

[https://doi.org/10.33380/2305-2066-2022-11-4\(1\)-43-47](https://doi.org/10.33380/2305-2066-2022-11-4(1)-43-47)
УДК 615.282.84 + 615.454.1 + 547.589.4



Оригинальная статья / Research article

Изучение противогрибковой активности экспериментальных мягких лекарственных форм на основе гидразонопроизводного гетариламида 4-фенил-2-гидрокси-4-оксо-2-бутеновой кислоты

Ф. В. Собин✉, Н. А. Пулина, В. В. Новикова

ФГБОУ ВО «Пермская государственная фармацевтическая академия» Министерства здравоохранения Российской Федерации (ФГБОУ ВО ПГФА Минздрава России), 614990, Россия, г. Пермь, ул. Полевая, д. 2

✉ Контактное лицо: Собин Федор В. E-mail: fff-2005@mail.ru

ORCID: Ф. В. Собин – <https://orcid.org/0000-0002-8416-6934>; Н. А. Пулина – <https://orcid.org/0000-0002-0435-0484>; В. В. Новикова – <https://orcid.org/0000-0003-4475-4421>.

Статья поступила: 14.10.2022

Статья принята в печать: 21.11.2022

Статья опубликована: 27.12.2022

Резюме

Введение. В последнее время наблюдается существенный рост грибковых инфекций. Наиболее распространенным является вульвовагинальный кандидоз, поражающий миллионы женщин во всем мире. К существующим противогрибковым препаратам формируется резистентность, и они не лишены побочных эффектов. Ранее нами была показана высокая противомикробная активность производных 4-R-2-гидрокси-4-оксо-2-бутеновых кислот. Перспективным является создание мягких лекарственных форм на их основе и изучение противогрибкового действия.

Цель. Разработать экспериментальные мягкие лекарственные формы на основе одного из наиболее активных производных 4-R-2-гидрокси-4-оксо-2-бутеновых кислот и оценить влияние состава мазевой композиции на выраженность антифунгального действия.

Материалы и методы. В качестве фармакологически активного компонента было использовано синтезированное нами гидразонопроизводное гетариламида 4-фенил-2-гидрокси-4-оксо-2-бутеновой кислоты, обладающее выраженной противогрибковой активностью. Разработаны 8 экспериментальных мягких лекарственных форм на основах гидрофобного и гидрофильного характера. Действующее вещество в концентрации 1 % вводилось стандартными технологическими способами по правилам изготовления дерматологических мазей. Для определения противогрибковой активности полученных мазей использовали трехгнездный вариант метода диффузии в агар. Препараты сравнения 2%-й крем «Пимафуцин» и 1%-й крем «Клотримазол».

Результаты и обсуждение. Все изученные экспериментальные мягкие лекарственные формы проявили противогрибковое действие различной степени выраженности. Наибольший фармакологический эффект обнаружен у мазевых композиций на основе гидрофильных компонентов натрий-карбоксиметилцеллюлозы и полиэтиленоксидов. Их противогрибковое действие сопоставимо или превышает эффект препаратов сравнения.

Заключение. Разработаны 8 экспериментальных мягких лекарственных форм на основе производного 4-фенил-2-гидрокси-4-оксо-2-бутеновой кислоты. Изучена их противогрибковая активность. Выбраны два наиболее активных образца экспериментальных мазей для дальнейшего углубленного изучения.

Ключевые слова: производные 4-R-2-гидрокси-4-оксо-2-бутеновой кислот, противогрибковая активность, мягкие лекарственные формы

Конфликт интересов. Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

Вклад авторов. Ф. В. Собин синтезировал фармакологически активный компонент, подобрал составы и изготовил экспериментальные мягкие лекарственные формы на его основе, принимал непосредственное участие в написании и корректировке статьи. Н. А. Пулина осуществляла научно-технологическое руководство проведенных исследований и рецензировала статью. В. В. Новикова изучила противогрибковую активность экспериментальных мазевых композиций в отношении типового штамма *C. albicans* NCTC 885-653 трехгнездным вариантом метода диффузии в агар. Данная статья была написана и согласована при участии всех авторов.

