A romániai piacon található kasvirág tartalmú étrend-kiegészítők feltérképezése és a leggyakrabban használt termékek minőségi értékelése

Ferencz Elek¹, Demeter Eszter², Király Rebeka², Vancea Szende¹, Urkon Melinda², Laczkó-Zöld Eszter³

¹Marosvásárhelyi „George Emil Palade” Orvosi, Gyógyszerészeti, Tudomány- és Technológiai Egyetem, Fizikai Kémia Tanszék

²Marosvásárhelyi „George Emil Palade” Orvosi, Gyógyszerészeti, Tudomány- és Technológiai Egyetem, Gyógyszerésztudományi Kar

³Marosvásárhelyi „George Emil Palade” Orvosi, Gyógyszerészeti, Tudomány- és Technológiai Egyetem, Farmakognózia és Fitoterápia Tanszék

AUTHOR AFFILIATION

¹„George Emil Palade” University of Medicine, Pharmacy, Sciences and Technology of Tîrgu Mureş, Department of Physical Chemistry

²„George Emil Palade” University of Medicine, Pharmacy, Sciences and Technology of Tîrgu Mureş, Faculty of Pharmacy

³„George Emil Palade” University of Medicine, Pharmacy, Sciences and Technology of Tîrgu Mureş, Department of Pharmacognosy and Phytotherapy

CORRESPONDING AUTHOR

Elek Ferencz

Postal address (international):
„George Emil Palade” University of Medicine, Pharmacy, Sciences and Technology of Tîrgu Mureş, Department of Physical Chemistry
Gheorghe Marinescu street, no. 38
540142, Tîrgu Mureş, România
Email: elek.ferencz@umfst.ro

Mapping of Echinacea-based food supplements on the Romania market and qualitative evaluation of the most commonly used products

ABSTRACT

The aim of the study was to explore dietary supplements containing Echinacea on the Romanian market and their qualitative characterization. The products available on the market were aggregated in 2018, through an electronic search based on the register of the Romanian Medicine Agency (Agenția Națională a Medicamentului și a Dispozitivelor Medicale din România – ANMDMR) and the list of dietary supplements registered by the Ministry of Agriculture and Rural Development (Institutul Național de Cercetare-Dezvoltare pentru Bioresurse Alimentare – IBA București, Serviciul național pentru plante medicinale, aromatice și produse ale stupului). There are no Echinacea containing medicines registered in Romania. However, there are 58 dietary supplements in the register, 52% of which are monocomponents, 29% contain other herbs, plant extract or vitamins, while 19% are registered as tea. The label of 80% of monocomponent products and 76% of multicomponent supplements contains insufficient information: the plant name, its used part and processing methods (grist, extract, quantity) are not clearly identified. Among the listed dietary supplements, the 12 most commonly used formulations in pharmaceutical practice were subjected to phytochemical chromatographic evaluation: TLC and/or HPLC analysis were used. Three of seven monocomponent products showed proper chromatographic fingerprint, by TLC analysis. One monocomponent sample did not have an adequate chromatographic fingerprint. The labelling of multicomponent products was not appropriate. The TLC test suggests that based on the resulting fingerprint they contain *E. purpureae* herba. However, due to the presence of other components, the TLC does not allow a clear conclusion regarding the exact composition of the products. The developed HPLC method enables quantification of the concentration of caffeic acid, chicoric acid, echinacoside, chlorogenic and caftaric acids mixture in dietary supplements. None of the tested products contained echinacoside, which is a specific component of *E. angustifolia* and *E. pallida* root. In our method, the quantification of caftaric acid is approximate, because it partially overlaps the chlorogenic acid, which is a common component of plant samples, but negligible in *Echinacea* sp. The tested dietary supplements have a caffeic acid content of 20-140 µg/g, a chicoric acid content of

DOI: 10.2478/orvtudert-2020-0008

0.19-2.64 mg/g; the mixture of chlorogenic and caftaric acid is about 0.23-2.07 mg/g.

Keywords: Echinacea, purple coneflower, dietary-supplement, chromatography, HPLC

KIVONAT

Vizsgálatunk célja a romániai piacon fellelhető Echinacea tartalmú készítmények feltérképezése és azok minőségi értékelése.

A forgalomban levő készítményeket 2018-ban összesítettük, elektronikus keresés révén. A Román Gyógyszerügynökség (Agenția Națională a Medicamentului și a Dispozitivelor Medicale din România – ANMDMR) honlapján fellelhető nyilvántartás és a Mezőgazdasági és Vidékfejlesztési Minisztériumnál (Institutul Național de Cercetare-Dezvoltare pentru Bioresurse Alimentare – IBA București, Serviciul național pentru plante medicinale, aromatice și produse ale stupului) bejegyzett étrendkiegészítők listája alapján. Romániában nincs forgalomban egyetlen gyógyszerként bejegyzett Echinacea tartalmú készítmény sem. Ellenben 58 étrend-kiegészítő készítmény szerepel a nyilvántartásban, amelynek 52%-a monokomponensű, 29%-a tartalmaz még más növényt vagy növényi kivonatot, illetve vitaminokat és 19%-a pedig tea készítményként van bejegyezve. Az egykomponensű készítmények 80%-ánál, a többkomponensű étrend-kiegészítők 76%-ánál a címke hiányos információkat tartalmaz: nincs egyértelműen feltüntetve az anyanövény, a felhasznált növényi rész és annak feldolgozottsági módja (őrlemény, kivonat, mennyiség). A számba vett étrend-kie-

gészítők közül a gyógyszerári gyakorlatban leggyakrabban használt 12 készítményt kromatográfiás fitokémiai értékelésnek vettettük alá: VRK és/vagy HPLC vizsgálatot végeztünk. A VRK vizsgálat során a hét mintából, három monokomponensű termékénél az elvárásoknak megfelelő kromatográfiás lenyomatot kaptunk. Egy monokomponensű termékénél nem volt megfelelő a kromatográfiás lenyomat. A többkomponensű termékeknél nem volt megfelelő a címkézés. A VRK vizsgálat nyomán valószínűsíthető, hogy *E. purpurea* herba-t tartalmaznak, ugyanis a lenyomat erre hasonlít a legjobban. A termékekben fellelhető egyéb összetevők miatt azonban, amint az várható volt, a VRK vizsgálat nyomán nem lehet egyértelmű következtetést levonni a termékek összetételére vonatkozóan.

A kidolgozott HPLC módszer lehetővé teszi az étrend-kiegészítőkben található kávésav, cikóriasav, klorogénsav-kaftársav elegy és echinakozid mennyiségi meghatározását. Az általunk bevizsgált termékek egyike sem tartalmazott echinakozidot, amely az *E. angustifolia* és *E. pallida* gyökérdrogjára jellemző komponens. Módszerünkben a kaftársav mennyiségi meghatározása hozzávetőleges, ugyanis részben átfedést mutat a klorogénsavval, amely sok növényi mintában megtalálható komponens, a kasvirág fajokra azonban elhanyagolható, kis mennyiség jellemző. Az bevizsgált étrend-kiegészítők kávésav tartalma 20 – 140 µg/g, cikóriasav tartalma 0.19 – 2.64 mg/g között található, valamint klorogénsav-kaftársav tartalma 0,23-2,07 mg/g között változik.

