



**Posudok na habilitačnú prácu PharmDr. Andreja Kováčika, PhD.,  
„Modelové systémy jako nástroj pro studium kožní bariéry  
a transdermálního podání léčiv“**

Predložená habilitačná práca zodpovedá vymedzeniu podľa § 72 odst. 3 zákona 111/1998 Sb. v jeho platnom znení. Je súborom 17 štúdií publikovaných v rokoch 2014 – 2020, prezentujúcich výsledky vedeckého výskumu Dr. Kováčika v rámci pracovnej skupiny Skin Barrier Research Group a dvoch katedier Farmaceutickej fakulty UK v Hradci Králové. 15 publikácií predstavuje pôvodné výsledky výskumu skupiny, 2 práce sú prehľadové. Je potrebné zdôrazniť, že získané poznatky sú publikované v kvalitných medzinárodných časopisoch kategórie Q1 - Q3, s vysokým IF, takže prešli náročným recenzným konaním. Dr. Kováčik je prvým autorom v 5 publikáciách, ktorých sumárny IF je 22,5 (Q1 a Q2). Habilitačná práca je doplnená kapitolou s vyjadrením podielu predkladateľa na každej štúdií. Predkladateľ je uvedený ako korešpondujúci autor v 1 práci, avšak konštatujem, že jeho významný podiel na výskume je nespochybniteľný.

**Zhodnotenie habilitačnej práce:**

**Téma práce** je aktuálna, zaujímavá a z farmaceutického či medicínskeho hľadiska mimoriadne dôležitá. Fyzikálno-chemické vlastnosti pokožky, najmä jej vrstvy *stratum corneum*, majú priamy súvis so správnymi ako aj patologickými prejavmi kožnej bariéry. Štúdium vzťahov medzi zložením, štruktúrou a zmenami v štruktúrnych a dynamických parametroch vyvolanými účinkom rôznych látok na molekulovej úrovni je nevyhnutné pre stratégiu vývoja liečiv a dizajn účinných liekových foriem. Pracovisko predkladateľa dosahuje dlhoročne vynikajúce výsledky v tejto oblasti výskumu.

**Experimentálne metódy** a široký výber techník je cielený pre objasnenie vzťahu chemické zloženie – štruktúra – funkčnosť modelovej membrány *stratum corneum*. Modelové membrány boli vytvorené buď zmesou komerčne dostupných lipidov, prípadne, cielene chemicky modifikované molekuly boli syntetizované na pracovisku. Štruktúra a termotrópne polymorfne správanie boli vyšetřované metódami infračervenej spektroskopie s Fourierovou transformáciou (FT IČ), röntgenovej a neutrónovej difrakcie a technikami <sup>2</sup>H NMR v tuhej fáze. Priepustnosť membrán pre vodu ako aj vplyv urýchľovačov transdermálnej penetrácie bol študovaný permeačnými experimentami technikou Franzových difúzných komôr. Väčšina aplikovaných techník vyžaduje unikátne prístrojové vybavenie, sú náročné na prípravu vzoriek, spracovanie a analýzu nameraných dát a predovšetkým ich interpretáciu v kontexte vedeckého zámeru. Každá publikácia je výsledkom práce autorského kolektívu. Je však potrebné poznamenať, že deklarovaný podiel predkladateľa (kap. 4) na aplikovaných experimentálnych technikách jasne načrtáva jeho vedecký rast v časovom rozpätí 2014 – 2020.

**Významné výsledky** dôležité pre ďalší rozvoj vedy získané v 15 pôvodných vedeckých prácach sumarizujem nasledovne: Zloženie, dĺžka reťazcov ceramidov a ich usporiadanie kriticky súvisí s funkčnosťou kožnej bariéry a jej patologickým prejavmi. 6 prác habilitačného spisu je venovaných detailnému štúdiu vzťahu spojitosti chemického zloženia, prípadných štruktúrnych modifikácií molekúl, dĺžky a konformácií ceramidových reťazcov s mikroštruktúrou a funkčnosťou modelových systémov *stratum corneum* (SC) diskutovanou predovšetkým z hľadiska ich permeability. V kontexte základného výskumu považujem za mimoriadne významný prínos zistenie, že sfingoínový reťazec veľmi dlhého ceramidu NS vykazuje podstatne vyššiu voľnosť pohybu než sa všeobecne predpokladalo, čo koreluje s tzv. otvorenou konformáciou molekuly a implikuje pravdepodobnosť výskytu fluidných domén v tesne usporiadanej, rigidnej štruktúre SC. Poznatok vedie k výzve prehodnotenia modelu usporiadania lipidov v lamelárnej fáze s krátkou periodicitou tvoriacich jednu z fáz SC (práca 3 v spise). Z farmaceutického a medicínskeho hľadiska sú významné zistenia vplyvu modifikácie polárnej časti molekúl ceramidov, zastúpenia ceramidov či obsahu cholesterolu na štruktúrny polymorfizmus v periodiciách lamelárnych fáz SC a termotrópne správanie a ich súvis s patologickým prejavmi kožnej bariéry. Tieto experimenty boli vykonané na modelových systémoch SC. Posledná časť spisu je orientovaná na štúdium urýchľovačov transdermálnej penetrácie. Z ekologického ako aj ekonomického hľadiska považujem za významné zistenie o korelácii efektov vyvolaných urýchľovačmi transdermálnej penetrácie pri aplikácii na modelový systém SC a pri použití izolovanej vrstvy SC zo zvieracej kože (práca 16).

