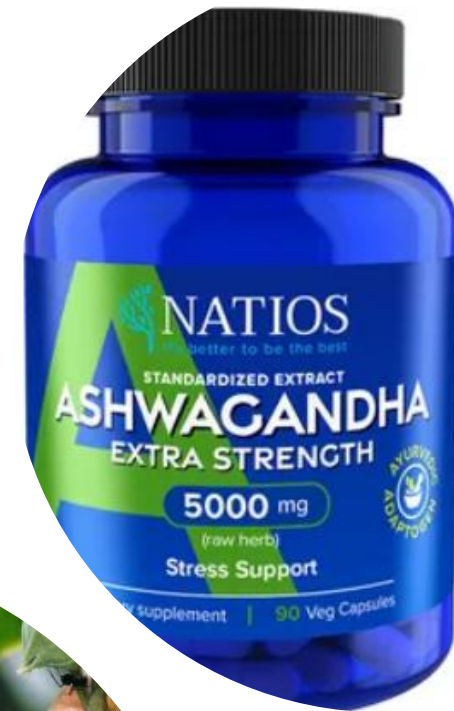


Doplňky stravy s obsahem Ashwagandy (Vithánie snodárná) na trhu v ČR – co slibují výrobci a jaká je realita

- Prof. Ing. Lucie Cahlíková, Ph.D.
- Prof. RNDr. Dalibor Šatínký, Ph.D.
- Mgr. Eliška Vašutová
- Farmaceutická fakulta v Hradci Králové; Univerzita Karlova

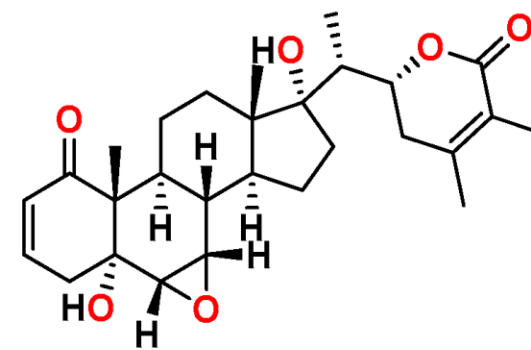
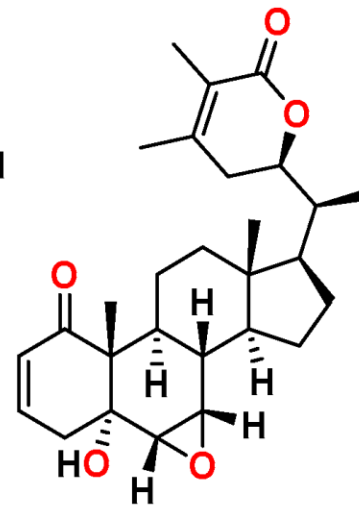
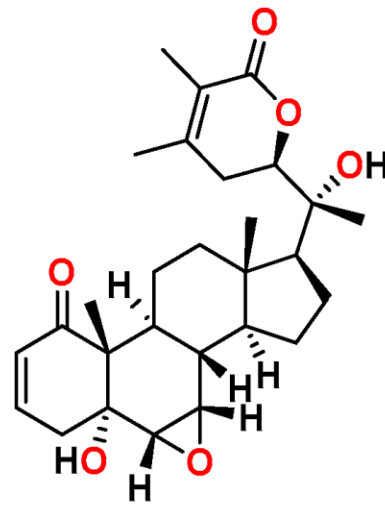
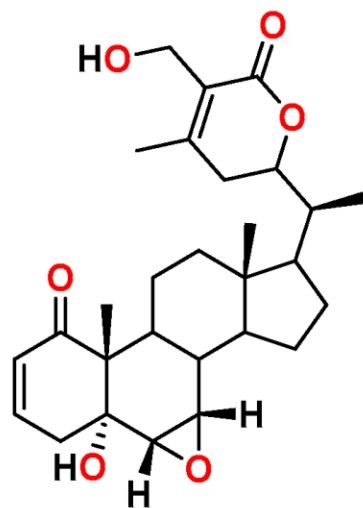
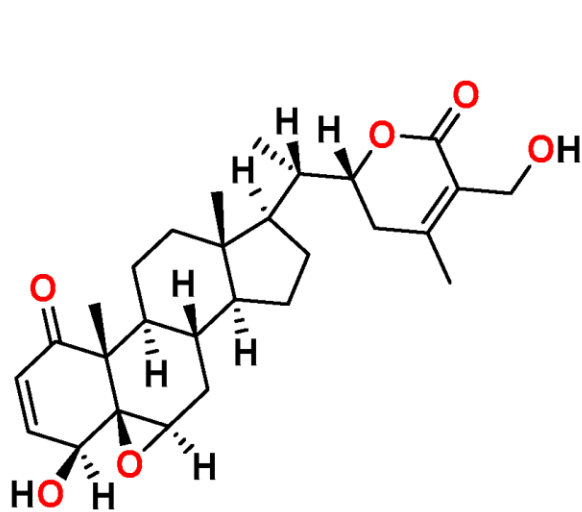
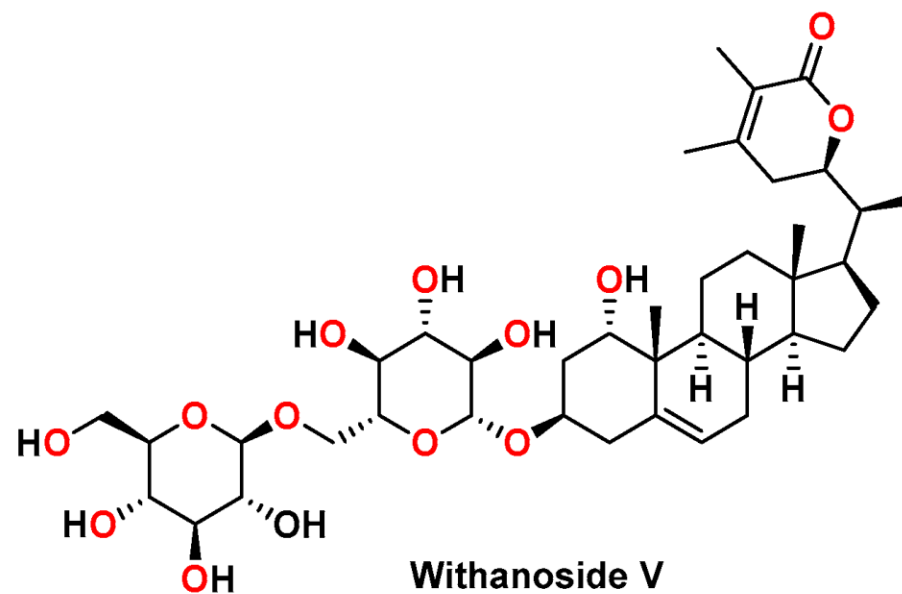
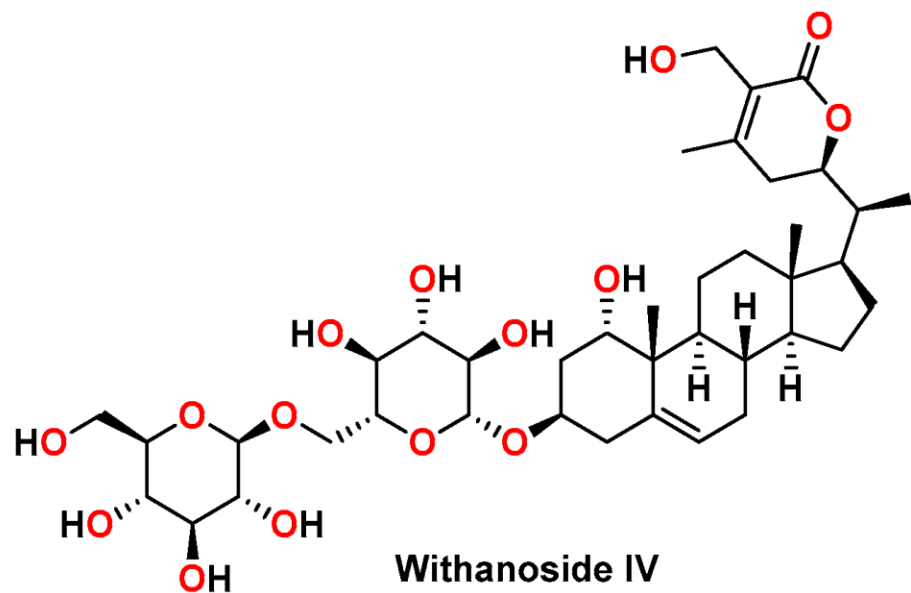


