蛋白结合干扰真菌微管组装,抑制有丝分裂从而起到抑制真菌的作用<sup>[21]</sup>。

#### 1.5 天然产物中的抗真菌活性成分

中药天然活性成分具有来源广、不良反应小和不易产生耐药等特点,联合现有的抗真菌药物协同发挥抗真菌作用、降低真菌的耐药性具有很好的研究价值。如从黄芩中提取的黄芩素抗真菌谱广,与氟康唑联合可以不同程度逆转白色念珠菌的耐药性,明显降低氟康唑对其最小抑菌浓度值,可能通过抑制白色念珠菌DNA生物合成达到抗菌作用<sup>[22,23]</sup>。此外,姜黄素、白鲜碱、土槿皮乙酸、汉防己甲素、和厚朴酚等中药有效成分,与抗真菌药物联用均可以提高抗深部真菌感染的效果<sup>[24]</sup>。

#### 1.6 抗真菌药物应用中存在的问题

脱靶效应是药物治疗的主要问题之一。如多烯类药物破坏细胞膜内胆固醇引起毒性反应。使用系统抗真菌药物的患者整体身体机能较差,所以药物不良反应的影响显著。与此同时,耐药性的产生是微生物感染治疗面临的严峻挑战。真菌耐药性比例达到5%~10%,侵袭性曲霉病在治疗后的死亡率达50%,如具有唑类耐药性,死亡率上升到80%。真菌的耐药机制与药物吸收降低、微生物细胞的药物外排增加、生物膜形成或细胞内的作用有关<sup>[25,26]</sup>,可以概括为:改变药物靶向分子,通过改变药物靶向蛋白的结构降低药物敏感性,从而使药物失效。或过量表达药物靶向蛋白,使药物不能完全发挥作用;降低菌体内药物浓度,通过降低细胞通透性使药物进入细胞减少。同时细胞膜外排泵蛋白表达增加,加速将药物排到胞外;改变代谢途径,如真菌可抑制5-FC代谢为毒性物质的关键酶诱导耐药;形成生物膜和调节细胞壁的适应性,生物膜具有天然屏障作用,影响药物作用于菌体,降低药物摄取<sup>[27]</sup>。这些机制不仅使药物有效浓度降低,而且还意味着药物靶点和代谢旁路的改变和亚表达。耐药性也是目前可用的所有类别抗真菌药物的交叉问题。因此,克服真菌耐药性是提高抗真菌感染治疗效果的主要策略之一<sup>[28]</sup>。

## 2 纳米药物递释系统用于抗真菌感染治疗

随着纳米技术和生物材料广泛应用于生物医药,针对抗真菌药物展开了广泛研究。纳米药物载体为亚

微米级的超分子结构,粒径范围1~1 000 nm,体内作用取决于流体动力学、形态、表面化学、给药途径、血液循环时间以及与免疫系统的作用等。纳米结构微观的物理化学特性和生物学特性,可降低药物的毒副作用,提高稳定性,提高药物的生物利用度,由结构修饰选择性作用于靶组织和靶细胞<sup>[29]</sup>。由可调节的物理化学特性及对药物的缓控释靶向递送功能,纳米递释系统可从不同的作用机制和途径提高抗真菌感染效果:① 纳米载体携带药物至靶部位局部高浓度释放,减少非靶部位的药物浓度,同时保持较低的给药剂量以降低药物不良反应,也可以实现多种抗菌药的协同载药来克服耐药;② 纳米粒可通过电荷相互作用黏附至真菌膜表面干扰膜完整性,改变细胞壁结构,阻止重要酶信号通路等<sup>[30]</sup>;③ 通过化学特性和多种机制使耐药性产生的可能性降低。其中一种重要机制为氧化应激,与O<sub>2</sub>反应的活性部位导致ROS的形成从而增加组织损伤,氧化细胞膜中的脂肪酸双键,可能改变细胞膜的通透性,增加渗透压力导致真菌细胞死亡。此外,ROS还可以破坏病原体的DNA、RNA和蛋白质<sup>[31]</sup>。由二氧化硅和氧化锌纳米粒制成的一氧化氮纳米粒,分别通过杀灭已经形成的生物膜中的微生物,或通过产生ROS来抑制生物膜的形成从而克服耐药<sup>[32,33]</sup>。一些纳米载体如脂质体和树枝状大分子,由于其特殊的材料属性与微生物的细胞膜作用,能够克服微生物细胞对药物的摄取减少和外排增加的耐药性机制。无机纳米材料如纳米银可以改变真菌细胞膜微环境(主要为麦角甾醇含量和脂肪酸组成),发挥抗真菌活性<sup>[34]</sup>;④ 结合纳米载体自身的抗真菌机制,通过载体和药物联合降低真菌的耐药性,如药物结合纳米银载体的协同作用,可能与对细胞膜完整性和出芽过程的破坏有关,相关基因*ERG5*、*ERG1*、*ERG25*、*MDR1*和*CDR2*等表达紊乱,膜麦角甾醇水平降低<sup>[35,36]</sup>。研究较多的抗真菌纳米药物有脂质体及类脂囊泡、脂质纳米粒、微乳、聚合物纳米粒、树枝状聚合物,以及无机纳米载体如二氧化硅、碳材料和磁性金属等,针对不同的抗真菌药物进行了研究。

### 2.1 脂质体

脂质体是一种单层或多层脂质膜构成的纳米囊泡状载体,是上市最多的纳米药物载体剂型,国内外目前约有26种脂质体注射剂上市,用于肿瘤治疗、镇痛、疫苗等,包括4种抗真菌感染的脂质体药物<sup>[37]</sup>。脂质体能够与微生物细胞的质膜融合,并将高浓度的药物释放到细胞膜或细胞质中,实现更高效的输送和避免药物外排增加。与游离药物相比,抗真菌脂质体具有穿透真菌生物膜的潜力。两性霉素B脂质体制剂AmBisome