Kulcsszavak: Echinacea, kasvirág, étrend-kiegészítő, kromatográfia, HPLC

Bevezető

A Magyar Gyógyszerésztudományi Társaság (MGYT) Gyógynövény Szakosztálya 2020-ban az év gyógynövényének a bíbor kasvirágot (*Echinacea purpurea*) választotta (<http://www.evgyogynovenye.hu/kezdemenyezes>). Azáltal, hogy a Szakosztály évente kiválaszt egy-egy gyógynövényt, amelyre felhívja a közvélemény figyelmét, azt szeretné elérni, hogy a gyógynövény hatásáról és szakszerű alkalmazásáról hiteles információ jusson el a szélesebb publikumhoz [1]. A kasvirág tartalmú készítmények a legkeresettebb étrend-kiegészítők közé tartoznak Európában és az USA-ban egyaránt [2,3]. A HerbalGram utolsó összesítése szerint, az USA-ban az *Echinacea* tartalmú készítmények a második legjobban eladott termékek, összesen több mint 110 millió \$ értékben 2018-ban, ez 15% fölötti növekedést jelent az előző évhez viszonyítva [4].

Az európai (7.0. kiadás) illetve magyar (VIII. kiadás) gyógyszerkönyvekben három kasvirág fajtól, összesen

négy monográfia hivatalos: a bíbor kasvirág virágos hajtása és gyökere (*E. purpureae herba*, *E. purpureae radix*), a keskenylevelű kasvirág gyökere (*E. angustifoliae radix*) valamint a halvány kasvirág gyökere (*E. pallidae radix*) [5,6].

A felsorolt drogok kémiai összetétele eltérő, a hatásért felelős metabolitok több csoportba sorolhatók: alkilamidok, fenilpropanoid származékok, poliszacharidok és illó komponensek [7,8]. A fenilpropanoid származékok - echinakozid, cikóriasav, kaftársav és cinarin - jellemzően hidrofíl oldószerekkel vonhatók ki, és a drogok poláros oldószerekkel (víz-etanol elegy) készített kivonatában ezek tekinthetők a hatásért felelős vegyületeknek [8,9]. Ezek közül az echinakozid nagyobb mennyiségben található az *E. angustifolia* és *E. pallida* gyökereiben [7], míg az *E. purpurea* gyökerére a cinarin jellemző nagyobb mennyiségben [9]. Alkilamidok egész sorát izolálták és azonosították az *E. angustifolia* és *E. purpurea* fajok gyökereiben és herbájában, az *E. pallida* fajokból ezek gyakorlatilag hiányoznak [7,10,11]. Az *E. purpurea* herbájának friss présleve heterogén poliszacharidokat, inulin-típusú frakciókat és elágazó láncú savas arabino-galaktán poli-

szacharidokat tartalmaz [12,13]. A drogokban található különböző kémiai szerkezetű hatóanyagok, illetve azok kombinációja, eltérő hatásmechanizmusok révén, végső soron azonos hatáshoz és indikációhoz vezetnek [3,7] yFormattedCitation”:”[3,7]. Számos klinikai vizsgálatot végeztek a kasvirág drogokkal. A bizonyítékok egyaránt alátámasztják mind a hatékonyságát, mind a hatás hiányát, a készítmények típusától és vizsgálatok felépítésétől függetlenül [3,14,15,16]. A legszélesebb körű alkalmazását, az akut felső légúti fertőzések kezelését, a rendelkezésre álló szakirodalom számos publikációval alátámasztja [16,17]. Ennek ellenére a szisztematikus áttekintő közlemények következtetése szerint az *Echinacea* termékekről nem igazolták egyértelműen, hogy előnyöket nyújtanak a megfázás kezelésére [18,19] és megállapítják, hogy az egyes profilaktikus vizsgálatok eredményei következetesen pozitív (ha nem szignifikáns) tendenciákat mutatnak, bár a lehetséges hatások megkérdőjelezhető klinikai jelentőséggel bírnak [19].

Az Európai Gyógyszerügynökség (EMA) Növényi gyógyszerekkel foglalkozó bizottsága (HMPC) 2007-ben dolgozta ki a „Bíbor kasvirág virágos hajtás” monográfia első változatát, a végső EU monográfia elfogadása 2015-ben történt meg [20]. Időközben a többi drog monográfia kidolgozására is sor került [21,22,23], ezek hivatalosak az Európai Gyógyszerkönyvben (7.0. kiadás) is [5]. Mindenik drognál a hagyományos felhasználást részletezi a monográfia [21,22,23], illetve a készítmények „Hagyományos növényi gyógyszer”-ként egyszerűsített forgalomba hozatali eljárással kerülhetnek piacra az EU területén [24,25]. Az *E. purpurea* virágos hajtása kivételt képez [20], ugyanis a friss présle a 2001/83/EC direktíva értelmében „Orvosi rendelvény nélkül kiadható, irodalmi adatokon alapuló növényi gyógyszer” kategóriába (*well-established use*) sorolandó, és ennek megfelelően hozható forgalomba [20,24,25].

2019-ben publikált az EMA/HMPC egy kiegészítést az *Echinacea angustifolia* korábbi értékelési jelentéséhez [23], amelyben végül is azt a következtetést vonják le, hogy a rendelkezésre álló adatok alapján egyelőre az eredeti monográfia felülvizsgálata nem indokolt [26].

A kasvirág készítmények terápiás hatékonyságát megkérdőjelező irodalmi adatok ellenére sem hagyható figyelmen kívül az a tény, hogy világszerte forgalomban van *Echinacea* kivonatot tartalmazó gyógyszerek (az EU területén hagyományos növényi gyógyszerek) és étrend-kiegészítő termékek egész sora. Míg az előbbieket komoly ellenőrzésnek vetik alá az egyes országok gyógy-

szerügynökségei, az utóbbiak esetén számos minősítési probléma merült fel az elmúlt évek során [27,28]. Az étrend-kiegészítők minősége, ellenőrzése globális szinten nagy kihívást jelent, számos figyelmeztető, problémáról beszámoló publikáció látott napvilágot [27,29]. Az Európai Gyógyszerkönyvi (7.0. kiadás) minősítés tekintetében a négy monográfia hasonló vizsgálati módszereket ír elő: VRK vizsgálat és HPLC mérés. VRK módszert használva az *E. pallidae radix* és *E. purpureae radix* esetén áizsaldehydes előhívást, míg az *E. angustifoliae radix* és *E. purpureae herba* esetén 2-aminoetil-difenil-borinát előhívószert alkalmazunk [5,6]. Egyéb *Echinacea* fajok és *Parthenium integrifolium* szennyeződések kimutatására szintén VRK vizsgálatot alkalmazunk [5,6]. Tartalmi meghatározásra RP-HPLC-UV módszert ír elő a Ph. Eur.7.0, 330 nm-en való detektálással. Összehasonlító vegyületként mindenik drognál klorogénsavat és kávéssavat használ, és a klorogénsavra vonatkoztatott relatív retenciós időkkel azonosítja be a csúcsoakat [5,6].

Mivel a gyógyszerkönyvi módszereket a növényi drogok vizsgálatára dolgozták ki, nem minden esetben alkalmasak az étrend-kiegészítő készítmények értékelésére, különösen, ha azok több növényi drogot vagy kivonatot tartalmaznak. Ebből az igényből kiindulva több publikáció foglalkozik olyan analitikai módszerek kidolgozásával, amelyek nagyszámú, az *Echinacea* faj/fajok mellett több növényi nyersanyagot tartalmazó minta vizsgálatára is alkalmasak [27,28,29,30,31].