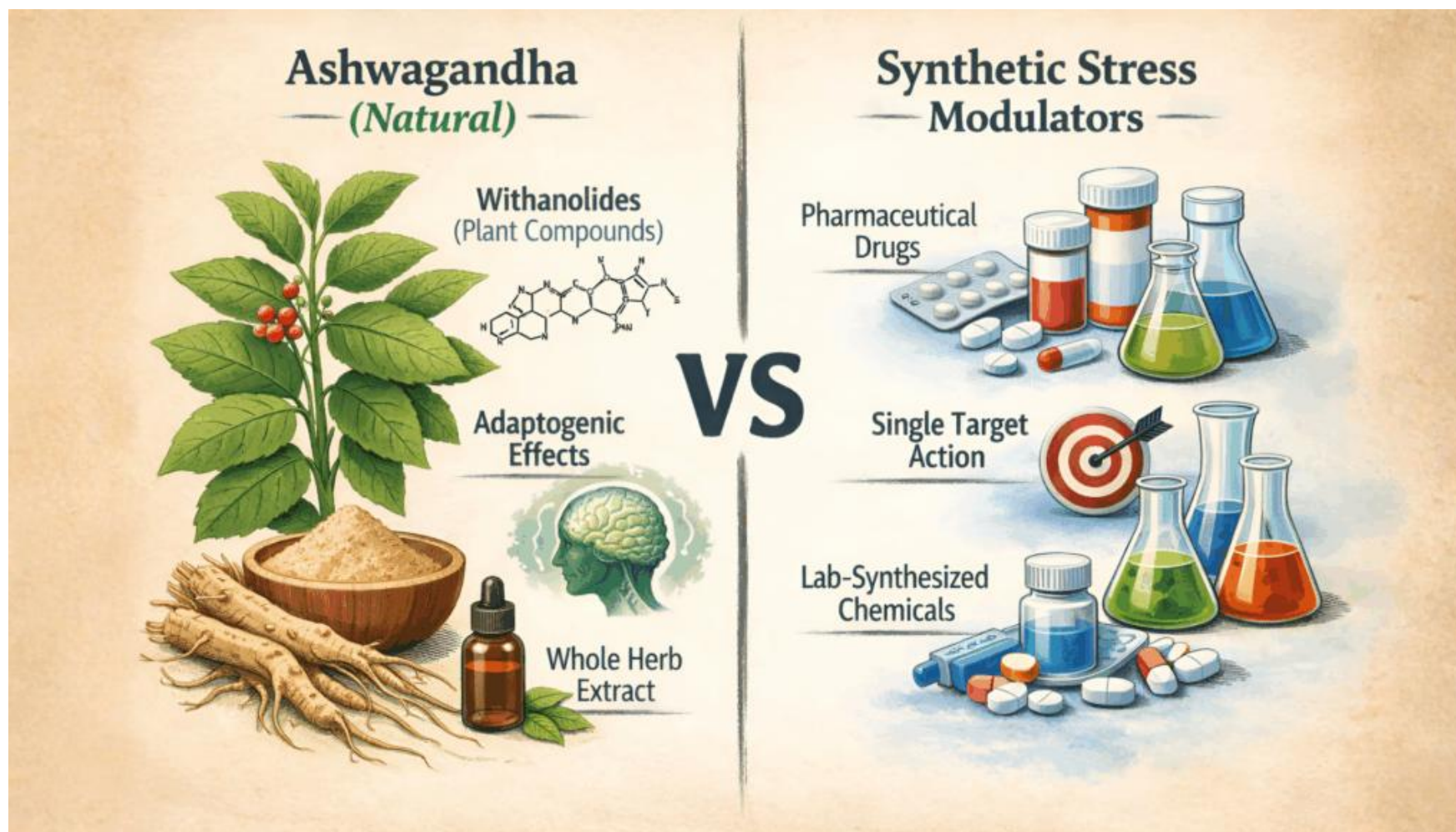
- **Vitáníe snodárná, *Withania somnifera*, Solanaceae**
- vytrvalá, subtropická až tropická keřovitá rostlina,
- využívána v systémech tradičního indického lékařství: Ájurvédě
 - označovaná jako "Sattvic Kapha Rasayana,, → bylina s omlazujícími a regeneračními účinky
- V doplňcích stravy někdy označována jak „indický ženšen“
- **Hlavní oblasti využití v tradiční indické medicíně:**
 - **Snížení stresu a vyčerpání:** adaptogen
 - **Podpora spánku a zklidnění:** latinské jméno *Withania somnifera* (snodárná) odráží použití při nespavosti a úzkostných stavech
 - **Reprodukční zdraví a libido:** v ájurvédě jako silné afrodiziakum.
 - **Kognitivní funkce a paměť:** k posílení paměti, bystrosti a pro ochranu mozku před projevy stárnutí.
 - **Bolesti kloubů a záněty**

Nejčastější formou použití v tradiční medicíně: **jemný prášek z kořene (*Churna*)**. Ten se rozmíchal v **teplém plnotučném mléce** s medem → biodostupnost obsahových látek.



- Obsahové látky a jejich biologická aktivita:
 - **Withanolidy (Steroidní laktony) + Withanosidy (glykosidy)**
 - Obsah v kořenech **0,01-1,5 %**
 - Dle studií protizánětlivá, antioxidační a neuroprotektivní aktivita
 - **Withanolid A a D**: Klíčové sloučeniny zodpovědné za zmírňování stresu.
 - **Withanone**: Látka s výrazným vlivem na ochranu buněk.
 - **Doplňky stravy: standardizace na withanolidy: 1,5 %; 3 %, 5 % - nejčastější; 10 %**
 - **Alkaloidy**
 - působí především na nervovou soustavu, mají mírně sedativní účinky a pomáhají tlumit úzkost.
 - **Withanin, somniferin**: specifické





Globální trh s doplňky stravy s ašvagandou se odhaduje na více než 720 milionů USD a předpokládá se, že do roku 2031 překročí 2,5 miliardy USD. Díky složenému ročnímu tempu růstu (CAGR) od 8,8 % do 11,4 % je ašvagandou jedním z nejrychleji rostoucích bylinných doplňků v kategoriích pro zvládání stresu a nálady.

- Desítky produktů na trhu v ČR
 - Řezaný kořen, práškový kořen
 - Extrakty (kořeny, listy) standardizované na withanolidy: extrakty s obsahem 1,5 %, 3 % nebo 5 % withanolidů,
 - „patentovaný“ KSM-66 (extrakt z kořene) – 5 % withanolidů, ≥ 1 % **withaferin A**
 - **Withaferin A**: protinádorová, protizánětlivá, neuroprotektivní aktivita; obecně dobře tolerován
 - ...ale...vysoké dávky nebo dlouhodobá konzumace ...toxicita především hepatotoxicita



- Kvalita, obsah aktivních látek??
 - UHPLC analýza
 - Mikroskopická kontrola extraktů

ELSEVIER

Toxicology Reports

toxicology
reports

► Toxicol Rep. 2022 May 18;9:1204–1212. doi: [10.1016/j.toxrep.2022.05.012](https://doi.org/10.1016/j.toxrep.2022.05.012) 

Safety, toxicity and pharmacokinetic assessment of oral Withaferin-A in mice

[Saurabh Kumar Gupta](#)^{a,d}, [Shraddha Jadhav](#)^a, [Dievya Gohil](#)^{a,d}, [Girish Ch Panigrahi](#)^{a,d}, [Rajiv Kumar Kaushal](#)^{b,d},
[Khushboo Gandhi](#)^a, [Anand Patil](#)^{a,d}, [Preeti Chavan](#)^{c,d}, [Vikram Gota](#)^{a,d,*}

► [Author information](#) ► [Article notes](#) ► [Copyright and License information](#)

PMCID: PMC9742883 PMID: [36518386](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/36518386/)

Vývoj UHPLC metody pro stanovení zastoupení withanolidů v komerčních produktech

- **Standardy:**

- Withanolid A ≥ 98 % (PhytoLab, Německo)
 - Withanolid B ≥ 98 % (PhytoLab, Německo)
 - Withaferin A ≥ 97 % (PhytoLab, Německo)
 - Withanosid IV ≥ 95 % (PhytoLab, Německo)
 - Withanosid V ≥ 94 % (PhytoLab, Německo)
 - Withanon ≥ 94 % (PhytoLab, Německo)
-
- Most abundant withanolides in root:
 - **Withanolide A, Withanoside IV, Withanone and Withanoside V**
-
- Most abundant withanolides in leaves:
 - **Withaferin A, Withanone**

Optimalizace metody

Cíl – najít vhodné podmínky pro separaci všech 6 analyzovaných withanolidů současně.

