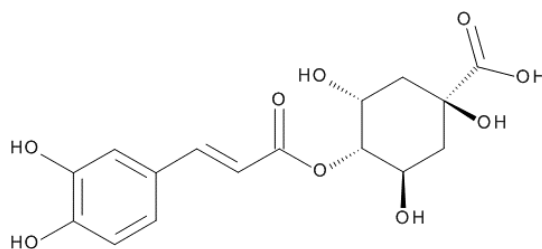


**Articsóka levél (*Cynarae folium*), kivonat (*Cynarae folii extractum siccum*) és étrend-kiegészítő termékeinek klorogénsavtartalom-meghatározása / *Determination of chlorogenic acid content of artichoke leaf (Cynarae folium), extract (Cynarae folii extractum siccum) and food supplements***

**1. BEVEZETŐ / INTRODUCTION**

Articsóka levél (*Cynarae folium*), kivonat (*Cynarae folii extractum siccum*) és étrend-kiegészítő termékeinek mennyiségi vizsgálata HPLC-PDA módszer alkalmazásával a minták klorogénsavtartalmának meghatározása céljából. / *Quantitative analysis of artichoke leaf (Cynarae folium), extract (Cynarae folii extractum siccum) and food supplements using HPLC-PDA method for the determination of chlorogenic acid content.*



Klorogénsav  
*Chlorogenic acid*

A mennyiségi meghatározást az Európai Gyógyszerkönyv (Ph. Eur. 11.5) adaptált módszere szerint végezzük. / *Quantitative measurement is carried out according to the adapted method of European Pharmacopoeia (Ph. Eur. 11.5).*

<b>ACCREDIT</b> LABORATÓRIUM Székhely: 6725 Szeged, Pálfy u. 52.3 Telephely: 6728 Szeged, Budapesti út 9. Tel.: +36305259395 e-mail: <a href="mailto:contact@accredit.hu">contact@accredit.hu</a> www.accredit.hu	<b>VIZSGÁLATI JELENTÉS</b> <b>TEST REPORT</b>  <b>TARTALMI MÉRÉS</b> <b>ASSAY</b>  <b>HPLC-PDA</b>	<b>Terméknév / Product name:</b> Articsóka levél, kivonat és étrend-kiegészítő / <i>Artichoke</i> <i>leaf, extract and food</i> <i>supplement</i>  <b>Azonosító / Document ID:</b> VJ-ART-HPLC-001/2024
--	--	--

## 2. VIZSGÁLT TERMÉKEK / TESTED PRODUCTS

<b>Megrendelő / Client</b>	Indikáció Kft.
<b>Rendelésszám / PO number</b>	24-24

<b>Terméknév / Product name</b>	<b>Azonosító / Lot number</b>	<b>Vizsgálat dátuma / Date of analysis</b>
Articsóka	1612001	2024.05.17.

<b>Dokumentum / Document</b>	<b>Azonosító / ID</b>
Adaptációs jelentés / <i>Adaptation report</i>	AD-ART-HPLC-01
HPLC módszer / <i>HPLC method</i>	Articsoka Ph. Eur. v01
Monográfia száma / <i>Monograph number</i>	04/2018:1866
HPLC szekvencia / <i>HPLC sequence</i>	Ismételhetoseg-2024.05.17.lcb

A mintaelőkészítéshez használt oldószerek, valamint a méréshez felhasznált eluensek és reagensek HPLC tisztaságúak. / *The solvents used for sample preparation and the eluents and reagents used for measurement are of HPLC grade.*

## 3. MINTAELŐKÉSZÍTÉS / SAMPLE PREPARATION

### 3.1. Vizsgálati minta / Test solution

#### Levéldrog és étrend-kiegészítő / Leaf drug and food supplement

10 db tablettá porítása és homogenizálása dörzsmozsárban, vagy 10 db kapszula tartalmának homogenizálása dörzsmozsárban, vagy 50 g por, granulátum vagy aprított növényi drog kimérése és homogenizálása dörzsmozsárban. Mérjük be 1 adagolási egységnek megfelelő, vagy 0,25 g port, granulátumot vagy aprított növényi drogot 100 ml-es Erlenmeyer lombikba, és 70 °C-os vízfürdőn extraháljuk 25 ml metanollal 1 órán át, a lombikot óraüveggel lefedve. Lehűlés után vattán keresztül szűrjük 100,0 ml-es mérőlombikba. A maradékot a vattával együtt visszahelyezzük az Erlenmeyer lombikba, és megismételjük a kivonást. A végén az