Финансирование. Исследование проведено при финансовой поддержке Пермского научно-образовательного центра «Рациональное недропользование», 2022 год.

Для цитирования: Собин Ф. В., Пулина Н. А., Новикова В. В. Изучение противогрибковой активности экспериментальных мягких лекарственных форм на основе гидразонопроизводного гетариламида. *Разработка и регистрация лекарственных средств*. 2022;11(4–1): 43–47. [https://doi.org/10.33380/2305-2066-2022-11-4\(1\)-43-47](https://doi.org/10.33380/2305-2066-2022-11-4(1)-43-47)

Study of Antifungal Activity of Experimental Soft Dosage Form Based on the Hydrazone Derivative of Getarylamine 4-phenyl-2-hydroxy-4-oxo-2-butenic acid

Fedor V. Sobin✉, Natalya A. Pulina, Valentina V. Novikova

Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Education "Perm State Pharmaceutical Academy" of the Ministry of Health of the Russian Federation, 2, Polevaya str., Perm, 614990, Russia

✉ Corresponding author: Fedor V. Sobin. E-mail: fff-2005@mail.ru

ORCID: Fedor V. Sobin – <https://orcid.org/0000-0002-8416-6934>; Natalya A. Pulina – <https://orcid.org/0000-0002-0435-0484>; Valentina V. Novikova – <https://orcid.org/0000-0003-4475-4421>.

Received: 14.10.2022

Revised: 21.11.2022

Published: 27.12.2022

© Собин Ф. В., Пулина Н. А., Новикова В. В., 2022

© Sobin F. V., Pulina N. A., Novikova V. V., 2022

Abstract

Introduction. Recently, there has been a significant increase in fungal infections. The most common is vulvovaginal candidiasis, affecting millions of women worldwide. Resistance is formed to existing antifungal drugs, and they are not devoid of side effects. Previously, we have shown high antimicrobial activity of derivatives of 4-R-2-hydroxy-4-oxo-2-butenic acids. The creation of soft dosage forms based on them and the study of antifungal action is promising.

Aim. To develop experimental soft dosage forms based on one of the most active derivatives of 4-R-2-hydroxy-4-oxo-2-butenic acids and to evaluate the effect of the ointment composition on the severity of antifungal action.

Materials and methods. As a pharmacologically active component, a hydrazone derivative of 4-phenyl-2-hydroxy-4-oxo-2-butenic acid synthesized by us was used, which has pronounced antifungal activity. 8 experimental soft dosage forms based on hydrophobic and hydrophilic character have been developed. The active substance in a concentration of 1 % was introduced by standard technological methods according to the rules for the manufacture of dermatological ointments. To determine the antifungal activity of the ointments obtained, a three-nesting variant of the agar diffusion method was used. Comparison preparations are 2 % cream "Pimafucin" and 1 % cream "Clotrimazole".

Results and discussion. All the studied experimental soft dosage forms showed antifungal effects of varying degrees of severity. The greatest pharmacological effect was found in ointment compositions based on hydrophilic components of sodium-carboxymethylcellulose and polyethylene oxides. Their antifungal effect is comparable or exceeds the effect of comparison drugs.

Conclusion. 8 experimental soft dosage forms based on a derivative of 4-phenyl-2-hydroxy-4-oxo-2-butenic acid have been developed. Their antifungal activity has been studied. Two most active samples of experimental ointments were selected for further in-depth study.

Keywords: derivatives of 4-R-2-hydroxy-4-oxo-2-butenic acids, antifungal activity, soft dosage form

Conflict of interest. The authors declare that they have no obvious and potential conflicts of interest related to the publication of this article.

Contribution of the authors. Fedor V. Sobin synthesized a pharmacologically active component, selected formulations and manufactured experimental soft dosage forms based on it, took a direct part in writing and correcting the article. Natalya A. Pulina carried out scientific and technological guidance of the research and reviewing the article. Valentina V. Novikova studied the antifungal activity of experimental ointment compositions in relation to a typical strain of *C. albicans* NCTC 885-653 is a three-socket variant of the agar diffusion method. This article was written and agreed upon with the participation of all the authors.