是第一个脂质体多烯治疗药物,显著减少了两性霉素B的肾脏毒性,是系统性念珠菌感染的一线治疗药物,用于治疗严重侵袭性真菌病,包括毛霉菌病、青霉菌、隐球菌脑膜炎和肺曲霉病等<sup>[38]</sup>。Al-Nakeeb等<sup>[39]</sup>研究发现,两性霉素B脂质体可以使循环真菌生物标志物量依赖性降低,用量 $3\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$ 可以抑制大多数侵袭性曲霉病患者的半乳糖甘露聚糖和 $1,3\text{-}\beta\text{-D}$ -葡聚糖水平。制霉菌素制成脂质体,不良反应明显降低,提高了抗真菌活性,对新型隐球菌、念珠菌、曲霉和毛霉等有效<sup>[40]</sup>,已进入临床试验。不同材料属性的脂质体具有不同的作用机制,如可以增强皮肤渗透性并提高局部抗真菌药物稳定性的传递体。Perez等<sup>[41]</sup>对两性霉素B传递体的体外抗真菌活性和人体皮肤渗透进行评价,使用Tween 80作为边缘活化剂的传递体具有最大的可变形性,对白色念珠菌体外敏感性非常高,与市售的AmBisome相比人体皮肤中蓄积提高了40倍。主动靶向的抗真菌脂质体也开展了研究,大多数真菌细胞壁富含甘露聚糖,同时具有胞外多糖基质,Dectin-2是一种免疫膜受体,可与甘露聚糖结合成二聚体并发出真菌感染信号。研究者用Dectin-2的甘露聚糖结合域sDectin-2单体修饰两性霉素脂质体,与未修饰的脂质体相比,sDectin-2脂质体更有效地结合了白色念珠菌、新孢子菌和烟曲霉几个发育阶段的细胞外基质,有效地抑制了3种真菌的生长<sup>[42]</sup>。基于宿主细胞与病原真菌互作而构建的细胞膜仿生递药系统是一种新型抗真菌药物载体,Xie<sup>[43]</sup>制备了红细胞膜包被的两性霉素B阳离子脂质体RBC-LIP-Amb,胞浆蛋白P4.2衍生的多肽配体修饰于脂质体表面,通过多肽配体与细胞膜受体的特异性结合来引导细胞膜包裹药物载体。通过病原真菌与宿主红细胞相互作用靶向于白色念珠菌,并中和病原真菌分泌的血红素。经RBC-LIP-Amb治疗的肺部白色念珠菌感染小鼠生存率是普通脂质体组的7.5倍。

## 2.2 脂质纳米粒

固体脂质纳米粒(SLN)和纳米脂质载体(NLCs)结构都基于固体脂质。SLNs以固态天然、合成的脂质如卵磷脂、甘油三酯等为基质,药物包裹于固体脂质核心中。NLCs由固体脂质基质制成的,将液体脂质穿插在纳米间隔形成固体-胶体粒子,不同凝固点的脂质混合使NLCs具有不规则的内部结构,减少了与SLNs相关的载药量有限、药物渗漏和混悬剂物理稳定性问题<sup>[44]</sup>。酮康唑用于治疗局部或系统性真菌感染,其口服吸收率收取取决于胃肠道pH值及药物间相互作用。以dynasan116为固体脂质,蓖麻油作为液体脂质,以超声均质制备酮康唑脂质纳米粒,可以维持药物24 h稳定释放。口服给药中有效提高酮康唑的稳定性并增强

抗真菌活性,与酮康唑混悬液相比,其 $C_{\text{max}}$ 和 $\text{AUC}_{0\rightarrow\infty}$ 均提高了2倍以上<sup>[45]</sup>。侵袭性肺曲霉病主要由曲霉菌种引起,由于其毒性和低循环半衰期,针对肺曲霉病的治疗策略非常有限。Mathpal等<sup>[46]</sup>以硬脂胺与油酸通过喷雾干燥技术制备了两性霉素B的NLCs,40 h释放药物88.2%,鼻腔喷雾技术肺部递送后,药物在肺组织中取得了更高的沉积效率,且具有长效的抗曲霉感染作用。在一些真菌感染治疗中,由于生理屏障的作用药物疗效大大降低。隐球菌性脑膜炎造成中枢神经系统的严重感染,但是由于血脑屏障的作用,药物治疗受限,研究制备酮康唑NLCs可以通过鼻内给药绕过血脑屏障经嗅球区域进入脑组织。与抗真菌药物相比,酮康唑NLCs不仅提高了药物对新型隐球菌荚膜的渗透效率,且有效提高小鼠脑组织中新型隐球菌的抗感染效果<sup>[47]</sup>。

## 2.3 类脂囊泡

类脂囊泡是由非离子表面活性剂为囊材制成的单层囊泡,稳定性优于脂质体,可避免脂质体因磷脂氧化而引起的药物渗漏和溶血等不良反应。经皮肤给药时,可以增强有效成分的透皮吸收,提高生物利用度<sup>[48]</sup>。Alam等<sup>[49]</sup>采用类脂囊泡作为二烯丙基硫醚(DAS)的载体考察其体内外的抗白色念珠菌活性,与游离DAS相比,DAS类脂囊泡给药组的真菌感染小鼠生存期从10.5天增加到40天甚至更久,类脂囊泡显著改善了DAS的体内分布,稳定维持其有效浓度提高了药物的疗效。有研究者制备了伊曲康唑类脂囊泡对白色念珠菌的抗菌活性,与上市药物Itral相比,抑菌面积增大90倍<sup>[50]</sup>。进行局部的抗真菌治疗,要求作用部位尤其是角质层具有较高的药物浓度,并且减少药物的血液吸收以降低不良反应,采用类脂囊泡作为抗真菌药物载体可以实现角质层的药物驻留。氟康唑类脂囊泡凝胶进行皮肤给药,体内外的药物蓄积实验表明,类脂囊泡凝胶在皮肤沉积的药物量高于普通凝胶制剂约3.3倍,并且具有良好的物理稳定性<sup>[51]</sup>。

