

\*Marcin Szymański<sup>1</sup>, Anna Wrześcińska<sup>1</sup>, Daria Młynarek<sup>1</sup>, Arkadiusz Szymański<sup>2</sup>

# Diosmina i hesperydyna – obecny stan wiedzy

## Diosmin and hesperidin – the current state of knowledge

<sup>1</sup>Centrum Zaawansowanych Technologii, Uniwersytet im. Adama Mickiewicza w Poznaniu

Dyrektor Centrum: prof. dr hab. n. chem. Bronisław Marciniak

<sup>2</sup>Wydział Chemii, Uniwersytet im. Adama Mickiewicza w Poznaniu

Dziekan Wydziału: prof. dr hab. n. chem. Maciej Kubicki

---

### SUMMARY

*Diosmin is the 7-rutinoside of 3',5,7-trihydroxy-4'-methoxyflavone (7-O-rutinoside of diosmetin), and hesperidine is the 7-rutinoside of 3',5,7-trihydroxy-4'-methoxyflavanone (7-O-rutinoside hesperetin). Diosmin, is a gray-yellow or pale-yellow, hygroscopic powder, whereas hesperidine is in the form of light-yellow spherocrystals. Diosmin was isolated from fruits of the Citrus genus (C. sinensis, C. limonia), now it is obtained semi-synthetically from natural hesperidin. These flavonoids have, among others: antimicrobial, anti-inflammatory, anti-diabetic, anti-cancer, analgesic, antioxidant and possibly anti-virus activity, that cause COVID-19.*

*The metabolism of diosmin takes place initially in the small intestine and involves demethoxylation and hydrolysis. In contrast, oxidation and conjugation take place in the liver. There is no presence of diosmin and diosmetin in the urine, which are mainly eliminated in the form of glucuronic acid conjugates. The dominant metabolite detected in urine samples is m-hydroxy-phenylpropionic acid, excreted in conjugated form. Diosmin may reduce the aggregation of Red Blood Cells, and thus it is able to reduce blood viscosity. The LD50 of the mixture of 90% diosmin and 10% hesperidin for rats is over 3 g/kg. The tests did not reveal any mutagenic effects or effects on reproductive functions. It also does not pose a significant threat during breast feeding, as it poorly passes into breast milk.*

**Keywords:** diosmin, hesperidin, flavonoids, pharmacological activity

---

### STRESZCZENIE

*Diosmina jest 7-rutynozylem 3',5,7-trihydroksy-4'-metoksyflawanonu (7-O-rutynozylem diosmetyny), a hesperydyna to 7-rutynozyl 3',5,7-trihydroksy-4'-metoksyflawanonu (7-O-rutynozyl hesperetyny). Diosmina jest szarżółtym lub jasnożółtym, higroskopijnym proszkiem, a hesperydyna ma postać jasnożółtych sferokryształów. Diosmina izolowana była z owoców rodzaju Citrus (C. sinensis, C. limonia), obecnie otrzymywana jest półsyntetycznie z naturalnej hesperydyny. Flawonoidy te działają m.in.: przeciwdrobnoustrojowo, przeciwzapalnie, przeciw cukrzycowo, przeciwnowotworowo, przeciwbólowo, antyoksydacyjnie i prawdopodobnie przeciw wirusowi wywołującemu COVID-19.*

*Metabolizm diosminy odbywa się początkowo w środowisku jelita cienkiego i obejmuje demetoksylicację oraz hydrolizę. Natomiast oksydacja i koniugacja mają miejsce w wątrobie. W moczu nie stwierdzono obecności diosminy i diosmetyny, które eliminowane są głównie w formie koniugatów kwasu glukuronowego. Dominującym metabolitem, wykrytym w próbkach moczu jest kwas m-hydroksy-fenylopropionowy, wydalany w skoniugowanej formie. Diosmina może wywoływać obniżenie agregacji czerwonych krwinek, a tym samym jest ona w stanie zmniejszać lepkość krwi. LD50 mieszaniny 90% diosminy i 10% hesperydyny dla szczurów wynosi ponad 3 g/kg. W badaniach nie stwierdzono działania mutagennego ani wpływu na funkcje reprodukcyjne. Nie stanowi też istotnego zagrożenia podczas karmienia piersią, gdyż słabo przechodzi do mleka matki.*

**Słowa kluczowe:** diosmina, hesperydyna, flawonoidy, działanie farmakologiczne

---

### Wstęp

Diosmina to naturalnie występujący glikozyd flawonoidowy, który może być wyizolowany z różnych źródeł roślinnych lub przekształcany z występującego w większych ilościach flawonoidu hesperydyny (1). Po raz pierwszy została wyizolowana z liści trędownika bulwiastego w 1925 roku, a wprowadzona do lecznictwa jako substancja terapeutyczna w 1969 roku (2).

### Budowa diosminy i hesperydyny

Podstawowy szkielet flawonoidów cytrusowych składa się z dwóch pierścieni aromatycznych, połączonych pierścieniem  $\gamma$ -pironu (C) w przypadku flawonów lub  $\gamma$ -dihdropironu w przypadku flawanonów. Najczęściej występują one jako O-glikozydy, z cząsteczką cukru przyłączoną do grupy hydroksylowej aglikonu w pozycji C-7 (3).

Diosmina (ryc. 1) jest 7-rutynozydem 3',5,7-trihydroksy-4'-metoksyflawonu (7-O-rutynozydem diosmetyny). Hesperydyna (ryc. 2) to 7-rutynozyd 3',5,7-trihydroksy-4'-metoksyflawanonu (7-O-rutynozyd hesperetyny).

#### Właściwości fizyko-chemiczne diosminy i hesperydyny

Flawonoidy w soku z owoców cytrusowych występują głównie w formie glikozydów, rzadko spotykane w nim są lipofilne aglikony o niskiej rozpuszczalności w wodzie (3). Diosmina (FPXI) jest szarozółtym lub jasnożółtym, higroskopijnym proszkiem. W wodzie i w etanolu jest praktycznie nierozpuszczalna, natomiast rozpuszcza się w dimetylosulfotlenku (DMSO) oraz w pirydynie. Po rozpuszczeniu w rozcieńczonych roztworach wodorotlenków litowców roztwór przyjmuje charakterystyczne, bladeżółte zabarwienie (4).

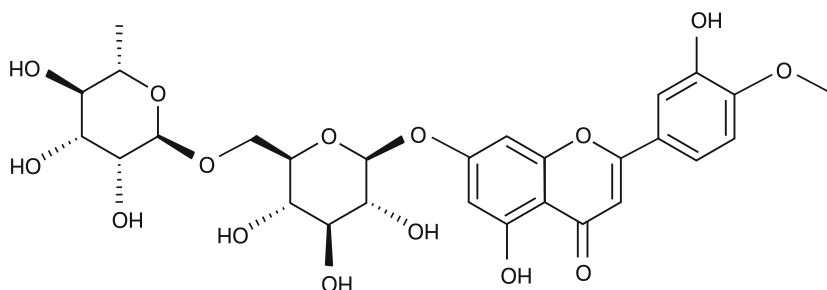
Hesperydyna ma postać jasnożółtych sferokryształów, topi się w 258-262°C. Dobrze rozpuszcza się w rozcieńczonych alkaliach, pirydynie, DMSO, w wodzie rozpuszcza się w proporcji 1:50, słabo w metanolu, gorącym kwasie octowym, nie rozpuszcza się w acetonie, benzenie i w chloroformie.

Diosmina i hesperydyna występujące w preparatach, z powodu słabej rozpuszczalności, wchłaniają się w niewielkim stopniu z przewodu pokarmowego. Dlatego diosminę coraz częściej poddaje się procesowi mikronizacji, otrzymując z cząsteczek

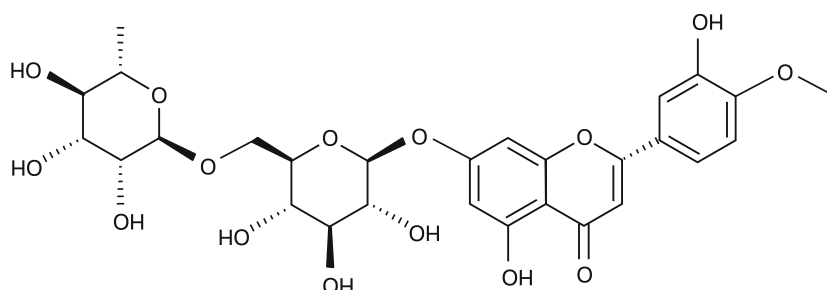
o wielkości 20  $\mu\text{m}$  cząstki poniżej 2  $\mu\text{m}$ , co znacznie zwiększa biodostępność, a tym samym skuteczność działania (5).

