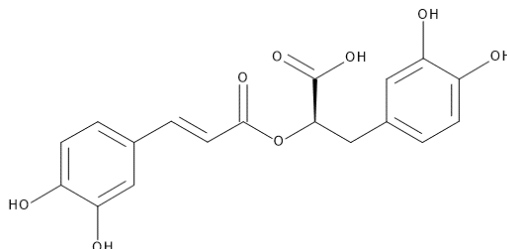


**Orvosi citromfű levéldrog (*Melissae folium*) és étrend-kiegészítő
termékek rozmaringsavtartalmának meghatározása /
*Determination of rosmarinic acid content of melissa leaf drug
(Melissae folium) and food supplements***

1. BEVEZETŐ / INTRODUCTION

Orvosi citromfű levéldrog (*Melissae folium*) és étrend-kiegészítők mennyiségi vizsgálata HPLC-PDA módszer alkalmazásával a minták rozmaringsavtartalmának meghatározása céljából. / *Quantitative analysis of melissa leaf drug (Melissae folium) and food supplement products using HPLC-PDA method for the determination of rosmarinic acid content.*



Rozmaringsav

Rosmarinic 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).*

2. VIZSGÁLT TERMÉKEK / TESTED PRODUCTS

Megrendelő / <i>Client</i>	Indikáció Kft.
Rendelésszám / <i>PO number</i>	24-17

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: Orvosi citromfű levéldrog és étrend-kiegészítők Azonosító / Document ID: VP-MEL-HPLC-001/2024
--	--	---

Terméknév / Product name	Azonosító / Lot number	Vizsgálat dátuma / Date of analysis
Citromfű levél	1467401	2024.03.04.

3. DOKUMENTÁCIÓ / DOCUMENTATION

Dokumentum / Document	Azonosító / ID
Adaptációs jelentés / Adaptation report	AD-MEL-HPLC-01
Monográfia száma / Monograph number	01/2011:1447
HPLC módszer / HPLC method	Citromfu Ph. Eur. v01
HPLC szekvencia / HPLC sequence	Ismételhetoseg-A097-2024.03.04.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.

4. MINTAELŐKÉSZÍTÉS / SAMPLE PREPARATION

4.1. Vizsgálati minta / Test solution

A fényvédelmet biztosítani szükséges (barna lombikok alkalmazása vagy a színtelen lombikok befedése alumínium fóliával! / Light protection must be provided (use brown-glass flasks or cover colorless-glass flasks with aluminum foil!

10 db tabletta porítása és homogenizálása dörzsmozsárban, vagy 10 db kapszula tartalmának homogenizálása dörzsmozsárban, vagy 50 g por, granulátum vagy aprított növényi drog kimérése és homogenizálása dörzsmozsárban. 1 adagolási egységnek megfelelő, vagy 0,100 g por, granulátum vagy aprított növényi drog bemérése 250 ml-es Erlenmeyer lombikba, majd diszpergálása 90 ml 50 %-os etanolban, és vízfürdőn kivonás 30 percig 98 °C-os

hőmérsékleten. Lehűlés után 100,0 ml-es mérőlombikba szűrjük. Az Erlenmeyer lombikot és a szűrőt 10 ml 50%-os etanollal átmoszuk, majd a mérőlombikot jelre állítjuk. Ezután 0,45 µm porusméretű membránszűrőn szűrjük. Három párhuzamos mintát készítünk. / *Powder and homogenize 10 tablets in a mortar or homogenize 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 0.100 g powder, granules or powdered plant drug into a 250 ml Erlenmeyer flask and extract with 90 mL ethanol (50% V/V) for 30 minutes in water bath while at 98 °C. After cooling filter the solution into a 100.0 mL volumetric flask. Rinse the Erlenmeyer flask and the filter with 10 mL of ethanol (50 % V/V), complete to 100 mL with the same solvent. Filter through a membrane filter with a pore size of 0,45 µm. Use the clear supernatant. Three parallel samples are prepared.*

4.2. Referens oldat / Reference solution

Referens oldat (a) / Reference solution (a)

Oldjunk fel 1,0 mg rozmaringsav CRS-t etanolban (50 % V/V), és hígítsuk fel 25,0 ml-re ugyanezzel az oldószerral. / Dissolve 1.0 mg of rosmarinic acid CRS in ethanol (50 per cent V/V) and dilute to 25.0 mL with the same solvent.