**Spracovanie habilitačnej práce:** Približne 40 strán habilitačnej práce (z celkového počtu 230) zahŕňa stručný úvod do problematiky kožnej bariéry, predovšetkým jej zloženie, náčrt modelových systémov a priblíženie problematiky transdermálnej aplikácie liečiv. Priložené pôvodné vedecké práce sú rozdelené do troch okruhov a v krátkosti charakterizované. V závere autor v krátkosti sumarizuje výsledky a načrtáva smerovanie ďalšieho výskumu skupiny. Podiel predkladateľa na jednotlivých publikačných výstupoch je opisne zhrnutý v samostatnej kapitole. Z hľadiska recenzenta práce, mi chýbal všeobecný úvod, kde predkladateľ mohol predstaviť pracovisko a medzinárodnú spoluprácu (uvedenú v závere). Podobne, by som uvítala hlbší úvod s naznačením kritických/nejasných/diskutovaných otázok v celosvetovom kontexte výskumu *stratum corneum* a následne obsiahlejší záver s pojednaním o prínose výsledkov habilitačnej práce k uvedeným problémom. Posúdenie podielu autora na výskume by uľahčilo percentuálne vyjadrenie. Po formálnej stránke je práca spracovaná prehľadne. V kap. 1.1.4.2 ma prekvapil český preklad odborných výrazov „short periodicity (lamellar) phase“ a „long periodicity (lamellar) phase“ do spojenia „krátka fáza“ a „dlhá fáza“, kde uniká pojem, že sa jedná o periodické štruktúry a pojednávame o ich mriežkovom parametre. Uvedené pripomienky neznižujú význam dosiahnutých výsledkov.

### **Otázky:**

V rokoch 1989 – 2009 bolo na základe dát z elektrónovej mikroskopie a rtg difrakcie postupne predstavených až 6 rôznych modelov molekulovej organizácie lipidovej matice *stratum corneum* (Iwai et al. J. Inv. Derm. 132 (2012) 2215). Aký molekulový model lipidovej matice SC je v súčasnosti akceptovaný a akú zmenu v modeli vyvolá zistenie z práce 3 (Engberg et al. Angew. Chem. Int. Ed. 59 (2020)17383)?

Vzorky pre permeačné experimenty ako aj rtg difrakciu boli pripravované nanosením lipidovej zmesi v organickom rozpúšťadle vo forme spreju na tuhú podložku pomocou prístroja Linomat V. Výsledkom sú vrstvy lipidu o celkovej hrúbke cca 11  $\mu\text{m}$ , ako je uvedené v prácach. O aký typ vzoriek sa pri tomto spôsobe prípravy jedná? Majú lipidové dvojvrstvy preferenčnú orientáciu?

**Záver:**

Habilitačná práca PharmDr. Andreja Kováčika, PhD. „Modelové systémy jako nástroj pro studium kožní bariéry a transdermálního podání léčiv“ má vysokú odbornú úroveň a spĺňa kritéria pre tento druh kvalifikačného spisu. Prezentované výsledky významným spôsobom prispievajú k súčasným vedeckým poznatkom a posúvajú hranicu poznania v danej vednej oblasti.

**Prácu doporučujem ako podklad k pokračovaniu habilitačného konania. Po úspešnej obhajobe doporučujem, aby bol PharmDr. Andrejovi Kováčikovi, PhD. udelený vedecko – pedagogický titul „docent“ v odbore Farmaceutická technológia.**

prof. RNDr. Daniela Uhríková, CSc.

Bratislava, 31. 8. 2021