

Vitamin C a moderní technologie pro lipozomální vstřebávání

Vitamin C má pro člověka zásadní význam, je potřebný například pro zajištění funkce imunity, k tvorbě kolagenu a tedy normálnímu stavu pojivové tkáně, k syntéze hormonů a neurotransmiterů, pro vstřebávání železa ze zažívacího traktu. Má důležitou roli i v epigenetice, což významně ovlivňuje vývoj lidského organismu.

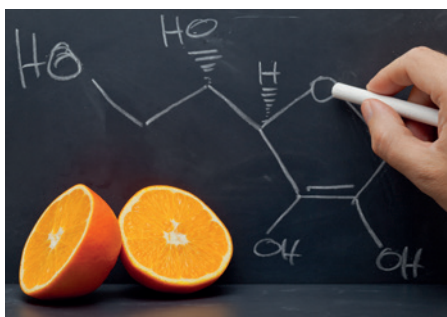
Základní rolí vitamínu C je jeho antioxidační funkce, tedy ochrana tkání před oxidačním stresem. Jedním z důležitých současných zdravotních problémů je vysoký výskyt onemocnění spojených s oxidačním stresem; incidence těchto onemocnění stále vzrůstá. K tomuto nebezpečnému vývoji přispívá deficit vitamínu C, který postihuje populaci nejen v méně rozvinutých zemích, ale jak ukazují publikované výzkumy, je rozšířený i v zemích civilizovaného světa.

Proto se stává významným tématem dostatečná suplementace tohoto vitamínu. Jednou z možností je infuzní aplikace, ale pro běžnou pravidelnou suplementaci je vhodné perorální podávání. Zajištění adekvátní hladiny vitamínu C u osob s deficitem však naráží na problém omezené biologické dostupnosti běžných perorálních forem. V posledních letech se objevily na trhu přípravky s takzvaným lipozomálním vstřebáváním, které představují možnost, jak zajistit podstatně vyšší biologickou dostupnost tohoto životně důležitého vitamínu.

Lipozomální vstřebávání – principy

Vstřebávání perorálně podaného běžného vitamínu C ze střeva je způsobeno omezenou kapacitou transportních molekul označovaných jako SVCT1 a SVCT2 (sodium-dependent vitamin C transporters) ve střevní stěně. Tyto molekuly, které přenášejí vitamin C do krve (respektive do vena portae), mají omezenou kapacitu, která se stoupající podanou dávkou klesá. Zvýšené dávkování se tedy u osob s deficitem či při zvýšené potřebě vitamínu nepromítá do potřebného navýšení plazmatické hladiny. Z tohoto důvodu se hledají možnosti, jak zajistit zvýšené vstřebávání vitamínu ze střeva.

Zajištění adekvátní hladiny vitamínu C u osob s deficitem naráží na problém omezené biologické dostupnosti běžných perorálních forem.



Výzkum farmakodynamiky vitamínu C ukázal, že existuje způsob, jakým lze obejít uvedenou cestu omezenou kapacitou transportních molekul. Ze střevního lumina přes enterocyt přímo do krve se totiž vstřebávají především hydrofilní látky, tedy rozpustné ve vodě, ke kterým vitamin C patří. Látky s vysokým stupněm lipofility (rozpustné v tucích) se vstřebávají odlišným způsobem, a to prostřednictvím lymfatického systému. Má to několik výhod: tímto způsobem se může nejen vstřebat výrazně vyšší množství podané látky (díky tomu, že zde nejsou zapojeny transportní molekuly s omezenou kapacitou), ale touto cestou je