## 2.4 微乳

微乳(microemulsion)是一种是水、油、表面活性剂和助表面活性剂四元体系自发形成的各向同性、热力学稳定的分散体系,微乳制剂经皮给药可以增强许多药物的皮肤蓄积,在抗皮肤真菌感染中具有优势<sup>[52]</sup>。Butani和他的团队<sup>[53]</sup>研究发现,与普通皮肤制剂相比,载有两性霉素B的微乳(ME7)的渗透性更好,用于治疗毛癣菌引起的真菌感染的活性更高。Hashem等<sup>[54]</sup>制备并评价了克霉唑微乳剂用于局部真菌感染的疗效,结果表明微乳制剂的皮肤保留时间明显高于市售的克霉唑乳膏。Zhang等<sup>[55]</sup>研究证实克霉唑微乳凝胶的真

皮蓄积浓度是上市乳剂 Lotrimin 的 2.4 倍, 说明与乳剂相比微乳剂可以显著提高药物的皮肤驻留, 有利于皮肤真菌病的治疗。肉豆蔻酸和姜黄素具有协同抗真菌作用, 以肉豆蔻酸制备微乳, 包载姜黄素后对表皮葡萄球菌的作用中, 肉豆蔻酸微乳液中的姜黄素浓度为  $86 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$  可以抑制 50% 的细菌生长, 比单独用姜黄素的效果提高了 12 倍。微乳中肉豆蔻酸和姜黄素的鸡尾酒组合协同抑制表皮葡萄球菌的生长, 并提高了姜黄素的皮肤蓄积 ( $326 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ )<sup>[56]</sup>。已有许多上市药物采用微乳剂型, 如 Allermyl、Solvium、Sandimmune Neole、Norvir 和 Fortovase 等, 但对温度和盐浓度的变化敏感, 在高于或低于正常温度以及盐浓度发生变化时, 微乳易出现相改变导致相分离, 因此临床应用受限。

## 2.5 聚合物纳米粒

聚合物纳米粒 (polymer nanoparticles, NPs) 是将药物溶解或分散在生物降解/非生物降解的聚合物中形成的直径为 10~500 nm 的聚合物固体粒子。NPs 可以提高药物稳定性, 其机制为保护封装的药物不受胃肠道 pH 值、酶系统和外排泵的影响。有研究者发现与现有的氟康唑或两性霉素 B 脂质体相比, 两性霉素 B-NPs 在  $5.0 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$  剂量时, 有效降低烟曲霉体内负荷, 效率是市售脂质体的 2 倍, 而两性霉素 B 纳米粒混悬液的效率是后者的 4 倍<sup>[57]</sup>。Amaral 等<sup>[58]</sup>将磺胺甲恶唑或甲氧苄啶与 P10 肽一起包载于聚乳酸-羟基乙酸共聚物 (PLGA) 制备 NPs, 旨在减少该肽的体内降解以及引发针对副球菌的真菌的保护性免疫应答。与对照组相比, 接受化学疗法和 P10 纳米疗法联合治疗的动物的肺部真菌负荷显著降低。PLGA 中的 P10 (每 50 微升 1  $\mu\text{g}$ ) 比在弗氏佐剂 (每 50 微升 20  $\mu\text{g}$ ) 中乳化的 P10 更有效。磺胺甲恶唑/甲氧苄啶与包裹在 PLGA 中的 P10 肽联合显示对副球菌病的有效治疗效果。Tejada 等<sup>[59]</sup>开发了硝酸咪康唑和利多卡因的聚合物纳米粒用于局部白色念珠菌感染的治疗, 药物的释放符合 Korsmeyer-Peppas 模型, 50% 最低抑菌浓度 ( $\text{MIC}_{50}$ ) 值  $0.004\sim 0.25 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ , 最小杀菌浓度 (MFC) 值为  $4 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ , 相对于游离药物显著地提高了抗真菌效果, 药物的抗真菌活性可以保持 24 h, 可作为治疗白色念珠菌感染的新剂型。肺部是真菌感染的主要器官之一, PLGA 聚合物加入二巯基琥珀酸制备的纳米粒具有肺组织的趋向性, 包载脱氧胆酸两性霉素 B, 感染巴西副球菌的小鼠经腹腔注射后具有明显的肺组织蓄积, 对副球菌孢子菌病的治疗效果与游离药物相当。但这种纳米剂型的优点是, 在靶部位蓄积后载体中的药物缓慢释放, 只需每 3 天给药 1 次, 可起到缓释低毒的作用<sup>[60]</sup>。由于聚合物纳米粒具有优良的稳定性、细胞膜摄取能力及药物