Funding. The study was carried out with the financial support of the Perm Scientific and Educational Center "Rational Subsoil Use", 2022.

For citation: Sobin F. V., Pulina N. A., Novikova V. V. Study of antifungal activity of experimental soft dosage form based on the hydrazone derivative of getarylamide 4-phenyl-2-hydroxy-4-oxo-2-butenic acid. *Drug development & registration*. 2022;11(4-1):43-47. (In Russ.) [https://doi.org/10.33380/2305-2066-2022-11-4\(1\)-43-47](https://doi.org/10.33380/2305-2066-2022-11-4(1)-43-47)

ВВЕДЕНИЕ

В последние десятилетия отмечается значительный рост количества грибковых заболеваний. Это связано со многими факторами, в частности, с частым применением в медицинской практике антибиотиков широкого спектра действия, иммунодепрессантов, цитостатиков и других групп лекарственных средств. Наиболее распространенным проявлением грибковых инфекций является вульвовагинальный кандидоз, поражающий миллионы женщин во всем мире, не зависимо от национальности и социального класса [1–3]. Известно, что в настоящее время частота заболеваемости колеблется от 12 до 67,6 % в популяции, а 70–75 % женщин испытывали вульвовагинальный кандидоз по крайней мере один раз в жизни. Было обнаружено, что это оказывает большое влияние на качество жизни женщин, их самооценку и распорядок дня. Преобладающим возбудителем в 90–95 % случаев является *Candida albicans* [1–6]. Повышение устойчивости патогенных организмов к имеющимся химиотерапевтическим агентам является критической проблемой в проектировании и разработке лекарственных средств, что мотивирует исследователей искать новые соединения, которые могут бороться с микроорганизмами с множественной лекарственной

устойчивостью. В последнее время вызывает большой интерес лечение данных инфекций местными противогрибковыми препаратами. Данный способ введения обладает несколькими уникальными преимуществами по сравнению с пероральными препаратами: высокой терапевтической эффективностью, улучшенной биодоступностью, способностью предотвращать различные системные побочные эффекты [7–8].

Ранее была показана высокая антибактериальная и противогрибковая активность производных 4-R-2-гидрокси-4-оксо-2-бутеновой кислот. Перспективно создание мягких лекарственных форм на их основе за счет сочетания нескольких полезных фармакологических эффектов: антимикробного, противовоспалительного и ранозаживляющего действия [9–11]. Представляло интерес разработать экспериментальные мягкие лекарственные формы на основе одного из наиболее активных производных и оценить влияние состава мазевой композиции на выраженность антифунгального действия.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В качестве фармакологически активного компонента была использована субстанция гидразонопроизводного гетариламида 4-фенил-2-гидрокси-4-оксо-

Таблица 1. Состав экспериментальных мягких лекарственных форм

Table 1. Composition of experimental soft dosage forms

№ композиции No. composition	1	2	3	4	5	6	7	8
Действующее вещество ФСГ Active ingredient FSH	1 %	1 %	1 %	1 %	1 %	1 %	1 %	1 %
Вазелин Petrolatum	98,5 %	98,5 %	–	–	–	–	–	–
NaКМЦ NaCMC	–	–	4 %	4 %	–	–	–	–
ПЭО-400 PEO-400	–	–	–	–	78,8 %	78,8 %	–	–
ПЭО-1500 PEO-1500	–	–	–	–	19,7 %	19,7 %	–	–
Коньяковый глюкоманнан Konjac glucomannan	–	–	–	–	–	–	1 %	1 %
Вода очищенная Purified water	–	–	85 %	84,5 %	–	–	96 %	95,5 %
Глицерол Glycerol	–	–	10 %	10 %	0,5 %	–	2 %	2 %
ДМСО DMSO	–	0,5 %	–	0,5 %	–	0,5 %	–	0,5 %
Вазелиновое масло Vaseline oil	0,5 %	–	–	–	–	–	–	–

2-бутеновой кислоты, обладающего выраженной противогрибковой активностью. Целевое соединение было нами ресинтезировано по описанной ранее методике. Доказана его подлинность и структура инструментальными методами анализа. Соединению присвоен условный шифр ФСГ. Синтезированное соединение представляет собой порошкообразное вещество желтого цвета, растворимое в хлороформе, диоксане, ацетоне, диметилсульфоксиде, диметилформамиде, умеренно растворимое в бензоле, ацетонитриле, этиловом спирте и нерастворимое в воде, гексане.