Dowodem na to, że mikronizacja w istotny sposób zwiększa resorpcję z przewodu pokarmowego, są wyniki badania krzyżowego podwójnie zaślepionego. Brało w nim udział 12 ochotników, którzy przyjęli pojedynczą dawkę zarówno zmikronizowanej, jak i niezmikronizowanej znakowanej izotopowo diosminy. Zmierzono resorpcję radioaktywnej substancji z jelita, a jej miarą była ilość substancji wydalonej z moczem. Okazało się, że w pierwszych 24 godz. od przyjęcia dawki wydalona została prawie dwukrotna ilość diosminy zmikronizowanej (31,1%) w porównaniu z wydaloną ilością substancji niezmikronizowanej (15,9%) (6).

Przeprowadzono prospektywne, randomizowane badanie z pojedynczą ślepą próbą, w grupach równoległych, w celu oceny klinicznej równoważności podawanej raz na dobę przez 6 miesięcy niemikronizowanej diosminy (600 mg) w porównaniu z mikronizowaną diosminą (900 mg), podawaną łącznie z hesperydyną (100 mg). Do badania włączono 114 dorosłych pacjentów z objawową CVD (ang. *chronic venous disease*) kończyn dolnych w stopniu C0-C3 (klasyfikacja CEAP). Punktem końcowym była zmiana nasilenia objawów (od wartości wyjściowej do ostatniej wartości pozabiegowej) w skali VAS. W badaniu stwierdzono, że niemikronizowana



Ryc. 1. Diosmina



Ryc. 2. Hesperydyna

diosmina 600 mg miała nie mniejszą skuteczność w porównaniu z mikronizowaną diosminą (900 mg z hesperydyną 100 mg) (7).

#### Występowanie i otrzymywanie diosminy i hesperydyny

Diosminę początkowo izolowano z owoców z rodzaju *Citrus* (*C. sinensis*, *C. limonia*), obecnie otrzymywana jest półsyntetycznie z naturalnej hesperydyny.

Utlenienie hesperydyny do diosminy prowadzi się przy udziale jodu, a półsyntetycznie otrzymana diosmina jest płukana w środowisku zasadowym i oddzielona przez filtrację. Wydajność tego procesu wynosi 90%, pozostałe 10% to produkty uboczne: linaryna (7-ramnoglukozyd akacetyny) i izoroifolina (7-rutynozyd apigeniny), a także 6-jododiosmina, diosmetyna, acetoizowanilon i wyjściowa, nieutleniona hesperydyna (4).

Przeprowadzono analizę porównawczą zawartości diosminy i hesperydyny w sokach z owoców wybranych gatunków rodzaju *Citrus*. Zestawienie wyników przedstawiono w tabeli 1.

Najwyższą zawartość hesperydyny oznaczono w soku z klementynki oraz ze słodkiej pomarańczy, najniższą natomiast w soku z grejpfruta. Najwięcej diosminy oznaczono w soku ze słodkiej pomarańczy (8, 9). Zawartość hesperydyny rośnie do osiągnięcia pełnej dojrzałości owocu cytrusowego, po czym stopniowo maleje, a zwiększa stężenie diosminy, która najprawdopodobniej powstaje z przekształcenia hesperydyny (9).

W owocach grejpfruta (*C. paradisi*) hesperydyna i diosmina występują w znacznie mniejszych ilościach, a dominującym składnikiem jest flawanon – naringina, odpowiadająca za ich gorzki smak (3).

Obecność diosminy stwierdzono również w innych gatunkach roślin: trędowniku bulwiastym (*Scrophularia nodosa*), budleji azjatyckiej (*Buddleja asiatica*) (10), bukku brzoźowym (*Agathosma betulina* = *Barosma betulina*) (11, 12), rozmarynie lekarskim (*Rosmarinus officinalis*) (13), mięcie pieprzowej (*Mentha piperita*) (13, 14), wyce (*Vicia*) (15, 16), hyzopie lekarskim (*Hyssopus officinalis*) (17), wawrzynku (*Daphne pseudomezereum*) (18), koprze morskim (= kowniatek morski = babia sól nadmorska) (*Crithmum maritimum*) (19, 20).

#### Przemiany farmakokinetyczne i biochemiczne

Pierwszy etap metabolizmu diosminy odbywa się w środowisku jelita cienkiego i obejmuje demetoksylicację oraz hydrolizę. Natomiast oksydacja i koniugacja mają miejsce w wątrobie (21). Produktem hydrolizy diosminy przez jelitowe  $\beta$ -glukozydazy, zlokalizowane w błonie śluzowej jelita cienkiego, jest diosmetyna, a szybkość jej absorpcji zależy od hydrolizy wiązania  $\beta$ -glikozydowego. Różnice w międzyosobniczej aktywności enzymatycznej  $\beta$ -glukozydazy mogą być w pewnym stopniu czynnikiem determinującym zróżnicowaną biodostępność flawonoidów (22).

Badania *in vitro* dowiodły też, że 13C- i 14C-diosmina, inkubowana z ludzką florą jelitową, jest przekształcana nie tylko do diosmetyny, ale też do luteoliny i kwasów fenolowych (23).

Na podstawie badań przeprowadzonych na szczurach, którym podano *p.o.* 3H-znakowaną diosminę, stwierdzono, że z przewodu pokarmowego reabsorbowana była szybko, a jej maksymalne stężenie we krwi wykryto między pierwszą a drugą godziną od podania (24).

**Tab. 1.** Zawartość diosminy i hesperydyny w wybranych gatunkach rodzaju *Citrus* (8, 9)

Rodzaj <i>Citrus</i>	Zawartość hesperydyny min-max [mg/100 mL]	Zawartość diosminy min-max [mg/100 mL]
Sok ze słodkiej pomarańczy	4,45-76,30	0,79-7,20
Sok z mandarynki	0,81-45,80	n.o.
Sok z klementynki	5,21-86,10	0,67-2,12
Sok z cytryny	3,84-41,00	0,51-5,10
Handlowy sok z cytryny	1,59-23,08	0,16-1,78
Sok z limonki	1,52-2,02	n.o.
Sok z grejpfruta	0,25-1,79	n.o.
Handlowy sok z grejpfruta	0,20-16,40	0,20-1,40

n.o. – nie oznaczono

Badanie farmakokinetyczne przeprowadzone u 5 osób, przyjmujących 10 mg/kg *p.o.* niezmiernizowanej diosminy, nie wykazało obecności związku macierzystego we krwi (czułość: 20 ng/ml), a stężenie maksymalne jej aglikonu diosmetyny notowane po 1 godz. od przyjęcia zmniejszało się powoli po 2 godz. i było jeszcze wykrywalne po 48 godz. (25).

Na podstawie badania farmakokinetycznego preparatu Daflon (450 mg zmiernizowanej diosminy i 50 mg hesperydyny), zarejestrowanego w Polsce jako lek, wykazano, że diosmina osiąga maksymalne stężenie we krwi po 60-120 min (26).

Intensywny metabolizm powodował niewielką kumulację związku w poszczególnych narządach, dopiero po dłuższym czasie od podania doustnego zaobserwowano wiązanie się diosminy do ścian naczyń krwionośnych (24).

W badaniu klinicznym leku Otrex (600 mg diosminy) zaobserwowano zwiększony wychwyty diosmetyny i/lub jej metabolitów w naczyniach żylnych do dziewiątej godziny od doustnego podania preparatu i utrzymywał się on jeszcze do 96 godzin od podania.

Eliminacja następowała z moczem (79%), z kałem (11%) i z żółcią (2,4%). W kale stwierdzono obecność diosminy, diosmetyny i innych metabolitów, zawierających radioaktywny  $^{14}\text{C}$ , co może wskazywać na złożony mechanizm wchłaniania i wydalania produktu w przewodzie pokarmowym (krążenie wątrobowo-jelitowe) (27).

W moczu nie stwierdzono obecności diosminy i diosmetyny, które eliminowane są głównie w formie koniugatów z kwasem glukuronowym. Dominującym metabolitem, wykrytym w próbkach moczu, jest kwas m-hydroksy-fenylpropionowy oraz małe ilości innych kwasów fenolowych, np. kwas 3-hydroksy-4-metoksybenzoesowy oraz 3-metoksy-4-hydroksy-fenylacetowy, a także kwas 3,4-dihydroksybenzoesowy (21, 24, 25). Po dożylnym podaniu szczurom diosminy eliminacja odbywała się głównie z moczem (24).

#### **Mechanizm działania diosminy**

Diosmina poprzez hamowanie enzymów, takich jak: lipoksygenaza, cyklooksigenaza, fosfolipaza, podobnie jak inne flawonoidy, może zmniejszać aktywność prostaglandyn E<sub>2</sub> (PGE<sub>2</sub>) i tromboksanów (TxA<sub>2</sub>) (28, 29). Jest również inhibitorem aktywności leukocytów, ich migracji i adhezji (30). Mechanizm ten wskazuje na działanie ochronne diosminy oraz zdolności naprawcze w uszkodzonych tkankach naczyń krwionośnych. Diosmina poprawia napięcie ścian naczyń krwionośnych, zwiększa drenaż naczyń limfatycznych, wspomaga mikrokrążenie

kapilarne, hamuje reakcje zapalne oraz obniża przepuszczalność ścian naczyń włosowatych (31-34).