Vizsgálatunk célja a romániai piacon fellelhető *Echinace* tartalmú készítmények minőségi értékelése a címkén feltüntetett információk, VRK lenyomatuk, valamint HPLC vizsgálat alapján. Megpróbáltunk olyan HPLC módszert kidolgozni, amely alkalmas a klorogénsav és a kávéssav mellett az echinakozid és a cikóriasav mennyiségi meghatározására is. A kiválasztott étrend-kiegészítők között kapszula, tablettá és oldat is található.

Anyag és módszer

Reagensok és műszerek

A kivonatok előállításánál és a VRK vizsgálatoknál használt etanolt, metanolt analitikai tisztaságú vízmentes hangyasavat, etil-metil-ketont, ciklohexánt valamint etil-acetátot a Merck (Darmstadt, Germany) cégtől szereztük be. A folyadékkromatográfiás eljáráshoz szükséges analitikai tisztaságú foszforsavat illetve HPLC tisztaságú acetonitrilt a Sigma-Aldrich (St. Louis, Missouri, USA)

gyártótól rendeltük. A Carl Roth GmbH (Karlsruhe, Germany) által forgalmazott megfelelő tisztaságú VRK (kávéssav, klorogénsav, β -szitoszterol, aszkorbinsav) és HPLC standardokat (kávéssav, klorogénsav) használtunk a vizsgálatok során, illetve az echinakozid és cikóriasav HPLC referencia anyagokat Dr. Varga Erzsébet ajándékozta munkacsoportunknak, amelyért köszönetünket fejezzük ki. A HPLC vizsgálatoknál használt ultraszűrt vizet Direct Q10 (Millipore, Bedford, USA) típusú berendezés segítségével állítottuk elő. A vizsgált növényi kivonatok, étrend-kiegészítő minták, törzsoldatok és összehasonlító oldatok előkészítése során Mettler-Toledo ABS-54-S vortexet, Falc-Instruments Mix-20 analitikai mérleget és Biohit Proline márkájú félautomata pipettákat használtunk.

Echinacea tartalmú készítmények feltérképezése a romániai piacon

A piacon fellelhető készítményeket 2018-ban összesítettük, elektronikus keresés révén. A Román Gyógyszerügynökség (Agenția Națională a Medicamentului și a Dispozitivelor Medicale din România – ANMDMR) honlapján fellelhető nyilvántartás [32] és a Mezőgazdasági és Vidékfejlesztési Minisztériumnál (Institutul Național de Cercetare-Dezvoltare pentru Bioresurse Alimentare – IBA București; Serviciul național pentru plante medicinale, aromatice și produse ale stupului) bejegyzett étrend-kiegészítők listája [33] alapján.

Növényi minták, étrend-kiegészítők

Botanikai standardként az Egyetemi gyógynövénykertben ("George Emil Palade" Orvosi, Gyógyszerészeti, Tudomány és Technológia Egyetem, Marosvásárhely, Románia) termesztett kasvirág fajokat használtuk (1. táblázat).

A piacon fellelhető étrend-kiegészítők közül kiválasztottuk, a gyakorló gyógyszerészek elmondása szerint, a leggyakrabban vásárolt 12 terméket, amelyeket VRK és HPLC vizsgálatnak vetettünk alá. Az étrend-kiegészítő

mintákat három nyíltkörzetű gyógyszertárból szereztük be, Marosvásárhelyen. A minták számozását és a címkén feltüntetett összetételt a 2. táblázatban foglaltuk össze.

Vékonyréteg kromatográfiás vizsgálat (VRK)

A vékonyréteg kromatográfiás vizsgálatot a Ph. Hg. VIII. [6] és a Ph. Eur. 7.0. [5] *Echinaceae purpureae herba*, *E. angustifoliae radix*, *E. pallidae radix* és *E. purpureae radix* monográfiákban ajánlott módszer szerint végeztük.

Minták előkészítése

Az étrend-kiegészítő készítmény formájának függvényében az előkészületek eltérőek voltak: a kapszulák tartalmát (10 darab) kiürítettük, homogenizáltuk; a tablettákat (10 darab) mozsárban elporítottuk. 1 gramm mintát 10 mL metanollal kivonatoltunk, 5 percig ultrahangos vízfürdőben. A vizsgálatához a szűrletet használtuk.

A 8-as mintát, amely egy alkoholos oldat, 50% metanollal hígítottuk 1:10 arányban.

Összehasonlító oldatok

1 mg klorogénsavat, 1 mg kávéssavat, 1 mg β -szitoszterint és 1 mg aszkorbin savat egyenként 10 ml metanolban oldottunk fel. Propolisz oldatot 1:10 arányban hígítottunk metanollal.

Növényi összehasonlító oldatok készítése: 1 gramm elporított (V. szita) növényi drogot 20 mL metanollal kivonatoltunk, 5 percig ultrahangos vízfürdőben. A vizsgálatához a szűrletet használtuk.

Lemez: 0,2 mm szilikagél lemez (TLC Alugram® Sil G/UV254, Macherey – Nagel, 10 x 20 cm).

Kifejlesztőszerek

1. Vízmentes hangyasav – ciklohexán – etil-acetát – toluol (0,9:3:6:24 arányban) [5,6]
2. Vízmentes hangyasav – víz – etil-metil-ke-ton – etil-acetát (3:3:9:15 arányban) [5,6]

A mintákat 20 μ l mennyiségben, sávok formájában vittük fel, a kifejlesztés 7 cm-es fronttávolságig történt. Száradás után az alábbi oldatok valamelyikével előhívtuk.

1. táblázat. Felhasznált botanikai standardok

Növény tudományos neve	Voucher specimen	Felhasznált drog	A dolgozatban használt rövidítés
Echinacea angustifolia DC.	GPM/2018/95	Herba	AH
		Radix	AR
Echinacea purpurea Moench.	GPM/2018/96	Herba	PH
		Radix	PR

2. táblázat. A vizsgált étrend-kiegészítő készítmények

Minta sorszáma	Gyógyszerforma / egység névleges tömege	A címkén feltüntetett összetétel (egységre vonatkoztatva)	Elvégzett vizsgálat	
			VRK	HPLC
1	Kapszula 600 mg	Polifenolra standardizált <i>Echinacea purpurea</i> száraz kivonat 50 mg, Antociánra standardizált <i>Sambucus nigra</i> termés száraz kivonata 50 mg, Flavonoidokra standardizált propolisz kivonat 30 mg, C vitamin 40 mg, cink 4 mg, D3 vitamin 2,5 mg	-	x
2	Kapszula 600 mg	<i>Echinacea purpurea</i> száraz kivonat 50mg, <i>Sambucus nigra</i> termés száraz kivonat 50mg, Propolisz száraz kivonat 30 mg, C vitamin 40 mg, cink 4 mg, D ₃ vitamin 2,5 µg	-	x
3	Tabletta 600 mg	<i>Echinacea purpurea</i> kivonat 15 mg, <i>Sambucus nigra</i> termés kivonata 50mg, propolisz tinktúra 60 mg, C vitamin 90 mg	-	x
4	Kapszula 620 mg	<i>Echinacea Purpurea</i> virágos hajtás örlemény 300 mg, <i>Echinacea purpurea</i> virágos hajtás kivonata 200 mg	x	x
5	Rágótabletta 600 mg	<i>Echinacea</i> sp. - standardizált kivonat 20 mg, C vitamin 132 mg, cink glukonát 2,25 mg	-	x
6	Kapszula 500 mg	<i>Echinacea purpurea</i> - standardizált kivonat 200 mg	-	x
7	Rágótabletta 600 mg	<i>Echinaceae herba</i> tinktura 68 mg, <i>Echinaceae herba</i> kivonat 34 mg, C vitamin 38,25 mg, propolisz tinktúra 17 mg, citrom illóolaj	x	x
8	Oldat	<i>Echinacea purpurea</i> virágos hajtás 1:3,75 arányú alkoholos kivonata (etanol/víz – 35/65 tömegarányban)	x	x
9	Tabletta 500 mg	<i>Echinacea purpurea herba</i> - 500 mg (4% polifenolra standardizált kivonat)	x	-
10	Kapszula 500 mg	<i>Echinacea angustifolia</i> gyökér – 230 mg, <i>Echinacea purpurea</i> gyökér – 230 mg	x	-
11	Rágótabletta 600 mg	<i>Echinacea</i> kivonat (<i>Echinacea purpurea</i>) polifenolra standardizálva – 10 mg, C vitamin - 90 mg, propolisz tinktúra - 60 mg	x	-
12	Tabletta 800 mg	<i>Echinacea angustifolia</i> gyökér örlemény– 100 mg, macskakarom örlemény – 400 mg, macskakarom kéreg kivonat 4:1 arányban – 100 mg	X	-

