Streszczenie w języku polskim

Grzybicze zapalenie rogówki pozostaje jednym z najpoważniejszych wyzwań współczesnej okulistyki. Obecnie leczenie schorzenia opiera się głównie na doustnym stosowaniu leków przeciwgrzybiczych oraz miejscowej aplikacji roztworów tych substancji, które charakteryzują się krótkim czasem retencji w worku spojówkowym. W rezultacie do głębszych struktur oka przenika często mniej niż 5 % podanej dawki, co przekłada się na niską biodostępność i niesatysfakcjonującą skuteczność terapii, wymuszając podaż wysokich dawek oraz częstą aplikację leku. Dodatkowym ograniczeniem w rozwoju nowych formulacji jest słaba rozpuszczalność w wodzie wielu stosowanych substancji przeciwgrzybiczych, co komplikuje opracowanie skutecznych i stabilnych preparatów okulistycznych. W odpowiedzi na powyższe bariery podjęto prace badawcze ukierunkowane na opracowanie innowacyjnych nośników dla substancji z grupy azoli docelowo o potencjale przedłużonego czasu retencji na powierzchni gałki ocznej oraz o zwiększonej biodostępności po podaniu miejscowym w porównaniu do preparatów konwencjonalnych.

Celem prezentowanej rozprawy doktorskiej była ocena możliwości wykorzystania technologii homogenizacji wysokociśnieniowej do projektowania i otrzymywania stabilnych układów nanoemulsyjnych zawierających substancje przeciwgrzybicze do okulistycznego zastosowania. W ramach pracy badawczej (P1) przeprowadzono kompleksowy przegląd oraz analizę piśmiennictwa w celu określenia kierunków optymalizacji, kluczowych parametrów technologicznych oraz wymagań dla optymalnej postaci okulistycznej. Zwrócono szczególną uwagę na brak ujednoliconych wytycznych dotyczących projektowania i oceny nanoemulsji ocznych oraz podkreślono potrzebę dalszych badań nad zależnościami pomiędzy składem formulacji, parametrami procesu technologicznego a właściwościami i stabilnością otrzymanych preparatów. W dwóch pracach eksperymentalnych włączonych do rozprawy doktorskiej opracowano układy nanoemulsyjne zawierające substancje aktywne z grupy azoli, tj. flukonazol (P2) i klotrimazol (P3), spełniające wymagania stawiane preparatom do zastosowań w okulistyce. W ramach badań przeprowadzono kompleksową optymalizację zarówno parametrów homogenizacji wysokociśnieniowej (P2), jak i składu formulacji (P2, P3). Oceniono wpływ kluczowych zmiennych procesowych, tj. zastosowanego ciśnienia homogenizacji (500, 1000 i 1500 bar) oraz liczby przejść (1 – 10 cykli) próbki przez homogenizator na efektywność procesu. W części doświadczalnej, z wykorzystaniem kwasu oleinowego jako fazy olejowej, przebadano cztery emulgatory: Kolliphor EL, Tween 20, Tween

80 oraz Pluronic F127, a także trzy kosurfaktanty: glikol propylenowy, glikol polietylenowy o średniej masie cząsteczkowej 200 i triacetynę.

Za optymalne warunki procesu homogenizacji dla opracowanych składów uznano trzykrotne przetwarzanie formulacji pod ciśnieniem 1000 bar, umożliwiające otrzymanie jednorodnych nanoemulsji o średnicy cząstek poniżej 100 nm i indeksie polidyspersji poniżej 0,25, przy jednoczesnym uniknięciu zjawiska „*overprocessing*". Do oceny właściwości fizykochemicznych, jednorodności oraz stabilności opracowanych układów nanoemulsyjnych zastosowano zestaw zaawansowanych technik analitycznych, obejmujących m.in. dynamiczne rozpraszanie światła, metody turbidymetryczne oraz innowacyjną metodę spektroskopii magnetycznego rezonansu jądrowego. Nanoemulsje otrzymywane na bazie Tween 80 jako surfaktanta charakteryzowały się mniejszą średnicą cząstek fazy rozproszonej, jednak wykazywały niższą stabilność podczas przechowywania w porównaniu z układami zawierającymi Kolliphor EL. Zastosowanie Kolliphoru EL umożliwiło skuteczną stabilizację układów nanoemulsyjnych, bez oznak sedymentacji substancji czynnej i agregacji fazy rozproszonej w czasie. W badanym okresie nie obserwowano zmian wielkości cząstek fazy rozproszonej ani indeksu polidyspersji. Analiza NMR pozwoliła na identyfikację trendu zmian stabilności nanoemulsji na poziomie molekularnym dla wybranych kosurfaktantów w kolejności od najbardziej do najmniej trwałych formulacji, mianowicie glikol propylenowy > PEG 200 > triacetyna.