Volba vlnové délky

- dle absorpčních maxim jednotlivých látek byly zvoleny vlnové délky **215 a 228 nm**, při kterých byly viditelné všechny analyzované látky

Volba kolony

- testováno celkem **17 kolon** (nejčastěji různé typy SF C18 s různými velikostmi částic a rozměrech kolony, ale také například SF PFP a RP-Amide)

Volba složení mobilní fáze

- na základě rešerše literatury byl jako organická složka použit čistý acetonitril, jako vodná složka voda
- v průběhu optimalizace byl místo acetonitrilu zkoušen i methanol o různých koncentracích a 0,1% kys. mravenčí jako vodná fáze

Volba gradientu

- několik gradientů s různými počátečními podmínkami a s odlišnou strmostí nástupu org. fáze
- dávkovaný objem (2-10 μ l) a průtoková rychlost (0,4 – 1,0 ml/min) dle průměru použité kolony

Finální podmínky analýzy:

- **Chromatografická sestava:** Shimadzu Nexera LC-40
- **Detektor:** PDA detektor SPD-M40
- **Kolona:** Kinetex F5 100 Å 150 x 4,6 mm, velikost částic 2,6 µm
- **Mobilní fáze:** A: ACN, B: voda
- **Průtok mobilní fáze:** 1 ml/min
- **Teplota kolonového prostoru:** 30 °C
- **Dávkovaný objem vzorku:** 10 µl
- **Detekce:** 215 nm (withanosid IV a withaferin A) a 228 nm (withanosid V, withanolid A, withanon a withanolid B)
- **Režim analýzy:** gradientová eluce
- **Čas analýzy:** 10 minut

Validace metody

Test vhodnosti chromatografického systému

- opakovatelnost retenčních časů (t_r)
- faktor symetrie (A_s)
- rozlišení píků (R_s)
- kapacitní faktor (k)
- kapacita separace (P_c)

Standardy	t_r	t_r RSD [%]	A_s	R_s	k	P_c
Withanosid IV	2,58	0	1,32	7,56	0,46	55,34
Withaferin A	4,33	0,01	1,17	17,42	1,44	48,16
Withanosid V	3,97	0,11	1,40	14,82	0,54	54,19
Withanolid A	4,85	0,08	1,19	8,75	0,88	46,45
Withanon	5,04	0,08	1,24	1,73	0,95	48,16
Withanolid B	6,69	0,08	1,31	15,75	1,59	48,16

Opakovatelnost ploch píků

Opakovatelnost ploch píků	
koncentrační hladina	RSD [%]
1 mg/l	1,09-1,86
5 mg/l	1,15-1,62
20 mg/l	0,20-0,87

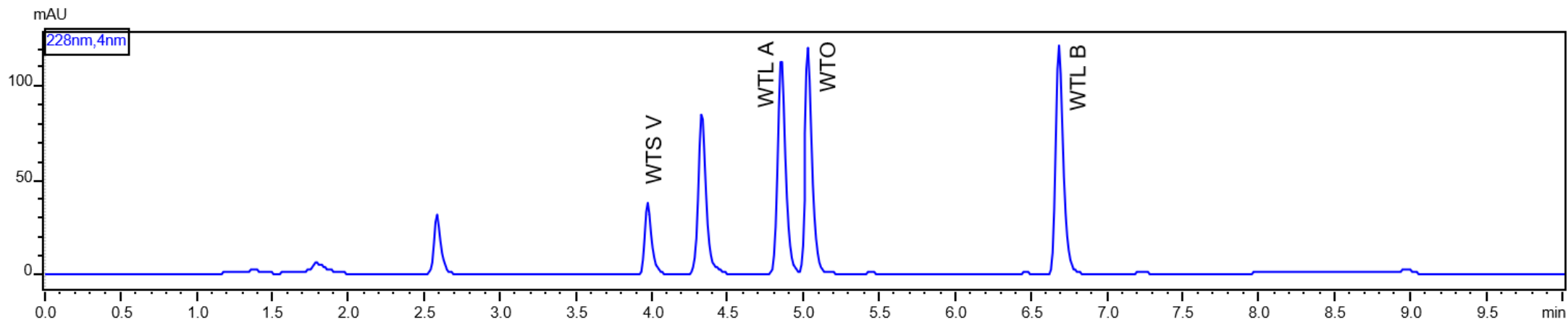
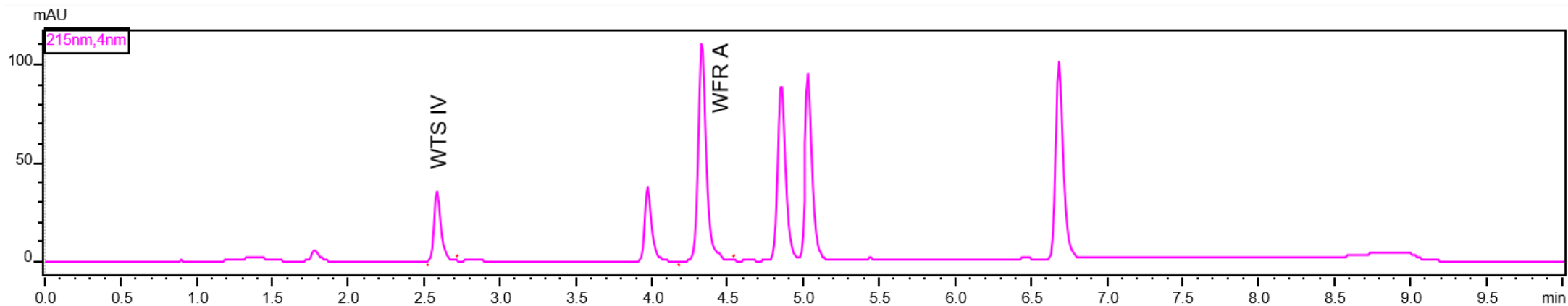
Linearita

- Deset koncentračních hladin standardů v rozmezí **0,25 – 50 mg/l**
- Tři nástřiky z každé koncentrace o objemu 10 µl
- Korelační koeficienty v rozmezí **0,9907- 0,9999**

Preciznost a přesnost

	Přesnost [%]	Preciznost RSD [%]
Withanosid IV	101,06	2,24
Withaferin A	103,24	1,47
Withanosid V	106,41	1,80
Withanolid A	102,13	1,81
Withanon	103,70	1,39
Withanolid B	100,76	2,31

Chromatogramy analyzovaných látek za finálních podmínek

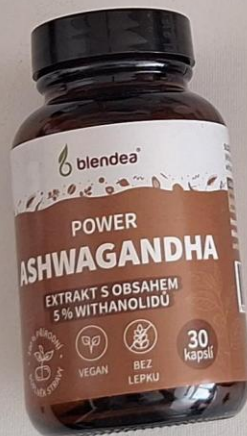


Obsah analyzovaných látek v doplňcích stravy

- Diplomová práce z roku 2025
- Testováno **10** potravních doplňků ve formě kapslí.
- Stanovené množství látek vyjádřeno v miligramech v jedné kapsli.
- Obsah tobolek byl homogenizován, extrahován v 50 % methanolu v ultrazvukové lázni, extrakt následně přefiltrován pomocí PFTE filtru a injekční stříkačky do vialek.

[Vývoj UHPLC metody pro stanovení withanolidů v potravních doplňcích na bázi extraktu z Ashwagandhy | Digitální repozitář UK](#)