Megjegyzés: x = a vizsgálat elvégzését jelenti

Előhívás:

- A. Neu reagens (NP/PEG reagent): 2-aminoetil-difenil-borinát metanollal készült, 10 g/l töménységű oldatával, majd makrogol 400 metanollal készült, 50 g/l töménységű oldatával bepermeteztük. A lemezeket meleg levegőáramban megszárítottuk, majd 30 perc múlva UV 365 nm fényben értékeltük [5,6].
- B. Ánizsaldehid-oldattal egyenletesen bepermeteztük, 3 percig 105 °C-on melegítettük, majd nappali fényben értékeltük [5,6].

HPLC vizsgálat

A folyadékkromatográfiás tartalmi meghatározást kiindulópontja a Ph. Hg. VIII. [6] és a Ph. Eur. 7.0 [5] *Echinaceae purpureae herba* monográfiájánál megadott módszer volt, ezt módosítottuk az alábbiakban részletezett körülményekre.

Vizsgálati minták

Vizsgálati oldatok előkészítése a Ph. Hg. VIII. *Echinaceae purpureae herba monográfia* szerint történt, apróbb módosításokkal. Az étrend-kiegészítő készítmények esetén: a kapszulák tartalmát (10 darab) kiürítettük, homogenizáltuk; a tablettákat (10 darab) mozsárban elporítottuk. 50 ml-es mérőlombikba mért 1 gram mintához (étrend-kiegészítő vagy porított drog) 40 ml 70%-os etanolt adtunk, és ultrahangos vízfürdőben 15 percig tartottuk. 10 perc pihentetés után 70%-os etanollal 50 ml-re kiegészítettük és jól összeráztuk. A szilárd részek leülepedése után, injektálás előtt a folyadék 2 ml-ét megfelelő membránszűrőn (25 mm, 0,2 µm) átszűrtük.

A 8-as mintát 1:10 arányban hígítottuk etanollal (70%), injektálás előtt megfelelő membránszűrőn (25 mm, 0,2 µm) átszűrtük.

3. táblázat. A folyadékkromatográfiás elválasztás körülményei

Kromatográfiás oszlop	Luna C18(2) 100 Å, 3 µm, 150 x 4,6 mm (Phenomenex)
Mozgófázis	15 mM foszforsav-acetonitril 86:14, izokratikus elúció
Mozgófázis hozama	0,8 ml/perc
Analízis idő	20 perc
Oszloptér hőmérséklet	20 °C
Mintatartó hőmérséklet	20 °C
Injektált térfogat	5 µl
Detektálási hullámhossz	330 nm

Összehasonlító oldat

A HPLC vizsgálatokhoz echinakozid (0,50 mg/ml), kávésav (1,02 mg/ml), cikóriasav (0,40 mg/ml) és klorogénsav (1,00 mg/ml) törzsoldatokat készítettünk etanolt (96%) használva oldószerként. Második lépésben törzsoldatok etanollal (70%) történő hígításával munkaoldatot nyertünk, melynek összetétele: 40,3 µg/ml kávésav, 40 µg/ml klorogénsav, 32 µg/ml cikóriasav és 40 µg/ml echinakozid. A törzsoldatokat illetve a munkaoldatot membránszűrőn (25 mm, 0,2 µm) szűrtük injektálás előtt.

Műszer, körülmények

Folyadékkromatográfiás elválasztás céljából Agilent 1100 típusú HPLC rendszert (G1379A gáztalanító, G1311A pompa, G1330B termosztát, G1329A automata minta-adagoló, G1316A termosztatálható oszloptér), detektorként VWD típusú UV-VIS (G1314A) detektort használtunk. Az adatok kiértékelése az Agilent Chemstation szoftver segítségével történt. A kromatográfiás elválasztás és detektálás paramétereit az 3 táblázatban foglaltuk össze.

Eredmények***Echinacea* tartalmú készítmények feltérképezése a romániai piacon**

A piaci termékek számbavétele során azt tapasztaltuk, hogy a Romániai Gyógyszerügynökség (ANMDMR) nyilvántartásában [32] egyetlen *Echinacea* tartalmú gyógyszer sem szerepel.

Az étrend-kiegészítő termékek nyilvántartási listáján [33] összesen 58 *Echinacea* tartalmú készítményt találtunk, ezekből 11 teakészítmény. Ezeket, a komponensek száma szerint, három nagy csoportba osztottuk: egykomponensű készítmények (monokomponens), többkompo-

1. ábra. Echinacea tartalmú étrend-kiegészítő termékek megoszlása az összetevők száma szerint

nensű készítmények (polikomponens) és teák csoportja (1. ábra). Továbbá csoportosítottuk a termékeket aszerint, hogy az *Echinacea* milyen formában került a termékbe: droppor vagy kivonat. Volt több olyan eset, amikor a címkén nem pontosította a gyártó, hogy a készítmény milyen formában tartalmazza a drogot. Ezeket az adatokat a 4. táblázatban összesítettük. A termékek nagy hányadánál azt tapasztaltuk, hogy hiányos a címkézés, nincs minden információ feltüntetve. Leggyakoribb hiányosság a drogok és speciesek neve, ezt követi az extraktumok esetén a kivonásra felhasznált oldószer, illetve a drog-oldószer arány. A monokomponensű termékek csupán 20%-nál megfelelő a címkézés, a polikomponensű termékekénél ez az esetek 24%-ra igaz.

A nyilvántartott gyógyteák közül, csak egy termékénél volt kombinálva a kasvirág herba más növényekkel. A 11 tea közül csupán három esetben van feltüntetve helyesen a növényi drog, azaz rá lehet jönni, hogy az *Echinacea purpurea* virágos hajtását tartalmazza. A többi tea esetén vagy nincs feltüntetve a növény teljes tudományos neve, vagy nem pontosítja a gyártó hogy melyik *Echinacea* faj herbája, illetve akár azt sem hogy a növény melyik részét tartalmazza a tea.

