

# Komentáře k analýze složení směsi flavonoidů v tabletách Diozen 500 mg metodou UHPLC

František Kováčik, Anna Šantorová

## Přípravek Diozen podroben analýze SÚKL akreditovanou laboratoří – výsledky potvrdily složení z flavonoidní směsi diosminu, hesperidinu, linarinu, isorhoifolinu a diosmetinu

Flavonoidy jsou organické chemické sloučeniny rostlinného původu patřící mezi tzv. rostlinné sekundární metabolity.

Diosmin je flavonoid, který se nejčastěji vyskytuje v citrusových plodech. Byl poprvé izolován v r. 1925 ze *Scrophularia nodosa* a v klinické praxi je využíván od roku 1969.

Diosmin má antioxidační, protinádorový, hypoglykemický, venoaktivní, protizánětlivý, neuroprotektivní a protitokový účinek, který se využívá k léčbě různých nemocí, jako jsou třeba hemoroidy, křečové žíly, žilní nedostatečnost, bérkové vředy a další.

Diosmin je Evropským lékopisem definován jako směs flavonoidů, která obsahuje „stopu“ dalších flavonoidů. Účinná látka diosmin musí splňovat minimálně 91,5 % obsahu a ostatní flavonoidy, jako je například hesperidin, isorhoifolin, linarin, diosmetin a další, nesmějí překročit 8,5 % obsahu.

Diosmin je po podání rychle transformován střevní flórou na formu aglykonu, diosmetinu. Délka plazmatického poločasu je 26–43 hodin, kdežto hesperidin má biologický poločas významně kratší, přibližně 3 hodiny.

Přípravek Diozen 500 mg tbl., který je na trhu od r. 2019, je přírodního původu, vyrábí se extrakcí hesperidinu (a dalších flavonoidů) z citrusových plodů, samotný diosmin je získáván procesem dehydrogenace z hesperidinu.

Indikovaný je k léčbě příznaků a projevů chronické žilní insuficience dolních končetin (pocit těžkých nohou, bolest, svědění, edém, noční křeče, trofické změny, bérkový vřed) a k léčbě akutních atak hemoroidálního onemocnění.

U léčivého přípravku Diozen je v SPC uvedeno, že obsahuje mikronizovaný diosmin, což může zdánlivě působit jako monokomponentní látka, 100% mikronizovaný diosmin.

V posledních platných doporučených postupech pro léčbu žilní insuficience je uvedeno, že největší síla důkazů (1B) je pro mikronizovanou flavonoidní frakci, a naopak, že pouze čistý syntetický monokomponentní diosmin má důkazy slabé (2C).

Společnost Zentiva si koncem roku 2020 nechala vypracovat laboratorní analýzu přípravku Diozen 500 mg tbl. SÚKL certifikovanou laboratoří (Quinta Analytica).

Ke stanovení jednotlivých složek směsi flavonoidů byla použita metoda vysokoúčinné kapalinové chromatografie (UHPLC). Metoda byla použita pro analýzu dvou vzorků tablet Diozen 500 mg.

V jednotlivých vzorcích tablet léčivého přípravku Diozen 500 mg podrobených analýzou UHPLC bylo procentuální zastoupení diosminu v rozmezí 91,6–92,4 %, hesperidinu 1,6–1,88 %, isorhoifolinu 2,06–2,88 %, linarinu 1,93–1,95 % a diosmetinu 1,64–1,89 %.

Analýza vyvrací spekulace a jasně dokazuje, že přípravek Diozen není monokomponentní přípravek, jak by se mohlo na první pohled zdát, ale že se jedná o flavonoidní směs diosminu, hesperidinu, isorhoifolinu, linarinu a diosmetinu.

Složení přípravku Diozen, tak jak jej prokázala laboratorní analýza SÚKL akreditovanou laboratoří, odpovídá definici diosminu dle Evropského lékopisu a z tohoto důvodu nejsou flavonoidy hesperidin, isorhoifolin, linarin a diosmetin uvedeny v SPC přípravku, ačkoliv jsou přítomny. Flavonoidní směs v přípravku Diozen je mikronizována, z čehož logicky vyplývá jasný předpoklad pro jeho klinickou účinnost.