缓控释能力, 在用于真菌感染治疗方面有巨大的潜力。

## 2.6 树枝状聚合物

树枝状聚合物是一种具有低的多分散性和可控的表面特征的合成聚合物, 主要由 3 个部分构成, 分别是核心、树形分枝及表面活性基团。代表性树枝状聚合物包括聚酰胺胺、聚丙烯亚胺、聚赖氨酸、碳硅烷和含磷树枝状聚合物。树枝状大分子表面可以接枝带正电荷的季铵化合物, 与带负电荷的微生物细胞膜结合, 增加膜的通透性。从而使更多的树状大分子进入微生物细胞, 细胞质内容物向外流动, 最终破坏细胞膜, 可克服药物摄取减少和真菌细胞膜引起的耐药<sup>[61]</sup>。Janiszewska 等<sup>[62]</sup>设计合成和表征了一系列新的阳离子脂肽, 发现对于具有 C12 残基的衍生物, 对念珠菌的抗菌活力显著提高。有研究者合成了一种新型的树枝状聚合物 D186, 研究发现 D186 对耐药性白色念珠菌的天冬氨酸蛋白酶 SAP5 的表达和对上皮细胞黏附具有抑制作用, 由此提出可能是因其 4 个疏水性 Trp 残基有利于 D186 在真菌膜中的积累, 引起膜破裂导致真菌的死亡<sup>[63]</sup>。有研究者<sup>[64]</sup>发现了一种有效的阳离子碳硅烷树枝状分子 BDSQ024 可以在低浓度下破坏白色念珠菌的细胞膜并杀死白色念珠菌, 其最小生物膜形成抑制浓度 (MBIC) 为  $16 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ , 并且非细胞毒性浓度下, 与两性霉素和卡泊芬净有协同作用。以上研究说明树形大分子由于其结构特点具有新型抗真菌作用机制, 成为一种具有研究价值的抗真菌感染生物材料。

## 2.7 无机纳米载体

磁性纳米金属微粒、纳米介孔硅、碳纳米管等无机纳米药物载体作为药物载体引起人们的关注。无机纳米微粒的尺寸、形貌可控性好, 比表面积更大, 还有独特的光、电、磁性质赋予其成像、靶向输送和协同药物治疗等功能, 更有利于药物的胞内输送<sup>[65]</sup>。碳纳米管 (CNTs) 有独特中空结构和内外管径, 具有良好的细胞穿透能力, Benincasa 等<sup>[66]</sup>将碳纳米管与两性霉素 B 偶联, 对临床念珠菌属分离株具有极好的活性。扫描电镜还显示了对细菌和白色念珠菌的抗菌活性, 表明微生物被碳纳米管网络包裹或截留。一些无机纳米材料由于其特殊的材料属性, 本身即具有抗真菌作用。氧化石墨烯纳米片对黑曲霉、米曲霉和尖孢镰刀菌具有抗真菌活性<sup>[67]</sup>。为了降低石墨烯的毒性, Cheong 等<sup>[68]</sup>将石墨烯氧化物 (GO) 与聚乙二醇通过酰胺键相连, 制备了聚乙二醇化的石墨烯氧化物可与铜纳米粒产生协同抗真菌作用, 对白色念珠菌的  $\text{MIC}_{50}$  为  $185\sim 225 \mu\text{m}\cdot\text{mL}^{-1}$ , 但在单独的石墨烯或聚乙二醇修饰石墨烯中, 当纳米粒浓度上升而抗真菌活性降低, 这可能与胶体体系不稳定有关。Niemirowicz 等<sup>[69]</sup>也报道了通过

使用磁性纳米粒抑制白色念珠菌的生长, 治疗完成后该磁性纳米粒可以通过外加磁场的作用从血液、腹腔和脑脊液中去除。氧化铁纳米粒 (IONPs) 对多种念珠菌的抗真菌活性研究发现, 热带假丝酵母菌、白色假丝酵母菌和光滑假丝酵母菌对 IONP 敏感, IONPs 可抑制所有测试的念珠菌的生长。与氟康唑相比, IONPs 的 MIC 值和 MFC 值分别为 62.5~500 和 500~1 000  $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ , 氟康唑分别为 16~128 和 64~512  $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ , 但其体内应用仍需进一步考察<sup>[70]</sup>。纳米  $\text{TiO}_2$  是一种半导体光催化型抗菌剂,  $\text{TiO}_2/\text{ZnO}$  纳米复合材料能够在可见光下有效地光降解白色念珠菌的生物膜, 抑制白色念珠菌的繁殖<sup>[71]</sup>。Piktel 等<sup>[72]</sup>研究了棒状金纳米粒 (AuR-NPs) 对念珠菌、酵母菌和丝状真菌 (包括曲霉、镰刀菌和枝孢霉) 的杀菌活性, 结果表明, 金纳米棒对酵母菌和丝状真菌具有良好的抗真菌活性, 其最低抑菌浓度 (MIC/MFC) 为 0.039~1.25  $\text{ng}\cdot\text{mL}^{-1}$ , 其抑菌机制可能为 AuR-NPs 真菌线粒体相互作用, 导致线粒体膜破坏, ATP 无法合成引起真菌死亡。无机纳米材料虽然具有良好的抗真菌特性, 但是其体内生物毒性是值得研究的问题。

### 3 结论与展望

越来越多的真菌感染需要新的药物和技术解决耐药性问题, 降低药物脱靶毒性, 提高抗真菌效果。开发新结构的药物研发成本高、周期长, 需要巨大的人力和物力投入。而纳米生物材料和纳米技术应用于疾病的诊断和药物治疗展现出巨大的活力和应用价值。纳米技术为多功能的药物治疗系统提供了满足不同生物学和治疗要求的可能性。涉及纳米技术的真菌药物研究表明, 对于某些药物 (如 AmB), 其抗真菌特性如生物利用度、毒性降低和靶组织的递药效率的改善, 可提供一种创新的治疗方法。与此同时, 纳米载体的物理化学特性也为克服真菌耐药性提供了非常有潜力的研究策略。表 1<sup>[38-41,43,46,49,53,55-60,62-64,68-83]</sup>总结文中所述纳米载体系统在抗真菌感染中的应用机制及代表性研究药物。尽管如此, 仍需要解决许多问题, 如纳米载体的物理稳定性、载药量的提高、可控的药物释放、靶向治疗与热疗/光动力疗法以及药物的输送相结合的多功能体系的研究, 从而提高真菌感染治疗效率。纳米载体与生物膜、细胞外基质的作用机制复杂, 需要进一步的深入研究。此外、细胞毒性/免疫原性需要进行纳米毒