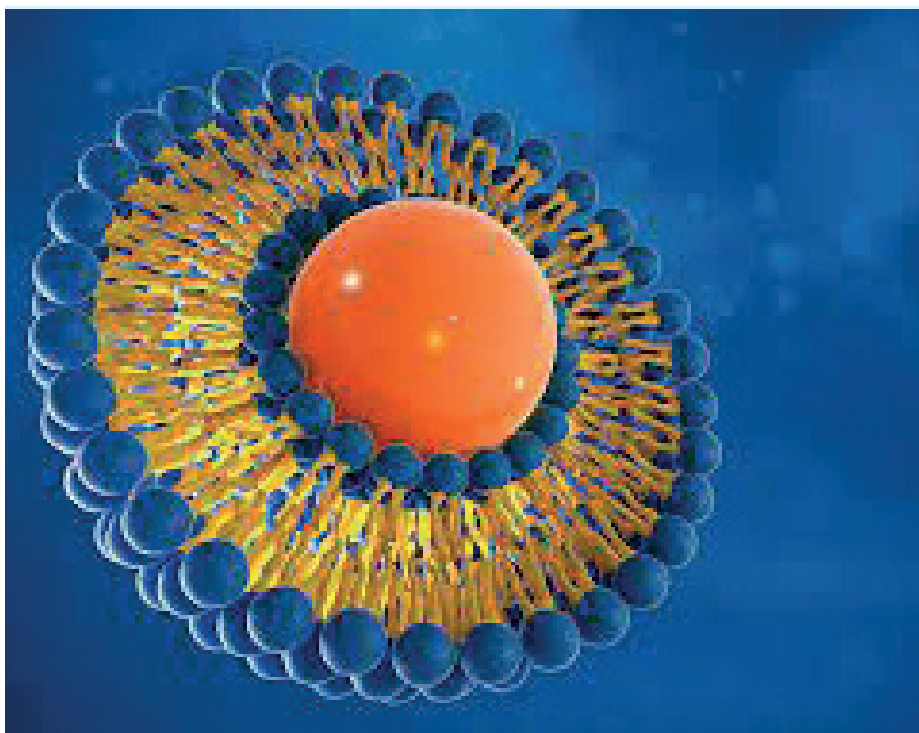
také obcházen efekt prvního průchodu játry, který snižuje při vstřebávání do krve biologickou dostupnost léčiv.

Proto se začaly vyvíjet lékové formy, které umožňují i hydrofilním látkám jako je vitamin C vstřebávání lymfatickým systémem. Podmínkou tohoto typu vstřebávání je spojení vitamínu C s lipidovými komponentami do takového typu částice, která bude po vstupu do enterocytu vnímána touto buňkou jako lipofilní, dále náležitě zpracována a přenesena do lymfatického systému. Nejdéle používaným způsobem, jak zajistit lipofilitu látek, které jsou svou povahou hydrofilní, je obalení účinné látky fosfolipidovým dvojitým obalem. Tato forma je označována jako lipozom, proto se i uvedený způsob vstřebávání označuje jako lipozomální (liposomal delivery).

Vstřebávání prostřednictvím lymfatického systému lze ale dosáhnout i jinými způsoby než vytvořením lipozomu. Lipozomální vstřebávání je tedy širší pojem, který není omezen jen na formu lipozomů, ale lze je zajistit i jinak než touto formou.¹ (Pojem liposomal delivery se týká nejen vstřebávání z trávicího traktu, ale i vstupu léčiv do cílových buněk; detailní rozbor této problematiky přesahuje zaměření tohoto článku).

Rozdělovací koeficient, role chylomikronů

Jak bylo uvedeno, základní podmínkou lipozomálního vstřebávání je, aby perorálně podaná látka/částice měla dostatečnou stupeň lipofility. Vlastnosti látek, pokud jde o to, zda jsou spíše hydrofilní či lipofilní, se klasifikují takzvaným rozdělovacím koeficientem (partition coefficient, log P), který je definován jako podíl rozpuštěných látek ve dvoufázovém systému rozpouš-



tědel (oktanol a voda). Hodnoty log P jsou obvykle mezi -3 (velmi hydrofilní) a +10 (extrémně lipofilní).

