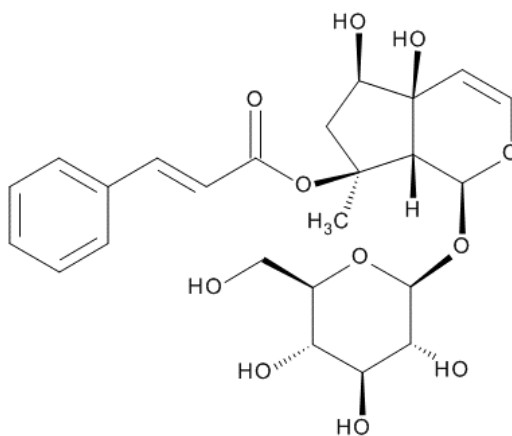


**Ördögcsáklya gyökérdrog (*Harpagophyti radix*) és étrend-
kiegészítő termékek harpagozidtartalmának meghatározása /**
Determination of harpagoside content of devil's claw root
(Harpagophyti radix) and food supplements

1. BEVEZETŐ / INTRODUCTION

Ördögcsáklya gyökérdrog (*Harpagophyti radix*) és étrend-kiegészítők mennyiségi vizsgálata HPLC-PDA módszer alkalmazásával a minták harpagozidtartalmának meghatározása céljából.
/ Quantitative analysis of devil's claw root (Harpagophyti radix) and food supplement products using HPLC-PDA method for the determination of harpagoside content.



Harpagozid

Harpagoside

A mennyiségi meghatározás validált módszer szerint történik. / *Quantitative measurement is carried out according to validated method.*

ACCREDIT LABORATÓRIUM Székhely: 6725 Szeged, Pálfy u. 52.3 Telephely: 6728 Szeged, Budapesti út 9. Tel.: +36305259395 e-mail: contact@accredit.hu www.accredit.hu	VIZSGÁLATI JELENTÉS TEST REPORT TARTALMI MÉRÉS ASSAY HPLC-PDA	Terméknév / Product name: Ördögcsáklya gyökérdrog és étrend-kiegészítők Azonosító / Document ID: VJ-HAR-HPLC-003/2024
---	--	---

2. VIZSGÁLT TERMÉKEK / TESTED PRODUCTS

Megrendelő / Client	Indikáció Kft.
Rendelésszám / PO number	24-34

Terméknév / Product name	Azonosító / Lot number	Vizsgálat dátuma / Date of analysis
Ördögkarom gyökér	1605801	2024.04.24.

3. DOKUMENTÁCIÓ / DOCUMENTATION

Dokumentum / Document	Azonosító / ID
Validálási jelentés / Validation report	VA-HAR-HPLC-01
Vizsgálati protokoll / Test protocol	VP-HAR-HPLC v03
HPLC módszer / HPLC method	Ordogcsaklya gradiens v01.lcm
HPLC szekvencia / HPLC sequence	A190-2024.04.24.lcb

A mintaalkészítéshez 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.

<p>ACCREDIT LABORATÓRIUM</p> <p>Székhely: 6725 Szeged, Pálffy u. 52.3 Telephely: 6728 Szeged, Budapesti út 9. Tel.: +36305259395 e-mail: contact@accredit.hu www.accredit.hu</p>	<p>VIZSGÁLATI JELENTÉS TEST REPORT</p> <p>TARTALMI MÉRÉS ASSAY</p> <p>HPLC-PDA</p>	<p>Terméknév / Product name: Ördögcsáklya gyökérdrog és étrend-kiegészítők</p> <p>Azonosító / Document ID: VJ-HAR-HPLC-003/2024</p>
---	---	---

4. MÓDSZER / METHOD

4.1. Eszközök, berendezések / Tools, equipment

HPLC rendszer / HPLC system:

SPD-M40 PDA Detector
CBM-40 system controller
CTO-40S Column Oven
LC-40D Solvent Delivery Pump
SIL-40C Autosampler
DGU-405 Degassing unit

Oszlop /Column:

Kinetex XB-C18 (100x4,6 mm, 2,6 µm)

Mozgófázis / Mobile phase:

B: Acetonitril / Acetonitrile
D: Tisztított víz (HPLC minőség) / Purified water (HPLC grade)

5. Vizsgálat / Measurement

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

A minta kivonatában a harpagozid azonosítása a standard oldat kromatogramjának összehasonításával történik a csúcsok retenciós ideje és az UV-spektrumok elemzése alapján. / The identification of harpagoside 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 mennyiségi meghatározás az analit csúcsaihoz tartozó terület alapján számítható. / The quantification can be calculated from the area due to the peaks of the analyte.