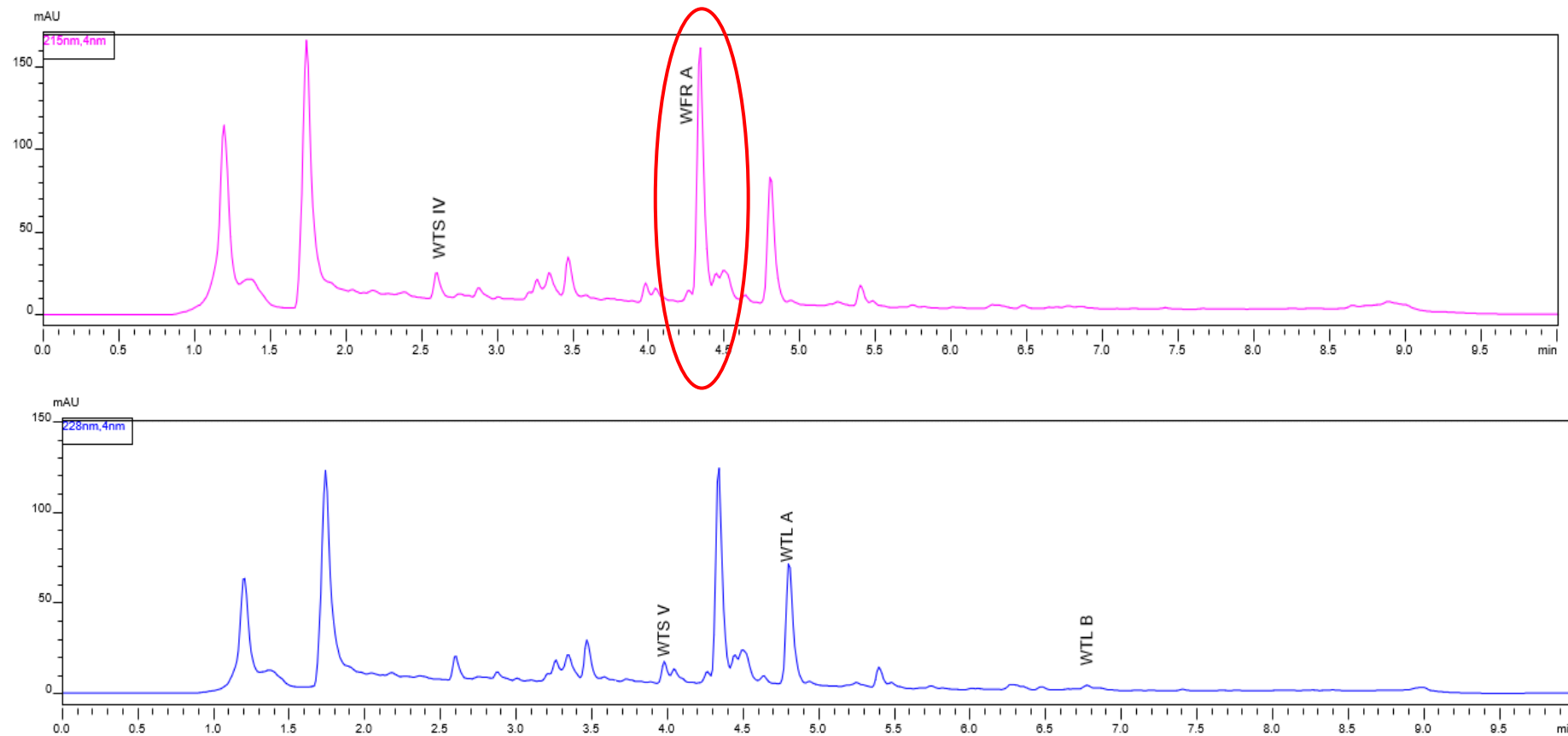




Porovnání obsahu analyzovaných látek s deklarovaným množstvím

	Deklarované množství withanolidů [mg]	Stanovené množství withanolidů v 1 kapsli [mg]	Porovnání s deklarovaným množstvím [%]
	25	8,87	35,48
	21	1,39	6,62
	15	11,05	73,67
	15	0,47	3,13
	22,5	18,65	82,89
	17,5	1,24	7,09
	25	2,53	10,12
	15	0,30	2,00
	25	0,89	3,56
	20	0,00	0,00

Chromatogramy doplňku stravy výrobce xxxxxxxx - Ashwagandha

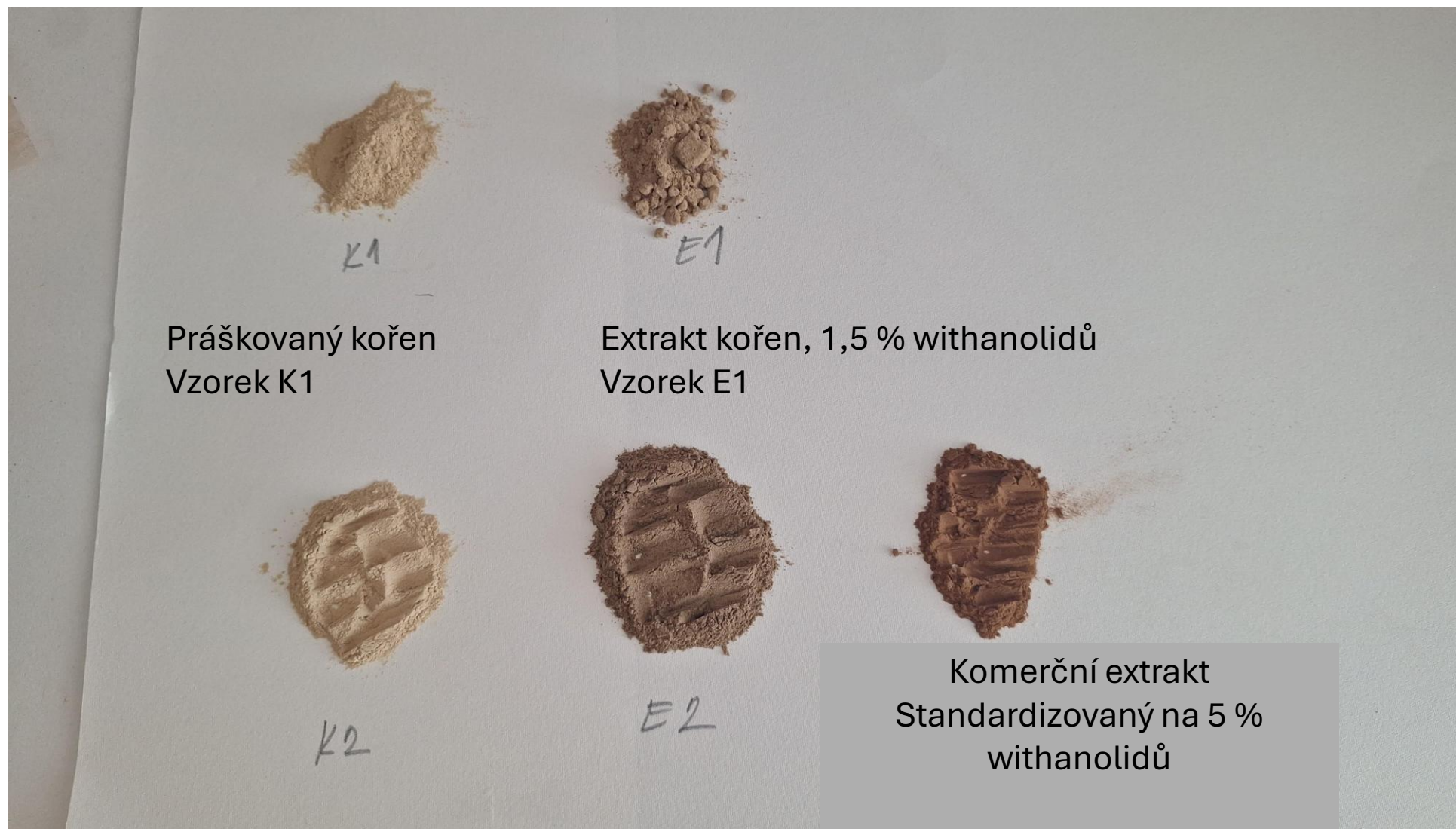


	Withanosid IV [mg]	Withaferin A [mg]	Withanosid V [mg]	Withanolid A [mg]	Withanon [mg]	Withanolid B [mg]	Suma všech látek v kapsli [mg]	% zastoupení Withaferinu v sumě withanolidů
	1,39	5,36	0,47	1,22	0,00	0,42	8,87	60
	0,28	0,38	0,18	0,56	0,00	0,00	1,39	27
	1,75	6,23	0,62	1,49	0,28	0,59	11,05	56
	0,09	0,14	0,00	0,11	0,00	0,12	0,47	30
	2,94	9,21	1,16	4,63	0,00	0,72	18,65	49
	0,25	0,26	0,17	0,41	0,03	0,12	1,24	21
	0,38	0,75	0,18	1,18	0,03	0,00	2,53	30
	0,07	0,07	0,00	0,06	0,00	0,09	0,30	23
	0,21	0,28	0,08	0,24	0,00	0,09	0,89	31
	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	-

KSM-66® is standardized to contain < **0.1% withaferin A.**

	Rostlinná část použita pro extrakci	Množství extraktu [mg]	Withaferin A [mg]	% zastoupení withaferinu v extraktu
	neuvedeno	500	5,36	1,07
	kořen	300	0,38	0,13
	neuvedeno	600	6,23	1,03
	kořen	300	0,14	0,05
	kořen	450	9,21	2,04
	kořen	350	0,26	0,07
	kořen	500	0,75	0,15
	KSM-66	300	0,07	0,02
	KSM-66	500	0,28	0,06
	kořen	400	0,00	-

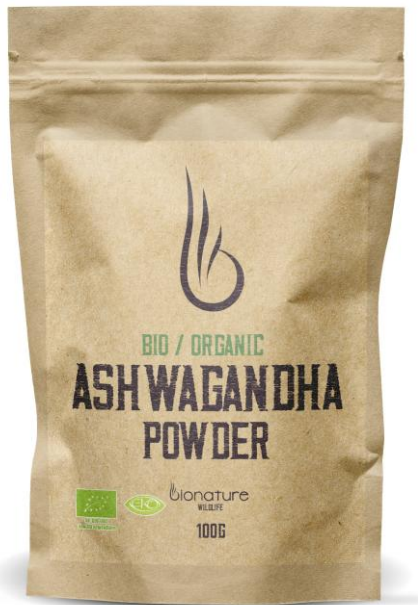
Porovnání vizuálního vzhledu typů produktů z Withánie snodárné