Pokud jde o čistou kyselinu askorbovou, její molekula je výrazně hydrofilní (hodnota rozdělovacího koeficientu $\log P = -2,15$). V této běžné formě není tedy možné, aby se vstřebávala do lymfatického systému. Proto je výhodné najít způsob, jak zvýšit hodnotu jejího rozdělovacího koeficientu, respektive ji posunout směrem k lipofilitě. Toto lze zajistit u hydrofilních látek, jako je kyselina askorbová, buď uzavřením do sférického lipozomálního obalu, ale i řadou jiných technologií.¹

V mechanismu vstřebávání lipofilních látek/částic hrají významnou roli chylomikrony. Chylomikrony jsou částice, které mají za úkol transportovat lipofilní/hydrofobní látky hydrofilním prostředím oběhového systému. Chylomikrony se vytvářejí v enterocytech spojením perorálně podané lipofilní látky s lipoproteiny; vytvořené chylomikrony přecházejí do střevního lymfatického systému, který je přenáší do systémového oběhu.¹

Lipozomy

Lipozomy jsou sférické vezikuly tvořené obvykle jednou nebo více lipidovými dvojvrstvami (často jsou užívané fosfolipidy), v nichž je uzavřeno léčivo, které může mít hydrofilní charakter, jako je tomu u vitamínu C. Podle rozměrů se lipozomy dělí na

malé unilamelární vesikuly (SUV, průměr 20–100 nm), velké unilamelární vesikuly (LUV) s průměrem minimálně 100 nm, obří unilamelární vesikuly s průměrem nad 1 mm (GUV), oligolamelární vezikuly (0,1–1 mm, 2–5 dvojvrstev) a multilamelární vesikuly (MLV), obvykle s průměrem větším než 0,5 mm (více než 5 dvojvrstev). Pro přenašení hydrofilních léčiv jsou nejčastěji používány velké unilamelární vesikuly (LUV). Lipidový povrch lipozomů umožňuje nejen průnik do enterocytů a vstřebávání střevním lymfatickým systémem (podporuje i vznik chylomikronů, které tento typ vstřebávání zprostředkují), ale také chrání léčivo před degradací v gastrointestinálním prostředí, například působením pankreatické fosfolipázy. Přispívá tak i ke stabilitě léčiva a celkově tím zvyšuje jeho biologickou dostupnost.

Lipozomální forma může také pomoci v průniku léčiva do cílových buněk. Jednotlivé vlastnosti lipozomů lze ještě technologicky ovlivnit, například úpravou povrchu lipozomu surfaktantem lze zvýšit míru vstupu (uptake) lipozomů do enterocytů, úpravou povrchu lipozomů žlučovými solemi přispět k ochraně lipozomů před degradativním působením v gastrointestinálním traktu. Svoji roli hrají i fyzikální vlastnosti lipozomů, například zvýšení jejich elasticity přispívá k další podpoře vstupu do enterocytů. Významnou úlohu může mít také povrchový elektrický náboj lipo-

Přípravky s lipozomálním vstřebáváním představují možnost, jak zajistit podstatně vyšší biologickou dostupnost vitamínu C.

zomů; ukázalo se, že zvýšení pozitivního náboje povrchu vede k větší přilnavosti ke střevní sliznici (mukoadhzi) a zvyšuje se tak pravděpodobnost vstupu do enterocytu a dalších procesů vedoucích k vstupu do lymfatického systému a výsledně vyšší biologické dostupnosti léčiva.

Výhody lipozomů lze shrnout takto: snadnější transport hydrofilních molekul, snadné pronikání do tkání, možnost uvolnění léku jen tam, kde je to zapotřebí, zvýšení efektivity léků, zvýšení stability díky obalení; jsou biokompatibilní, lze je zcela odbourat v organismu a nevyvolávají imunitní reakci, redukují toxicitu obalené látky, připojením ligandů je možné zacílit lipozomy jen na určité buňky.^{1,2}

Stabilita a další vlastnosti lipozomů jsou ovlivněny řadou faktorů, například chemickým složením, velikostí, teplotou, lamelarnitou, pH, teplotou, hydratací, technologií přípravy a účinkem van der Waalsových interakcí (přitažlivými silami mezi molekulami, respektive vzájemným působením molekulových dipólů, způsobenými nerovnoměrným rozložením elektronů v molekule). Lipozomy mají i určité nevýhody, mezi které patří omezená životnost, někdy může docházet k oxidaci fosfolipidové vrstvy, její hydrolyze a úniku přenášené látky.