**Table 1** Nanomedicine are applied for the antifungal therapy strategy

Nanocarrier	Mechanism of antifungal therapy	Agent
Liposomes	Fusion with biofilm; improve drug uptake and reduce drug efflux; low systemic toxicity; surface modification; active targeting; skin accumulation and topical antifungal therapy	Amphotericin B <sup>[38,39,41,43]</sup> Nystatin <sup>[40]</sup> Ketoconazole <sup>[82]</sup> Terbinafine <sup>[83]</sup>
Lipid nanoparticles	Sustained-release of drugs; low systemic toxicity; enhance oral absorption	Ketoconazole <sup>[73]</sup> Amphotericin B <sup>[46]</sup> Fluconazole <sup>[74]</sup> Clotrimazole <sup>[75,78]</sup>
Niosomes	Skin accumulation and topical antifungal therapy	Diallyl sulfide <sup>[49]</sup> Itraconazole <sup>[76]</sup> Econazole <sup>[77]</sup>
Microemulsion	Skin accumulation and topical antifungal therapy	Amphotericin B <sup>[53]</sup> Curcumin <sup>[56]</sup> Clotrimazole <sup>[55]</sup>
Polymeric nanoparticles	Sustained-release of drugs; low systemic toxicity; improve cellular uptake; surface modification; active targeting; co-delivery of drugs	Amphotericin B <sup>[57,60]</sup> P10 peptide <sup>[58]</sup> Miconazole nitrate <sup>[59]</sup> Itraconazole <sup>[80]</sup> Clotrimazole <sup>[81]</sup>
Dendritic polymers	Biofilms-binding mechanism; disruption of microbial cell membrane; synergistic effect of polymers and drugs	Cationic lipopeptides <sup>[62]</sup> D186 <sup>[63]</sup> BDSQ024 <sup>[64]</sup>
Inorganic nanoparticles	Entrapment of microbial cells; photocatalytic degradation of microbial cell membrane; ROS-dependent antimicrobial action; fungal organelles-targeting; synergistic effect of inorganic materials and drugs	Graphene oxide <sup>[68]</sup> Magnetic nanoparticle <sup>[69]</sup> Iron oxide nanoparticle <sup>[70]</sup> $\text{TiO}_2/\text{ZnO}$ nanocomplex <sup>[71]</sup> Rod-shaped gold nanoparticles <sup>[72]</sup> AgNPs <sup>[79]</sup>