### **Działanie farmakologiczne**

#### **Działanie przeciwdrobnoustrojowe**

Hesperydyna i diosmina hamowały częściowo (40-60%) i w pełni odwracalnie aktywność syntazy ATP *Escherichia coli* (35). Istnieją doniesienia o hamowaniu przez diosminę i hesperydynę (formy glikozydowe) aktywności rotawirusów, wywołujących sporadycznie silne biegunki u niemowląt i małych dzieci (IC<sub>50</sub> = 10 μM), podczas gdy formy aglikonowe (diosmetyna, hesperetyna) takiej zdolności nie posiadały (36).

Dostępne są dowody potwierdzające możliwość zastosowania hesperydyny w profilaktyce przeciwko zakażeniu SARS-CoV-2 i leczeniu uzupełniającym COVID-19. Hesperydyna może blokować przedstawianie się koronawirusa do komórek gospodarza przez receptory ACE2, co może zapobiegać infekcji. Aktywność przeciwwirusowa hesperydyny może stanowić opcję leczenia COVID-19 poprzez poprawę odporności komórkowej gospodarza na infekcje, a jej działanie przeciwwapalne może pomóc w kontrolowaniu burzy cytokin. Mieszanina hesperydyny z diosminą, podawana jednocześnie z heparyną, chroni przed żylną chorobą zakrzepowo-zatorową, która może zapobiegać progresji choroby (37).

#### **Właściwości antyoksydacyjne**

Zbadano skuteczność diosminy w zapobieganiu ostrej fazie stanu zapalnego u szczurów, jako skutku peroksydacji lipidów, wywołanej wewnątrztrzewnym podaniem karaginanu i CCl<sub>4</sub>. Peroksydację lipidów zmierzono m.in. poprzez spadek stężenia we krwi witamin A i E. Dootrzewnowe podawanie diosminy (150 mg/kg/tydzień) w ciągu 8 tygodni poprzedzających podanie substancji prozapalnych skutkowało znacznym obniżeniem się ilości markerów reakcji ostrej fazy stanu zapalnego we krwi (α1-, α2-, β-globuliny), wywołanego przez karaginan oraz obniżeniem peroksydacji lipidów wywołanej przez CCl<sub>4</sub> w mikrosomach wątroby. Diosmina może więc pełnić ważną funkcję w naturalnej obronie antyoksydacyjnej organizmu (38).

Zbadano też wpływ diosminy i jej metabolitu diosmetyny na przeciwdziałanie uszkodzeniu błon komórkowych hepatocytów w warunkach *in vitro* wywołanego za pomocą EE (estolan erytromycyny) i na stres oksydacyjny wywołany przez tert-butylohydroksynadtlenek (TBHP). Działanie toksyczne spowodowało wyciek wewnątrzkomórkowych enzymów:

dehydrogenazy mleczanowej, aminotransferazy asparaginianowej, lizosomalnego markera: AP (kwaśna fosfataza). Wyciek enzymów, mimo wcześniejszego potraktowania komórek EE, zmniejszył się wskutek 40-godzinnej diety diosmetyny, ale nie diosminy. Diosmetyna zmniejszyła też toksyczność TBHP, co wynikało z mniej nasilonej peroksydacji lipidów i ze zwiększonej aktywności glutationu. Diosmetyna wykazuje znacznie wyższe właściwości antyoksydacyjne niż diosmina (39).

Udowodniono też działanie antyoksydacyjne i neuroprotektoryjne hesperydyny i jej aglikonu – hesperetyny. Obie te substancje podobnie zmięły wolne rodniki DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl), jednakże hesperetyna działała silniej. Wykazano też przeciwrodnikowe i antyoksydacyjne działanie hesperetyny w różnych, doświadczalnych modelach stresu oksydacyjnego, indukowanego przez:  $H_2O_2$ , ksantynę/oksydazę ksantynową,  $Fe^{2+}$ /kwas L-askorbowy. Hesperetyna zmniejszała też uszkodzenie komórek mózgu wywołane przez podwyższone stężenie kwasu glutaminowego (40).

Kwas glutaminowy, obecny m.in. w hipokampie, zaliczany jest do aminokwasów pobudzających. Stymuluje on receptor NMDA (N-Methyl-D-asparaginowy), który z kolei reguluje napływ jonów wapniowych do komórki. Wzrost uwalniania kwasu glutaminowego może być główną przyczyną uszkodzenia neuronów w wielu ostrych i chronicznych zaburzeniach neurodegeneracyjnych, takich jak: epilepsja, choroba Alzheimera oraz płasawica Huntingtona. Antagoniści postsynaptycznych receptorów NMDA przeciwdziałają tej patologicznej neurotransmisji (41). Takim selektywnym antagonistą okazała się właśnie hesperetyna, a w mniejszym stopniu również hesperydyna.

Hesperetyna chroniła też kultury komórkowe przed indukowaną  $\beta$ -amyloidem neurotoksycznością ( $IC_{50} = 97,2 \mu M$ ), co może mieć znaczenie w chorobie Alzheimera (40).

## Badania *in vitro* i *in vivo*

### Działanie na układ szkieletowy

Przeprowadzono badanie wpływu na kości suplementu diety/nutraceutyku (DH), będącego połączeniem 9:1 diosminy i hesperydyny, wykorzystywanego dla poprawy funkcjonowania układu krążenia. Wykazano, że DH u szczurów z osteotomią kości udowej stymulował jej regenerację, u rosnących szczurów sprzyjał osiągnięciu szczytowej masy kostnej, u szczurów z osteopenią wywołaną owariektomią (OVX) całkowicie regenerował kości beleczkowe kości udowej i wytrzymałość wraz ze zwiększeniem powierzchniowego

tworzenia kości i markeru różnicowania osteogennego w surowicy; hamował resorpcję kości u szczurów po OVX, jak również u szczurów po OVX leczonych teryparatydem. Badania farmakokinetyczne wykazały, że po podaniu doustnym diosmina i hesperydyna nie były wykrywane, a jedynym krążącym metabolitem była diosmetyna (aglikon diosminy), która okazała się selektywnym agonistą receptorów estrogenowych  $\beta$ , czego efektem jest stymulacja różnicowania osteoblastów i hamowanie sklerostyny (42).

### Działanie przeciwzapalne

Diosmina i hesperydyna okazały się skuteczne jako substancje przeciwzapalne w wywołanym za pomocą TNBS (trinitrobenzenosulfonian) zapaleniu jelita u szczurów, a decydującą rolę w tym działaniu pełnią ich właściwości antyoksydacyjne. Podanie diosminy 10 mg/kg lub hesperydyny 10 i 25 mg/kg przed zaaplikowaniem TNBS zmniejszyło uszkodzenie jelita w porównaniu z grupą kontrolną. Efekty te zostały potwierdzone biochemicznie, poprzez zmniejszenie się aktywności mieloperoksydazy i zwiększenie poziomu glutationu. Diosmina hamowała też syntezę prozapalnych LTB4 oraz zmniejszała wytwarzanie jelitowego MDA (dialdehyd malonowy). Hesperydyna takiej właściwości nie posiadała, poprawiała ona jednak absorpcję płynnych koloidów, co było wcześniej zaburzone u zwierząt z zapaleniem jelita (43).

Przeprowadzono badanie mające na celu ustalenie, czy diosmina i diosmetyna mają wpływ na poprawę stanu skóry w modelu atopowego zapalenia skóry (AD) wywołanego 2,4-dinitrochlorobenzem (DNFB) u bezwłosych myszy. Aby zmierzyć ich skuteczność kontrolowano stan nawilżenia skóry, surowiczą immunoglobulinę E (IgE), interleukinę 4 (IL-4) oraz przeprowadzono analizę histopatologiczną. Poziomy IL-4 mierzono w komórkach RBL-2H3 (komórki tuczne linii hodowlanej (Rat Peripheral Blood Basophilic Leukemia-2H3 cells)). Doustne podawanie diosmetyny lub diosminy u myszy hamowało postęp zmian podobnych do AD, poprzez hamowanie przezskórnej utraty wody (TEWL) i zwiększenie nawilżenia skóry, wyrównywało zmienioną grubość naskórka i nacieki komórek, obniżało poziomy IgE i IL-4 w próbkach surowicy. Jednak w teście *in vitro* tylko diosmetyna, a nie diosmina, obniżała poziom ekspresji mRNA IL-4 w komórkach RBL-2H3 (44).