4. táblázat. Echinacea tartalmú étrend-kiegészítők osztályozása a növényi összetevők száma és feldolgozottsága szerint

Drog feldolgozása	Monokomponensű termékek db (%)	Többkomponensű termékek db (%)
Extraktum	21 (70%)	13 (76%)
Örlemény	4 (13%)	3 (18%)
Ismeretlen	5 (17%)	1 (6%)
Összesen	30 db	17 db

A számba vett 58 étrend-kiegészítő készítmény több mint fele (52%) csak valamelyik *Echinacea* drogot tartalmazza, közel 1/3-a tartalmaz még más növényt vagy növényi kivonatot, illetve vitaminokat, a fennmaradó 19% pedig tea készítményként van bejegyezve.

Vékonyréteg kromatográfiás vizsgálat

A 2. táblázatban feltüntetett minták közül 7 termék esetén végeztünk vékonyréteg kromatográfiás vizsgálatot, gyógyszerkönyvi módszer szerint. A minták VRK lenyomatát összehasonlítottuk ismert eredetű *Echinacea* drogok lenyomatával, amelyeket az egyetemi gyógynövénykertből gyűjtöttünk (1. táblázat). Az I. kifejlesztőszert az *E. pallidae radix* és *E. purpureae radix* drogokra írja elő a gyógyszerkönyv, a II. kifejlesztőszert pedig az *E. angustifoliae radix* és az *E. purpureae herba* vizsgálatára. Mivel az általunk vizsgálatra kiválasztott termékek között voltak hiányosan címkézettek is, mindeniket megvizsgáltuk mindkét kifejlesztőszerezrel.

A VRK módszerrel vizsgált minták közül három termék monokomponensű volt (4, 8, 9 minták), négy pedig polikomponensű (7, 10, 11, 12 minták). Mindhárom monokomponensű termék minta, a címkén levő információk szerint, *Echinaceae purpureae herba*-t tartalmaz, kivonat vagy drog örlemény formájában. A VRK lenyomatuk jó egyezést mutat a hivatalos droggal és a vizsgálat megerősíti, hogy bíbor kasvirág virágos hajtást tartalmaznak (2A-D. ábra).

A 7-es és 11-es minták címkézése hiányos, illetve tartalmazniuk kell még C vitamint és propolisz tinktúrát. Ezek jelenlétét a VRK vizsgálat igazolta, valamint az is kiderült, hogy *E. purpureae herba*-t tartalmaznak (2C és 2D. ábra).

A 10-es mintának egyenlő arányban kellene tartalmaznia *E. angustifolia* és *E. purpurea* gyökér drogot, nem derül ki a címkéről, hogy kivonat vagy örlemény formában. Ennek a mintának a VRK lenyomata egyáltalán nem hasonlít az *E. angustifoliae radix* lenyomatára, hiányoznak a jellegzetes marker anyagok (2B. ábra).

A 12-es mintában *E. angustifolia* gyökere mellett macskakarom drog és kivonat kellene, hogy legyen. A VRK lenyomatán nem láthatóak az *E. angustifolia* gyökérdrog jellemző vegyületei, inkább az *E. purpureae herba* kivonataira hasonlít; összességében kevés, ánizsaldehiddel pozitívan reagáló, vegyületet tartalmaz (2B. ábra).

HPLC vizsgálat

A kiválasztott 12 kereskedelmi forgalomban lévő termék közül nyolcat vetettünk alá folyadékkromatográfiás vizsgálatnak. Összehasonlítás céljából az *Echinaceae angustifoliae herba* és *Echinaceae purpureae herba* referenciaanyagokból készített mintákat is vizsgáltuk.

A kromatogramok értékelésére és az egyes komponensek beazonosítására a kromatogramon a Ph. Hg. VIII sajátos módszert alkalmaz az *Echinaceae purpureae herba* esetén. Összehasonlító vegyületként klorogénsavat és

2. ábra. Reprezentatív vékonyréteg kromatogramok mindkét kifejlesztőszerezrel (AH – *Echinaceae angustifoliae herba*, AR – *Echinaceae angustifoliae radix*, PH – *Echinaceae purpureae herba*, PR – *Echinaceae purpureae radix*, Prop.-propolisz tinktúra, ACA – kávéssav, ACL – klorogénsav)

5. táblázat. A mennyiségi meghatározás során használt számolási képletek

Hatóanyag	Felhasznált számolási képlet
Klorogénsav-kaftársav (mg kaftársav/100 mg)	$\frac{100 \times 0,881 \times A1 \times C2}{A2 \times C1}$
Cikóriasav (mg/100 mg)	$\frac{100 \times 0,695 \times A3 \times C2}{A2 \times C1}$
Kávésav (mg/100 mg)	$\frac{100 \times A4 \times C3}{A5 \times C1}$

ahol

A1 = a kaftársav-klorogénsav csúcsterülete a vizsgálati oldat kromatogramján

A2 = a klorogénsav csúcsterülete az összehasonlító oldat kromatogramján

A3 = a cikóriasav csúcsterülete a vizsgálati oldat kromatogramján

A4 = a kávéssav csúcsterülete a vizsgálati oldat kromatogramján

A5 = a kávéssav csúcsterülete az összehasonlító oldat kromatogramján

C1 = a vizsgálati oldat koncentrációja, mg/ml-ben

C2 = az összehasonlító oldat klorogénsav koncentrációja, mg/ml-ben

C3 = az összehasonlító oldat kávéssav koncentrációja, mg/ml-ben

0,695 = klorogénsav-cikóriasav csúcskorrelációs faktor

0,881 = klorogénsav-kaftársav csúcskorrelációs faktor

kávésavat használ. A vizsgálati oldat kromatogramján a kaftársav és cikóriasav azonosításához egy „példa” kromatogramot közöl, és megadja a klorogénsavra vonatkoztatott relatív retenció értékeket. Mintáinkban ezt a módszert próbáltuk alkalmazni a kaftársav csúcsának lokalizálására a kromatogramon.

A cikóriasav és kaftársav tartalom kiszámolására a Ph. Hg. VIII és a Ph. Eur.7.0 hivatalos *Echinacea* monográfiákban szereplő számolási képleteket használtuk; a kávéssav esetén az ismert koncentrációjú standard-oldat csúcsterületét használtuk (lásd **5. táblázat**). Mivel a kaftársav és klorogénsav retenció ideje nagyon közeli, és egyes minták esetén nem zárható ki mindkét anyag jelenléte, a számolt értékeket kaftársavban kifejezett klorogénsav-kaftársav elegynek tekintjük.