<p>ACCREDIT LABORATÓRIUM</p> <p>Székhely: 6725 Szeged, Pálfy u. 52.3 Telephely: 6728 Szeged, Budapesti út 9. Tel.: +36305259395 e-mail: contact@accredit.hu www.accredit.hu</p>	<p>VIZSGÁLATI JELENTÉS TEST REPORT</p> <p>TARTALMI MÉRÉS ASSAY</p> <p>HPLC-PDA</p>	<p>Terméknév / Product name: Ördögcsáklya gyökérdrog és étrend-kiegészítők</p> <p>Azonosító / Document ID: VJ-HAR-HPLC-003/2024</p>
--	---	---

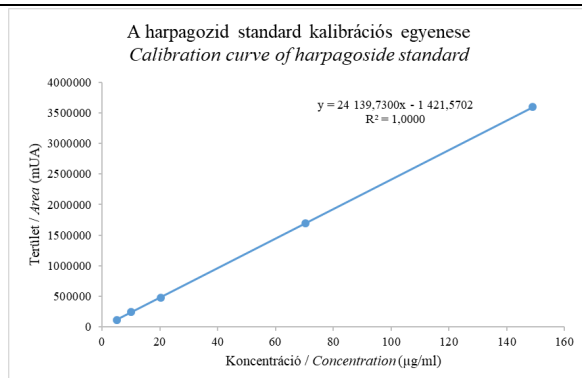
6. KIÉRTÉKELÉS / EVALUATION

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:*

- Std. oldat csúcsterület relatív szórása (RSD 1-5) $\leq 2,0\%$ / *Relative standard deviation peak area of Std. (RSD 1-5) is $\leq 2.0\%$*
- Std. oldat csúcsterület relatív szórása (RSD 1-6) $\leq 2,0\%$ / *Relative standard deviation od peak area of Std. (RSD 1-6) is $\leq 2.0\%$*
- Std. oldat retenciós idejének relatív szórása (RSD 1-5) $\leq 2,0\%$ / *Rel. standard deviation of peak retention time of Std. (RSD 1-5) is $\leq 2.0\%$*
- Std. oldat retenciós idejének relatív szórása (RSD 1-6) $\leq 2,0\%$ / *Rel. standard deviation of peak retention time of Std. (RSD 1-6) is $\leq 2.0\%$*
- A standardok visszanyerése 95-105% / *Recovery of standards is between 95-105%*
- Std. Tailing faktora $\leq 2,0$ / *Tailing factor of Std. is ≤ 2.0*

Harpagozidtartalom számolás / *Calculation of harpagoside content:*

Kalibrációs egyenesek felhasználásával a LabSolutions program a minta kromatogramjain az harpagozidhoz tartozó csúcsokat integrálva kiszámolja a vizsgálati oldat harpagozidtartalmát $\mu\text{g/ml}$ koncentrációban, amiből a lenti képletek alapján számítható a minta harpagozidtartalma (C_{har}) mg/g , g/100 g és/vagy $\text{mg/kapszula/tabletta}$ mennyiségben. / *Using the calibration curves, the LabSolutions software integrates the peak areas of harpagoside on the chromatograms and calculates the harpagoside content of test solution in $\mu\text{g/mL}$, from which the harpagoside content (C_{hap}) of the sample can be calculated and expressed as mg/g , g/100 g and/or mg/capsule/tablet according to the formulas below.*



1. ábra A harpagozid standard kalibrációs egyenese / **Figure 1** Calibration curve of harpagoside standard

Kimutatási határ <i>Limit of detection (LoD)</i>	0,75 µg/ml
Meghatározási határ <i>Limit of quantation (LoQ)</i>	2,28 µg/ml
Kalibrációs egyenes egyenlete <i>Equation of calibration curve</i>	$y = 24139,73x - 1421,57$
Egyenes illeszkedése <i>Regression (R²)</i>	1,0000