Referens oldat (b) / Reference solution (b)

Oldjunk fel 1,0 mg ferulsavat az (a) referens oldatban, és hígítsuk fel 5,0 ml-re ugyanezzel az oldattal. / Dissolve 1.0 mg of ferulic acid in reference solution (a) and dilute to 5.0 mL with the same solution.

5. MÓDSZER / METHOD

5.1. 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:

ReproSil 100 C18 (250x4,6 mm, 5 µm)

Mozgófázis / Mobile phase:A: Foszforsav, acetonitril, víz (1:19:80 V/V/V) / *Phosphoric acid, acetonitrile, water (1:19:80 V/V/V)*B: Foszforsav, metanol, acetonitril (1:40:59 V/V/V) / *Phosphoric acid, methanol, acetonitrile (1:40:59 V/V/V)***6. VIZSGÁLAT / MEASUREMENT****6.1. Analit azonosítása a vizsgálati mintákban / Identification of analyte in test solutions**

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

6.2. 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. Referens oldat (b) (1x) / *Reference solution (b) (1x)*
2. Referens oldat (a) (3x) / *Reference solution (a) (3x)*
3. Vizsgálati minták (1x) / *Test solutions (1x)*

 <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>	VIZSGÁLATI JELENTÉS TEST REPORT TARTALMI MÉRÉS ASSAY HPLC-PDA	Terméknév / Product name: Orvosi citromfű levéldrog és étrend-kiegészítők Azonosító / Document ID: VP-MEL-HPLC-001/2024
--	--	---

7. KIÉRTÉKELÉS / EVALUATION

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

- Felbontás: minimum 4,0 a ferulsav és a rozmaringsav csúcsok között a (b) referens oldatban. / *Resolution: minimum 4.0 between the peaks due to ferulic acid and rosmarinic acid in reference solution (b).*

Rozmaringsavtartalom számolása / *Calculation of rosmarinic acid content:*

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

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

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

m_1 = a vizsgálandó növényi drog tömege, amelyet a vizsgálati oldat elkészítéséhez használtak, grammban kifejezve / *mass of the herbal drug to be examined used to prepare the test solution, in grams*

m_2 = az (a) referens oldat előállításához használt rozmaringsav CRS tömege grammban / *mass of rosmarinic acid CRS used to prepare the reference solution (a), in grams*

p = a rozmaringsav CRS rozmaringsavtartalma / *percentage content of rosmarinic acid in rosmarinic acid CRS*

D = a hígítási faktor az (a) referens oldat és a vizsgálati minta oldatainak térfogata között; $D=4$ / *dilution factor between the volume of reference solution (a) and test solution; $D=4$*

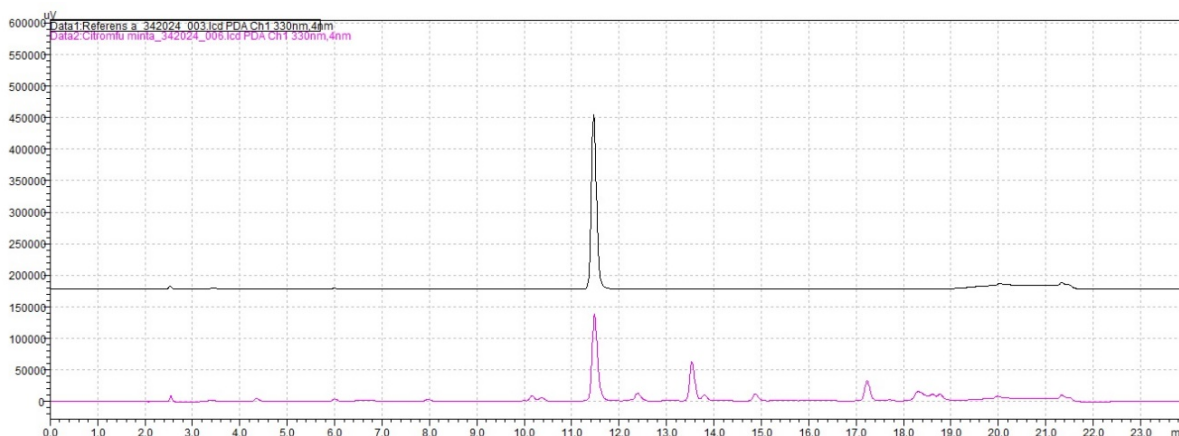
Rozmaringsavtartalom / *Rosmarinic acid content: 1,0%*