<p><b>ACCREDIT</b> LABORATÓRIUM</p> <p>Székhely: 6725 Szeged, Pálffy u. 52.3 Telephely: 6728 Szeged, Budapesti út 9. Tel.: +36305259395 e-mail: <a href="mailto:contact@accredit.hu">contact@accredit.hu</a> www.accredit.hu</p>	<p><b>VIZSGÁLATI JELENTÉS</b> <b>TEST REPORT</b></p> <p><b>TARTALMI MÉRÉS</b> <b>ASSAY</b></p> <p><b>HPLC-PDA</b></p>	<p><b>Terméknév / Product name:</b> Articsóka levél, kivonat és étrend-kiegészítő / <i>Artichoke leaf, extract and food supplement</i></p> <p><b>Azonosító / Document ID:</b> VJ-ART-HPLC-001/2024</p>
--	---	--

Erlenmeyer lombikot és a vattát 2x 5 ml metanollal átmoszuk. A szűrlethez adjunk 50 ml tisztított vizet, majd, óvatosan elegyítsük, metanollal hígítsuk 100,0 ml-re. Homogenizálás után centrifugáljuk 15 percig 4000 rpm-en. A tiszta felülúszót használjuk. Három párhuzamos mintát készítünk. / *Powder and homogenise 10 tablets in a mortar or homogenise the contents of 10 capsules in a mortar or weigh and homogenize 50 g of powder, granules or powdered plant drug. Measure powder equivalent to 1 dosage unit or 0.25 g powder, granules or powdered plant drug into a 100 mL conical flask and extract with 25 mL of methanol in a 70 °C water bath for 1 hour, covering the flask with a glass. After cooling, filter through small plug of absorbent cotton into a 100.0 mL volumetric flask. Add the absorbent cotton to the residue in the Erlenmeyer flask and repeat the extraction. Rinse the Erlenmeyer flask and the adsorbent cotton with 2x5 mL methanol. Add 50 mL of purified water to the filtrate and mix gently, then dilute to 100,0 mL with methanol. After homogenisation, centrifuge for 15 minutes at 4000 rpm. Use the clean supernatant. Three parallel samples are prepared.*

Articsóka levél száraz kivonat / Artichoke leaf dry extract

Oldjunk fel 30,0 mg vizsgálandó kivonatot az 30%-os metanolban, és hígítsuk fel 25,0 ml-re ugyanezzel az oldószerrel. / *Dissolve 30.0 mg of the extract to be examined in the solvent mixture and dilute to 25.0 mL with the solvent mixture.*

3.2. (a) referens oldat / *Reference solution (a)*

Oldjunk fel 1,3 mg klorogénsav CRS-t 2 ml metanolban, majd hígítsuk 5,0 ml-re ugyanezzel az oldószerrel. Mérjük ki az oldatból 0,500 ml-t 5,0 ml-es mérőlombikba, majd hígítsuk 5,0 ml-re 30 %-os metanollal. / *Dissolve 1.3 mg chlorogenic acid CRS in 2 mL methanol and dilute to 5.0 mL with the same solvent. Transfer 0.500 mL of the solution into a 5.0 mL volumetric flask and dilute to 5.0 mL with 30 % methanol.*

<p><b>ACCREDIT<sup>®</sup></b> <b>LABORATÓRIUM</b></p> <p>Székhely: 6725 Szeged, Pálfy u. 52.3 Telephely: 6728 Szeged, Budapesti út 9. Tel.: +36305259395 e-mail: <a href="mailto:contact@accredit.hu">contact@accredit.hu</a> <a href="http://www.accredit.hu">www.accredit.hu</a></p>	<p><b>VIZSGÁLATI JELENTÉS</b> <b>TEST REPORT</b></p> <p><b>TARTALMI MÉRÉS</b> <b>ASSAY</b></p> <p><b>HPLC-PDA</b></p>	<p><b>Terméknév / Product name:</b> Articsóka levél, kivonat és étrend-kiegészítő / <i>Artichoke</i> <i>leaf, extract and food</i> <i>supplement</i></p> <p><b>Azonosító / Document ID:</b> VJ-ART-HPLC-001/2024</p>
---	---	--