Pro přípravu lipozomů je k dispozici řada metod. V závislosti na použité metodě vznikají lipozomy různého typu a velikosti. Obor lipozomálních technologií se bouřlivě vyvíjí, počet těchto technologií umožňujících přípravu lipozomů s výhodnějšími vlastnostmi stále vzrůstá a poměry potřebných složek jsou navzájem odlišné. Jmenujme například hydratační metody (lipidová složka se dostává do kontaktu s vodným roztokem, v některých případech s následným působením

elektrického pole, změnou pH a dalšími postupy), technologie využívající metodu sušení/osmotického šoku, freeze drying, lyofilizaci a další techniky, umožňující dosažení tekutých i pevných, respektive práškových forem lipozomálního vitamínu C.²

Jiné technologie zajišťující lipozomální vstřebávání

Vzhledem k nevýhodám řady klasických lipozomů, mezi něž patří nedostatečná stabilita, životnost či biologická dostupnost v cílové oblasti, jsou vyvíjeny další formy léčiv s lipozomálním typem vstřebávání ze střeva (tedy prostřednictvím lymfatického systému). Jde o od lipozomů odlišné technologické způsoby, které umožňují integraci účinných látek s lipidovou složkou, tedy dosažení dostatečné lipofility, která je podmínkou vstřebávání ze střeva prostřednictvím lymfatického systému.

V současné době existují moderní technologie, které pro dosažení lipozomálního vstřebávání potřebují podstatně méně lipidové složky než klasické lipozomy, k jejich výrobě stačí v řadě případů několikaprocentní zastoupení v přípravku. K těmto novým a často výhodnějším formám patří například takzvané prolipozomy. Prolipozomy jsou částice granulární povahy a sestávají z léčiva a fosfolipidu; je pro ně charakteristické, že ve vodném prostředí dochází k jejich disperzi a zformování multilamelární lipozomální suspenze.^{1,3} Jedna ze studií ukázala, že vitamin C enkapsulovaný v prolipozomech (prášková forma) je forma vhodná pro perorální aplikaci tohoto vitamínu a může mít dokonce ve srovnání s běžnou perorální formou vyšší antioxidační účinnost.⁴ Další z novějších forem s lipozomálním vstřebáváním jsou lipidové nanočástice (solid lipid nanoparticles, SLN). Obsahují na rozdíl od typického lipozomu s dvojitým fosfolipidovým obalem pouze jednoduchou lipidovou vrstvu (například z mastných kyselin). SLN se nejen vstřebává lipozomálním způsobem, ale výsledky studií ukázaly například, že vitamin C ve formě SLN vstupuje ve srovnání s běžnou kyselinou askorbovou ve zvýšené míře do buněk, a SLN mají kupříkladu i vyšší selektivní cytotoxickou aktivitu vůči určitým liniím maligních buněk. Nanočástice se tedy považují za vhodný nosič vitamínu C.⁵