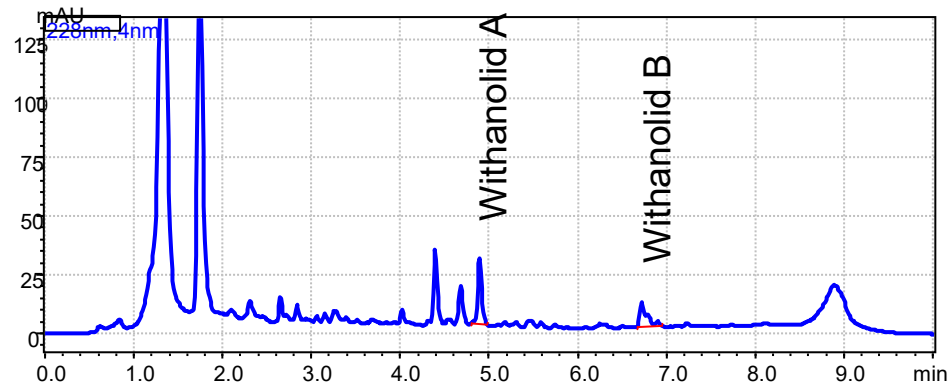
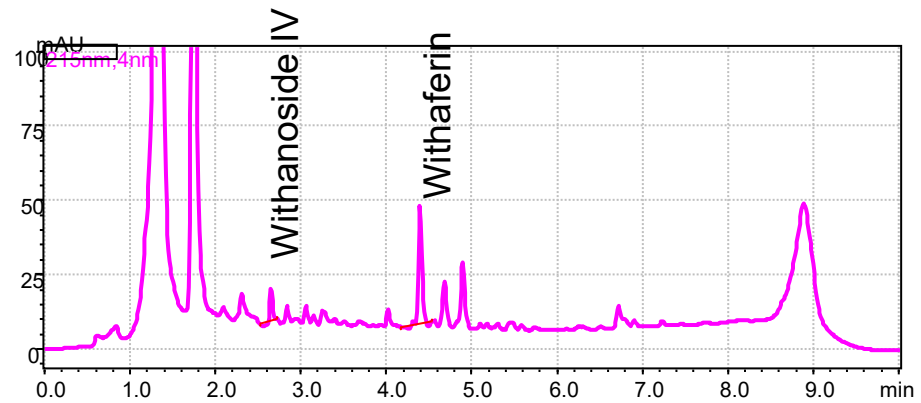
Práškováný kořen
Vzorek K2

Extrakt kořen, 5 % withanolidů
Vzorek E2

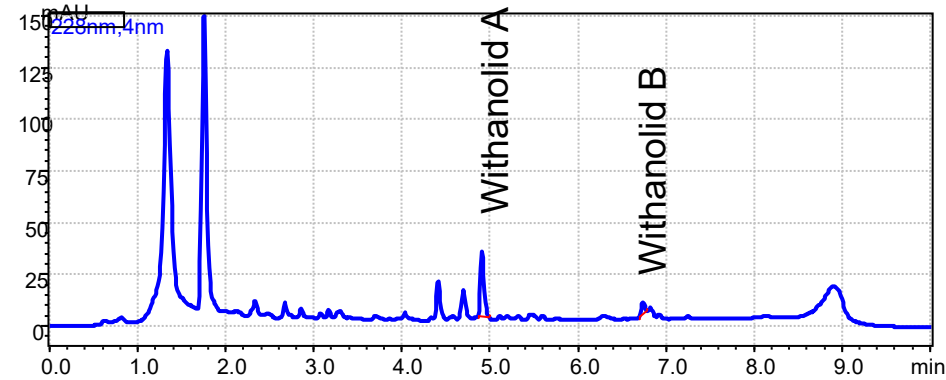
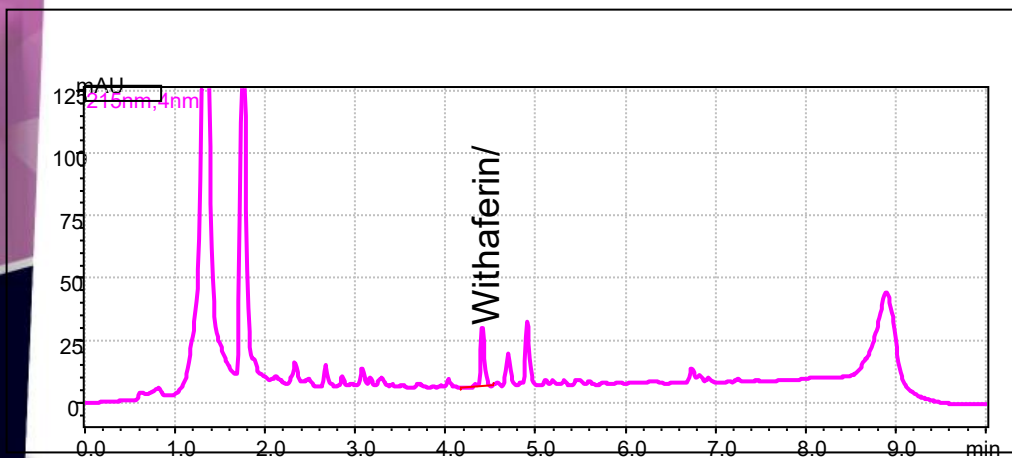
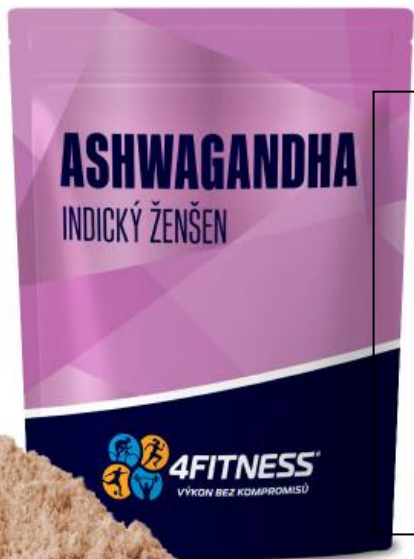
komerční extrakt 5 % withanolidů