### 3.3. (b) referens oldat / *Reference solution (b)*

Oldjunk fel 6 mg articsóka levél száraz kivonat HRS-t 2 ml 30 %-os metanolban, majd hígítsuk 5,0 ml-re ugyanezzel az oldószerrel. / *Dissolve 6 mg of artichoke leaf dry extract HRS in 2 mL of 30 % methanol and dilute to 5.0 mL with the same solvent.*

## 4. MÓDSZER / *METHOD*

### 4.1. Eszközök, berendezések / *Tools, equipment*

Víz tisztító rendszer / *Water purification system:*

Előtisztító / *Precleaner:* BWT Ministil P-24

Tisztított víz / *Purified water:* Thermo Scientific Barnstead Pacific-TII 12

HPLC tisztaság / *HPLC grade:* GenPure Ultra Pure

Shimadzu HPLC rendszer / *Shimadzu HPLC system:*

Detektor / *Detector:* SPD-M40 PDA Detector

Rendszervezérlő / *System controller:* CBM-40

Oszlop termosztáló / *Column Oven:* CTO-40S

Pumpa / *Pump:* LC-40D Solvent Delivery Pump

Automata mintavevő / *Autosampler:* SIL-40C Autosampler

Gáztalanító egység / *Degassing unit:* DGU-405

Oszlop / *Column:*

ReproSil 100 C18 (250x4,6 mm, 5 µm)

Mozgó fázis / *Mobile phase:*

A: foszforsav R, HPLC tisztaságú tisztított víz (0,5:99,5 V/V) / *phosphoric acid R, water for chromatography (0.5:99.5 V/V)*

<p><b>ACCREDIT</b> LABORATÓRIUM</p> <p>Székhely: 6725 Szeged, Pálfy u. 52.3 Telephely: 6728 Szeged, Budapesti út 9. Tel.: +36305259395 e-mail: <a href="mailto:contact@accredit.hu">contact@accredit.hu</a> www.accredit.hu</p>	<p><b>VIZSGÁLATI JELENTÉS</b> <b>TEST REPORT</b></p> <p><b>TARTALMI MÉRÉS</b> <b>ASSAY</b></p> <p><b>HPLC-PDA</b></p>	<p><b>Terméknév / Product name:</b> Articsóka levél, kivonat és étrend-kiegészítő / <i>Artichoke</i> <i>leaf, extract and food</i> <i>supplement</i></p> <p><b>Azonosító / Document ID:</b> VJ-ART-HPLC-001/2024</p>
---	---	--

<p>B: foszforsav R, acetonitril (0,5:99,5 V/V)/ <i>phosphoric acid R, acetonitrile (0.5:99.5 V/V)</i></p>																										
<p>4.2. Módszerleírás / <i>Method description</i></p>																										
<p>Áramlási sebesség <i>Flow rate</i></p>	<p>1.2 ml/min</p>																									
<p>Detektálás <i>Detection</i></p>	<p>teljes UV-tartomány (190-400 nm), 330 nm hullámhosszon specifikálva / <i>the whole UV range (190-400 nm), specified at 330 nm</i></p>																									
<p>Oszlophőmérséklet <i>Column temperature</i></p>	<p>40 °C</p>																									
<p>Mintavevő hőmérséklete <i>Autosampler temperature</i></p>	<p>5 °C</p>																									
<p>Futásidő <i>Run time</i></p>	<p>43 perc/ 43 minutes</p>																									
<p>Injektált mennyiség <i>Injected volume</i></p>	<p>25 µl</p>																									
<p>Gradiens elúció <i>Gradient elution</i></p>	<table border="1"> <thead> <tr> <th data-bbox="683 1220 920 1321">Idő [perc] <i>Time [min]</i></th> <th data-bbox="920 1220 1155 1321">Mozgófázis A% <i>Mobile phase A%</i></th> <th data-bbox="1155 1220 1390 1321">Mozgófázis B% <i>Mobile phase B%</i></th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td data-bbox="683 1321 920 1377">0-1</td> <td data-bbox="920 1321 1155 1377">92</td> <td data-bbox="1155 1321 1390 1377">8</td> </tr> <tr> <td data-bbox="683 1377 920 1433">20</td> <td data-bbox="920 1377 1155 1433">75</td> <td data-bbox="1155 1377 1390 1433">25</td> </tr> <tr> <td data-bbox="683 1433 920 1489">33</td> <td data-bbox="920 1433 1155 1489">75</td> <td data-bbox="1155 1433 1390 1489">25</td> </tr> <tr> <td data-bbox="683 1489 920 1545">35</td> <td data-bbox="920 1489 1155 1545">0</td> <td data-bbox="1155 1489 1390 1545">100</td> </tr> <tr> <td data-bbox="683 1545 920 1601">37</td> <td data-bbox="920 1545 1155 1601">0</td> <td data-bbox="1155 1545 1390 1601">100</td> </tr> <tr> <td data-bbox="683 1601 920 1657">38</td> <td data-bbox="920 1601 1155 1657">92</td> <td data-bbox="1155 1601 1390 1657">8</td> </tr> <tr> <td data-bbox="683 1657 920 1713">43</td> <td data-bbox="920 1657 1155 1713">92</td> <td data-bbox="1155 1657 1390 1713">8</td> </tr> </tbody> </table>		Idő [perc] <i>Time [min]</i>	Mozgófázis A% <i>Mobile phase A%</i>	Mozgófázis B% <i>Mobile phase B%</i>	0-1	92	8	20	75	25	33	75	25	35	0	100	37	0	100	38	92	8	43	92	8
Idő [perc] <i>Time [min]</i>	Mozgófázis A% <i>Mobile phase A%</i>	Mozgófázis B% <i>Mobile phase B%</i>																								
0-1	92	8																								
20	75	25																								
33	75	25																								
35	0	100																								
37	0	100																								
38	92	8																								
43	92	8																								

