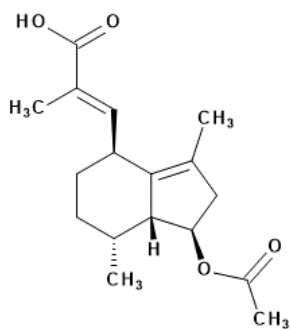


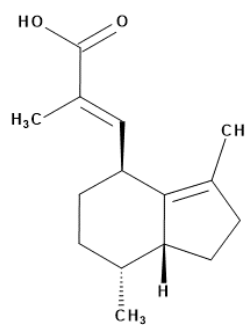
**Valeriána gyökérdrog, aprított gyökérdrog és étrend-kiegészítő  
termékeinek szeszkviterpénsavtartalom meghatározása /  
*Determination of sesquiterpenic acid content of valerian root, cut  
root and food supplements***

**1. BEVEZETŐ / INTRODUCTION**

Valeriána gyökérdrog (*Valerianae radix*), aprított gyökérdrog (*Valerianae radix minutata*) és étrend-kiegészítő termékeinek mennyiségi vizsgálata HPLC-PDA módszer alkalmazásával a minták valerénsavban kifejezett szeszkviterpénsavtartalmának meghatározása céljából. / *Quantitative analysis of valerian root (Valerianae radix), cut root (Valerianae radix minutata) and food supplements using HPLC-PDA method for the determination of sesquiterpenic acid content expressed as valerenic acid.*



Acetoxivalerénsav

*Acetoxyvalerenic acid*

Valerénsav

*Valerenic 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> Valeriana gyökérdrog és étrend-kiegészítő készítmény  <b>Azonosító / Document ID:</b> VJ-VAL-HPLC-001/2024
--	--	--

## 2. VIZSGÁLT TERMÉKEK / TESTED PRODUCTS

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

<b>Terméknév / Product name</b>	<b>Azonosító / Lot number</b>	<b>Vizsgálat dátuma / Date of analysis</b>
Valeriana aprított gyökér / <i>Valerian cut root</i>	1611812	2024.06.03.

<b>Dokumentum / Document</b>	<b>Azonosító / ID</b>
Adaptációs jelentés / <i>Adaptation report</i>	AD-VAL-HPLC-01
Vizsgálati protokoll / <i>Test protocol</i>	VP-VAL-HPLC v01
HPLC módszer / <i>HPLC method</i>	Valeriana Ph. Eur. v01
Monográfia száma / <i>Monograph number</i>	04/2017:0453; 04/2017:2526
HPLC szekvencia / <i>HPLC sequence</i>	A1466-2024.05.21.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

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. 1 adagolási egységnek megfelelő, vagy 1,5 g por, granulátum vagy aprított növényi drog bemérése 100 ml-es Erlenmeyer lombikba, és 65 °C-os vízfürdőn 30 percig 20 ml metanollal kivonjuk. Szűrőpapíron keresztül 50,0 ml-es mérőlombikba szűrjük. A maradékkal visszahelyezzük az Erlenmeyer lombikba, majd 20 ml

<p><b>ACCREDIT<sup>®</sup></b> <b>LABORATÓRIUM</b></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> <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> Valeriana gyökérdrog és étrend-kiegészítő készítmény</p> <p><b>Azonosító / Document ID:</b> VJ-VAL-HPLC-001/2024</p>
--	---	--

metanollal ismét kivonjuk 15 percig. A kivonatot szűrjük az első frakciót tartalmazó mérőlombikba, az Erlenmeyer lombikot és a szűrőpapírt mossuk át metanollal. Ezután a mérőlombikot metanollal 50,0 ml-re hígítjuk, majd a kivonatot 0,45 µm pórusátmérőjű 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 1.5 g powder, granules or powdered plant drug into a 100 mL Erlenmeyer flask and extract with 20 mL methanol for 30 minutes in a water bath at 65 °C. Filter through a paper filter into a 50.0 mL volumetric flask. Place the residue in the Erlenmeyer flask and repeat the extraction with 20 mL methanol for 15 minutes. Filter into the first fraction, rinse the flask and the filter with methanol and dilute to 50.0 mL with methanol. Filter the extract through a membrane filter with pore size of 0.45 µm. Three parallel samples are prepared.*