K jiným formám zajišťujícím lipozomální vstřebávání léčiv patří lipidové na-

nodisky (ploché formy), lipoplexy (counter ion-complexed lipoplexes), práškové formy zpevněné vlákny (fiber-reinforced-phospholipid-based powdered formulations). K formám umožňujícím lipozomální vstřebávání se řadí i komplexy/deriváty vitamínu C s lipidovou složkou (například některými mastnými kyselinami nebo fosfolipidy). Příkladem mohou být lipofilní deriváty kyseliny askorbové jako askorbyl-6-palmitát (AA-Pal) nebo kyselina tetra-isopalmylaskorbová (IPAA). Některé z těchto derivátů mají výhodné vlastnosti nejen díky své lipofilitě, ale i větší stabilitě.³ Tyto deriváty (například palmitoylaskorbát) mohou navíc být ještě obaleny fosfolipidovou dvojvrstvou; vznikají tak hybridní formy spojující vlastnosti derivátů kyseliny askorbové a lipozomů. I k těmto formám jsou k dispozici výsledky studií, které prokázaly jejich výhodnost, pokud jde o biologickou dostupnost v cílových tkáních a účinnost, například pokud jde o cytotoxické působení na maligní buňky.⁶

V současné době existují moderní technologie, které pro dosažení lipozomálního vstřebávání potřebují podstatně méně lipidové složky než klasické lipozomy.

Tyto moderní technologie dokáží zvýšit lipofilitu léčiv, zajistit spojení s chylomikrony v enterocytech (v některých případech jsou samy částice těmito buňkami přijímány jako chylomikrony) a vstupují do střevního lymfatického systému. Uvedené formy zajišťují často větší stabilitu, biologickou dostupnost a účinnost než klasické lipozomy nebo čistá kyselina askorbová. Navíc snižují případné nežádoucí působení výchozí látky v samotném gastrointestinálním traktu. O těchto technologiích existuje poměrně obsáhlá odborná literatura.^{2,4}

Srovnání některých přípravků z hlediska biologické dostupnosti a farmakoekonomiky

Biologická dostupnost

Rozhodujícím faktorem při hodnocení kvality konkrétního přípravku s obsahem vitamínu C nemůže být jen technologie jeho výroby, ale důkaz, že přípravek zajišťuje dostatečně vysoký stupeň biologické dostupnosti, tedy plazmatické hladiny vitamínu C v krvi. Touto problematikou se zabývala otevřená komparativní studie hodnotící plazmatické koncentrace kyseliny askorbové po jednorázovém podání jedné dávky (1 gramu) čtyř přípravků s obsahem vitamínu C v různých lékových formách. Tato studie ukázala, že přípravek Lipo C Askor Forte (obsahující komplex RosaCelip-LD; při výrobě jsou uplatněny některé z uvedených technologií, zajišťující lipozomální vstřebávání; lipidovou složku tvoří mastné kyseliny) v porovnání s některými dalšími typy přípravků s obsahem vitamínu C dostupnými na trhu v ČR vede k dosažení nejvyšší biologické dostupnosti. Výsledky tohoto srovnání byly nedávno publikovány (společně s výsledky výzkumu výskytu deficitu vitamínu C);⁷ podrobněji je studie biologické dostupnosti srovnávaných přípravků rozebrána v dalším publikovaném článku, kde bylo uplatněno i farmakoekonomické hledisko.⁸

Studie pracovala se standardními farmakokinetickými parametry (absorpce, distribuce a eliminace), které předurčují osud léčiva (v tomto případě vitamínu C) v organismu. Biologická dostupnost je množství účinné látky z dávky obsažené v podaném přípravku, které se dostává ve farmakologicky aktivní formě do systémového krevního oběhu. Při hodnocení biologické dostupnosti má význam i rychlost, s jakou se aktivní forma léčiva dostane do systémového oběhu a je charakterizována: plochou pod křivkou plazmatických koncentrací účinné látky (Area Under the Curve, AUC), která vyjadřuje míru biologické dostupnosti, maximální koncentrací účinné látky v krvi (C_{max}) a časem potřebným k jejímu dosažení (T_{max}), které vyjadřují rychlost biologické dostupnosti.