<p><b>ACCREDIT<sup>®</sup></b> <b>LABORATÓRIUM</b></p> <p>Székhely: 6725 Szeged, Pálfy u. 52.3 Telephely: 6728 Szeged, Budapesti út 9. Tel.: +36305259395 e-mail: <a href="mailto:contact@accredit.hu">contact@accredit.hu</a> <a href="http://www.accredit.hu">www.accredit.hu</a></p>	<p><b>VIZSGÁLATI JELENTÉS</b> <b>TEST REPORT</b></p> <p><b>TARTALMI MÉRÉS</b> <b>ASSAY</b></p> <p><b>HPLC-PDA</b></p>	<p><b>Terméknév / Product name:</b> Articsóka levél, kivonat és étrend-kiegészítő / <i>Artichoke</i> <i>leaf, extract and food</i> <i>supplement</i></p> <p><b>Azonosító / Document ID:</b> VJ-ART-HPLC-001/2024</p>
---	---	--

## 5. VIZSGÁLAT / MEASUREMENT

### 5.1. Analit azonosítása a vizsgálati mintákban / Identification of analyte in test solutions

A minta kivonatában a klorogénsav azonosítása a standard oldat kromatogramjának összehasonításával történik a csúcsok retenciós ideje és az UV-spektrumok elemzése alapján. / *The identification of chlorogenic acid is carried out by comparison of the retention time and UV spectra of peak on the chromatogram of referent solution and test solution.*

### 5.2. Mennyiségi meghatározás / Quantitative measurement

A mérés során az injektálás az alábbi sorrendben történik / *The injections during measurement are carried out in the following sequence:*

1. Rendszeralkalmassági oldat (1x) / *System suitability solution (1x)*
2. Standard oldat (3x) / *Standard solution (3x)*
3. Vizsgálati minták (1x) / *Test solutions (1x)*

## 6. KIÉRTÉKELÉS / EVALUATION

A mérés akkor tekinthető érvényesnek, ha az alábbi rendszer alkalmassági vizsgálatnak megfelel. / *The measurement is considered valid, if the system suitability test passes as follow:*

- A vizsgálati mintával kapott kromatogram hasonló a HRS articsókalevél száraz kivonatával kapott kromatogramhoz. / *The chromatogram obtained with test sample is similar to the chromatogram supplied with the artichoke leaf dry extract HRS*
- Csúcs-völgy arány: legalább 2,5, ahol  $H_p$  = a kriptoklorogénsav okozta csúcs alapvonal feletti magassága és  $H_v$  = az ezt a csúcstól a klorogénsav okozta csúcstól elválasztó görbe legalacsonyabb pontjának alapvonal feletti magassága. / *Peak-to-valley ratio: minimum 2.5, where  $H_p$  = height above the baseline of the peak due to cryptochlorogenic acid and  $H_v$  = height above the baseline of the lowest point of the curve separating this peak from the peak due to chlorogenic acid.*