### Działanie przeciwcukrzycowe

Celem badania było wykazanie, czy diosmina przeciwdziała niekorzystnym przemianom

występującym na powierzchni komórek glikoprotein w przebiegu cukrzycy typu 2. Zaburzenia metabolizmu tych węglowodanowych składników komórkowych odgrywają istotną rolę w patogenezie cukrzycy. Podstawowymi elementami budowy glikoprotein są m.in.: heksoza, heksozoamina, fukoza i kwas sjałowy. Uczestniczą one w transporcie błonowym, podziałach komórkowych, w adhezji, sekrecji i absorpcji makromolekuł.

Badanie przeprowadzono na szczurach z cukrzycą wywołaną przez pojedyncze, dootrzewnowe wstrzyknięcie streptozocyny (45 mg/kg m.c.), poprzedzone iniekcją 30 nikotynamidu (110 mg/kg m.c.). Streptozocyna wykazuje zdolność niszczenia komórek  $\beta$  wysp Langerhansa trzustki i indukowania stresu oksydacyjnego. Po 45 dniach podawania zwierzętom dożołądkowo diosminy, rozpuszczonej w 0,6% DMSO (100 mg/kg m.c.), poziom glukozy, osoczowych glikoprotein uległ obniżeniu, podwyższony był poziom insuliny i tkankowego kwasu sjałowego, ale stężenie heksozy, heksozoamin i fukozy były w granicach normy.

W grupie kontrolnej z indukowaną cukrzycą, której nie podawano diosminy, zarówno poziom glukozy we krwi, jak i stężenie osoczowych glikoprotein były wyraźnie podwyższone. Zwiększeniu uległa też ilość heksozy, heksozoaminy i fukozy w nerkach i w wątrobie, co jest wynikiem wzmożonej glikozylacji w przebiegu cukrzycy, a zmniejszeniu uległ poziom insuliny i kwasu sjałowego w tkankach. Diosmina posiada więc właściwości przeciwcukrzycowe, a zmniejszenie niekorzystnych efektów wywołanych przez streptozocynę być może wynika ze zwiększania wrażliwości komórek na insulinę (45).

### **Działanie przeciwnowotworowe**

Jedynym efektywnym zapobieganiem przerzutom czerniaka do płuc jest podawanie bardzo wysokich dawek IFN- $\alpha$ , który w tych stężeniach jest jednak silnie toksyczny. Próba zmniejszenia jego toksyczności, przy jednoczesnym zachowaniu skuteczności, było równoczesne podawanie diosminy. Udowodniono na modelu mysim synergizm działania diosminy i IFN- $\alpha$ . Dodatek diosminy pozwala na obniżenie dawki toksycznego IFN- $\alpha$ , przy zachowaniu skuteczności w zmniejszaniu przerzutowania czerniaka (46).

Przebadano również na ludzkich komórkach raka piersi MCF-7 wpływ diosminy (składnika chemoprewencyjnego) i diosmetyny na ścieżkę aktywacji kancerogenu DMBA (7,12-dimetylobenz (a)antracen), w której pośredniczy AhR (ang. *aryl hydrocarbon receptor*). Ważnym mechanizmem ochronnym przed kancerogenezą jest zahamowanie aktywności

izoenzymu CYP 1A1 lub ścieżki prowadzącej do jego aktywacji (transkrypcji).

Potraktowanie komórek MCF-7 równocześnie DMBA i diosminą spowodowało zależny od dawki wzrost metabolizmu DMBA, wywołującego kancerogenezę u ssaków. Diosmetyna miała natomiast działanie przeciwne do diosminy – hamowała niekompetywnie indukowaną DMBA mikrosomalną aktywność cytochromu P450 1A1 (CYP1A1) ( $IC_{50} = 30$  nM), zmniejszała też tworzenie adduktów DMBA-DNA, a przez to również cytotoksyczność. Z drugiej strony, podawanie zarówno diosminy, jak i diosmetyny spowodowało zależny od dawki i czasu wzrost aktywności CYP1A1 w komórkach nietraktowanych DMBA. Obie substancje wywoływały wzrost transkrypcji genu *CYP1A1*, których pomiar umożliwiały zwiększone poziomy CYP1A1 mRNA w komórce. Aktywowały one też zdolność wiązania DNA z AhR. Obserwacje te wskazują, że diosmina i diosmetyna są naturalnymi agonistami AhR, wywołującymi wzrost transkrypcji oraz aktywności CYP1A1. Jednak tylko diosmetyna jest zdolna do inhibicji aktywności enzymu CYP1A1 w obecności DMBA, przez co tylko ona, jako metabolit diosminy, odpowiada za hamowanie kancerogenezy (47).

Zbadano również (samce szczurów) modyfikujący wpływ diosminy i hesperydyny, a także ich kombinacji, podawanych podczas fazy inicjacji, promocji i progresji kancerogenezy w jamie ustnej, zapoczątkowanej tlenkiem 4-nitrochinoliny (4-NQO).

Zwierzęta podzielono na 10 grup oraz grupę kontrolną (11). W 7. tygodniu życia wszystkie zwierzęta (poza grupami 8-10) otrzymywały 4-NQO (20 ppm) rozpuszczoną w wodzie przez 8 tygodni, celem wywołania doustnej kancerogenezy. Grupa pierwsza otrzymywała samą 4-NQO, grupy 2-4 – 4-NQO oraz dodatkowo od 6. tygodnia życia 10-tygodniową dietę zawierającą 1000 ppm diosminy (grupa 2), 1000 ppm hesperydyny (grupa 3) lub (grupa 4) połączenie obu tych składników (900 ppm diosminy + 100 ppm hesperydyny). Grupy 5-7 otrzymywały 4-NQO i od 6. tygodnia życia dietę podstawową (bez diosminy i/lub hesperydyny) przez 10 tygodni, a następnie do 32. tygodnia eksperymentu – diosminę i/lub hesperydynę. Grupy 8-10 przez cały okres doświadczenia (32 tygodnie) otrzymywały wyłącznie diosminę i/lub hesperydynę. Na końcu badania (32. tydzień) wszystkie zwierzęta zostały uśpione. Wszelkie zmiany morfologiczne, poziom poliamin w tkance języka oraz aktywność proliferacyjna komórek porównano pomiędzy poszczególnymi grupami. Podawanie zwierzętom diosminy, hesperydyny i ich połączenia z jednoczesnym podawaniem 4-NQO spowodowało

znaczną redukcję częstości występowania raka języka (odpowiednio o 68, 75 i 69%), w porównaniu z grupą otrzymującą samą 4-NQO. Także w grupie, w której podano flawonoidy, po wcześniejszym zastosowaniu 4-NQO częstość występowania raka języka była zredukowana: w przypadku diosminy o 77%, hesperydyny o 62%, ich kombinacji o 77%, w porównaniu z grupą pierwszą. Także stężenie poliamin w błonie śluzowej jamy ustnej było obniżone w grupie otrzymującej flawonoidy, w porównaniu z tą, w której podawano tylko 4-NQO indywidualnie lub w połączeniu. Hamowanie rozwoju raka języka, wywołanego 4-NQO, dzięki suplementacji diosminą i hesperydyną może być powiązane z supresją proliferacji komórkowej zwiększonej po podaniu 4-NQO (18).

#### **Działanie przeciw przewlekłemu zapaleniu żył**

Istnieje kilka hipotez wyjaśniających mechanizm zwiększania napięcia żylnego przez diosminę. Jedną z nich jest indukowany diosminą wzrost wrażliwości mięśni gładkich na poziom jonów wapnia (*ex vivo/in vitro*). W doświadczeniu przeprowadzonym na wyizolowanych mięśniach gładkich szczurów obserwowano reakcję mięśni na różny zakres stężenia wapnia (0,01-5  $\mu\text{M}$ ) w obecności diosminy (0,1-10  $\mu\text{M}$ ) i bez niej. Maksymalne zwiększenie wrażliwości na kurczące działanie  $\text{Ca}^{2+}$  (0,15  $\mu\text{M}$ ) z 26,3 do 78,9% zaobserwowano w obecności 1  $\mu\text{M}$  diosminy (48).

#### **Działanie przeciwbólowe**

Udowodniono, że hesperydyna wyizolowana z etanolowego ekstraktu nadziemnych części rozmarynu (*Rosmarinus officinalis*), posiadającego właściwości uśmierzające ból i przeciwzapalne, działa synergistycznie z ketorolakiem w leczeniu artretyzmu (dna moczanowa). Ból artretyczny u zwierząt wywoływano dwiema metodami: poprzez dostawową iniekcję 20% kwasu moczowego, zawieszonego w oleju mineralnym, oraz poprzez wstrzyknięcie do łapki 40  $\mu\text{l}$  roztworu kapsaicyny. Wpływ na receptory bólowe mierzono ilością czasu, jaką zwierzęta poświęciły na wylizanie miejsc, w które wstrzyknięto substancję wywołującą ból (kapsaicyna) lub poprzez przeprowadzenie na myszach i szczurach specjalnych testów w przypadku kwasu moczowego. Substancje analgetyczne (ketorolak i/lub hesperydynę) podawano 2,5 godz. po iniekcji każdej z wywołujących ból substancji. Aby zaobserwować efekt synergizmu, hesperydynę podawano też w różnych połączeniach z ketorolakiem: 300 mg/kg hesperydyny z 0,18 mg/kg ketorolaku okazało się bardzo korzystnym połączeniem, podczas gdy np.