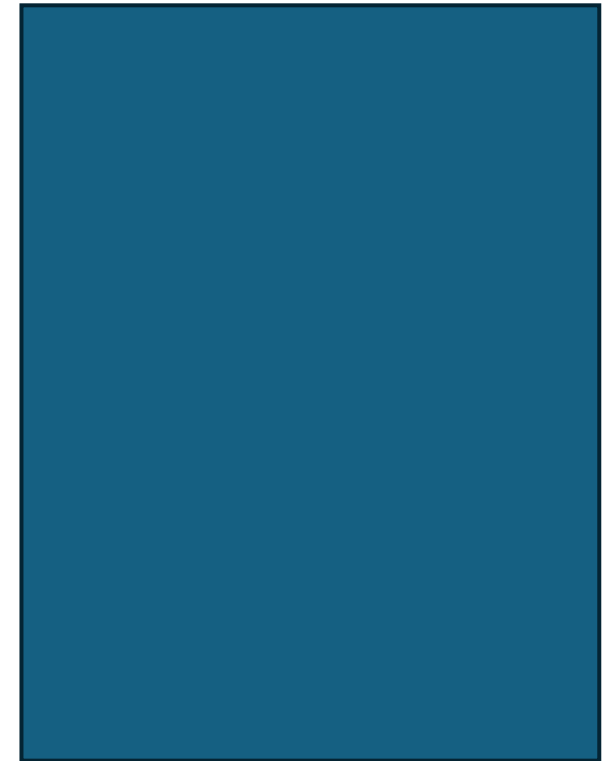
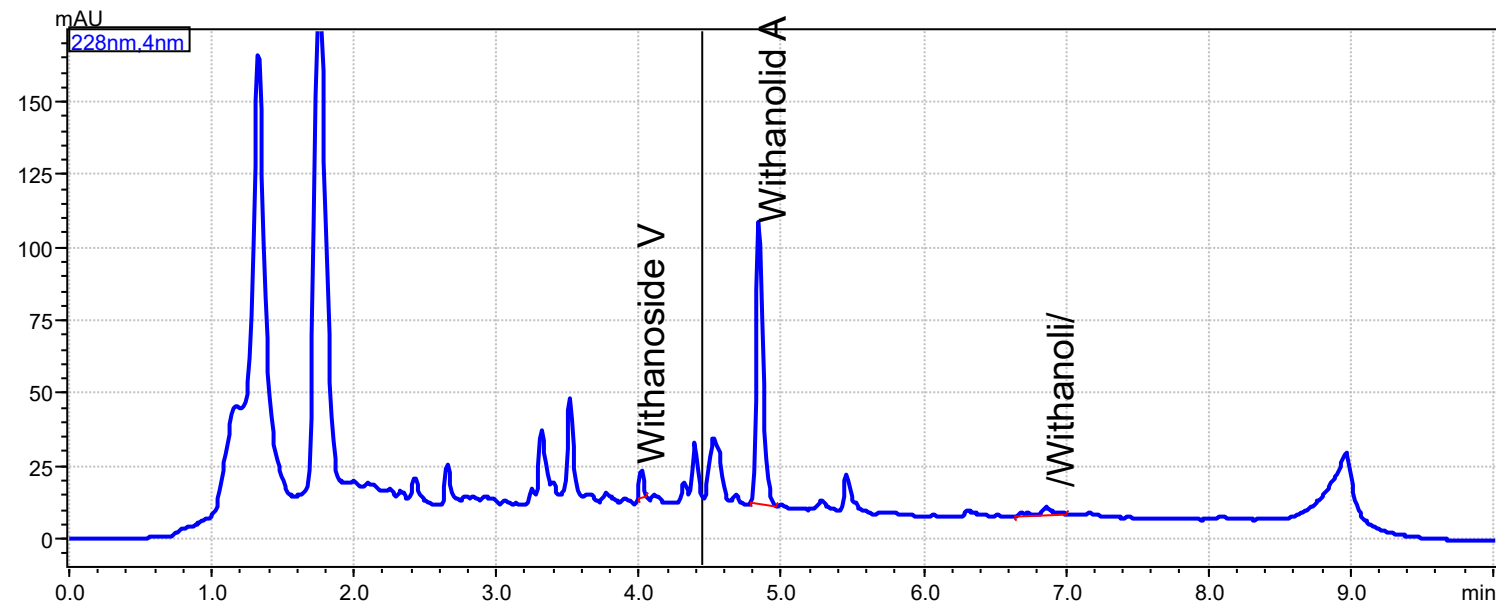
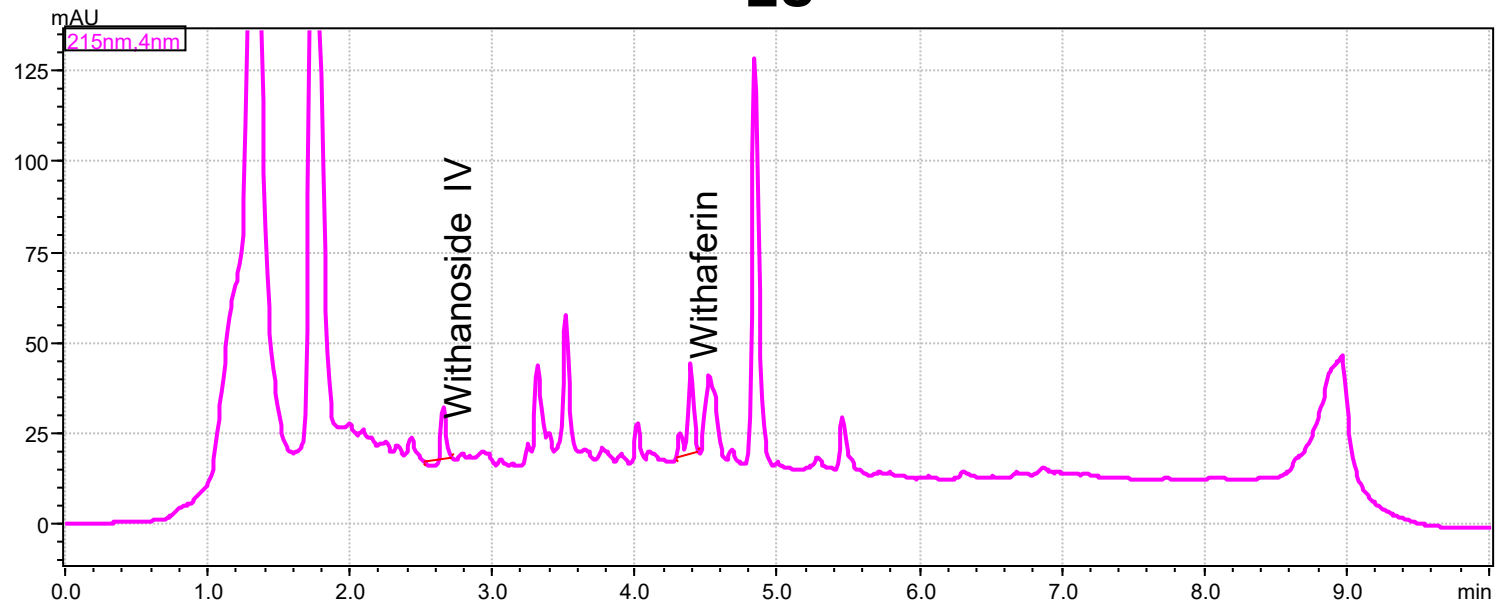
K1