<p><b>ACCREDIT</b> LABORATÓRIUM</p> <p>Székhely: 6725 Szeged, Pálfy u. 52.3 Telephely: 6728 Szeged, Budapesti út 9. Tel.: +36305259395 e-mail: <a href="mailto:contact@accredit.hu">contact@accredit.hu</a> <a href="http://www.accredit.hu">www.accredit.hu</a></p>	<p><b>VIZSGÁLATI JELENTÉS</b> <b>TEST REPORT</b></p> <p><b>TARTALMI MÉRÉS</b> <b>ASSAY</b></p> <p><b>HPLC-PDA</b></p>	<p><b>Terméknév / Product name:</b> Articsóka levél, kivonat és étrend-kiegészítő / <i>Artichoke</i> <i>leaf, extract and food</i> <i>supplement</i></p> <p><b>Azonosító / Document ID:</b> VJ-ART-HPLC-001/2024</p>
--	---	--

**Klorogénsavtartalom számolás / Calculation of chlorogenic acid content:**

$$C (\%) = \frac{A_1 \times m_2 \times p \times D}{A_2 \times m_1}$$

$A_1$  = a klorogénsav csúcs területe a vizsgálati oldattal kapott kromatogramon / *area of the peak due to chlorogenic acid in the chromatogram obtained with the test solution*

$A_2$  = a klorogénsav csúcs területe a referens oldattal kapott kromatogramon (3 injektálás átlaga) / *area of the peak due to chlorogenic acid in the chromatogram obtained with the reference solution (mean of 3 injections)*

$m_1$  = a vizsgálandó minta tömege, grammal kifejezve / *mass of the test sample, in grams*

$m_2$  = a referencia oldat előállításához használt klorogénsav CRS tömege grammal / *mass of chlorogenic acid CRS used to prepare the reference solution, in grams*

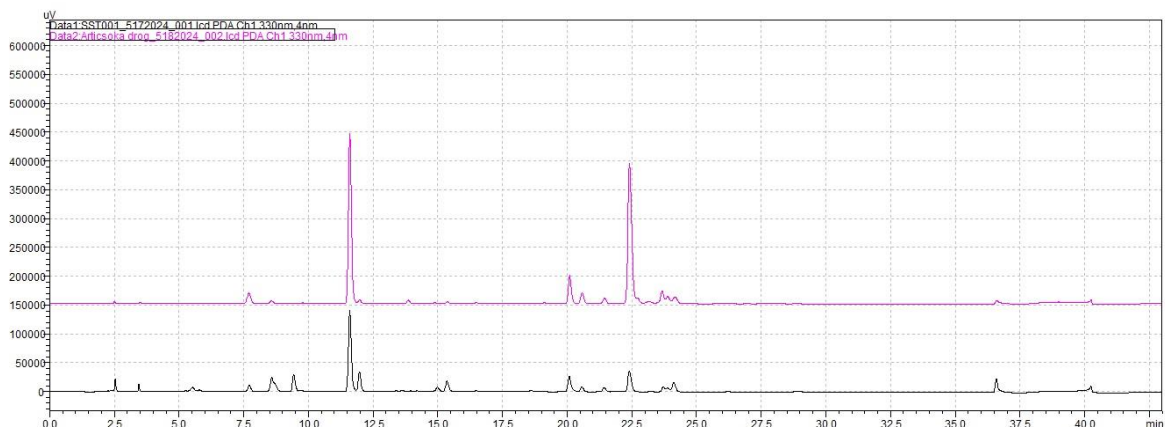
$p$  = a klorogénsav CRS klorogénsavtartalma / *percentage content of chlorogenic acid in chlorogenic acid CRS*

$D$  = a hígítási faktor a klorogénsav referens és a vizsgálati minta oldatainak térfogata között, drog és étrend kiegészítő:  $D=2$ , kivonat:  $D=0,5$  / *dilution factor between the volume of chlorogenic acid reference solution and test solution, drug and food supplement:  $D=2$ , extract:  $D=0.5$*