Eredményeinket a szilárd minták esetében egy gramm szárazanyagra, míg a tinktúra esetében egy ml alkoholos kivonatra vonatkoztatva a klorogénsav-kaftársav elegy és a cikóriasav esetében mg-ban, míg a kávéssav esetében µg-ban fejeztük ki a könnyebb összehasonlítás érdekében, az eredményeket az **6. táblázatban** foglaltuk össze

Méréseink alapján meghatározásra került a kávéssav és cikóriasav tartalma az adott mintáknak, valamint kiszámoltunk a klorogénsav-kaftársav tartalmat. Kaftársav referencia anyag ugyan nem állt rendelkezésünkre, azon-

6. táblázat. A vizsgált minták jellegzetes tartalomanyagai mg/g, a kávéssav esetében µg/g termékre kifejezve, illetve az általunk használt módszerrel nyert retenció idők

Retenció idő (perc)	3,99	5,14	6,12	17,61
Vizsgált komponens	Klorogénsav - kaftársav (mg kaftársav/g)	Echinakozid	Kávésav (µg/g)	Cikóriasav (mg/g)
Echinaceae purpurea herba	8,32	-	400	12,40
Echinaceae angustifoliae herba	5,28	-	520	16,76
1. minta	1,93	-	30	1,29
2. minta	1,51	-	40	1,62
3. minta	0,95	-	140	0,63
4. minta	1,68	-	110	2,64
5. minta	0,23	-	20	0,31
6. minta	0,52	-	40	0,47
7. minta	0,08	-	20	0,19
8. minta (alkoholos kivonat)	2,07	-	100	0,58

3. ábra. A Ph. Hg. VIII.-ban közölt kromatogram a kaftársav és a cikóriasav tartalmi meghatározásához a bíbor kasvirág virágos hajtásból (1 kaftársav, 2 klorogénsav, 3 cikóriasav)

ban a Ph. Eur 7.0. és Ph. Hg. VIII *Echinaceae purpureae herba* monográfiában a tartalmi meghatározásra előírt módszerben közölt kromatogram (3. ábra) segítségével beazonosítható. Ezen a kromatogramon jól látható, hogy kaftársav nagy mennyiségben van jelen a bíbor kasvirág földfeletti részében és a klorogénsavhoz közeli retencióval rendelkezik (relatív retenció kb. 0,8), melynek mennyisége elhanyagolható. A mi módszerünkkel a kaftársav közelebb kerül a klorogénsavhoz (relatív retenció a kaftársav esetén kb. 0,98), és ez a csúcs nem tekinthető tisztának. Ez a tény különösen fontos azon étrend-kiegészítő

szítók esetén, ahol a termék a kasvirág fajok mellett egyéb növényi kivonatot is tartalmaz. Ez alapján a mintákban levő jelentős területtel rendelkező kromatográfiás csúcsot (4B. ábra: x csúcs, $t_R=3,99$ perc), amely megközelíti a klorogénsav retenció idejét (4A. ábra: a csúcs, $t_R=4,04$ perc) kaftársavnak feltételezzük. Mivel ilyen közeli retenció időknél a két anyag közötti szelektivitás nem kielégítő, a csúcsot és a számolt mennyiséget klorogénsav-kaftársav elegynek tekintjük. Mind a tíz esetben azonosítható volt a klorogénsav-kaftársav, kávéssav és cikóriasav eltérő mennyiségben, azonban a kasvirágfélék gyökerére jellemző echinakozidot egy esetben sem detektáltuk. Ez arra utal, hogy a vizsgált étrend-kiegészítők nem tartalmaznak gyökérből származó részeket, ami megfelel a termékek címkéin feltüntetett összetétel alapján támasztott elvárásainknak. A 4B illetve 4C ábrán a 7-es és 3-as minta kromatogramja látható. Mennyiségi meghatározás céljából a referenciaoldat injektálása során nyert csúcs alatti területeket használtuk fel (4A. ábra), továbbá a klorogénsav-kaftársav és a cikóriasav mennyiséget a klorogénsav referencia anyagra vonatkoztatva határoztuk meg, a Ph. Eur. 7.0 és a Ph. Hg. VIII által megadott csúcsokorellációs faktorokat alkalmazva. Egyes minták esetében jól látható az általunk klorogénsav-kaftársavként azonosított kro-

4. ábra. A: összehasonlító oldat, B: 7-es minta, C: 3-as minta (a: klorogénsav, b: echinakozid, c: kávéssav, d: cikóriasav, x: feltételezhetően kaftársav, a+x: kaftársav és klorogénsav együtt)

matográfiás csúcs formáján, hogy nem egy komponensnek felel meg (4C. ábra: a+x csúcs). Látható a 4C. ábra „a+x” csúcsának aszimmetrikus formája, amiből arra következettünk, hogy a mintáinkban a két anyag átfedésben van egymással.

Legnagyobb mennyiségben a referencia anyagként használt növényi minták tartalmazták az általunk vizsgált anyagokat, az *Echinacea purpurea* földfeletti része nagyobb mennyiségben tartalmaz klorogénsav-kaftársav elegyet, míg a kávésav és a cikóriásav az *Echinacea angustifolia* földfeletti részében magasabb. Mind a nyolc általunk vizsgált étrend-kiegészítő kromatográfiás lenyomata és összetétele megfelel a referenciaként használt növényi kivonatoknak. Elmondható, hogy mind a nyolc termék tartalmazza a kasvirágfélékre jellegzetes biomarkereket, ám a mennyiségi összetétel nagy variabilitást mutat az egyes készítmények között. Klorogénsav-kaftársavra nézve az 1-es, 2-es, 4-es és 8-as minták összetétele kedvezőbb, kávésav szempontjából a 3-as, 4-es és 8-as minta jelentős, míg a cikóriásav tartalom a 2-es és 4-es mintákban a legmagasabb. A termékek egymáshoz viszonyított összetételét az 5. ábra szemlélteti.

Megbeszélés

A HPLC kromatogramok értékelésére és az egyes komponensek beazonosítására a kromatogramon a Ph. Eur. 7.0 és a Ph. Hg. VIII sajátos, de nem egyedi módszert alkalmaz az *Echinaceae purpureae herba* esetén, hasonlóan jár el például a *Boldi folium* és *Ginkgonis folium* drogoknál is [5, 6]. Az ilyen módszer előnye, hogy nem kell beszerezni az összes referencia anyagot, hanem a legkönnyebben elérhető és legolcsóbb referencia anyagokat használja, így lényegesen csökkenthető a vizsgálat költsége. Ez azt feltételezi, hogy azonos munkakörülmények között dolgozunk. Másrészt amennyiben nem áll módunkban teljesen reprodukálni a munkakörülményeket, a módszer nem teljesen megbízható. Amint az a mi esetünkben is tapasztalható volt, a kaftársav és klorogénsav csúcsok egymáshoz túlságosan közel, illetve átfedésbe kerültek. Módszerünk további módosításra szorul a két említett vegyület közötti szelektivitás növelése érdekében. Ez különösen fontos olyan étrend-kiegészítők vizsgálata esetén, amelyek összetételében a kasvirág mellett feltehetően magas klorogénsav tartalmú növények is vannak.

A romániai pácienseknek nem áll módjában hazai gyógyszerárban megbízható, kontrollált minőségű kas-

5. ábra. A vizsgált minták egymáshoz viszonyított összetétele

virág tartalmú gyógyszerhez hozzájutni, ugyanis nincs ilyen készítmény forgalomban [29]. Ennek hiányában kénytelenek valamelyik étrend-kiegészítő terméket választani, amelyből közel 60 féle szerepel a hatóságok nyilvántartásában [33]. A hatóságok csak fogyasztói bejelentésre kezdenek étrend-kiegészítő termékeket vizsgálni. Sajnálatos módon legtöbbjük csak a bejegyzést indítványozó jogi személy által összeállított iratcsomó alapján kerül forgalomba. Ebben az iratcsomóban nem szerepel hatóanyag tartalomra vonatkozó kötelező vizsgálat. Csak egyes, az egészségre veszélyes anyagokat kötelező bevizsgálni (peszticidek, nehézfémek), amely nem elégséges a termékek megfelelő minőségének a biztosítására.