С целью выбора оптимальной мазевой основы было изучено 8 составов на основах гидрофобного и гидрофильного характера, содержащих различные сочетания вазелина (ФС.2.2.0003.15 «Вазелин», ОАО «Самарамедпром», Россия, срок годности 55 месяцев), вазелинового масла (ГОСТ 3164–78, ООО «Компания ЭльГрупп», Россия, срок годности 5 лет), ПЭО-400 (ФС 42-1242-96, ООО «Нефтегазхимкомплект», Россия, срок хранения 3 года) и ПЭО-1500 (ФС 42-1885-96, ООО «Нефтегазхимкомплект», Россия, срок хранения 3 года), натрий-карбоксиметилцеллюлоза (ТУ 2231-002-50277563-2000, ЗАО «Карбокам-Пермь», Россия, срок годности 1 год), коньякового глюкоманнана (Andy Biotech (Xi'an) Co., Ltd., Китай, срок годности 2 года) и глицерола (ФС.2.2.0006.15 «Глицерин», ОАО «Самарамедпром», Россия, срок годности 5 лет). Действующее вещество вводилось стандартными технологическими способами либо в

виде суспензии с добавлением соответствующей вспомогательной жидкости, либо по типу эмульсии или раствора при растворении активного компонента в ДМСО. Первоначальная концентрация соединения ФСГ составила 1 %, в соответствии с основными референтными препаратами. Полученным мазевым композициям присвоены условные шифры от 1 до 8. Состав и процентные соотношения компонентов экспериментальных мягких лекарственных форм представлены в таблице 1.

Важным показателем мазей является способность биологически активного вещества высвободиться из лекарственной формы, о чем можно судить по результатам исследования его диффузии в агар. Для определения противогрибковой активности полученных мазей в отношении типового штамма *C. albicans* NCTC 885–653 использовали трехгнездный вариант метода диффузии в агар¹. В чашки Петри, установленные на столиках со строго горизонтальной поверхностью, разливали расплавленную питательную среду Сабуро (ФБУН ГНЦ ПМБ, Россия). Температура расплавленной среды составляла 48–50 °С. После застывания агара осуществляли посев суточной культуры тест-штамма содержащей 2–5 × 10⁶ КОЕ/мл методом газона. С использованием стерильного сверла в толще агара пробивали лунки

¹ Определение чувствительности микроорганизмов к антимикробным препаратам: клинические рекомендации. 2018. Доступно по: <http://www.antibiotic.ru/minzdrav/clinicalrecommendations>. Ссылка активна на 21.10.2022..

диаметром 10 мм. Масса образца, вносимого в лунку – 0,1 мл. Затем посеы помещали в термостат для инкубирования в течение 22–24 ч при температуре 37 ± 1 °C. Учет результатов противогрибковой активности производили по диаметру зоны задержки роста вокруг лунки.

В качестве препаратов сравнения использовали «Пимафуцин» крем 2%-й (Temmler Italia S.r.L., Италия, серия 21J84/75, срок годности до 09.2025) и «Клотримазол» крем 1%-й (GlaxoSmithKline Pharmaceuticals, S.A., Польша, серия DH3D, срок годности 02.2024). Результаты исследований обработаны статистически и представлены на рисунке 1.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Все изученные экспериментальные мягкие лекарственные формы проявили противогрибковое действие различной степени выраженности. Установлено, что наименьший фармакологический эффект показали образцы на основе коньякового глюкоманнана (№ 7, 8). При этом способ введения действующего вещества не оказал существенного влияния на биологическое действие. Мазевые композиции на основе вазелина (№ 1, 2) показали эффект близкий к показателям «Пимафуцина». Состав № 3 на основе NaКМЦ превышает его активность. Нами отмечено существенное снижение антифунгального эффекта при использовании в качестве