K2

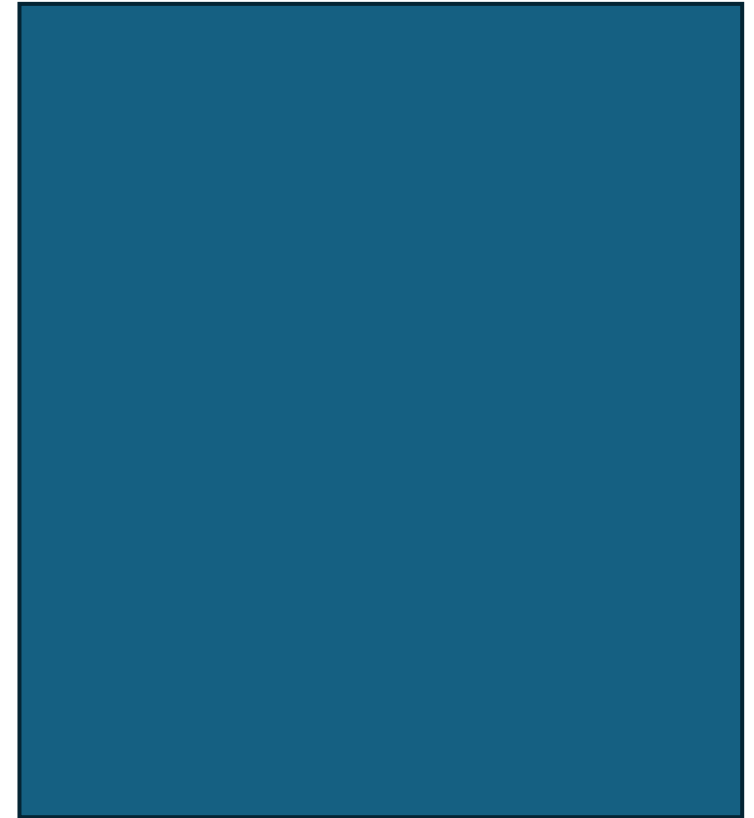
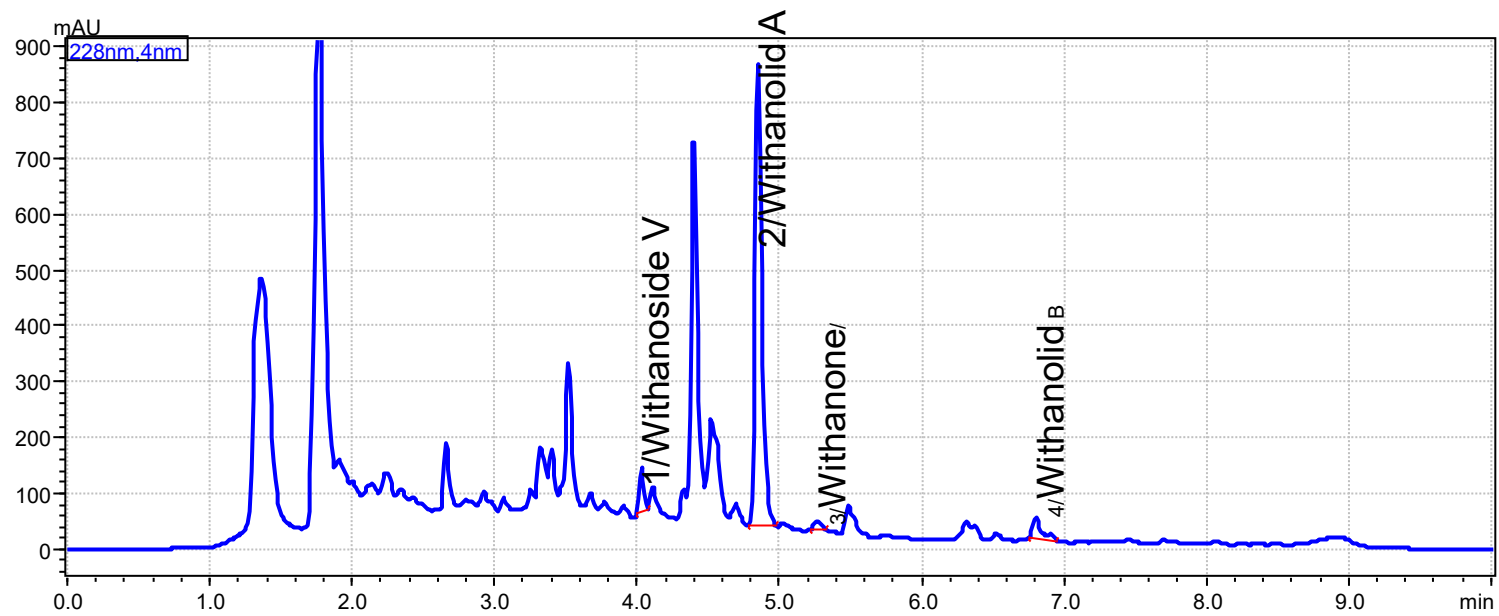
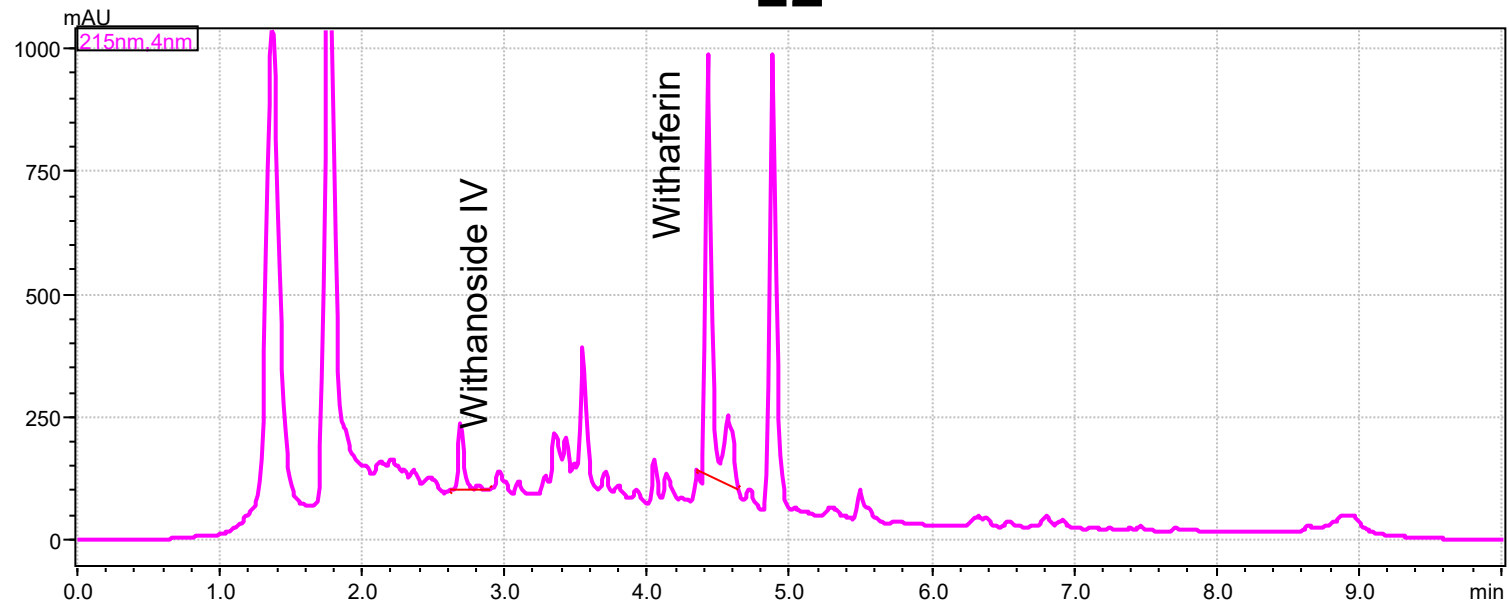


E3



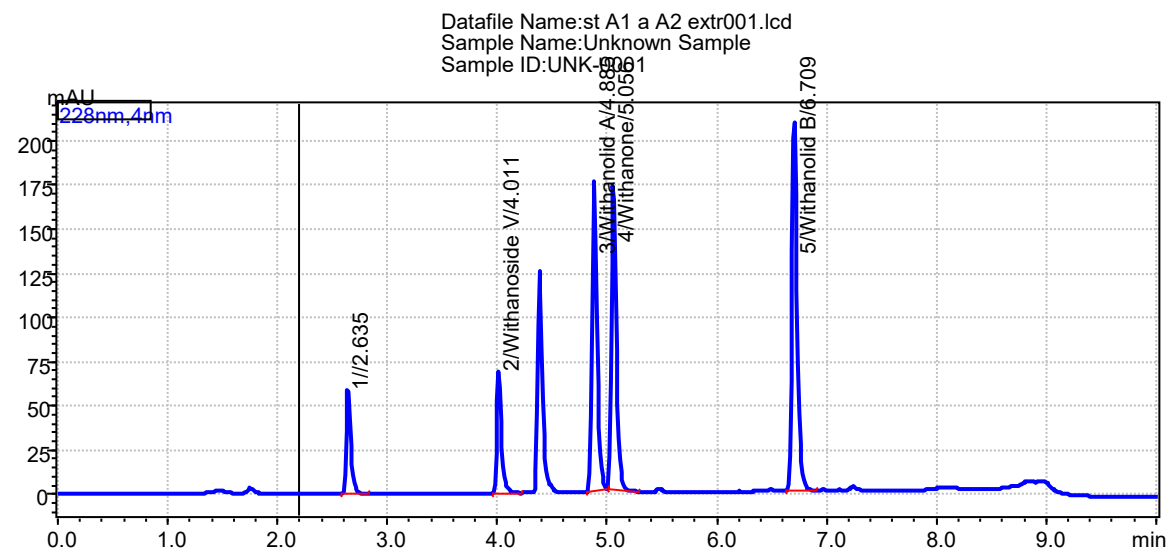
Deklarace 1,5 % withanolidů

E2



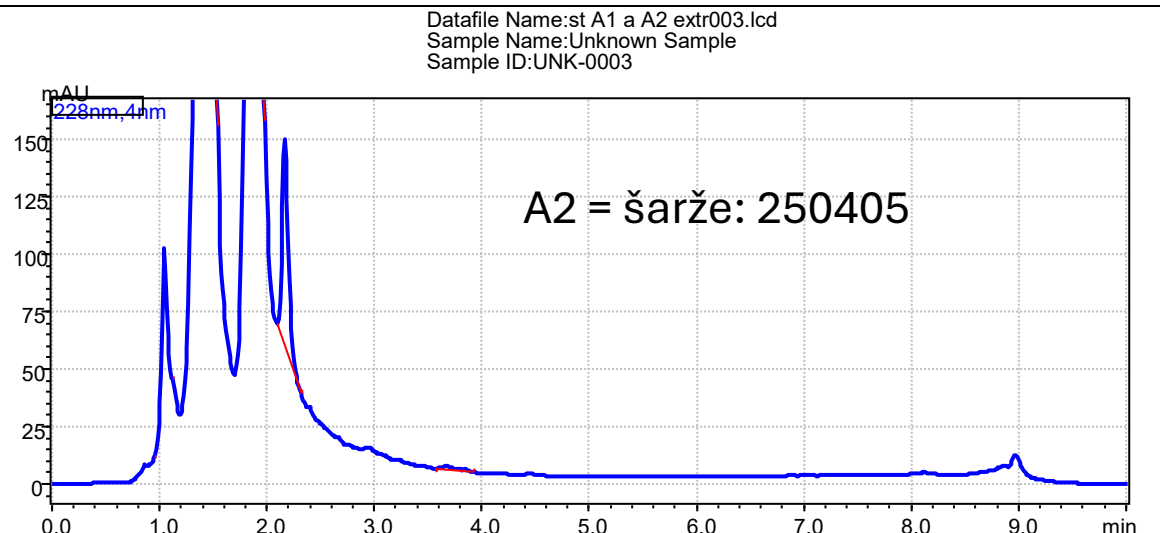
Deklarace 5 % withanolidů

Komerční extrakty dodávané pro výrobu doplňků stravy: standardizace 5 % withanolidů