**7. KÖVETELMÉNY / REQUIREMENT**

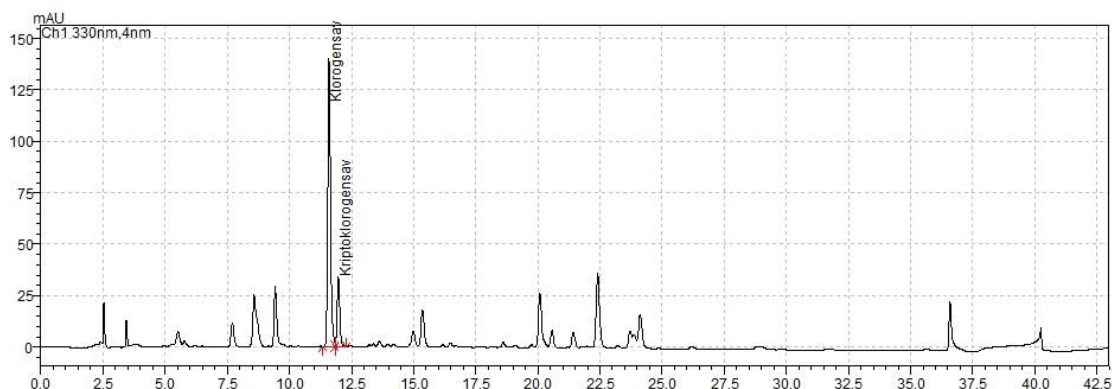
<b>Minta / Sample</b>	<b>Követelmény / Requirement</b>
Articsóka levél / <i>Artichoke leaf</i>	min. 0.7%
Articsóka levél száraz kivonat / <i>Artichoke leaf dry extract</i>	min. 0.6%



**8. EREDMÉNYEK / RESULTS****8.1. Rendszeralkalmassági vizsgálatok**

**1. ábra** A HRS kivonat oldat (fekete) és a minta (rózsaszín) oldat kromatogramjának összehasonlítása / **Figure 1** The comparison of chromatogram of HRS extract solution (black) and test solution (pink)

Az **1. ábra** alapján a vizsgálati mintával kapott kromatogram hasonló a HRS articsókalevél száraz kivonatával kapott kromatogramhoz. / Based on **Figure 1** the chromatogram obtained with test sample is similar to the chromatogram supplied with the artichoke leaf dry extract HRS.



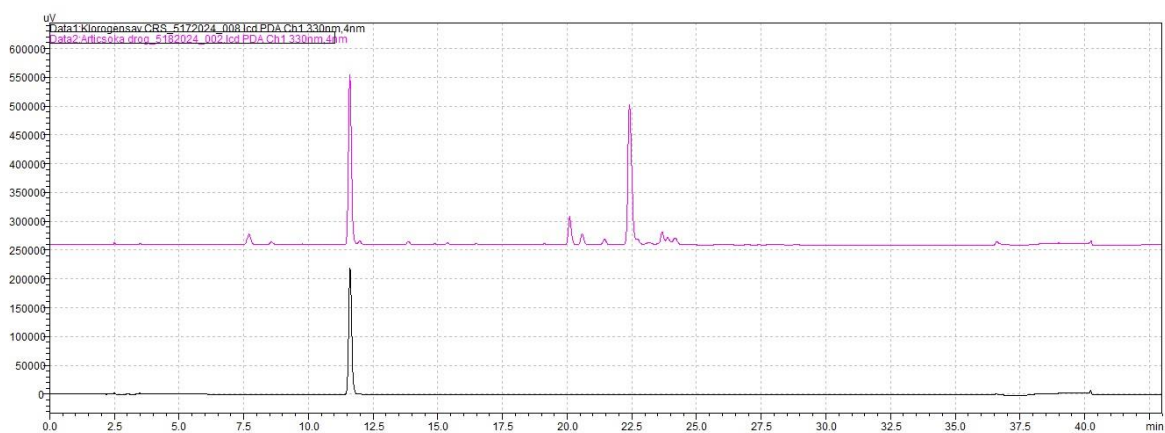
**2. ábra** A (b) referens oldat kromatogramja 330 nm hullámhosszon. Retenciósidők: klorogénsav: 11,595 perc; kriptoklorogénsav: 11,968 perc / **Figure 2** Chromatogram of reference solution (b) detected at 330 nm wavelength. Retention times: chlorogenic acid: 11.595 min; cryptochlorogenic acid: 11.968 min