### 3.2. Standard oldat / Standard solution

0,5 mg valeriánsavnak megfelelő valeriána száraz kivonat HRS bemérése 5,0 ml-es mérőlombikba, szuszpendálása metanolban, majd hígítás 5,0 ml-re. Ultrahanggal 10 percig kivonjuk, majd szűrjük 0,45 µm pórusátmérőjű membránszűrőn. / *Dissolve 0.5 mg of valerian dry extract HRS in methanol and dilute to 5.0 mL with the same solvent. Sonicate for 10 minutes and filter through a membrane filter with pore size of 0.45 µm.*

## 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

<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> Valeriana gyökérdrog és étrend-kiegészítő készítmény</p> <p><b>Azonosító / Document ID:</b> VJ-VAL-HPLC-001/2024</p>
--	---	--

<p>Shimadzu HPLC rendszer / <i>Shimadzu HPLC system:</i></p>	
<p>Detektor / <i>Detector:</i> SPD-M40 PDA Detector</p>	
<p>Rendszervezélő / <i>System controller:</i> CBM-40</p>	
<p>Oszlop termosztáló / <i>Column Oven:</i> CTO-40S</p>	
<p>Pumpa / <i>Pump:</i> LC-40D Solvent Delivery Pump</p>	
<p>Automata mintavevő / <i>Autosampler:</i> SIL-40C Autosampler</p>	
<p>Gáztalanító egység/ <i>Degassing unit:</i> DGU-405</p>	
<p> </p>	
<p>Oszlop / <i>Column:</i></p>	
<p>Kinetex EVO C18 (100x4,6 mm, 2,6 µm)</p>	
<p> </p>	
<p>Mozgófázis / <i>Mobile phase:</i></p>	
<p>A: Acetonitril - 0,5 g/l foszforsav oldat (20:80 V/V) / <i>Acetonitrile - 0.5 g/L solution of phosphoric acid (20:80 V/V)</i></p>	
<p>B: 0,5 g/l foszforsav oldat – acetonitrile (20:80 V/V) / <i>0.5 g/L solution of phosphoric acid – acetonitrile (20:80 V/V)</i></p>	
<p> </p>	
<p>4.2. Módszerleírás / <i>Method description</i></p>	
<p>Áramlási sebesség <i>Flow rate</i></p>	<p>1.4 ml/min</p>
<p>Detektálás <i>Detection</i></p>	<p>teljes UV-tartomány (190-400 nm), 220 nm hullámhosszon specifikálva / <i>the whole UV range (190-400 nm), specified at 220 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>13 perc/ 13 minutes</p>
<p>Injektált mennyiség <i>Injected volume</i></p>	<p>8 µl</p>
<p>Grádiens elúció</p>	<p></p>

*Gradient elution*

<b>Idő [perc]</b> <i>Time [min]</i>	<b>Mozgófázis A%</b> <i>Mobile phase B%</i>	<b>Mozgófázis B%</b> <i>Mobile phase D%</i>
0-2,1	55	45
2,1-7,7	20	80
7,7-9,4	20	80
9,4-11	55	45
11-13	55	45

**5. VIZSGÁLAT / MEASUREMENT****5.1. Analit azonosítása a vizsgálati mintákban / Identification of analyte in test solutions**

A HRS valeriana száraz kivonat gyártói kromatogramjának és a referens oldat mérésével kapott kromatogram összehasonlításával azonosítsuk az acetoxivalerénsav és a valerénsav csúcsait. / *Identify the peaks of acetoxylvalerenic acid and valerenic acid by comparing the manufacturer's chromatogram of HRS valerian dry extract with the chromatogram obtained by measuring the reference solution.*