理学研究, 评估体内动物模型中纳米系统的药代动力学和药效学特性等。

**作者贡献:** 陈水生、周可倩和李晓东负责文献的查阅、部分撰写; 吕权真对文章中关键理论进行指导; 俞媛负责文章选题和设计、文章的关键理论指导及修改。

**利益冲突:** 文章内容不涉及相关利益冲突。

## References

- [1] Berman J, Krysan DJ. Drug resistance and tolerance in fungi [J]. *Nat Rev Microbiol*, 2020, 18: 319-331.
- [2] Badiie P, Hashemizadeh Z. Opportunistic invasive fungal infections: diagnosis & clinical management [J]. *Indian J Med Res*, 2014, 139: 195-204.
- [3] Oren I, Paul M. Up to date epidemiology, diagnosis and management of invasive fungal infections [J]. *Clin Microbiol Infect*, 2014, 20 Suppl 6: 1-4.
- [4] Schmiedel Y, Zimmerli S. Common invasive fungal diseases: an overview of invasive candidiasis, aspergillosis, cryptococcosis, and *Pneumocystis pneumonia* [J]. *Swiss Med Wkly*, 2016, 146: w14281.
- [5] Kristanc L, Božič B, Jokhadar ŠZ, et al. The pore-forming action of polyenes: from model membranes to living organisms [J]. *Biochim Biophys Acta Biomembr*, 2019, 1861: 418-430.
- [6] Serhan G, Stack CM, Perrone GG, et al. The polyene antifungals, amphotericin B and nystatin, cause cell death in *Saccharomyces cerevisiae* by a distinct mechanism to amphibian-derived antimicrobial peptides [J]. *Ann Clin Microbiol Antimicrob*, 2014, 13: 18.
- [7] Lemke A, Kiserlen AF, Kayser O, et al. Amphotericin B [J]. *Appl Microbiol Biotechnol*, 2005, 68: 151-162.
- [8] Zhang JX, Li LP, Lv QZ, et al. The fungal CYP51s: their functions, structures, related drug resistance, and inhibitors [J]. *Front Microbiol*, 2019, 10: 691.
- [9] Vandeputte P, Ferrari S, Coste AT, et al. Antifungal resistance and new strategies to control fungal infections [J]. *Int J Microbiol*, 2012, 2012: 713687.
- [10] Han XY, Song YL, Bai P, et al. Systematic classification of antifungal drugs, resistance mechanisms and development of new drugs [J]. *Chin J Mod Appl Pharm (中国现代应用药学)*, 2019, 36: 1430-1436.
- [11] Niemirowicz K, Durnas B, Pikte E, et al. Development of antifungal therapies using nanomaterials [J]. *Nanomedicine*, 2017, 12: 1891-1905.
- [12] Onyewu C, Blankenship JR, Poeta MD, et al. Ergosterol biosynthesis inhibitors become fungicidal when combined with calcineurin inhibitors against *Candida albicans*, *Candida glabrata*, and *Candida krusei* [J]. *Antimicrob Agents Chemother*, 2003, 47: 956-964.
- [13] Ghannoum M, Isham N, Verma A, et al. *In vitro* anti-fungal activity of naftifine hydrochloride against dermatophytes [J]. *Antimicrob Agents Chemother*, 2013, 57: 4369-4372.
- [14] Nowosielski M, Hoffmann M, Wyrwicz LS, et al. Detailed mechanism of squalene epoxidase inhibition by terbinafine [J]. *J Chem Inf Model*, 2011, 51: 455-462.
- [15] Walker LA, Gow N, Munro CA, et al. Fungal echinocandin resistance [J]. *Fungal Genet Biol*, 2010, 47: 117-126.
- [16] Eschenauer G, DePestel D, Carver PL, et al. Comparison of echinocandin antifungals [J]. *Ther Clin Risk Manag*, 2007, 3: 71-97.
- [17] Spreghini E, Orlando F, Sanguinetti M, et al. Comparative effects of micafungin, caspofungin, and anidulafungin against a difficult-to-treat fungal opportunistic pathogen, *Candida glabrata* [J]. *Antimicrob Agents Chemother*, 2012, 56: 1215-1222.
- [18] Dai M, Qiu JP, Wang K, et al. Research on progress of chitin synthase inhibitors as anti-fungi drugs [J]. *Bull Sci Technol (科技通报)*, 2017, 33: 71-76.
- [19] Vermes A, Guchelaar HJ, Dankert J, et al. Flucytosine: a review of its pharmacology, clinical indications, pharmacokinetics, toxicity and drug interactions [J]. *J Antimicrob Chemother*, 2000, 46: 171-179.
- [20] Chandra J, Mohammad S, Ghannoum MA, et al. Flucytosine: site of action, mechanism of resistance and use in combination therapy [M]//Mayers DL. *Antimicrobial Drug Resistance*. Humana Press, 2009: 313-326.
- [21] Zhu YJ, Yu XJ, Pan ZZ, et al. Research advances of griseofulvin [J]. *J Xiamen Univ (Nat Sci) [厦门大学学报 (自然科学版)]*, 2010, 49: 435-439.
- [22] Da X, Nishiyama Y, Tie D, et al. Antifungal activity and mechanism of action of Ou-gon (Scutellaria root extract) components against pathogenic fungi [J]. *Sci Rep*, 2019, 9: 1683.
- [23] Zhang WP, Xiong Y, Fu YY. Inhibitory effect of baicalin on DNA synthesis of candida albicans [J]. *J Gannan Med Univ (赣南医学院学报)*, 2004, 4: 501-502.
- [24] Tan SL, Zhang DZ, Jiang YY. Research progress of the natural small molecular products synergistically with antifungal agents to inhibit drug-resistant fungi [J]. *Acta Pharm Sin (药学报)*, 2014, 49: 1097-1104.
- [25] Pelgrift RY, Friedman AJ. Nanotechnology as a therapeutic tool to combat microbial resistance [J]. *Adv Drug Deliv Rev*, 2013, 65: 1803-1815.
- [26] Voltan AR, Quindós G, Medina Alarcón KP, et al. Fungal diseases: could nanostructured drug delivery systems be a novel paradigm for therapy? [J]. *Int J Nanomedicine*, 2016, 11: 3715-3730.
- [27] Wang GY, Yang Y, Che BQ, et al. Progress in antifungal drugs and drug-resistance mechanisms [J]. *Lett Biotechnol*, 2018, 29: 856-865.
- [28] Scorzoni L, de Paulae Silva ACA, Marcos CM, et al. Antifungal therapy: new advances in the understanding and treatment of