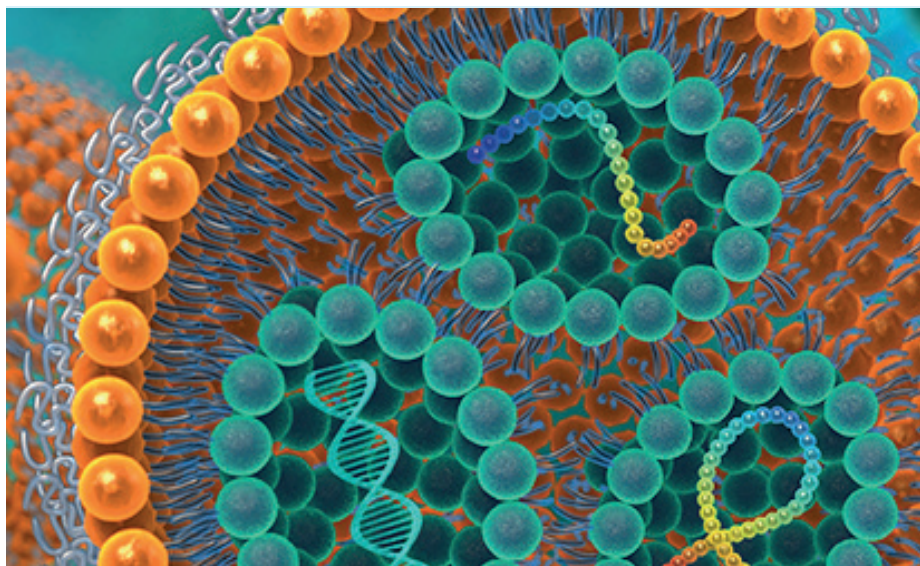
Do studie bylo zapojeno 20 zdravých dobrovolníků ve věku 21 až 65 let. Byly porovnávány 4 typy perorálních přípravků s obsahem vitamínu C: nechráněný vitamin C, retardovaná forma vitamínu C, lipozomy s obsahem 30 % lipidové složky a 70 % vita-

minu C a přípravek Lipo C Askor Forte, obsahující komplex RosaCeliP-LD. Výsledky po zhodnocení všech uvedených parametrů ukázaly, že biologická dostupnost (oproti nechráněné formě vitamínu C) byla u retardované formy 2,3krát větší, u lipozomů s obsahem 30 % lipidové složky/70 % vitamínu C 4,1krát vyšší a u přípravku Lipo C Askor Forte 5,5krát vyšší. Biologická dostupnost tohoto přípravku je tedy více než pětinašobně vyšší než u běžného perorálního přípravku s obsahem vitamínu C.

Farmakoekonomická analýza

Na závěr ještě uvádíme pohled na tento přípravek z farmakoekonomického hlediska na základě farmakoekonomické analýzy vycházející ze zmíněné studie.⁸ Tato analýza byla založená na výsledcích biologické dostupnosti srovnávaných přípravků, dalšími hodnocenými parametry byla cena přípravku a obsah účinné látky, respektive přepočtená cena za 1 gram účinné látky (vychází se přitom z obsahu účinné látky v jedné kapsli a z množství kapslí). Tento jednoduchý parametr přepočtu vitamínu C na 1 gram umožňuje zjistit rozdílnosti jednotkové ceny. Nejvýstižněji charakterizuje cenu vitamínu C biologická dostupnost dané formy, která dává nejpresnější představu o finanční zátěži, tedy jak nákladný je 1 gram dané formy vitamínu C, vstřebaný a dostupný v organismu. Výsledky této farmakoekonomické analýzy ukázaly, že jako nejnákladnější se jevil přípravek obsahující lipozomální formu vitamínu C v poměru 30 % tuku/70 % vitamínu C, kde 1 gram vitamínu C biologicky dostupný v organismu vychází na 4,6 Kč, o něco levnější je nechráněný vitamin C s cenou 4,4 Kč za 1 gram vstřebaného vitamínu, levnější je cena 1 gram vstřebaného vitamínu C u retardované lékové formy (3,4 Kč) a ekonomicky nejvýhodnější se jeví přípravek Lipo C Askor Forte s cenou 2,4 Kč na 1 gram vstřebaného vitamínu C. Analýza ukázala, že přípravky nejlevnější v absolutní ceně nemusí být nejlevnější z hlediska ceny biologicky dostupného vitamínu C.