A vizsgálati oldatban az acetoxivalerénsav és valerénsav azonosítása a referens oldat kromatogramjának összehasonlításával történik a csúcsok retenciós ideje és az UV spektrumok elemzése alapján. / *The identification of acetoxylvalerenic acid and valerenic acid on the chromatogram of test solution is carried out by comparison of the retention time and UV spectra of peaks on the chromatogram due to the reference 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. Referens oldat (3x) / *Reference solution (3x)*

<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> Valeriana gyökérdrog és étrend-kiegészítő készítmény</p> <p><b>Azonosító / Document ID:</b> VJ-VAL-HPLC-001/2024</p>
---	---	--

2. 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:*

- relatív retenció: a valerénsavra vonatkoztatva: acetoxi-valerénsav = kb. 0,5 / *relative retention: with reference to valerenic acid: acetoxvalerenic acid = about 0.5*

Szeszkviterpénsavtartalom számolása / *Calculation of sesquiterpenic acid content:*

$$C (\%) = \frac{(A_1 + A_2) \times m_2 \times p \times D}{A_3 \times m_1}$$

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

$A_2$  = az valerénsav csúcs területe a vizsgálati oldattal kapott kromatogramon / *area of the peak due to valerenic acid in the chromatogram obtained with the test solution*

$A_3$  = a valerénsav csúcs területe a referens oldattal kapott kromatogramon (3 injektálás átlaga) / *area of the peak due to valerenic acid in the chromatogram obtained with the reference solution (mean of 3 injections)*

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

$m_2$  = a referens oldat előállításához használt HRS tömege grammal / *mass of HRS used to prepare the reference solution, in grams*

$p$  = a HRS valerénsavtartalma / *percentage content of valerenic acid in HRS*

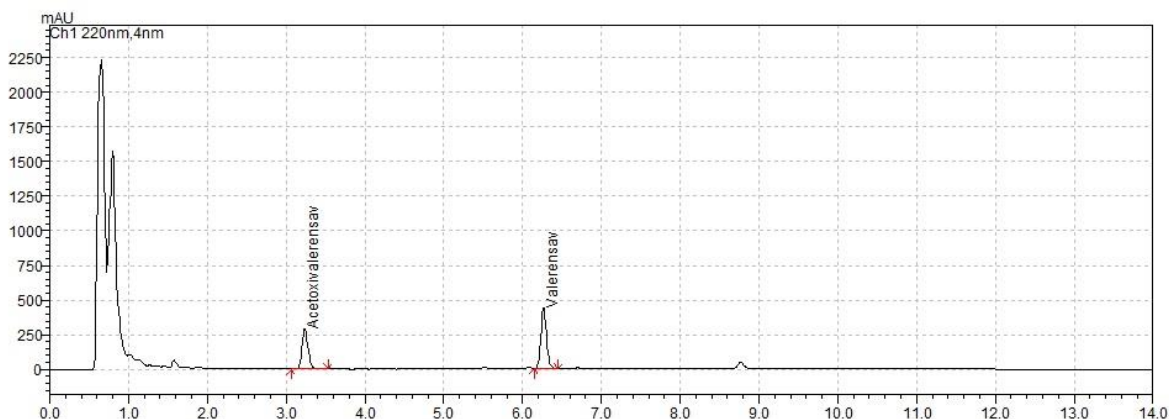
$D$  = a hígítási faktor a HRS és a vizsgálati minta oldatainak térfogata között  $D=10$  / *dilution factor between the volume of HRS solution and test solution  $D=10$*

## 7. KÖVETELMÉNY / REQUIREMENT

Minta <i>Sample</i>	Szeszkviterpénsavtartalom <i>Sesquiterpenic acid content</i>
Egész vagy darabos gyökér <i>Whole or fragmented root</i>	min. 0.17%
Aprított gyökér <i>Cut root</i>	min. 0.10%