1000 mg/kg hesperydyny z 0,18 mg/kg ketorolaku działało antagonistycznie. Przeciwbólowy efekt ekstraktu etanolowego w przypadku artretyzmu można było zaobserwować już w dawce 300 mg/kg, a maksimum działania w ciągu pierwszych 15 min. Dla hesperydyny efekt ten wystąpił przy 1000 mg/kg. Jednakże sama hesperydyna okazała się 5,5 raza mniej skuteczna niż ekstrakt z ziela rozmarynu, co sugeruje, że również inne składniki występujące w ziele są odpowiedzialne za jego działanie analgetyczne. Ketorolak przyjmowany sam wywoływał lekkie uszkodzenie przewodu pokarmowego, ale gdy połączono go z hesperydyną – efekty uboczne zostały zniwelowane. Natomiast w modelu z kapsaicyną zauważalna odpowiedź przeciwbólowa pojawiła się już przy dawce hesperydyny 30 mg/kg m.c.

W celu wyjaśnienia mechanizmu działania hesperydyny, zastosowano następujące substancje antagonizujące endogenne opioidy, 5HT1A oraz receptory GABAA/benzodiazepinowego, A1/A2, TRPV1: nalokson (kompetytywny antagonist opioidowy), WAY100635 (selektywny antagonist receptora 5HT1A), flumazenil (antagonista benzodiazepinowy), bikukulinę (kompetytywny antagonist GABAA receptora), kapsazepinę (kompetytywny antagonist receptora TRPV1), kofeinę (nieselektywny antagonist adenozyne). Tylko kapsazepina zredukowała działanie hesperydyny o 36%. Wywnioskowano więc, że receptor TRPV1 jest przynajmniej częściowo odpowiedzialny za przeciwbólowy mechanizm działania hesperydyny. Nie zaobserwowano przy tym żadnych efektów ubocznych wywołanych przyjmowaniem hesperydyny (49).

W modelu bólu neuropatycznego przeprowadzono badania wpływu przeciwprzeczulicy bólowej, samej hesperydyny oraz w połączeniu z diosminą, aby potwierdzić możliwą synergistyczną aktywność przeciwbólową. Przeczulicę bólową mechaniczną i termiczną oceniano odpowiednio w testach estezjometru i podeszwowym, w modelu przewlekłego urazu skurczowego (CCI) u szczurów otrzymujących hesperydynę (HS, 5 dawek od 10 do 1000 mg/kg) lub w połączeniu z diosminą (DS, 10 i 100 mg/kg) w porównaniu z gabapentyną (31,6 mg/kg). Analiza UHPLC-MS próbek mózgowych została wykorzystana do rozpoznania stężeń tych flawonoidów. Badano także udział różnych receptorów w obecności antagonistów haloperydolu, bikukuliny i naloksonu. Podanie hesperydyny znacząco zmniejszyło mechaniczną i termiczną przeczulicę bólową u szczurów CCI. Przeciwbólowa odpowiedź hesperydyny, zwiększona przez połączenie z diosminą (DS10/HS100) w obu bodźcach, była blokowana przez haloperidol,

bikukulinę i nalokson, ale nie przez antagonistów WAY100635. Oba flawonoidy wykryto w próbkach mózgu. Hesperydyna w połączeniu z diosminą wywołuje odpowiedź przeciwbólową w modelu CCI u szczurów. Działanie przeciwbólowe kombinacji DS10/HS100 obejmuje aktywność ośrodkową, częściowo modulowaną przez receptory D2 i opioidy, ale nie przez receptory 5-HT<sub>A1</sub> (50).

## Badania kliniczne

### Przewlekła niewydolność żylna – PNŻ

W badaniu ankietowym uczestniczyło 36 600 pacjentów z PNŻ (71,6% stanowiły kobiety), leczonych preparatami z diosminą. Zaawansowane stadium PNŻ prezentowało 21,7% pacjentów, a owrzodzenia (również zagojone) występowały u 9,7% badanych; 18,6% chorych stosowało terapię uciskową. Zakres stosowanych, dobowych dawek diosminy wynosił 400-3000 mg, przy czym 86,2% pacjentów przyjmowało 900-1000 mg dziennie, a średni czas stałego leczenia preparatami diosminy wynosił 4,7 +/- 5,3 miesiąca. Poprawę po stosowaniu diosminy uzyskano u 96,9% pacjentów (dolegliwości ustąpiły u 27,0% pacjentów, a u 69,9% znacznie się zmniejszyły). Wraz ze wzrostem zaawansowania PNŻ skuteczność leczenia malała. Działania niepożądane zgłosiło 2,18% chorych (51).

W innym, wieloośrodkowym, randomizowanym badaniu porównano standardową metodę leczenia owrzodzeń naczyń krwionośnych (terapia uciskowa i pielęgnacja skóry w miejscach przyległych) z podawaniem 900 mg diosminy i 100 mg hesperydyny. 47% pacjentów w grupie leczonej, w porównaniu z 28% w grupie stosującej terapię standardową, doświadczyło całkowitego wyleczenia wrzodów mniejszych niż 10 cm<sup>2</sup> (52).

W celu wykazania, że stosowana w standardowych dawkach leczniczych diosmina wpływa na przemiany noradrenaliny, przeprowadzono badanie na grupie 11 osób, które cierpiały na stwierdzoną klinicznie PNŻ. Grupa badana (6 pacjentów) otrzymywała 600 mg diosminy 2 razy dziennie przez 10 dni, 5 osób stanowiło grupę kontrolną. Obie grupy zostały poddane operacji chirurgicznego usunięcia żyłaków. W czasie do 30 min od operacji fragmenty żył powierzchniowych inkubowano przez godzinę z 0,2 μM/L 3H-noradrenaliny. Okazało się, że w grupie leczonej diosminą ilość metabolitów noradrenaliny, oznaczanych metodą chromatograficzną w badanych tkankach, była o około połowę mniejsza niż w grupie kontrolnej, co potwierdza, że diosmina znacząco zmniejsza metabolizm noradrenaliny przez tkanki żyłne (53).

Istnieją również dowody na hamowanie przez diosmetynę (aglikonowy metabolit diosminy) wychwyty zwrotnego amin, takich jak dopamina oraz serotonina. Do badań wykorzystano ludzkie komórki neuroblastomy oraz komórki drobnokomórkowego raka płuc. Okazało się, że diosmetyna hamowała wychwyt 3H-dopaminy w sposób zależny od dawki (IC<sub>50</sub> = 4 μM). Diosmina nie wpływała znacząco na wychwyt 3H-dopaminy, ponadto diosmetyna hamowała wychwyt 3H-serotoniny. Wyniki sugerują, że diosmetyna może działać jako antagonist transporterów wychwyty zwrotnego amin na poziomie molekularnym także w obwodowym unerwieniu współczulnym, a poprzez to odpowiadać za wzrost napięcia naczyniowego (54).

### Hemoroidy

Do tej pory zaproponowano kilka teorii dotyczących etiopatogenezy i fizjopatologii hemoroidów. Z fizjopatologicznego punktu widzenia szczególne znaczenie ma czynnik naczyniowy, na który z kolei wpływają czynniki mechaniczne i zwieraczowe, zaburzające żylny przepływ wsteczny. W przypadku wystąpienia przełomu hemoroidalnego, charakteryzującego się miejscowym obrzękiem, bólem i krwawieniem, flawonoidy są lekami pierwszego wyboru. W badaniach klinicznych diosmina była skuteczna w leczeniu zarówno ostrych, jak i przewlekłych stanów zapalnych hemoroidów.

W podwójnie zaślepionym badaniu uczestniczyło 120 pacjentów, podzielonych na 2 grupy, otrzymujących 2 razy dziennie przez 2 miesiące 500 mg tabletkę (90% diosminy i 10% hesperydyny) lub placebo. W trakcie przeprowadzania badania, objawy chorobowe utrzymywały się u znacznie mniejszego odsetka osób przyjmujących flawonoidy (40%), w porównaniu z grupą placebo (70%). Średni czas trwania objawów wynosił kolejno w grupie diosminy i placebo: 2,6 i 4,6 dnia, natomiast wskaźnik według skali uciążliwości objawów (1-3) – odpowiednio 1,1 i 1,6 (55).