Amennyiben gyógyszerként szeretnénk bejegyezni egy kasvirág készítményt, annak minimális drog vagy kivonat mennyiséget kell tartalmaznia. Száraz kivonat esetén rendszerint pontosítják a drog-extraktum arányt (DER). *Echinacea purpureae herba* esetén egyszeri ajánlott adag 1,5-4,5 ml présnedv, illetve napi 6-9 ml vagy ennek megfelelő mennyiségű száraz kivonat [20,34]. *Echinaceae purpureae radix* esetén a szárazkivonatból egyszeri adag 40 mg (amennyiben a DER 5,5-7,5:1) vagy 50-100 mg (amennyiben a DER 4:1) [21]. A romániai piacon forgalomban levő étrend-kiegészítők számbavételekor megállapítható, hogy igen kis hányadánál szerepel a címkén ilyen jellegű információ, azaz a drog-extraktum arány (DER) legtöbbször hiányzik. Az általunk is vizsgált mintákban több esetben szerepel, hogy szárazkivonatot (1-es, 2-es minták) illetve standardizált kivonatot (9-es, 11-es minták) tartalmazzanak, csupán egy minta esetén tudjuk meg a címkéről, hogy 4% polifenolra (9-es minta) történt a standardizálás.

A különböző kasvirág fajok fenolos vegyületeinek mennyisége igen tág határok között mozog. Nagy különbségek mutatkoznak az egyes növényi részek között [35, 36], illetve aszerint is, hogy milyen oldószerrel készül a kivonat [8]. A cikóriasav mennyisége például a bíborkasvirágnál a szárban 9,3 mg/g míg a levelekben akár 42,4 mg/g is lehet [36]. Ilyen tekintetben az egyetemi gyógynövénykertből származó bíbor kasvirág herbájánál a 12,4 mg/g mennyiség átlagosnak tekinthető (6. táblázat). A kaftársav mennyisége szintén nagy változatosságot mutat növényi rész és a kivonásra használt etanol víztartalma függvényében, föld feletti részeknél 7,3 mg/100 g és 2786 mg/100 g közötti tartományban [8]. Az általunk mért 832 mg klorogénsav-kaftársav elegy ilyen tekintetben nem számít túlságosan magasnak. Minden valószínűséggel ennek a tapasztalt széles értéktartománynak köszönhető

az, hogy a Ph. Eur. 7.0 a bíbor kasvirág herba esetén csupán összesen 0,1% kaftársav és cikóriasav tartalmat vár el [5]. Ezek tükrében az általunk botanikai standardként használt bíborkasvirág virágos hajtása gyógyszerkönyvi minőségű, a minimálisan elvárt mennyiségnek több mint tízszeresét tartalmazza, és cikóriasav, valamint kaftársav tartalma jó egyezést mutat több korábbi publikációval [35,36,37].

A korábbi irodalmi adatok alapján az étrend-kiegészítőknél is elég széles tartományt ölelnek fel az egyes komponensek. Például egy dániai vizsgálat szerint [36], a cikóriasav mennyisége 0,04 és 34,6 mg/g között található a kapszulákban. Az általunk vizsgált termékeknek az 1-es minta 24-szeres mennyiségben tartalmaz klorogénsav-kaftársav elegyet a 7-es mintához viszonyítva. A kávésvannál figyelhető meg a legkisebb szórás a minták között, csupán 7-szeres különbség észlelhető, a cikóriasav esetén ez a szórás meghaladja a 13-szoros értéket.

Általunk vizsgált hatóanyagokban leggazdagabb a 4-es minta, ez egyezik a címkén feltüntetett információk alapján vele szemben támasztott elvárásokkal. Ezt követik az 1-es és 2-es minták, amelyek *Echinacea purpurea* száraz kivonatot tartalmazzanak, csupán a címkén nincs feltüntetve, hogy virágos hajtásból vagy gyökérből készült. A markeranyagok alapján elmondható, hogy virágos hajtásból készített kivonatot tartalmazzanak.

A 6-os minta címkéjén 200 mg *Echinacea purpurea* kivonat szerepel, ennek megfelelően több hatóanyagra számítottunk, de mindhárom mért biomarkerből keveset tartalmaz.

A 8-as minta egy tinktúra, ebben csupán a klorogénsav-kaftársav elegy van jelen nagy mennyiségben.

Következtetések

A Romániában forgalomban levő kasvirág tartalmú étrend-kiegészítő termékek számbavétele során több rendelkezésre figyeltünk fel. Az egykomponensű készítmények 80%-ánál, a többkomponensű étrendkiegészítők 76%-ánál, a címke hiányos információkat tartalmaz: nincs egyértelműen feltüntetve az anyanövény, a felhasznált növényi rész és annak feldolgozottsági módja (örlemény, kivonat), a kivonásra használt oldószer vagy a drog-oldószer arány csak nagyon ritkán szerepel a címkén.

A fitokémiai vizsgálat nyomán elmondhatjuk, hogy a gyógyszerkönyvi monográfiákban leírt vékonyréteg kromatográfiás módszer jó kiindulópont lehet a mono-

komponensű étrend-kiegészítő termékek vizsgálatára. Amennyiben a készítmény több *Echinacea* drogot tartalmaz, vagy a kasvirág más növényekkel van kombinálva, nem lehet a VRK lenyomat alapján megalapozott, helytálló következtetéseket levonni.

A folyadékkromatográfiás vizsgálattal kapcsolatban elmondhatjuk, hogy az általunk használt módosított gyógyszerkönyvi módszer alkalmas az étrend-kiegészítők *Echinacea* fajokra jellemző komponenseinek azonosításra, a kávéssav és cikóriasav mennyiségi meghatározására. A kaftársav és klorogénsav pontos mennyiségének meghatározása érdekében további módosítást igényel a két anyag közötti szelektivitás növelésének érdekében. Megállapíthatjuk, hogy a bevizsgált minták közül, a legmagasabb hatóanyag tartalmat a leghelyesebben címkézett termék mutatja: *Echinacea purpurea* virágos hajtás örleményt és *Echinacea purpurea* virágos hajtás kivonatát tartalmazza.

Megjegyzés: kérésre a szerzők e-mailben elküldik a romániai piacfelmerést összesítő függelékét, amely tartalmazza a készítmények címkéjén feltüntetett összetételt, a kereskedelmi nevet és a bejegyzett termelő/forgalmazó cég nevét.

Rövidítések jegyzéke

HPLC – high performance liquid chromatography (nagyhatékonyságú folyadékkromatográfia)

VRK – vékonyréteg kromatográfia

TLC – thin layer chromatography (vékonyréteg kromatográfia)

ANMDMR – Agentia Nationala a Medicamentului si a Dispozitivelor Medicale din Romania (A Román Gyógyszerügynökség)

MGYT – Magyar Gyógyszerészeti Társaság

EMA – European Medicines Agency (Európai Gyógyszerügynökség)

EU – European Union (Európai Unió)

USA – United States of America (Amerikai Egyesült Államok)

HMPC – Committee on Herbal Medicinal Products

Ph. Eur. – European Pharmacopoeia (Európai Gyógyszerkönyv)

IBA – Institutul Național de Cercetare-Dezvoltare pentru Bioresurse Alimentare (Mezőgazdasági és Vidékfejlesztési Minisztérium)

Ph. Hg. VIII – Pharmacopoea Hungarica VIII (VIII. Magyar Gyógyszerkönyv)

DER – drug extract ratio (drog-extraktum arány)