## 8. EREDMÉNYEK / RESULTS

### 8.1. Rendszeralkalmassági vizsgálat



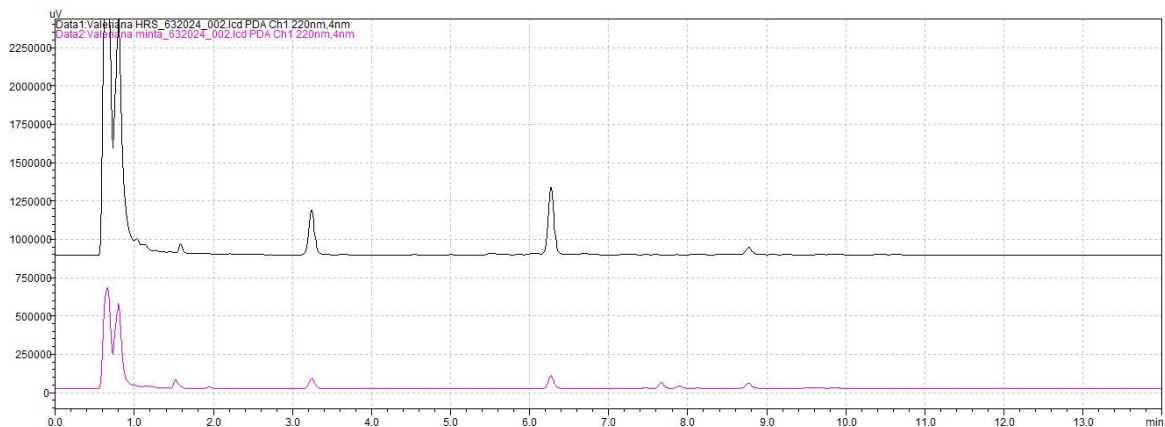
**1. ábra** A HRS referens oldat kromatogramja 220 nm hullámhosszon. Retenciós idők: acetoxivalerénsav: 3,236 perc; valerénsav: 6,260 perc / **Figure 1** Chromatogram of HRS reference solution detected at 220 nm wavelength. Retention times: acetoxivalerenic acid: 3.236 min; valerenic acid: 6.260 min

Rendszeralkalmassági vizsgálat / System suitability test		
Retenciós idő <i>Retention time</i>		Relatív retenció <i>Relative retention</i> ~ 0.5
Acetoxivalerénsav <i>Acetoxivalerenic acid</i>	Valerénsav <i>Valerenic acid</i>	
3.236	6.260	0.5

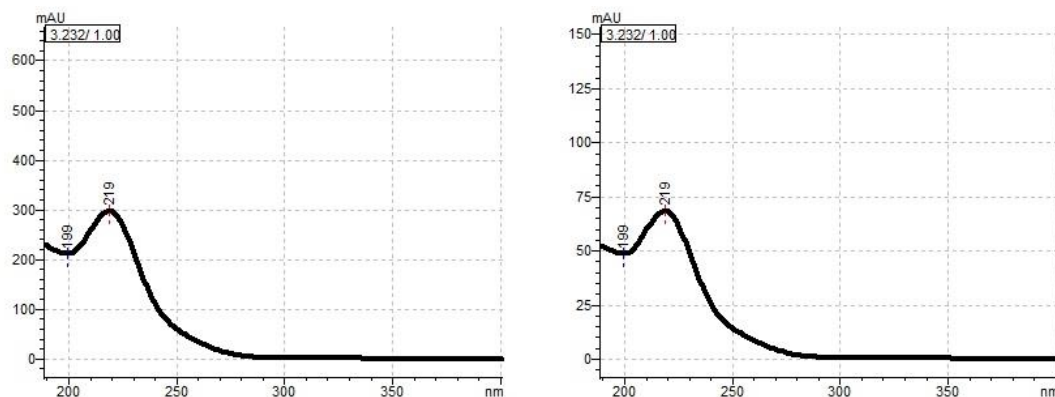


**Következtetés / Conclusion**

A rendszeralkalmassági vizsgálat során felállított paraméter az elfogadási követelménynek megfelelnek. / The parameter set for the system suitability test meet the acceptance criteria.