Při farmakoekonomické analýze se přípravek Lipo C Askor Forte jevil jako nejméně nákladný. Navíc je součástí balení tohoto přípravku sada detekčních proužků Uro C Kontrol pro monitoring hladin vitamínu C v moči, což představuje přidanou hodnotu pro racionální a optimální dávková-



ni vitamínu C, jehož potřeba je individuální a závislá na míře psychické a fyzické zátěže. To je velmi důležitý aspekt, protože jak ukazuje řada studií zmíněných přehledně například v uvedené publikaci z roku 2021,⁷ deficit vitamínu C je i v běžné populaci poměrně častý a přispívá k stoupajícímu výskytu řady onemocnění souvisejících s oxidačním stresem, například imunitního, nervového a dalších systémů. Dostatečnou a cílenou suplementací vitamínu C v kvalitní formě je možno přispět k prevenci vzniku těchto patologických stavů. Volba vhodného přípravku však musí být založena na racionálním podkladě a současném stavu poznání v oblasti moderní farmakologie.

Závěr

Deficit vitamínu C v organismu postihuje populaci nejen v méně rozvinutých zemích, ale je rozšířený i v zemích civilizovaného světa. Proto se stává významným tématem dostatečná suplementace tohoto vitamínu. Vstřebávání perorálně podaného běžného vitamínu C ze střeva je omezeno satureovatelnou kapacitou transportních molekul. Výhodnější je vstřebávání prostřednictvím lymfatického systému (takzvané lipozomální vstřebávání), které zajišťuje vyšší biologickou dostupnost vstřebaných látek. Protože se tímto výhodnějším způsobem mohou vstřebat jen lipofilní látky, hledají se způsoby, které umožňují i hydrofilním látkám jako je vitamin C přecházet do oběhu prostřednictvím střevního lymfatického systému. Článek uvádí příklady nejrůznějších fo-

rem a technologií a forem, které umožňují toto lipozomální vstřebávání. Na závěr je uvedeno srovnání některých přípravků s vitamínem C dostupných na trhu v ČR z hlediska biologické dostupnosti a farmakoekonomiky. ■

Literatura

1. Ahn H, Park JH. Liposomal delivery systems for intestinal lymphatic drug transport. *Biomater Res* 2016;20:36.
2. Has S, Sunthar P. A comprehensive review on recent preparation techniques of liposomes. *J Liposom Res* 2020;30:336-365.
3. Carita AC, Bruno Fonseca-Santos B, Shultz JD, et al. Vitamin C: One compound, several uses. Advances for delivery, efficiency and stability. *Nanomedicine* 2020;24:102117.
4. Parhizkar E, Rashedinia M, Karimi M, et al. Design and development of vitamin C-encapsulated proliposome with improved in-vitro and ex-vivo antioxidant efficacy. *J Microencapsul* 2018;35:301-311.
5. Guney G, Kutku HM, Genc L. Preparation and characterization of ascorbic acid loaded solid lipid nanoparticles and investigation of their apoptotic effects. *Colloids Surf B Biointerfaces* 2014;121:270-80.
6. Sawant RR, Vaze OS, Rockwell K, Torchilin VP. Palmitoyl ascorbate modified liposomes as nanoparticle platform for ascorbate-mediated cytotoxicity and paclitaxel co-delivery. *Eur J Pharm Biopharm* 2010;75:321-6.
7. Boženský J, Kopriva F, Kotlářová L, et al. Vitamin C, anti-infective immunity and the issue of decreased vitamin C levels in children. *Bio-med J Sci Tech Res* 2021;35(2):27532-8.
8. Slíva J, Kotlářová L. Farmakoekonomická rozvaha k volbě přípravku s obsahem vitamínu C. *Biotherapeutics* 2021;11(2):41-2.

Odborná redakce Edukafarm