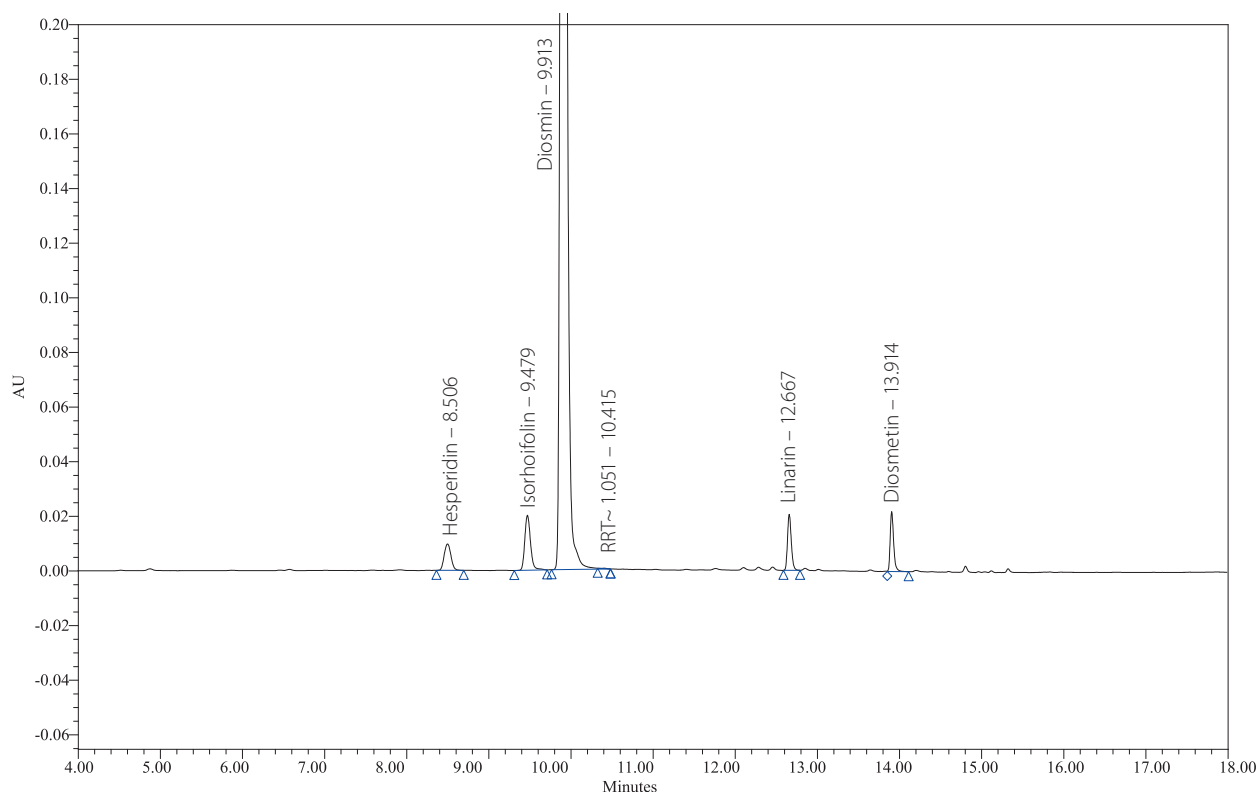
MUDr. František Kováčik

### Výsledky složení tablet Diozen 500 mg

Šarže č.	Quinta č.	Obsah (mg/tbl.)				
		Diosmin	Hesperidin	Isorhoifolin	Linarin	Diosmetin
75 27 29	R1985/20	458.44	8.02	14.44	9.68	9.43
75 20 29	R1986/20	462.38	9.39	10.30	9.75	8.18

Procentuální zastoupení jednotlivých komponent: diosmin 91,6–92,4 %, hesperidin 1,6–1,88 %, isorhoifolin 2,06–2,88 %, linarin 1,93–1,95 %, diosmetin 1,64–1,89 %

## Chromatografický záznam složení tablety Diozen 500 mg



## Pohled farmaceuta na výsledky laboratorních testů složení přípravku Diozen

Diosmin patří svým farmakologickým účinkem mezi venofarmaka neboli látky ovlivňující chronickou žilní insuficienci. Mezi jeho benefity patří zlepšení žilního tonu, antioxidační a protizánětlivé účinky. Svou chemickou strukturou je diosmin řazen do skupiny flavonoidů, látek přírodního původu vyskytujících se ve víně, ovoci, čaji, kávě či zelenině. Pokud jde konkrétně o diosmin, ten je syntetizován z extraktu získaného z oplodí (slupek) pomeranče. Prvním krokem k získání účinné látky je extrakce hesperidinu a dalších flavonoidů z pomerančů. Extrahovaný hesperidin dále podstupuje chemickou reakci, při níž jsou mu odebrány dva atomy vodíku a v molekule vzniká dvojná vazba, probíhá tedy dehydrogenace a výsledným produktem je diosmin. Vzhledem k tomu, že hesperidin není jediným flavonoidem obsaženým v pomerančové kůře, a navíc chemická reakce neprobíhá stoprocentně, obsahuje tímto způsobem získaný produkt kromě diosminu i další flavonoidy s podobným účinkem (1). Jedná se o takzvané povolené nečistoty, které jsou i se svými limity definovány v příslušném článku Evropského lékopisu. Patří sem hesperidin (4,0 %), isorhoifolin (3,0 %), linarin (3,0 %) a diosmetin (2,0 %). Abychom mohli výsledný produkt nazývat diosminem, celkové množství těchto nečistot nesmí přesáhnout obsah 8,5 %, obsah diosminu je tedy alespoň 91,5 % (2).