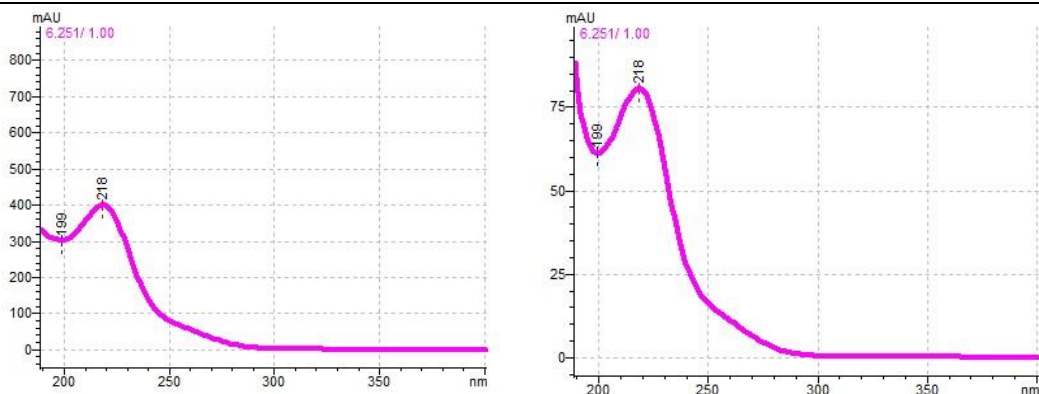
**8.2. Azonosítás / Identification**

**2. ábra** A HRS referens oldat (fekete) és a minta (rózsaszín) kromatogramja 220 nm hullámhosszon detektálva / **Figure 2** The chromatogram of HRS reference solution (black) and test solution (pink) detected at 220 nm wavelength



**3. ábra** Az acetoxivalerénsav UV spektruma: standard (bal), minta (jobb) / **Figure 3** The UV spectra of acetoxyvalerenic acid: standard (left), test sample (right)





4. ábra Az valerénsav UV spektruma: standard (bal), minta (jobb) / *Figure 4 The UV spectra of valerenic acid: standard (left), test sample (right)*

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

Gyártási szám <i>Product ID</i>	Bemérés <i>Weighing</i> (g)	Valerénsavcsúcsterülete <i>Peak area of acetoxyvalerenic acid</i> (mAU)	Acetoxivalerénsav csúcsterülete <i>Peak area of acetoxyvalerenic acid</i> (mAU)	Szeszkviterpénsav- tartalom <i>Sesquiterpenic acids content</i> (%)
1611812	1.499	406418	352744	0.11
	1.499	423211	360985	0.12
	1.499	441884	382096	0.12
	1.499	436862	375993	0.12
	1.499	440013	378801	0.12
	1.499	421464	360611	0.12
Valeriana HRS (B.N.: 4)	0.13515	2244062	Átlag / <i>Mean</i>	0.12
<i>p</i> HRS (%)		0.37	Szórás / <i>SD</i>	0.004
Hígítási faktor / <i>Dilution factor</i>		10	RSD%	3.2

### Következtetés / *Conclusion*

A valeriana aprított gyökér (1611812) minta valerénsavban kifejezett szeszkviterpénsavtartalma megfelel a vágott drog követelményének (min. 0,10%). / *The sesquiterpenic acid content expressed as valerenic acid of valerian cut root (1611812) sample complies to the requirement of cut root drug (min. 0.10%).*

Szeged, 2024. 06. 05.



.....

**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*