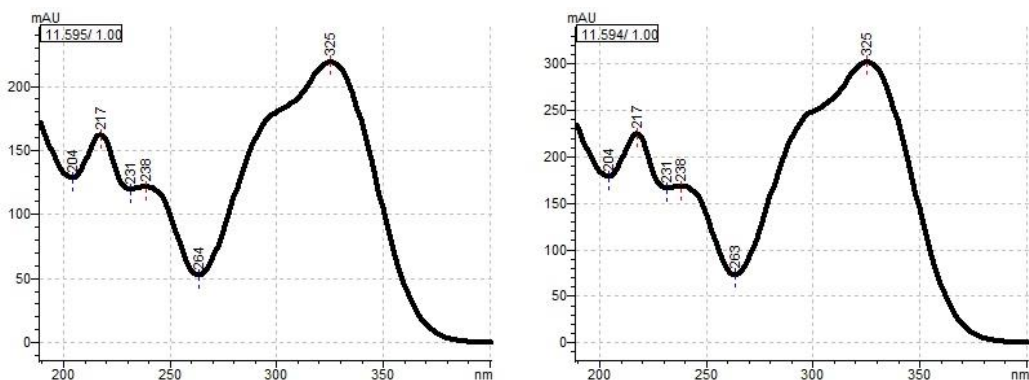
**Rendszeralkalmassági vizsgálat / System suitability test**

Hegy-völgy arány (kriptoklorogénsav): min. 2,5	15.7
Peak-to-valley ratio (cryptochlorogenic acid): min. 2.5	

**8.2. Azonosítás / Identification**



**3. ábra** A klorogénsav referens (fekete) és az articsóka (1612001) minta (rózsaszín) oldatainak HPLC kromatogramja (330 nm hullámhosszon detektálva). / **Figure 3** Chromatogram of solutions of chlorogenic acid referent (black) and artichoke (1612001) sample (pink) (detected at 330 nm).



**4. ábra** A klorogénsav UV spektruma: referens (bal), minta (jobb) / **Figure 4** The UV spectra of chlorogenic acid: referent (left), test sample (right)

<p><b>ACCREDIT</b> LABORATÓRIUM</p> <p>Székhely: 6725 Szeged, Pálffy u. 52.3 Telephely: 6728 Szeged, Budapesti út 9. Tel.: +36305259395 e-mail: <a href="mailto:contact@accredit.hu">contact@accredit.hu</a> www.accredit.hu</p>	<p>VIZSGÁLATI JELENTÉS <i>TEST REPORT</i></p> <p>TARTALMI MÉRÉS <i>ASSAY</i></p> <p>HPLC-PDA</p>	<p><b>Terméknév / Product name:</b> Articsóka levél, kivonat és étrend-kiegészítő / <i>Artichoke leaf, extract and food supplement</i></p> <p><b>Azonosító / Document ID:</b> VJ-ART-HPLC-001/2024</p>
--	--	--

### 8.3. Mennyiségi meghatározás / *Quantitative measurement*

Gyártási szám <i>Product ID</i>	Bemérés <i>Weighing</i> (g)	Csúcsterület <i>Peak area</i> (mAU)	Tartalom <i>Assay</i> (%)	Átlagtartalom <i>Mean assay</i> (%)	Szórás <i>SD</i>	RSD%
1612001	0.252	2317293	1.34	1.4	0.02	1.1
	0.251	2315155	1.34			
	0.250	2353536	1.37			
	0.251	2349375	1.36			
	0.250	2342625	1.36			
	0.250	2366806	1.38			

Az articsóka (1612001) minta klorogénsavtartalma megfelel az Európai Gyógyszerkönyv (Ph. Eur. 11.5) követelményének (min 0,7%). / *The chlorogenic acid content of artichoke (1612001) sample meets the requirement of European Pharmaceutical (Ph. Eur. 11.5) (min. 0.7%).*

Szeged, 2024. 05. 28.

.....  


**Dr. Csupor-Löffler Boglárka Ph.D**

Ügyvezető / *Executive Director*

Tel.: +36305259395  
e-mail: [contact@accredit.hu](mailto:contact@accredit.hu)

.....  


**dr. Vollár Martin**

Gyógyszeranalitikus / *Pharmaceutical analyst*