- mycosis [J]. *Front Microbiol*, 2017, 8: 36.
- [29] Couvreur P. Nanoparticles in drug delivery: past, present and future [J]. *Adv Drug Deliv Rev*, 2013, 65: 21-23.
- [30] Qidway A, Pandey A, Kumar R, et al. Advances in biogenic nanoparticles and the mechanisms of antimicrobial effects [J]. *Indian J Pharm Sci*, 2018, 80: 592-603.
- [31] Rodrigues GR, López-Abarrategui C, Gómez S, et al. Antimicrobial magnetic nanoparticles based-therapies for controlling infectious diseases [J]. *Int J Pharm*, 2019, 555: 356-367.
- [32] Hetrick EM, Shin JH, Paul HS, et al. Anti-biofilm efficacy of nitric oxide-releasing silica nanoparticles [J]. *Biomaterials*, 2009, 30: 2782-2789.
- [33] Hajipour MJ, Fromm KM, Ashkarran A, et al. Antibacterial properties of nanoparticles [J]. *Trends Biotechnol*, 2012, 30: 499-511.
- [34] Radhakrishnan VS, Mudiam MKR, Kumar M, et al. Silver nanoparticles induced alterations in multiple cellular targets, which are critical for drug susceptibilities and pathogenicity in fungal pathogen (*Candida albicans*) [J]. *Int J Nanomed*, 2018, 13: 2647-2663.
- [35] Blecher K, Nasir A, Friedman A. The growing role of nanotechnology in combating infectious disease [J]. *Virulence*, 2011, 2: 395-401.
- [36] Sun LM, Liao K, Li YP, et al. Synergy between polyvinylpyrrolidone-coated silver nanoparticles and azole antifungal against drug-resistant *Candida albicans* [J]. *J Nanosci Nanotechnol*, 2016, 16: 2325-2335.
- [37] Xiang XY, Du S, Ding Y, et al. Application and development of liposome injection [J]. *J China Pharm Univ (中国药科大学学报)*, 2020, 51: 383-393.
- [38] Stone N, Bicanic T, Salim R, et al. Liposomal amphotericin B (AmBisome®): a review of the pharmacokinetics, pharmacodynamics, clinical experience and future directions [J]. *Drugs*, 2016, 76: 485-500.
- [39] Al-Nakeeb Z, Petraitis V, Goodwin J, et al. Pharmacodynamics of amphotericin B deoxycholate, amphotericin B lipid complex and liposomal amphotericin B against *Aspergillus fumigatus* [J]. *Antimicrob Agents Chemother*, 2015, 59: 2735-2745.
- [40] Offner F, Kremery V, Boogaerts M, et al. Liposomal nystatin in patients with invasive aspergillosis refractory to or intolerant of amphotericin B [J]. *Antimicrob Agents Chemother*, 2004, 48: 4808-4812.
- [41] Perez AP, Altube MJ, Schilreff P, et al. Topical amphotericin B in ultradeformable liposomes: formulation, skin penetration study, antifungal and antileishmanial activity *in vitro* [J]. *Colloids Surf B Biointerf*, 2016, 139: 190-198.
- [42] Ambati S, Ellis EC, Lin JF, et al. Dectin-2-targeted antifungal liposomes exhibit enhanced efficacy [J]. *mSphere*, 2019, 4: 715-719.
- [43] Xie J, Shen Q, Huang K, et al. Oriented assembly of cell-mimicking nanoparticles *via* a molecular affinity strategy for targeted drug delivery [J]. *ACS Nano*, 2019, 13: 5268-5277.
- [44] Das S, Ng WK, Tan R. Are nanostructured lipid carriers (NLCs) better than solid lipid nanoparticles (SLNs): development, characterizations and comparative evaluations of clotrimazole-loaded SLNs and NLCs? [J]. *Eur J Pharm Sci*, 2012, 47: 139-151.
- [45] Dudhipala N, Ahmed Adel AY. Amelioration of ketoconazole in lipid nanoparticles for enhanced antifungal activity and bioavailability through oral administration for management of fungal infections [J]. *Chem Phys Lipids*, 2020, 232: 104953.
- [46] Mathpal D, Garg T, Rath G, et al. Development and characterization of spray dried microparticles for pulmonary delivery of antifungal drug [J]. *Curr Drug Deliv*, 2015, 12: 464-471.
- [47] Du W, Li H, Tian B, et al. Development of nose-to-brain delivery of ketoconazole by nanostructured lipid carriers against cryptococcal meningitis in mice [J]. *Colloids Surf B Biointerfaces*, 2019, 183: 110446.
- [48] Lu BY, Huang YT, Chen ZY, et al. Niosomal nanocarriers for enhanced skin delivery of quercetin with functions of anti-tyrosinase and antioxidant [J]. *Molecules*, 2019, 24: 1-17.
- [49] Alam M, Dwivedi V, Khan AA, et al. Efficacy of niosomal formulation of diallyl sulfide against experimental candidiasis in Swiss albino mice [J]. *Nanomedicine*, 2009, 4: 713-724.
- [50] Wagh VD, Deshmukh OJ, et al. Itraconazole niosomes drug delivery system and its antimycotic activity against *Candida albicans* [J]. *ISRN Pharm*, 2012, 2012: 653465.
- [51] ASMB El-Enin, Khalifa MKA, Dawaba AM, et al. Proniosomal gel-mediated topical delivery of fluconazole: development, *in vitro* characterization, and microbiological evaluation [J]. *J Adv Pharm Technol Res*, 2019, 10: 20-26.
- [52] Shukla T, Upmanyu N, Mukta A, et al. Biomedical applications of microemulsion through dermal and transdermal route [J]. *Biomed Pharmacother*, 2018, 108: 1477-1494.
- [53] Butani D, Yewale C, Misra A, et al. Amphotericin B topical microemulsion: formulation, characterization and evaluation [J]. *Colloids Surf B Biointerfaces*, 2014, 116: 351-358.
- [54] Hashem FM, Shaker DS, Ghorab MK, et al. Formulation, characterization, and clinical evaluation of microemulsion containing clotrimazole for topical delivery [J]. *AAPS PharmSciTech*, 2011, 12: 879-886.
- [55] Zhang J, Michniak-Kohn B. Investigation of microemulsion and microemulsion gel formulations for dermal delivery of clotrimazole [J]. *Int J Pharm*, 2018, 536: 345-352.
- [56] Liu CH, Huang HY. Antimicrobial activity of curcumin-loaded myristic acid microemulsions against *Staphylococcus epidermidis* [J]. *Chem Pharm Bull*, 2012, 60: 1118-1124.
- [57] Ven H, Paulussen C, Feijens PB, et al. PLGA nanoparticles and nanosuspensions with amphotericin B: potent *in vitro* and *in vivo* alternatives to Fungizone and AmBisome [J]. *J Control Release*, 2012, 161: 795-803.