Harpagozidtartalom (C_{har}) / Harpagoside content (C_{har}):

$$C_{har} \left(\frac{mg}{dosage\ unit} \right) = c_{spl} \times V_{spl} \times \frac{m_{dos}}{m_{spl}}$$

$$C_{har} (\%) = \frac{C_{har}}{m_{dos}} \times 100$$

doage unit = adagolási egység: tableta, kapszula, por, g vagy 100 g / dosage unit: tablet, capsule, powder, g or 100 g

C_{spl} = a vizsgálati oldatban a harpagozid koncentrációja (mg/ml) / concentration of harpagoside in test solution (mg/mL)

V_{spl} = a vizsgálati oldat térfogata (ml) / volume of test solution (mL)

m_{spl} = bemért minta (mg) / sample weighing (mg)

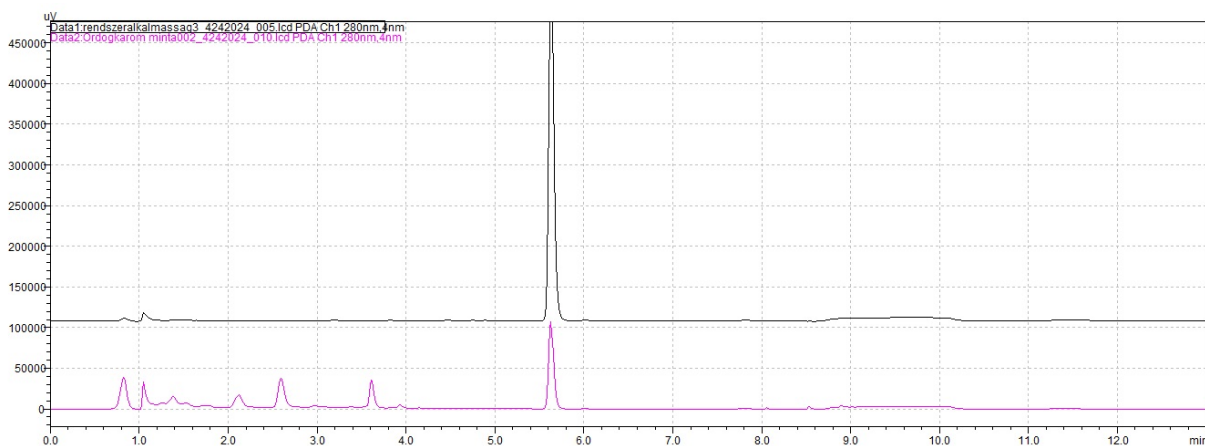
m_{dos} = 1 adagolási egység (kapszula/tabletta/por) tömege (mg) vagy 1 g vagy 100 g minta mg-ban kifejezve / weight of 1 dosage unit (capsule/tablet/powder) (mg) or 1 g or 100 g sample expressed as mg