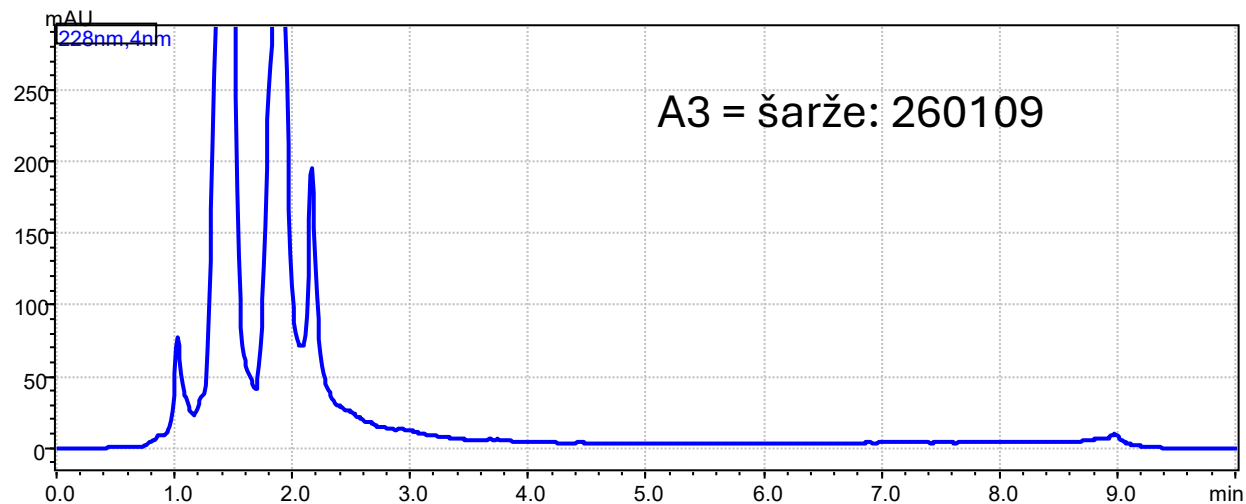


Datafile Name:A3 znovu002.lcd
Sample Name:Unknown Sample
Sample ID:UNK-0002

A3 = šarže: 260109



A2 = šarže: 250405



- Použitá metoda standardizace u komerčního extraktu: **gravimetrie resp. vážková metoda**
- While gravimetry is a cost-effective and straightforward method outlined in the Ayurvedic Pharmacopoeia of India (API), it has a few drawbacks for precise quality control: [\[1\]](#)
 - **Lack of Specificity:** Gravimetry **measures the *total* residue mass** of that specific fraction. It **does not differentiate between individual withanolides** (such as Withaferin A or Withanolide A) **and other co-extracted compounds or impurities that share similar solubility properties.** [\[1, 2\]](#)
 - **Detection Limit:** It is less sensitive than modern chromatographic techniques, requiring a larger sample size to yield a measurable weight
- Analýza UHPLC

Product:	Ashwagandha extract
Batch number:	250405
Manufacture date:	Apr. 5, 2025
Analysis date:	Apr. 11, 2025
Allergen status:	Non-Allergen
Gluten Free:	Yes
Country of Origin:	India
Plant Part:	Root
GMO status:	Non-GMO
BSE/TSE Free:	Yes
Ion-Irradiation:	Non
Botanic Name:	Withania somnifera
Extract Ratio:	25:1

Item	Specification	Result	Method
Active Ingredients			
Withanolides	≥5.0%	5.23%	Gravimetry
Physical Test			
Identification	Positive	Conforms	TLC
Appearance	Brown-yellow fine powder	Conforms	Visual
Odor & Taste	Characteristic	Conforms	Organoleptic
Mesh size	≥90% through 80mesh	Conforms	80mesh screen
Loss on drying	≤10.0%	3.65%	5g/105°C/2hours
Ash	≤10.0%	3.38%	2g/505°C/3hours
Chemical Test			
Arsenic	≤3ppm	Conforms	ICP-MS
Cadmium	≤1ppm	Conforms	ICP-MS
Lead	≤3ppm	Conforms	ICP-MS
Mercury	≤0.1ppm	Conforms	ICP-MS
Heavy metals	≤10ppm	Conforms	ICP-MS

	Product type	Sample content according to label	wt.% Σ withanolides and withanosides according to list of ingredients	
Product 1	Crushed	Ashwagandha root	-	1
Product 2	Pulverized	Ashwagandha root	Deklarováno	1 Skutečnost
Product 3	Pulverized	Ashwagandha root	-	1
Product 4	Capsule	Ashwagandha root	-	1
Product 5	Capsule	Ashwagandha root	-	1
Product 6	Capsule	Ashwagandha root extract	4.7	0.16
Product 7	Capsule	Ashwagandha root extract	2.9	0.08
Product 8	Capsule	Ashwagandha root extract	3.4	0.15
Product 9	Capsule	Ashwagandha root extract	4.8	0.15
Product 10	Capsule	Ashwagandha root extract	3.8	0.12
Product 11	Capsule	Ashwagandha root extract	3.8	0.11
Product 12	Capsule	Ashwagandha root extract	3.1	0.12
Product 13	Capsule	Ashwagandha root extract	3.5	0.1
Product 14	Capsule	Ashwagandha root powder and extract	>1.4 ²	0.16
Product 15	Capsule	Ashwagandha root powder and extract	>4.2 ²	1.32
Product 16	Capsule	Ashwagandha root extract	3.1	1.03
Product 17	Capsule	Ashwagandha root extract	3.7	0.14
Product 18	Capsule	Ashwagandha root extract	4.0	0.09
Product 19	Capsule	Ashwagandha root extract	1.9	0.12
Product 20	Capsule	Ashwagandha root extract	2.5	0.27
Product 21	Capsule	Ashwagandha root extract	6.0	3.31
Product 22	Capsule	Ashwagandha root extract	9.8	0.44
Product 23	Capsule	Ashwagandha root extract	7.4	0.21
Product 24	Capsule	Ashwagandha root extract	4.4	2.04

Determination of Withanolides and Withanosides in Ashwagandha Based Products Using HPLC-Drift-Tube-Ion-Mobility Quadrupole Time-of-Flight Mass Spectrometry

Zellner, L., Wierer, M., Himmelsbach, M., Schatzmann, B., Thalhamer, B. and Klampfl, C.W. (2025), Determination of Withanolides and Withanosides in Ashwagandha Based Products Using HPLC-Drift-Tube-Ion-Mobility Quadrupole Time-of-Flight Mass Spectrometry. **Electrophoresis**, 46: 340-346. <https://doi.org/10.1002/elps.202400188>

RESEARCH ARTICLE

 Open Access



Determination of Withanolides and Withanosides in Ashwagandha Based Products Using HPLC-Drift-Tube-Ion-Mobility Quadrupole Time-of-Flight Mass Spectrometry

[Laura Zellner](#), [Markus Wierer](#), [Markus Himmelsbach](#), [Benjamin Schatzmann](#), [Bernhard Thalhamer](#), [Christian W. Klampfl](#) 

First published: 18 February 2025 | <https://doi.org/10.1002/elps.202400188> |

 VIEW METRICS

Accessibility issue? [Request accessibility update](#).

Funding: This study received the financial support from the European Union within the Interreg project ATCZ52 “infrastructure for metabolomics and medicinal chemistry” for supporting the acquisition of the DT-IM-QTOF-MS instrument.

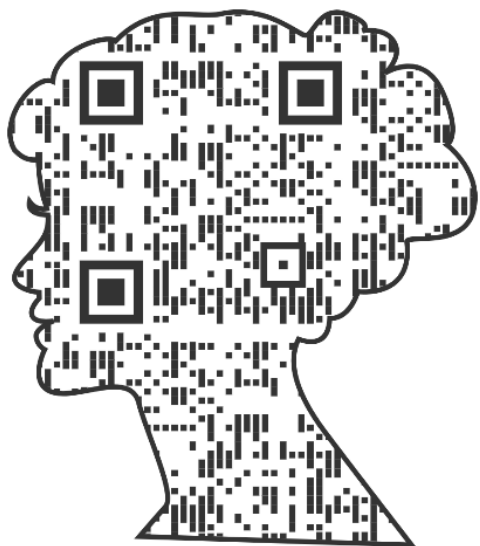
- Our analyses revealed that none of the tested samples complied with the data provided by the manufacturer when it comes to the percentage of withanolides and withanosides present in these formulations. Although some of the products failed by a factor <4 only, the majority showed concentrations of these biologically relevant ingredients which were on average lower by a factor >30 .
- As a consequence, a more thorough quality control of these dietary supplements, particularly when it comes to comparing the actual content in relevant ingredients with that stated by the manufacturer, might be an option for the future.
- Naše výsledky jsou ve shodě se s touto studií.

Jak z toho ven??



**Analýza vstupního materiálu dodávaného pro výrobu DS
.....ale.....**

Drahé standardy, drahá přístrojová technika, drahá práce



Více o přírodních produktech a jejich
problematice na:
luciecahlikova.cz



Děkuji za pozornost!