- [58] Amaral AC, Marques AF, Muñoz JE, et al. Poly (lactic acid-glycolic acid) nanoparticles markedly improve immunological protection provided by peptide P10 against murine paracoccidiodomycosis [J]. *Br J Pharmacol*, 2010, 159: 1126-1132.
- [59] Tejada G, Barrera MG, P García et al. Nanoparticulated systems based on natural polymers loaded with miconazole nitrate and lidocaine for the treatment of topical candidiasis [J]. *AAPS PharmSciTech*, 2020, 21: 1-13.
- [60] Amaral AC, Bocca AL, Ribeiro AM, et al. Amphotericin B in poly (lactic-co-glycolic acid) (PLGA) and dimercaptosuccinic acid (DMSA) nanoparticles against paracoccidiodomycosis [J]. *J Antimicrob Chemother*, 2009, 63: 526-533.
- [61] Kischkel B, Rossi SA, Santos SR, et al. Therapies and vaccines based on nanoparticles for the treatment of systemic fungal infections [J]. *Front Cell Infect Microbiol*, 2020. DOI: 10.3389/fcimb.2020.00463.
- [62] Janiszewska J, Sowińska M, Rajnisz A, et al. Novel dendrimeric lipopeptides with antifungal activity [J]. *Bioorg Med Chem Lett*, 2012, 22: 1388-1393.
- [63] Monika S, Małgorzata B, Paulina Z, et al. The *in vitro* effects of new D186 dendrimer on virulence factors of *Candida albicans* [J]. *J Antibiot*, 2014, 67: 425-432.
- [64] Heredero-Bermejo I, Gomez-Casanova N, Quintana S, et al. *In vitro* activity of carbosilane cationic dendritic molecules on prevention and treatment of *Candida albicans* biofilms [J]. *Pharmaceutics*, 2020, 12: 1-17.
- [65] Xu ZP, Zeng QH, Lu GQ, et al. Inorganic nanoparticles as carriers for efficient cellular delivery [J]. *Chem Eng Sci*, 2006, 61: 1027-1040.
- [66] Benincasa M, Pacor S, Wu W, et al. Antifungal activity of amphotericin B conjugated to carbon nanotubes [J]. *ACS Nano*, 2011, 5: 199-208.
- [67] Sawangphruk M, Srimuk P, Chiochan P, et al. Synthesis and antifungal activity of reduced graphene oxide nanosheets [J]. *Carbon*, 2012, 50: 5156-5161.
- [68] Cheong YK, Arce MP, Benito A, et al. Synergistic antifungal study of PEGylated graphene oxides and copper nanoparticles against *Candida albicans* [J]. *Nanomaterials*, 2020, 10: 1-19.
- [69] Niemirowicz K, Swiecicka I, Wilczewska AZ, et al. Growth arrest and rapid capture of select pathogens following magnetic nanoparticle treatment [J]. *Colloids Surf B Biointerfaces*, 2015, 131: 29-38.
- [70] Seddighi NS, Salari S, Izadi AR, et al. Evaluation of antifungal effect of iron-oxide nanoparticles against different *Candida* species [J]. *IET Nanobiotechnol*, 2017, 11: 883-888.
- [71] Haghghia N, Abdi Y, Haghghia F, et al. Light-induced antifungal activity of TiO<sub>2</sub> nanoparticles/ZnO nanowires [J]. *Appl Surf Sci*, 2011, 257: 10096-10100.
- [72] Piktel E, Suprewicz L, Depciuch J, et al. Rod-shaped gold nanoparticles exert potent candidacidal activity and decrease the adhesion of fungal cells [J]. *Nanomedicine*, 2020, 15: 2733-2752.
- [73] Lim WM, Kang YB, Chitneni M, et al. Formulation and delivery of itraconazole to the brain using a nanolipid carrier system [J]. *Int J Nanomedicine*, 2014, 9: 2117-2126.
- [74] Gupta P, Tiwari S, Vyas SP. Influence of various lipid core on characteristics of SLNs designed for topical delivery of fluconazole against cutaneous candidiasis [J]. *Pharm Dev Technol*, 2013, 18: 550-559.
- [75] Ca R, Ferrarelli T, Mauro MV, et al. Preparation, characterization and *in vitro* activities evaluation of solid lipid nanoparticles based on PEG-40 stearate for antifungal drugs vaginal delivery [J]. *Drug Deliv*, 2016, 23: 1037-1046.
- [76] Alomrani AH, Al-Agamy MH, Badran MM. *In vitro* skin penetration and antimycotic activity of itraconazole loaded niosomes: various non-ionic surfactants [J]. *J Drug Deliv Sci Tech*, 2015, 28: 37-45.
- [77] Kumar YP, Kumar KV, Shekar RR, et al. Formulation and evaluation of econazole niosomes [J]. *Sch Acad J Pharm*, 2013, 2: 315-318.
- [78] Ravani L, Esposito E, Bories C, et al. Clotrimazole-loaded nanostructured lipid carrier hydrogels: thermal analysis and *in vitro* studies [J]. *Int J Pharm*, 2013, 454: 695-702.
- [79] Sónia S, Priscila P, Monteiro DR, et al. The effect of silver nanoparticles and nystatin on mixed biofilms of *Candida glabrata* and *Candida albicans* on acrylic [J]. *Med Mycol*, 2013, 51: 178-184.
- [80] Cunha-Azevedo EP, Silva EP, Martins OP, et al. *In vitro* antifungal activity and toxicity of itraconazole in DMSA-PLGA nanoparticles [J]. *J Nanosci Nanotechnol*, 2011, 11: 2308-2314.
- [81] Santos SS, Lorenzoni A, Ferreira LM, et al. Clotrimazole-loaded Eudragit® RS100 nanocapsules: preparation, characterization and *in vitro* evaluation of antifungal activity against *Candida* species [J]. *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl*, 2013, 33: 1389-1394.
- [82] Ashe S, Nayak D, Tiwari G, et al. Development of liposome-encapsulated ketoconazole: formulation, characterisation and evaluation of pharmacological therapeutic efficacy [J]. *Micro Nano Lett*, 2015, 10: 126-129.
- [83] Tanriverdi ST, Polat SH, Metin DY, et al. Terbinafine hydrochloride loaded liposome film formulation for treatment of onychomycosis: *in vitro* and *in vivo* evaluation [J]. *J Liposome Res*, 2016, 26: 163-173.