вспомогательного компонента ДМСО (№ 4). Напротив, при переходе к мягким лекарственным формам на основе полиэтиленоксидов, отмечается рост изучаемого действия при введении целевого соединения в виде раствора в ДМСО. Данная композиция легко высвобождает действующее вещество и обеспечивает его высокую биодоступность и выраженный противогрибковый эффект, при этом зона задержки роста микроорганизмов вокруг лунки сопоставима с «Клотримазолом».

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Нами впервые разработаны 8 экспериментальных мягких лекарственных форм на основе гидразонопроизводного гетариламида 4-фенил-2-гидрокси-4-оксо-2-бутеновой кислоты. Изучена их противогрибковая активность в отношении типового штамма *C. albicans* NCTC 885-653 трехгнездным вариантом метода диффузии в агар. Выбраны два образца экспериментальных мягких лекарственных форм на гидрофильных основах (ПЭО-400 + ПЭО-1500 + ДМСО; NaКМЦ + глицерол), оказавшие наибольший фармакологический эффект, сопоставимый с препаратами сравнения. Они предложены нами для дальнейшего углубленного изучения с целью подбора оптимальной концентрации действующего вещества, дополнительных вспомогательных веществ и более широкого исследования антимикробного действия.

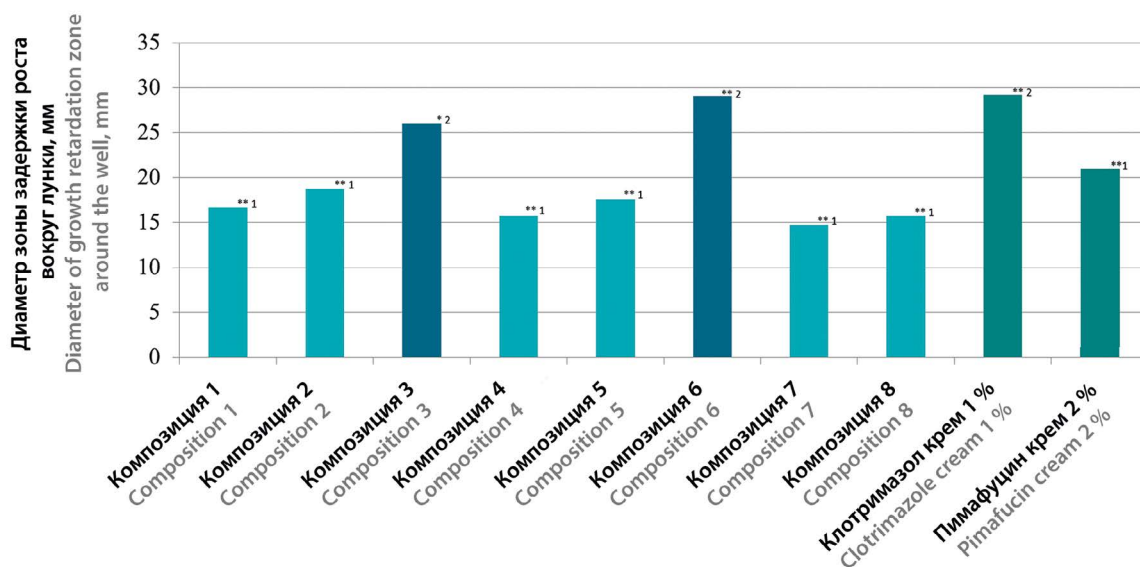


Рисунок 1. Противогрибковая активность экспериментальных мягких лекарственных форм в отношении *C. albicans* NCTC 885-653

Примечание. * $p < 0,05$; ** $p < 0,001$.

1 – по сравнению с «Клотримазол» кремом 1%-м; 2 – по сравнению «Пимафуцин» кремом 2%-м

Figure 1. Antifungal activity of experimental soft dosage forms against *C. albicans* NCTC 885-653

Note. * $p < 0.05$; ** $p < 0.001$.