Irodalom

1. MGYT. Az év gyógynövénye kezdeményezés. <http://www.evgyogynovenye.hu/kezdemenyezes> (accessed March 9, 2020).
2. Kindscher K. *Echinacea: Herbal Medicine with a Wild History*. Springer Verlag; 2016.
3. Barrett B. Medicinal properties of Echinacea: A critical review. *Phytomedicine* 2003;10:66–86.
4. Smith T, Eckl V, Morton C, Gillespie M, Knepper J. Herbal supplement sales in US increase 9,4% in 2018. *HerbalGram* 2019;123:62–73.
5. European Pharmacopoeia. 7th ed. Strasbourg: Council of Europe.
6. Magyar Gyógyszerkönyv VIII. Kiadás.
7. Barnes I, Anderson L, Philipson I. *Herbal medicines*. 3 th. Pharmaceutical Press; 2007.
8. Senica M, Mlinsek G, Veberic R, Mikulic-Petkovsek M. Which plant part of purple coneflower (*Echinacea purpurea* (L.) Moench) should be used for tea and which for tincture? *J Med Food* 2019;22:102–8.
9. Perry NB, Burgess EJ, LeAnne Glennie V. Echinacea standardization: Analytical methods for phenolic compounds and typical levels in medicinal species. *J Agric Food Chem* 2001;49:1702–6.
10. Soley BD, Urichuk LJ, Tywin C, Coutts RT, Pang PKT, Shan JJ. Comparison of chemical components and antioxidant capacity of different Echinacea species. *J Pharm Pharmacol* 2001;53:849–57.
11. Bauer R, Remiger P, Wagner H. Alkamides from the roots of *Echinacea purpurea*. *Phytochemistry* 1988;27:2339–42.
12. Classen B, Witthohn K, Blaschek W. Characterization of an arabinogalactan-protein isolated from pressed juice of *Echinacea purpurea* by precipitation with the β -glucosyl Yariv reagent. *Carbohydr Res* 2000;327:497–504.
13. Bergeron C, Gafner S. Quantitative analysis of the polysaccharide and glycoprotein fractions in *Echinacea purpurea* and *Echinacea angustifolia* by HPLC-ELSD for quality control of raw material. *Pharm Biol* 2007;45:98–105.
14. Catanzaro M, Corsini E, Rosini M, Racchi M, Lanni C. Immunomodulators inspired by nature: A review on curcumin and Echinacea. *Molecules* 2018;23:1–17.
15. Manayi A, Vazirian M, Saeidnia S. *Echinacea purpurea*: Pharmacology, phytochemistry and analysis methods. *Pharmacogn Rev* 2015;9:63–72.
16. Woelkart K, Linde K, Bauer R. Echinacea for Preventing and Treating the Common Cold. *Planta Med* 2008;74:633–7.
17. Melchart D, Linde K, Worku F, Bauer R, Wagner H. Immunomodulation with echinacea — a systematic review of controlled clinical trials. *Phytomedicine* 1994;1:245–54.
18. Arroll B, Kenealy T. Antibiotics for the common cold and acute purulent rhinitis. In: Arroll B, editor. *Cochrane Database Syst. Rev.* 2005.

19. Karsch-Völkl M, Barrett B, Kiefer D, Bauer R, Ardjomand-Woelkart K, Linde K. Echinacea for preventing and treating the common cold. *Cochrane Database Syst Rev* 2014.
20. EMA/HMPC. European Union herbal monograph on Echinacea purpurea (L.) Moench, herba recens 2015:0–4. https://www.ema.europa.eu/en/documents/herbal-monograph/final-european-union-herbal-monograph-echinacea-purpurea-l-moench-herba-recens_en.pdf (accessed March 9, 2020).
21. EMA/HMPC. European Union herbal monograph on Echinacea purpurea (L.) Moench, radix 2017;44:1–7. https://www.ema.europa.eu/en/documents/herbal-monograph/final-european-union-herbal-monograph-onechinacea-purpurea-l-moench-radix-revision-1_en.pdf (accessed March 9, 2020).
22. EMA/HMPC. European Union herbal monograph on Echinacea pallida (Nutt.) Nutt., radix 2018;44:0–6. <https://www.fitoterapia.net/archivos/201809/wc500253934.pdf?1> (accessed March 9, 2020).
23. EMA/HMPC. Community herbal monograph on Echinacea angustifolia DC., radix https://www.ema.europa.eu/en/documents/herbal-monograph/final-community-herbal-monograph-echinacea-angustifolia-dc-radix_en.pdf (accessed March 9, 2020).
24. OGYEI. Gyógynövény tartalmú hagyományos és irodalmi adatokon alapuló növényi gyógyszerek n.d. https://www.ogyei.gov.hu/gyogynoveny_alapu_novenyi_gyogyszerek (accessed March 5, 2020).
25. EMA/HMPC. Herbal medicinal products n.d. <https://www.ema.europa.eu/en/human-regulatory/herbal-medicinal-products> (accessed March 5, 2020).
26. EMA/HMPC. Addendum to Assessment report on Echinacea angustifolia, radix https://www.ema.europa.eu/en/documents/herbal-report/addendum-assessment-report-echinacea-angustifolia-radix-first-review_en.pdf (accessed March 3, 2020).
27. Raclariu AC, Țebrencu CE, Ichim MC, Ciupercă OT, Brysting AK, de Boer H. What's in the box? Authentication of Echinacea herbal products using DNA metabarcoding and HPTLC. *Phytomedicine* 2018;44:32–8.
28. Harnly J, Lu Y, Sun J, Chen P. Botanical supplements: Detecting the transition from ingredient to product. *J Food Compos Anal* 2017;64:85–92.
29. Gilroy CM, Steiner JF, Byers T, Shapiro H, Georgian W. Echinacea and Truth in Labeling. *Arch Intern Med* 2003;163:699.
30. Agatonovic-Kustrin S, Loescher CM, Singh R. Quantification of phenylpropanoids in commercial echinacea products using TLC with video densitometry as detection technique and ANN for data modelling. *Phytochem Anal* 2013;24:303–8.
31. Barnes J, Anderson LA, Gibbons S, Phillipson JD. Echinacea species (Echinacea angustifolia (DC.) Hell., Echinacea pallida (Nutt.) Nutt., Echinacea purpurea (L.) Moench): a review of their chemistry, pharmacology and clinical properties. *J Pharm Pharmacol* 2005;57:929–54.
32. ANMDMR. Nomenclatorul medicamentelor pentru uz uman <https://www.anm.ro/nomenclator/medicamente> (accessed March 2, 2020).
33. Ministerul Agriculturii si Dezvoltarii Rurale IN de C – Dezvoltare pentru BA– IB. Lista Suplimentelor Alimentare Notificate in Conformitate cu Ordinul nr. 244/401/2005. 2018.
34. WHO. WHO monographs on selected medicinal plants. vol. 1. 1999.
35. Qu L, Chen Y, Wang X, Scalzo R, Davis JM. Patterns of Variation in Alkamides and Cichoric Acid in Roots and Aboveground Parts of Echinacea purpurea (L.) Moench. *HortScience* 2005;40:1239–42.
36. Mølgaard P, Johnsen S, Christensen P, Cornett C. HPLC Method Validated for the Simultaneous Analysis of Cichoric Acid and Alkamides in Echinacea purpurea Plants and Products. *J Agric Food Chem* 2003;51:6922–33.
37. Kreft S. Cichoric acid content and biomass production of Echinacea purpurea plants cultivated in Slovenia. *Pharm Biol* 2005;43:662–5.