8. EREDMÉNYEK / RESULTS

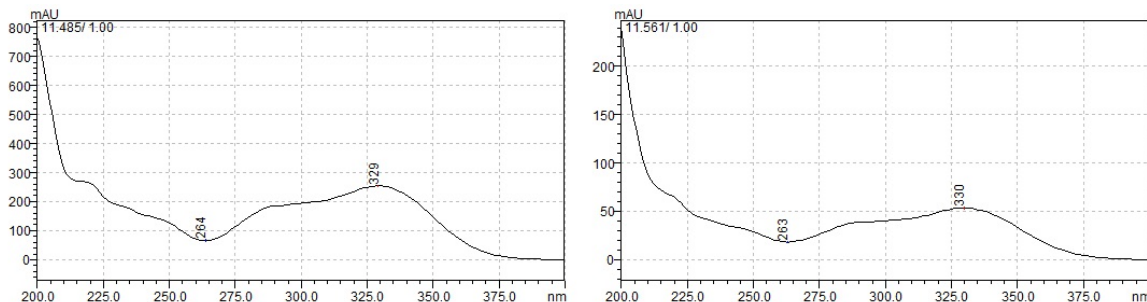
8.1. Rendszeralkalmassági vizsgálatok

Rendszeralkalmassági vizsgálat / System suitability test	
Standard	Rozmaringosav <i>Rosmarinic acid</i>
Tartalom / Content (%)	97.80
Felbontás ferulsav és rozmaringosav között: min. 4,0 <i>Resolution between ferulic acid and rosmarinic acid: min. 4.0</i>	10.265

8.2. Azonosítás / Identification



1. ábra A rozmaringsav standard (fekete) és a Citromfű levél (1467401) minta (rózsaszín) oldatainak HPLC kromatogramja (330 nm hullámhosszon detektálva). / **Figure 1** Chromatogram of solutions of rosmarinic acid standard (black) and Citromfű levél (1467401) sample (pink) (detected at 330 nm).



2. ábra A rozmaringsav standard oldat (bal) és a minta oldatában azonosított rozmaringsav (jobb) UV spektruma / **Figure 2** The UV spectra of rosmarinic acid standard (left) and rosmarinic acid identified in sample solution (right)

8.3. Mennyiségi meghatározás / Quantitative measurement

Gyártási szám Product ID	Bemérés Weighing (g)	Csúcsterület Peak area (mAU)	Tartalom Assay (%)	Átlagtartalom Mean assay (%)	Szórás SD	RSD%
1467401	0.099	1136226	2.23	2.24	0.033	1.5
	0.101	1136600	2.19			
	0.099	1133503	2.22			
	0.099	1145071	2.25			
	0.101	1180588	2.27			
	0.100	1170977	2.27			

A Citromfű levél (1467401) minta rozmaringsavtartalma megfelel az Európai Gyógyszerkönyv (Ph. Eur. 11.5) követelményének (min 1,0%). / The rosmarinic acid content of Citromfű levél (1467401) sample meets the requirement of European Pharmaceutical (Ph. Eur. 11.5) (min. 1.0%).

Szeged, 2024. 03. 14.


.....

Dr. Csupor-Löffler Boglárka Ph.D

Ügyvezető / *Executive Director*

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


.....

dr. Vollár Martin

Gyógyszeranalitikus / *Pharmaceutical analyst*