7. EREDMÉNYEK / RESULTS

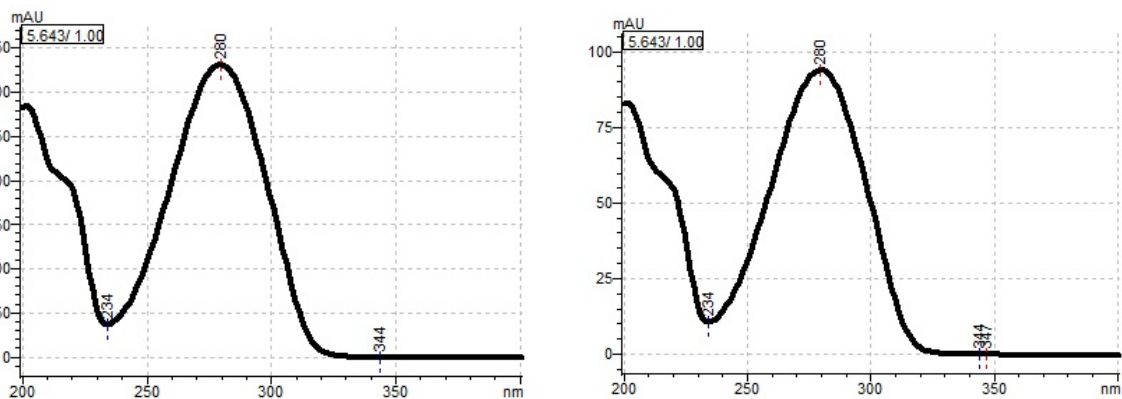
7.1. Rendszeralkalmassági vizsgálatok

Rendszeralkalmassági vizsgálat / System suitability test		
Standard	Harpagozid Harpagoside	
Tartalom / Content [C (%)]	96	
Standard oldat elméleti koncentrációja Theoretical concentration of std. solution (µg/ml)	67.9680	
Standard oldat mért koncentrációja Measured concentration of std. solution (µg/ml)	67.1691	
Injektálás Injection	Std. retenció ideje Retention time of Std. (perc / minutes)	Std. csúcsterület Peak area of Std. (mAU)
1	5.621	1620097
2	5.621	1619620
3	5.632	1618984
4	5.621	1620166
5	5.621	1620334
6	5.621	1620935
Átlag / Mean (1-5)	5.623	1619840
Szórás / SD (1-5)	0.005	547
RSD%	0.1	0.03
Átlag / Mean (1-6)	5.623	1620023
Szórás / SD (1-6)	0.004	663
RSD%	0.1	0.04

Rendszeralkalmassági vizsgálat / System suitability test	
Standard oldat csúcsterület relatív szórása (RSD 1-5) $\leq 2,0\%$ Relative standard deviation of peak area of Std. sol. (RSD 1-5) is $\leq 2.0\%$	0.03
Standard oldat csúcsterület relatív szórása (RSD 1-6) $\leq 2,0\%$ Relative standard deviation of peak area of Std. Sol. (RSD 1-6) is $\leq 2.0\%$	0.04
Standard oldat retenció idejének relatív szórása (RSD 1-5) $\leq 2,0\%$ Rel. standard deviation of peak retention time of Std. (RSD 1-5) is $\leq 2.0\%$	0.1
Standard oldat retenció idejének relatív szórása (RSD 1-6) $\leq 2,0\%$ Rel. standard deviation of peak retention time of Std. (RSD 1-6) is $\leq 2.0\%$	0.1
Standard visszanyerése 95-105% Recovery of standard 95-105%	99
Standard oldat tailing faktora (T) $\leq 2,0$ Tailing factor of Standard solution (T) is ≤ 2.0	1.3

7.2. Azonosítás / Identification

2. ábra A harpagozid standard (fekete) és a minta (1605801) (rózsaszín) oldatainak HPLC kromatogramja (280 nm hullámhosszon detektálva). / **Figure 2** Chromatogram of solutions of harpagoside standard (black) and sample (1605801) (pink) (detected at 280 nm).



3. ábra A harpagozid standard UV spektruma (bal) és az minta (1605801) (jobb) oldatainak kromatogramján azonosított csúcsok UV spektruma. / **Figure 3** The UV spectra of harpagoside standard (left) and the UV spectra of peaks identified on the chromatogram of sample (1605801) (right).

<p>ACCREDIT LABORATÓRIUM</p> <p>Székhely: 6725 Szeged, Pálfy u. 52.3 Telephely: 6728 Szeged, Budapesti út 9. Tel.: +36305259395 e-mail: contact@accredit.hu www.accredit.hu</p>	<p>VIZSGÁLATI JELENTÉS TEST REPORT</p> <p>TARTALMI MÉRÉS ASSAY</p> <p>HPLC-PDA</p>	<p>Terméknév / Product name: Ördögcsáklya gyökérdrog és étrend-kiegészítők</p> <p>Azonosító / Document ID: VJ-HAR-HPLC-003/2024</p>
--	---	---

7.3. Mennyiségi meghatározás / *Quantitative measurement*

Gyártási szám Product ID	Bemérés Weighing (g)	Koncentráció Concentration (µg/ml)	Tartalom Assay (mg/g)	Tartalom Assay (%)	Átlagtartalom Mean assay (mg/g)	Átlagtartalom Mean assay (%)	Szórás SD	RSD%
1605801	0.251	16.50	3.29	0.33	3.31	0.33	0.00	0.9
	0.249	16.65	3.34	0.33				
	0.250	16.51	3.30	0.33				

Szeged, 2024. 04. 25.

.....


Dr. Csupor-Löffler Boglárka Ph.D

Ügyvezető / *Executive Director*

Tel.: +36305259395
e-mail: contact@accredit.hu

.....


dr. Vollár Martin

Gyógyszeranalitikus / *Pharmaceutical analyst*