Co se týče klinického využití diosminu pro rutinní podávání pacientům v léčbě chronické žilní insuficience, problémem je jeho nedostatečná absorpce z trávicího traktu po perorálním podání. Jako optimální řešení se jeví následná technologická úprava diosminu mikronizací. Jedná se o rozdrobnění na menší částice, které se lépe rozpouštějí, a účinná látka je proto rychleji a ve větší míře absorbována skrze střevní stěnu. Že je proces mikronizace vysoce efektivní, ukazují i doporučené postupy pro léčbu chronické žilní insuficience. Zde je mikronizovaná purifikovaná flavonoidní frakce řazena na první místo mezi venofarmaky s největší silou důkazů 1B, na rozdíl od nemikronizovaného diosminu, kde je síla důkazů 2C, tedy nízká (3).

SmPC léčivého přípravku Diozen uvádí, že účinnou látkou tohoto přípravku je mikronizovaný diosmin (4), což dle definice Evropského lékopisu znamená, že je přípravek složen z flavonoidní směsi diosminu, hesperidinu, isorhoifolinu, linarinu, diosmetinu a případně dalších flavonoidů. Přípravek Diozen je přírodního původu a prochází purifikací (přečištěním) a mikronizací. Z uvedených faktů vyplývá, že přípravek obsahuje mikronizovanou purifikovanou flavonoidní směs se specifikovaným obsahem diosminu alespoň 91,5 % (zbylá procenta pak představují ostatní flavonoidy: hesperidin, isorhoifolin, linarin a diosmetin). Pro zjištění přesného obsahu jednotlivých flavonoidů v přípravku Diozen byla vypracována

analýza pomocí metody UHPLC (vysoce účinná kapalinová chromatografie), kterou provedla laboratoř certifikovaná SÚKL (Quinta Analytica s.r.o.) na dvou různých šaržích tohoto přípravku. Výsledkem analýzy bylo stanovení obsahu jednotlivých flavonoidů v těchto dvou šaržích (označených čísly 75 27 29 a 75 20 29), které bylo následující (název látky obsah šarže1/šarže2): diosmin 458,44/462,38 mg/tbl., hesperidin 8,02/9,39 mg/tbl., isorhoifolin 14,44/10,30 mg/tbl., linarin 9,68/9,75 mg/tbl. a diosmetin 9,43/8,18 mg/tbl. Uvedené výsledky jsou nezpochybnitelným potvrzením faktu, že léčivý přípravek Diozen neobsahuje pouze čistý diosmin, ale celou směs flavonoidů, jedná se tedy o mikronizovanou purifikovanou flavonoidní směs (5). Z farmakologického hlediska je zajímavé srovnání farmakokinetiky diosminu a hesperidinu. Zatímco biologický poločas diosminu je 26–43 hodin, u hesperidinu jsou to pouhé 3 hodiny (1). Vzhledem k tomu, že farmakodynamický účinek těchto dvou látek je téměř identický, vyšší obsah diosminu by mohl představovat výhodu v podobě pomalejší eliminace účinné látky, a tedy dlouhodobějšího účinku na cévní stěnu. Tyto závěry jsou však zatím pouze teoretické a dosud nebyly potvrzeny v praxi.

Jak bylo uvedeno výše, doporučené postupy pro léčbu chronické žilní insuficience řadí mikronizovanou purifikovanou flavonoidní frakci na první místo co se týče síly důkazů o účinku. Uvedená analýza léčivého přípravku Diozen dále vyvrací tvrzení, že by se v případě Diozenu jednalo o monokomponentní přípravek (obsahující pouze čistý diosmin) a potvrzuje, že přípravek dle všech kritérií splňuje definici doporučeného venotonika pro léčbu chronické žilní insuficience.

*PharmDr. Anna Šantorová*

## LITERATURA

1. Slíva J. Diosmin – stále důležitá modalita v léčbě žilní nedostatečnosti. *Vnitř Lék* 2019; 65(7–8): 525–527.
2. European Pharmacopoeia 8.3. s. 4297–4298.
3. Karetová D, Vojtíšková J, Sellner Švestková S, Vlachovský R. Chronické žilní onemocnění. Praha: Centrum doporučených postupů pro praktické lékaře, Společnost všeobecného lékařství [2016]. Doporučené postupy pro všeobecné praktické lékaře. ISBN 978-80-86998-80-0. s.10.
4. SÚKL, 2019. SmPC Diozen.
5. Quinta-Analytica s.r.o. Report number: ASR-R-ZEN-GEN-021A-20.01.