1 – compared with "Clotrimazole" cream 1 %; 2 – compared to "Pimafucin" cream 2 %

ЛИТЕРАТУРА

1. Пестрикова Т. Ю., Юрасова Е. А., Котельникова А. В. Вульвовагинальный кандидоз: современный взгляд на проблему. *ПМЖ. Мать и дитя*. 2017;25(26):1965–1970.
2. Disha T., Haque F. Prevalence and Risk Factors of Vulvovaginal Candidosis during Pregnancy: A Review. *Infectious Diseases in Obstetrics and Gynecology*. 2022;2022:6195712. DOI:10.1155/2022/6195712.
3. Donders G. G. G., Ruban K., Donders F., Reybrouck R. Lab-Based Retrospective 10-Year Analysis Shows Seasonal Variation of Vaginal Candida Infection Rates in Belgium. *Journal of Clinical Medicine*. 2022;11(3):574. DOI:10.3390/jcm11030574.
4. Sustr V., Foessleitner P., Kiss H., Farr A. Vulvovaginal candidosis: Current concepts, challenges and perspectives. *Journal of Fungi*. 2020;6(4):1–14. DOI:10.3390/jof6040267.
5. Ignjatović A., Arsić-Arsenijević V., Golubović M., Đenić S., Momčilović S., Trajković A., Randelović M., Ćirić V., Otašević S. Recurrent vulvovaginal candidosis and cluster analysis of clinical signs and symptoms: A laboratory-based investigation. *Journal of Fungi*. 2020;6(3):113. DOI: 10.3390/jof6030113.
6. Faria-Gonçalves P., Gaspar C., Oliveira A. S., Palmeira-De-Oliveira R., Gonçalves T., Martinez-de-Oliveira J., Palmeira-De-Oliveira A., Rolo J. Evaluation of overtime phenotypic variation of yeasts in chronic vulvovaginal candidosis cases. *Medical Mycology*. 2021;59(12):1166–1173. DOI: 10.1093/mmy/myab048.
7. Tomás, M., Rolo, J., Gaspar, C., Palmeira-de-Oliveira A., Simões S., Katze D. F., Martinez-de-Oliveira J., Palmeira-de-Oliveira R. Sodium bicarbonate gels: a new promising strategy for the treatment of vulvovaginal candidosis. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*. 2021;157:105621. DOI: 10.1016/j.ejps.2020.105621.
8. Guo X., Jing T., Li X., Liu Z., Chen Y., Li Y., Xu Y., Gao H. Effects of Boric Acid Gel on Vaginal Candida albicans Infections and the Local Immune System in Mice. *Frontiers in Immunology*. 2022;13:950215. DOI: 10.3389/fimmu.2022.950215.
9. Pulina N. A., Lipatnikov K. V., Sobin F. V., Dubrovina S. S., Makhmudov R. R. Synthesis and biological activity of 4-aryl-N-(5,6-R-benzo[d]thiazol-2-yl)-2-hydroxy-4-oxobut-2-enamides. *Russian Journal of General Chemistry*. 2018;88(8):1618–1622. DOI: 10.1134/s107036321808011x.
10. Gein V. L., Bobrovskaya O. V., Mashkina E. A., Novikova V. V., Makhmudov R. R., Yankin A. N., Danilov S. E., Hvolis E. A., Belonogova V. D., Gulyaev D. K. Synthesis and Antimicrobial Activity of Methyl (2Z)-4-Aryl-2-4-[(4,6-dimethylpyrimidin-2-yl)sulfamoyl]phenylamino-4-oxobut-2-enoates and Their Silver Salts. *Russian Journal of General Chemistry*. 2020;90(5):822–826. DOI:10.1134/S1070363220050102.
11. Новикова В. В., Пулина Н. А., Собин Ф. В., Липатников К. В. Противогрибковая активность новых производных 4-(гет)арил-2,4-диоксобутановых кислот. *Обзоры по клинической фармакологии и лекарственной терапии*. 2020;18(3):225–228. DOI: 10.17816/RCF183225-228.
12. symptoms: A laboratory-based investigation. *Journal of Fungi*. 2020;6(3):113. DOI: 10.3390/jof6030113.
13. Faria-Gonçalves P., Gaspar C., Oliveira A. S., Palmeira-De-Oliveira R., Gonçalves T., Martinez-de-Oliveira J., Palmeira-De-Oliveira A., Rolo J. Evaluation of overtime phenotypic variation of yeasts in chronic vulvovaginal candidosis cases. *Medical Mycology*. 2021;59(12):1166–1173. DOI: 10.1093/mmy/myab048.
14. Tomás, M., Rolo, J., Gaspar, C., Palmeira-de-Oliveira A., Simões S., Katze D. F., Martinez-de-Oliveira J., Palmeira-de-Oliveira R. Sodium bicarbonate gels: a new promising strategy for the treatment of vulvovaginal candidosis. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*. 2021;157:105621. DOI: 10.1016/j.ejps.2020.105621.
15. Guo X., Jing T., Li X., Liu Z., Chen Y., Li Y., Xu Y., Gao H. Effects of Boric Acid Gel on Vaginal Candida albicans Infections and the Local Immune System in Mice. *Frontiers in Immunology*. 2022;13:950215. DOI: 10.3389/fimmu.2022.950215.
16. Pulina N. A., Lipatnikov K. V., Sobin F. V., Dubrovina S. S., Makhmudov R. R. Synthesis and biological activity of 4-aryl-N-(5,6-R-benzo[d]thiazol-2-yl)-2-hydroxy-4-oxobut-2-enamides. *Russian Journal of General Chemistry*. 2018;88(8):1618–1622. DOI: 10.1134/s107036321808011x.
17. Gein V. L., Bobrovskaya O. V., Mashkina E. A., Novikova V. V., Makhmudov R. R., Yankin A. N., Danilov S. E., Hvolis E. A., Belonogova V. D., Gulyaev D. K. Synthesis and Antimicrobial Activity of Methyl (2Z)-4-Aryl-2-4-[(4,6-dimethylpyrimidin-2-yl)sulfamoyl]phenylamino-4-oxobut-2-enoates and Their Silver Salts. *Russian Journal of General Chemistry*. 2020;90(5):822–826. DOI:10.1134/S1070363220050102.
18. Novikova V. V., Pulina N. A., Sobin F. V., Lipatnikov K. V. Antifungal activity of new derivatives of 4-(het)aryl-2,4-dioxobutanoic acids. *Reviews on clinical pharmacology and drug therapy*. 2020;18(3):225–228. DOI: 10.17816/RCF183225-228. (In Russ.)