U ciężarnych kobiet cierpiących na hemoroidy zbadano skuteczność, bezpieczeństwo i tolerancję zmikronizowanej frakcji flawonoidowej zawierającej 450 mg diosminy i 50 mg hesperydyny, podawanej 8 tyg. przed i 4 tyg. po porodzie. 66% kobiet odczuło ulgę w dolegliwościach związanych z hemoroidami już 4. dnia leczenia. Kuracja ta była dobrze tolerowana, nie wpływała na przebieg ciąży, nie wywoływała uszkodzeń płodu, nie wpływała na masę urodzeniową niemowląt, na ich rozwój i na karmienie piersią (56).

Skuteczność i tolerancję diosminy porównano też z powszechnie wykorzystywanym w leczeniu hemoroidów dobesylanem wapnia. 51 pacjentów ze



zdiagnozowaną chorobą hemoroidalną przyjmowało przez 4 tygodnie: pierwsza grupa (25 osób) 3 kapsułki po 500 mg dobesyłanu wapnia/dobę, natomiast druga (26 osób) 1000 mg diosminy 3 x/dobę.

Badanie pacjentów po 2, 8 dniach i po 4 tygodniach leczenia uwzględniało następujące objawy: ból, wydzielinę, krwawienie, obrzęk, zapalenie i świąd oraz pomiar ciśnienia krwi w żyłach. Znacząca poprawa w obu grupach nastąpiła w 6 z 7 wyżej wymienionych objawów już po 2 dniach leczenia, a wszystkie symptomy ustąpiły po 4 tygodniach. Po tym czasie leczenia, u 19 na 25 osób z pierwszej grupy oraz u 19 na 26 osób z drugiej grupy (diosmina) nie obserwowano już żadnych objawów chorobowych. Oba leki były dobrze tolerowane – dobesyłan wapnia 1,5 g/dobę i diosmina 3 g/dobę okazały się porównywalnie skuteczne w leczeniu hemoroidów (57).

66 pacjentom cierpiącym na pierwotne hemoroidy stopnia 1-4 podawano 2 razy dziennie diosminę w dawce 2 tabletki 450 mg przez pierwsze 7 dni, a następnie 1 tabletkę do 2 miesięcy. Obserwowano zmniejszenie bólu i krwawienia: wskaźniki redukcji w pierwszym tygodniu leczenia wynosiły odpowiednio 79 i 67%, a w drugim tygodniu 98 i 86% (58).

#### **Obrzęk limfatyczny**

Diosmina posiada także pozytywny wpływ na układ limfatyczny, zwiększając przepływ limfy i ciśnienie onkotyczne, co może być korzystne we wtórnym obrzęku limfatycznym, występującym u około 20% kobiet poddawanych terapii raka piersi (59, 60).

W badaniu pilotażowym uczestniczyło 10 kobiet w wieku 44-64 lat, które były wcześniej poddane leczeniu onkologicznemu. W wyniku leczenia preparatem Daflon 500, zawierającym zmikronizowaną frakcję flawonoidową, w dawce 500 mg/2 x dziennie przez 6 miesięcy u wszystkich pacjentek nastąpiło zmniejszenie objawów i objętości spuchniętej kończyny o 6,8%. Poprawie uległy również parametry funkcjonowania układu limfatycznego, mierzone za pomocą limfoscintygrafii (60).

Następne badanie przeprowadzono już na grupie 94 kobiet (46 pacjentek otrzymywało Daflon 500 mg/2 x/dobę, natomiast pozostałe 48 kobiet – placebo przez 6 miesięcy). W celu lepszej obserwacji efektów, spośród badanych wyłoniono 24 kobiety o szczególnie nasilonym obrzęku limfatycznym, z których 10 otrzymywało diosminę, a 14 – placebo. Wpływ leczenia diosminą oceniano co 2 miesiące za pomocą scyntygrafii. Parametry funkcjonowania układu limfatycznego (np. szybkość przepływu limfy) były znacznie lepsze w grupie otrzymującej diosminę w porównaniu z grupą placebo (59).

#### **Cukrzyca**

Badano wpływ preparatu Daflon 500 (Detralex) na poziom hemoglobiny glikowanej i antyoksydacyjne właściwości u chorych na cukrzycę typu 1. W podwójnie zaślepionym badaniu brało udział 28 osób, u których przed badaniem i po badaniu zmierzono zarówno poziom hemoglobiny glikowanej, jak i parametry stresu oksydacyjnego (stężenie glutationu, aktywność dysmutazy ponadtlenkowej, peroksydazy glutationowej). Pod wpływem przyjmowania diosminy, poziom hemoglobiny glikowanej (HbA1c), powstałej w reakcji hemoglobiny z glukozą na skutek długotrwałych i wysokich jej stężeń we krwi, uległ obniżeniu z 8,85 +/- 1,57 do 8,47 +/- 1,40%. Spadkowi poziomu hemoglobiny glikowanej towarzyszył wzrost aktywności peroksydazy glutationowej (119 +/- 68 do 145 +/- 42 U/l), co jest też dowodem na przeciwutleniające właściwości diosminy (61).

Wyniki badań, sugerują, że preparat Daflon 500 poprawia, a nawet jest w stanie znormalizować kapilarną filtrację albumin, będącą wynikiem wzrostu przepuszczalności kapilar, jednego z wczesnych zaburzeń mikrokrążenia u diabetyków w cukrzycy typu 1 (62).

Kolejne badanie przeprowadzone na 18 pacjentach z cukrzycą typu 1, otrzymujących 6 tabletek leku Daflon 500 mg/dzień przez 28 dni, potwierdziły jego wpływ na właściwości reologiczne krwi. Wykazano, że diosmina z powodu zdolności do obniżania lepkości krwi i zmniejszania agregacji erytrocytów może obniżyć opór naczyniowy, a poprzez to także zastój w naczyniach, co wtórnie może zapobiegać niedokrwieniu kończyny (63).

#### **Inne działanie**

Udowodniono pozytywne efekty działania preparatu Daflon 500 mg w zapaleniu skóry wywołanym zastojem żylnym (31), w leczeniu ran, szczególnie zainfekowanych przez *Staphylococcus aureus* (przyspieszenie gojenia zaobserwowano zarówno po stosowaniu doustnym, jak i miejscowo) (64).

Daflon 500 mg okazał się też skuteczny w łagodzeniu objawów towarzyszących napięciu przedmiesiączkowemu, co wykazano w badaniu, w którym uczestniczyły 1473 kobiety odczuwające tę dolegliwość szczególnie silnie. Po leczeniu, które polegało na codziennym zażywaniu 2 tabletek preparatu przez 3 cykle miesięczne, okazało się, że zespół napięcia przedmiesiączkowego ustąpił u 37,4% pacjentek, a czas trwania dolegliwości zmalał o prawie 3 dni. Stopniowo zmniejszały się częstotliwość i natężenie obrzęków (65).

Sprawdzano też skuteczność działania diosminy u 120 pacjentek przez okres jednego roku, którym dokuczła przedmiesiączkowa mastodynia. Tutaj również zaobserwowano znaczną poprawę tej dolegliwości (66).

Poddano ocenie wpływ diosminy i hesperydyny w zapobieganiu nefrotoksyczności amfoterycyny B w modelu doświadczalnym na szczurach. Podawanie amfoterycyny B spowodowało pogorszenie czynności nerek z uszkodzeniem kanalików nerkowych. Dodatkowe podanie diosminy i hesperydyny przy leczeniu amfoterycyną B ma ochronne działanie antyoksydacyjne na nerki, odzwierciedlone w zwiększeniu szybkości filtracji kłębuszkowej, zmniejszeniu dysfunkcji kanalików i zmniejszeniu uwalniania metabolitów oksydacyjnych w moczu, co można uznać za środki zapobiegające nefrotoksyczności (67).

### Interakcje

Udowodniono, że diosmina może wywoływać obniżenie agregacji RBC (ang. *red blood cells*), a tym samym jest ona w stanie zmniejszać lepkość krwi (68).

Jak dotąd, brak jest dowodów na wystąpienie jakichkolwiek działań niepożądanych między diosminą a innymi substancjami leczniczymi, jednakże powinno się zachować ostrożność przy łączeniu jej z aspiryną lub z innymi substancjami posiadającymi właściwości obniżania lepkości krwi (34).

Wyniki badań przeprowadzonych u zdrowych ochotników wskazują, że diosmina posiada też działanie hamujące enzymy cytochromu P-450, co może wpłynąć na farmakokinetykę niektórych, przyjmowanych jednocześnie leków. Po 9 dniach stosowania 500 mg diosminy raz dziennie u pacjentów, którzy zażyli metronidazol (2 x 400 mg), wykazano zmiany w jego stężeniu zarówno w moczu, jak i w osoczu w porównaniu z grupą kontrolną. AUC oraz  $C_{max}$  metronidazolu były wyższe o odpowiednio 27 i 24%. Wydalanie z moczem metabolitów kwasowych i hydroksylowych było znacznie obniżone, podczas gdy ilość niezmetabolizowanego metronidazolu – większa (69).