Uzyskane wyniki w toku przedstawionych badań wskazują na istotny potencjał opracowanych nanoformulacji jako okulistycznych postaci leku o przedłużonym uwalnianiu substancji czynnej. Badania biologiczne w modelu z użyciem szczepów z rodzaju *Candida* spp. i modelu *in vivo* wykorzystującym larwy *Galleria mellonella* potwierdziły bezpieczeństwo stosowania i skuteczność terapeutyczną formulacji, wskazując na ich potencjał do zastosowania w leczeniu zakażeń grzybiczych oka. Wyniki wskazują, że opracowane nanoemulsje spełniają wymagania jakościowe, stabilności i skuteczności stawiane preparatom okulistycznym oraz stanowią obiecującą alternatywę dla konwencjonalnych postaci leków. Zaproponowane podejście do projektowania nanoemulsji oparte na technologii homogenizacji wysokociśnieniowej może znaleźć zastosowanie w enkapsulacji innych substancji leczniczych o ograniczonej rozpuszczalności w wodzie do zastosowań w okulistyce.

Streszczenie w języku angielskim

Fungal keratitis remains one of the most serious challenges in modern ophthalmology. At present, treatment of this disease is based mainly on oral administration of antifungal drugs and topical application of solutions containing these substances, which are characterized by a short residence time in the conjunctival sac. As a result, often less than 5% of the administered dose penetrates into the deeper ocular structures, which translates into low bioavailability and unsatisfactory therapeutic efficacy, requiring high doses and frequent administration of the drug. An additional limitation in the development of new formulations is the poor water solubility of many commonly used antifungal agents, which complicates the development of effective and stable ophthalmic formulations. In response to these barriers, research was undertaken to develop innovative carriers for azole compounds, ultimately intended to provide prolonged residence time on the ocular surface and increased bioavailability after topical administration compared with conventional preparations.

The aim of the presented doctoral dissertation was to evaluate the feasibility of using high-pressure homogenization technology for the design and preparation of stable nanoemulsion systems containing antifungal agents for ophthalmic use. As part of the research (P1), a comprehensive literature review and analysis were conducted to identify optimization strategies, key technological parameters, and requirements for an optimal ophthalmic dosage form. Particular attention was paid to the absence of unified guidelines for the design and evaluation of ocular nanoemulsions, and the need for further studies on the dependencies between formulation composition, technological process parameters, and the properties and stability of the obtained compositions was emphasized. In two experimental studies included in the doctoral dissertation, nanoemulsion systems containing azole active substances, i.e., fluconazole (P2) and clotrimazole (P3), were developed, meeting the requirements for ophthalmic applications. The study included comprehensive optimization of both high-pressure homogenization parameters (P2) and formulation composition (P2, P3). The effects of key process variables, i.e., homogenization pressure (500, 1000, and 1500 bar) and the number of passes (1 – 10 cycles) of the sample through the homogenizer, on process efficiency were evaluated.

In the experimental part, using oleic acid as the oil phase, four emulsifiers were investigated: Kolliphor EL, Tween 20, Tween 80, and Pluronic F127, as well as three cosurfactants: propylene glycol, polyethylene glycol with an average molecular weight of 200, and triacetin.

The optimal homogenization conditions for the developed compositions were determined to be threefold processing of the formulations at a pressure of 1000 bar, allowing for the production of homogeneous nanoemulsions with particle sizes below 100 nm and a polydispersity index below 0.25, while simultaneously avoiding the "*overprocessing*" phenomenon. To evaluate the physicochemical properties, homogeneity, and stability of the developed nanoemulsion systems, a set of advanced analytical techniques was employed, including dynamic light scattering, turbidimetric methods, and an innovative spectroscopic method based on nuclear magnetic resonance. Nanoemulsions prepared using Tween 80 as the surfactant were characterized by smaller dispersed-phase particle diameters; however, they exhibited lower storage stability compared with systems containing Kolliphor EL. The use of Kolliphor EL enabled effective stabilization of the nanoemulsion systems, with no signs of active substance sedimentation or dispersed-phase aggregation over time. During the study period, no changes in dispersed phase particle size or polydispersity index were observed. NMR analysis allowed the identification of a trend in nanoemulsion stability changes at the molecular level depending on the cosurfactant involved. These were ranked from the most stable formulations to the least stable as follows: propylene glycol > PEG 200 > triacetin.

The results obtained in the course of the presented studies indicate significant potential of the developed nanoformulations as ophthalmic dosage forms providing prolonged release of the active substance. Biological studies using strains of *Candida* spp. and an *in vivo* model employing *Galleria mellonella* larvae confirmed the safety of use and therapeutic efficacy of the formulations, indicating their potential for the treatment of fungal eye infections. The results demonstrate that the developed nanoemulsions meet the quality, stability, and efficacy requirements for ophthalmic preparations and constitute a promising alternative to conventional dosage forms. The proposed approach to nanoemulsion design based on high-pressure homogenization technology can be applied to the **e**ncapsulation of other therapeutic substances with limited water solubility for ophthalmic applications.