REFERENCES

1. Pestrikova T. Yu., Yurasova E. A., Kotelnikova A. V. Vulvovaginal candidiasis: modern look at the problem. *RMJ. Mat' i ditya*. 2017;25(26):1965–1970. (In Russ.)
2. Disha T., Haque F. Prevalence and Risk Factors of Vulvovaginal Candidosis during Pregnancy: A Review. *Infectious Diseases in Obstetrics and Gynecology*. 2022;2022:6195712. DOI:10.1155/2022/6195712.
3. Donders G. G. G., Ruban K., Donders F., Reybrouck R. Lab-Based Retrospective 10-Year Analysis Shows Seasonal Variation of Vaginal Candida Infection Rates in Belgium. *Journal of Clinical Medicine*. 2022;11(3):574. DOI:10.3390/jcm11030574.
4. Sustr V., Foessleitner P., Kiss H., Farr A. Vulvovaginal candidosis: Current concepts, challenges and perspectives. *Journal of Fungi*. 2020;6(4):1–14. DOI:10.3390/jof6040267.
5. Ignjatović A., Arsić-Arsenijević V., Golubović M., Đenić S., Momčilović S., Trajković A., Randelović M., Ćirić V., Otašević S. Recurrent vulvovaginal candidosis and cluster analysis of clinical signs and