### Toksyczność i działania uboczne

$LD_{50}$  mieszaniny flawonoidów (90% diosminy + 10% hesperydyny) wynosi dla szczurów ponad 3 g/kg. Nie stwierdzono przy tym działania mutagennego ani wpływu na funkcje reprodukcyjne. Nie stanowi też istotnego zagrożenia podczas karmienia, gdyż słabo przechodzi do mleka matki. Nie zaobserwowano

żadnych efektów toksyczności przewlekłej po doustnym podawaniu diosminy codziennie przez 13 i 26 tyg. w ilości odpowiadającej 35-krotnej dziennej dawce rekomendowanej (70).

$LD_{50}$  jednorazowej dawki diosminy po doustnym podaniu myszom była większa niż 10 g/kg m.c., natomiast u szczurów wyższa niż 5 g/kg m.c. Prowadzone na myszach i na świnkach morskich badania toksyczności przewlekłej wykazały brak wpływu na parametry biologiczne, hematologiczne oraz na funkcjonowanie nerek dawek w zakresie 50-620 mg/kg m.c./dobę przez 6 miesięcy. Tutaj także nie wykazano działania teratogennego. Działania niepożądane opisano tylko w kilku przypadkach, a dotyczyły one głównie zaburzeń ze strony przewodu pokarmowego (nudności, wymioty) (27).

Diosmina nie posiada działania mutagennego i nie wywiera znaczącego wpływu na funkcje reprodukcyjne (70).

Nie badano wpływu leku na sprawność psychofizyczną (71).

### Dawkowanie

Standardowa dawka doustna diosminy to 300-600 mg/dzień w dawce podzielonej: rano i wieczorem, z posiłkiem. W stanach ostrych, doustna dawka uderzeniowa wynosi 1000 mg 3 razy dziennie przez 4 dni, następnie 1000 mg 2 razy dziennie przez 3 dni i podtrzymująco 500 mg 2 razy dziennie przez 2 miesiące (71).

Przyjmowanie diosminy w postaci zmikronizowanej producenci najczęściej zalecają z posiłkiem (tabletki do 500 mg), natomiast w formie niezmikronizowanej (od 600 mg) na czczo.

### Podsumowanie

Diosmina i hesperydyna są składnikami licznych preparatów najczęściej stosowanych w leczeniu i poprawie stanu naczyń żylnych. Szeroko prowadzone badania aktywności biologicznej tych flawonoidów pozwoliły na udowodnienie szeregu korzystnych właściwości, takich jak: działanie przeciwdrobnoustrojowe, przeciwzapalne, przeciwcukrzycowe, przeciwnowotworowe, przeciwbólowe i antyoksydacyjne. Przypuszcza się również, że hesperydyna przez wpływ na receptory ACE2 może blokować przedostawanie się koronawirusa do komórek gospodarza, a diosmina podawana jednocześnie z heparyną chroni przed żylną chorobą zakrzepowo-zatorową, co może zapobiegać progresji COVID-19.

## Piśmiennictwo

- Kocić I. Diosmina – skuteczność kliniczna i bezpieczeństwo stosowania. *Forum Med Rodz* 2014; 8(2):56-63.
- Monograph. Diosmin. *Altern Med Rev* 2004; 9:308-11.
- Gatusso G, Barrecca D, Gargiulli C i wsp. Flavonoid composition of citrus juices. *Molecules* 2007; 12:1641-73.
- Farmakopea Polska. Wyd. VIII, Tom II. Pol Tow Farm, Warszawa 2008: 1569-71.
- Janeczko Z. Polifenole roślinne w terapii schorzeń układu krążenia. *Panacea* 2004; 3(8):22-6.
- Garner RC, Garner JV, Gregory S i wsp. Comparison of the absorption of micronized (Daflon 500 mg) and nonmicronized 14 C-Diosmin tablets after oral administration to healthy volunteers by accelerator mass spectrometry and liquid scintillation counting. *J Pharm Sci* 2002; 91(1):32-40.
- Steinbruch M, Nunes C, Gama R i wsp. Is nonmicronized diosmin 600 mg as effective as micronized diosmin 900 mg plus hesperidin 100 mg on chronic venous disease symptoms? Results of a noninferiority study. *Intl J Vasc Med* 2020; 2020:4237204.
- Gorinstein S, Huang D, Leontowicz H i wsp. Determination of naringin and hesperidin in citrus fruit by HPLC. The antioxidant potential of citrus fruit. *Acta Chromatogr* 2006; 17:108-22.
- Vandercook CE, Tisserat B. Flavonoid changes in developing lemons grown *in vivo* and *in vitro*. *Phytochem* 1989; 28(3):799-803.
- El-Domiaty MM, Wink M, Abdel Aal MM i wsp. Antihepatotoxic activity and chemical constituents of *Buddleja asiatica* Lour. *Naturforsch C J Biosci* 2009; 64:9-11.
- El-Shafae AM, El-Domiaty MM. Improved LC methods for the determination of diosmin and/or hesperidin in plant extracts. *J Pharm Biomed Anal* 2001; 26:539-45.
- [http://www.anniesremedy.com/herb\\_detail203.php](http://www.anniesremedy.com/herb_detail203.php) (dostęp 16 sierpnia 2021 roku).
- Ożarowski A. Ziółolecznictwo – poradnik dla lekarzy. Wyd. III. PZWL, Warszawa 1982: 186-9, 231-2.
- Sroka Z, Fecka I, Cisowski W. Antiradical and anti-H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> properties of polyphenolic compounds from an aqueous peppermint extract. *Naturforsch C* 2005; 60:826-32.
- Andreeva OA, Ivashev M, Ozimina II i wsp. Diosmetin glycosides from caucasian vetch: isolation and study of biological activity. *Pharm Chem J* 1998; 32:11.
- Ivashev MN, Andreeva OA, Bandyukova VA i wsp. Isolation of diosmin from plants of the *Genus vicia* and *Hyssopus officinalis* and its influence on blood coagulation. *Pharm Chem J* 1995; 29(10):707-9.
- Wolski T, Baj T, Kwiatkowski S. Hyzop lekarski (*Hyssopus officinalis* L.). Zapomniana roślina lecznicza, przyprawowa oraz miódodajna. *Annales Univers Mariae Curie-Skłodowska, Lublin* 2006; LXI:1-10.
- Tanaka T, Makita H, Ohnishi M i wsp. Chemoprevention of 4-nitroquinoline 1-oxide-induced oral carcinogenesis in rats by flavonoids diosmin and hesperidin, each alone and in combination. *Cancer Res* 1997; 57(15):246-52.
- Mabberley DJ. *Mabberley's Plant-Book*. Cambridge Univ Press 2017; 247.
- Renna M. Reviewing the prospects of Sea Fennel (*Crithmum maritimum* L.). *Plants (Basel)* 2018; 7(4):92.
- Hitzenberger G. Therapeutic effectiveness of flavonoids illustrated by Daflon 500 mg. *Wien Med Wochenschr* 1997; 147(18):410-2.
- Németh K, Plumb GW, Berrin JG i wsp. Deglycosylation by small intestinal epithelial cell beta-glucosidases is a critical step in the absorption and metabolism of dietary flavonoid glycosides in humans. *Eur J Nutr* 2003; 42(1):29-42.
- Lyseng-Williamson KA, Perry CM. MPFF: A review of its use in CVI, venous ulcers and haemorrhoids. *Drugs* 2003; 63:71-100.
- Oustrin J, Fauran MJ, Commanay L. A pharmacokinetic study of 3H-diosmine. *Arzneimittelfors* 1977; 27(9):1688-91.
- Cova D, De Angelis L, Giavarini F i wsp. Pharmacokinetics and metabolism of oral diosmin in healthy volunteers. *Int J Clin Pharmacol Ther Toxicol* 1992; 30:29-33.
- Ulotka informacyjna preparatu Daflon 500 mg, firmy Servier, 2004.
- Charakterystyka produktu leczniczego Otrex 600.
- Labrid C. Pharmacologic properties of Daflon 500 mg. *Angiology* 1994; 45:524-30.
- Manthey JA. Biological properties of flavonoids pertaining to inflammation. *Microcircul* 2000; 7:29-34.
- Ramelet AA. Pharmacologic aspects of a phlebotropic drug in CVI associated edema. *Angiology* 2000; 51:19-23.
- Ramelet AA. Clinical benefits of Daflon 500 mg in the most severe stages of CVI. *Angiology* 2001; 52:49-56.
- Smith PD. Neutrophil activation and mediators of inflammation in CVI. *J Vasc Res* 1999; 36:24-36.
- Bergan J, Schmid-Schonbein GW, Takase S. Therapeutic approach to CVI and its complications: place of Daflon 500 mg. *Angiology* 2001; 52:43-7.
- Le Devehat CC, Khodabandehlou T, Vimeux M i wsp. Evaluation of haemorrhological and microcirculatory disturbances in CVI. *Int J Microcirc Clin Exp* 1997; 17:27-33.
- Chinnam N, Dadi PK, Sabri SA i wsp. Dietary bioflavonoids inhibit *Escherichia coli* ATP synthase in a differential manner. *Int J Biol Macromolec* 2010; 46(5):478-86.
- Bae EA, Han MJ, Lee M i wsp. *In vitro* inhibitory effect of some flavonoids on rotavirus infectivity. *Biol Pharm Bull* 2000; 23(9):1122-4.
- Haggag YA, El-Ashmawy NE, Okasha KM. Is hesperidin essential for prophylaxis and treatment of COVID-19 Infection? *Med Hypotheses* 2020; 144:109957.
- Freneix-Clerc M, Dumon MF, Carbonneau MA i wsp. *In vivo* study of the antilipoperoxidant effect of 3',5,7-trihydroxy-4'-methoxy flavone 7 rutinoside. *Annales de Biologie Clinique (Paris)* 1994; 52(3):171-7.
- Villa P, Cova D, Francesco L i wsp. Protective effect of diosmetin non *in vitro* cell membrane damage and oxidative stress in cultured rat hepatocytes. *Toxicol* 1992; 73(2):178-89.
- Jungsook C. Antioxidant and neuroprotective effects of hesperidin and its aglycone hesperetin. *Arch Pharm Res* 2006; 29(8):699-706.
- Zajac M, Pawelczyk E, Jelińska A. *Chemia leków*, Akademia Medyczna im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu 2006: 68.
- Bhattacharyya S, Pal S, Mohamed R i wsp. A nutraceutical composition containing diosmin and hesperidin has osteogenic and anti-resorptive effects and expands the anabolic window of teriparatide. *Biomed Pharmacother* 2019; 118:109207.
- Crespo ME, Galvez J, Cruz T i wsp. Anti-inflammatory activity of diosmin and hesperidin in rat colitis induced by TNBS. *Planta Med* 1999; 65(7):651-3.
- Park Sang-a, Bong Sim-Kyu, Lee Jin Woo i wsp. Diosmetin and its glycoside, diosmin, improve atopic dermatitis-like lesions in 2,4-dinitrochlorobenzene-induced murine models. *Biomol Ther* 2020; 28(6):542-8.
- Pari L, Srinivasan S. Antihyperglycemic effect of diosmin on hepatic key enzymes of carbohydrate metabolism in streptozotocin-nicotinamide-induced diabetic rats. *Biomed Pharmacother* 2010; 64:477-81.

46. Sánchez NA, Conesa CM, Ortega VV. Effects of IFN  $\alpha$  and diosmin on metastatic murine-lung melanoma. *Rev Esp Patol* 2008; 41(2):123-9.
47. Ciolino HP, Wang T, Chao YG. Diosmin and diosmetin are agonists of the aryl hydrocarbon receptor that differentially affect cytochrome p450 1a1 activity. *Cancer Res* 1998; 58:2754-60.
48. Savineau JP, Marthan R. Diosmin-induced increase in sensitivity to  $Ca^{2+}$  of the smooth muscle contractile apparatus in the rat isolated femoral vein. *Br J Pharmacol* 1994; 111:978-80.
49. Martinez AL, Gonzales-Trujano ME, Chavez M i wsp. Hesperidin produces antinociceptive response and synergistic interaction with ketorolac in an arthritic gout-type pain in rats. *Pharmacol Biochem Behav* 2011; 97:683-9.
50. Carballo-Villalobos AI, González-Trujano ME, Pellicer F i wsp. Antihyperalgesic effect of hesperidin improves with diosmin in experimental neuropathic pain. *Biomed Res Int* 2016; 2016:8263463.
51. Chudek J. Skuteczność i tolerancja diosminy w leczeniu chorych z przewlekłą niewydolnością żylną w codziennej praktyce klinicznej. *Problemy Med Rodz* 2008; 10(4):45-51.
52. Gliniski W, Chodyncka B, Roszkiewicz J i wsp. Effectiveness of a micronized purified flavonoid fraction (MPFF) in the healing process of lower limb ulcers. An open multicentre study, controlled and randomized. *Minerva Cardioangiol* 2001; 49(2):107-14.
53. Araujo D, Viana F, Osswald W. Diosmin therapy alters the *in vitro* metabolism of noradrenaline by the varicose human saphenous vein. *Pharmacol Res* 1991; 24(3):253-6.
54. Sher E, Codignola A, Biancardi E i wsp. Amine uptake inhibition by diosmin and diosmetin in human neuronal and neuroendocrine cell lines. *Pharmacol Res* 1992; 26(4):395-402.
55. Godeberge P. Daflon 500 mg in the treatment of hemorrhoidal disease: a demonstrated efficacy in comparison with placebo. *Angiology* 1994; 45:574-8.
56. Buckshee K, Takkar D, Aggarwal N. Micronized flavonoid therapy in internal hemorrhoids of pregnancy. *Int J Gynaecol Obstet* 1997; 57(2):145-51.
57. Sarabia M, Leon S, Vivas J i wsp. Calcium dobesilate versus PFF in the treatment of hemorrhoidal crises: a randomized, controlled study with an initial double-blind, double dummy period. *Curr Ther Res* 2001; 62(7):524-9.
58. Diana G, Catanzaro M, Ferrara A i wsp. Attività della diosmina pura nel trattamento della malattia emorroidaria. *Clin Ter* 2000; 151:341-4.
59. Pecking AP, Février B, Wargon C i wsp. Efficacy of Daflon 500 mg in the treatment of lymphedema (secondary to conventional therapy of breast cancer). *Angiology* 1997; 48(1):93-8.
60. Pecking AP. Evaluation by lymphoscintigraphy of the effect of a micronized flavonoid fraction (Daflon 500 mg) in the treatment of upper limb lymphedema. *Intern Angiol* 1995; 3(1):39-43.
61. Keenoy BM, Vertommen J, De Leeuw I. The effect of flavonoid treatment on the glycation and antioxidant status in type I diabetic patients. *Diabet Nutr Metabol* 1999; 12(4):256-63.
62. Valensi PE, Behar A, de Champvallins MM i wsp. Effects of a purified micronized flavonoid fraction on capillary filtration in diabetic patients. *Diabet Med* 1996; 13(10):882-8.
63. Lacombe C, Lelievre JC, Bucherer C i wsp. Activity of Daflon 500 mg on the hemorheological disorders in diabetes. *Int Angiol* 1989; 8(4):45-8.
64. Hasanoglu A, Ara C, Ozen S i wsp. Efficacy of micronized flavonoid fraction in healing of clean and infected wounds. *Int J Angiol* 2001; 10(1):41-4.
65. Serfaty D, Magneron AC. Premenstrual syndrome in France: epidemiology and therapeutic effectiveness of 1000 mg of micronized purified flavonoid fraction in 1473 gynecological patients. *Contracept Fertil Sex* 1997; 25(1):85-90.
66. Meggiorini ML, Casciagli GL, Luciani S i wsp. Randomized study of the use of synthetic diosmin in premenstrual and vascular dysplastic mastodynia. *Minerva Ginecol* 1990; 42(10):421-5.
67. Dos Santos SF, Fernandes MS, Martins MD i wsp. Prevention of amphotericin b nephrotoxicity through use of phytotherapeutic medication. *Rev Esc Enferm USP* 2015; 49:73-8.
68. Lacombe C, Bucherer C, Lelievre JC. Hemorheological improvement after Daflon 500 mg treatment in diabetes. *Int Angiol* 1988; 7(2):21-4.
69. Rajnarayana K, Reddy MS, Krishna DR. Diosmin pretreatment affects bioavailability of metronidazole. *Eur J Clin Pharmacol* 2003; 58(12):803-7.
70. Meyer OC. Safety and security of Daflon 500 mg in venous insufficiency and in hemorrhoidal disease. *Angiology* 1994; 45:579-84.
71. Podlewski JK, Chwalibogowska-Podlowska A. Leki współczesnej terapii. *Encyklopedia dla lekarzy i farmaceutów*. Wyd. XX. Tom I. Medical Tribune Polska, Warszawa 2010.

**Konflikt interesów****Conflict of interest**

Brak konfliktu interesów

None

otrzymano/received: 09.09.2021

zaakceptowano/accepted: 14.09.2021

Adres/address:

\*dr n. rol. Marcin Szymański

Centrum Zaawansowanych Technologii UAM

ul. Uniwersytetu Poznańskiego 10, 61-614 Poznań

e-mail: marcin.szymanski@amu.edu.pl