

**Orbánfű hajtásdrog és termékeinek minőségi vizsgálata nagy
hatékonyságú vékonyréteg-kromatográfiás módszerrel / *Quality
analysis of St. John's wort drug and products with high
performance thin-layer chromatography***

1. BEVEZETŐ / INTRODUCTION

Orbánfű hajtásdrog (*Hyperici herba*) és termékeinek minőségi meghatározása nagy hatékonyságú vékonyréteg-kromatográfiás vizsgálattal az ujjlenyomat-kromatogramok alapján. / *Quality determination of St. John's wort (Hyperici herba) and products with high performance thin-layer chromatography analysis based on the fingerprint chromatograms.*

A minőségi meghatározás az Európai Gyógyszerkönyv (Ph. Eur. 11.5) szerinti módszer (01/2017:1438) alapján történik. / *Qualitative analysis is carried out according to the method described in the European Pharmacopoeia (01/2017:1438, Ph. Eur. 11.5).*

2. VIZSGÁLT TERMÉKEK / TESTED PRODUCTS

Megrendelő / Client	Indikáció Kft.
Rendelésszám / PO number	23-05

Terméknév / Product name	Azonosító / Lot number	Vizsgálat dátuma / Date of analysis
Orbánfű	40-3-127-0077-19-01-2024	2024.02.21.

3. DOKUMENTÁCIÓ / DOCUMENTATION

Dokumentum / Document	Azonosító / ID
Monográfia száma / Monograph number	01/2017:1438
Vizsgálati protokoll / Test protocol	VP-HYP-HPTLC v01

4. MINTAELŐKÉSZÍTÉS / SAMPLE PREPARATION**4.1. Vizsgálati minta / Test solution**

Dörzszozsárban elporított drogból vagy termékből 0,5 g-ot bemérünk egy 50 ml-es főzőpohárba, majd hozzáadunk 5 ml metanolt és ultrahangos kádban 15 percig kivonjuk, majd szűrjük vagy centrifugáljuk. / Measure 0.5 g of powdered drug or product into a 50 ml beaker, add 5 ml methanol and extract in an ultrasonic bath for 15 minutes, then filter or centrifuge.

4.2. Referencia oldat (a) / Reference solution (a)

Oldjunk fel 2,5 mg hiperozidot és 3,5 mg rutint 10,0 ml metanolban. / Dissolve 2.5 mg of hyperoside and 3.5 mg rutin in 10 mL of methanol.

4.3. Referencia oldat (b) / Reference solution (b)

Hígítsunk 2,5 ml referens oldat (a)-t 10,0 ml-re. / Dilute 2.5 mL of reference solution (a) to 10.0 mL with methanol.

4.4. Referencia oldat (c) / Reference solution (c)

Oldjunk fel 2,5 mg hiperozidot és 3 mg klorogénsavat 10,0 ml metanolban. / Dissolve 2.5 mg of hyperoside and 3 mg of chlorogenic acid in methanol and dilute to 10.0 mL with the same solvent.

<p>ACCREDIT LABORATÓRIUM</p> <p>Székhely: 6725 Szeged, Pálfy u. 52.3 Telephely: 6728 Szeged, Budapesti út 9. Tel.: +36305259395 e-mail: contact@accredit.hu www.accredit.hu</p>	<p>VIZSGÁLATI JELENTÉS TEST REPORT</p> <p>MINŐSÉGI VIZSGÁLAT QUALITY ANALYSIS</p> <p>NHVRK / HPTLC</p>	<p>Terméknév / Product name: Orbánfü hajtasdrog és termékek</p> <p>Azonosító / Document ID: VJ-HYP-HPTLC-001/2024</p>
---	---	---

4.5. 10 g/l-es difenilbórsav aminoetilészter oldat / 10 g/L solution of diphenylboric acid aminoethyl ester

Oldjunk fel 2 g difenilbórsav aminoetilésztert 200 ml metanolban. / Dissolve 2 g of diphenylboric acid aminoethyl ester in 200 ml of methanol.

4.6. 50 g/l-es makrogol 400 oldat / 50 g/L solution of macrogol 400

Oldjunk fel 10 g makrogol 400-at 200 ml metanolban. / Dissolve 10 g of macrogol 400 in 200 ml of methanol.

5. MÓDSZER / METHOD

5.1. Állófázis / Solid phase:

HPTLC szilika gél lemez (2-10 µm) / HPTLC silica gel plate (2-10 µm)

5.2. Mozgófázis / Mobile phase:

Vízmentes hangyasav, víz, etil-acetát (6:9:90 V/V/V) / Anhydrous formic acid, water, ethyl acetate (6:9:90 V/V/V).

5.3. Felvitel / Application:

A lemezt 120 °C-os szárítókemencébe helyezzük 15-20 percre a kondicionáláshoz. 4 µl 8 mm átmérőjű foltban 10 cm magasságú szilika gél lemezre. A lemez szélességét úgy kell meghatározni, hogy felviteli pontok, valamint a szélső felviteli pontok és a lemez széli között 1 cm távolság legyen. / Plates are placed in an oven at 120 ° C for 15 to 20 minutes to perform conditioning. 4 µL as bands of 8 mm on a 10 cm high silica gel plate. The width of the plate should be determined to have a distance of 1 cm between the application points and between the edge of the plate and the edge of the plate.

ACCREDIT LABORATÓRIUM Székhely: 6725 Szeged, Pálffy u. 52.3 Telephely: 6728 Szeged, Budapesti út 9. Tel.: +36305259395 e-mail: contact@accredit.hu www.accredit.hu	VIZSGÁLATI JELENTÉS TEST REPORT MINŐSÉGI VIZSGÁLAT QUALITY ANALYSIS NHVRK / HPTLC	Terméknév / Product name: Orbánfű hajtásdrog és termékek Azonosító / Document ID: VJ-HYP-HPTLC-001/2024
--	--	---

5.4. Detektálás / *Detection:*

A lemezt először szobahőn szárítsuk meg, majd szárítószekrényben 100 °C-on 5 percig hevítjük. Ezután a meleg lemezt permetezzük be vagy mártjuk be difenilbórsav aminoetilészter 10 g/l-es metanolos oldatába; az oldószert hideg levegővel távolítsuk el; permetezzük be vagy mártjuk be a lemezt makrogol 400 50 g/l-es metanolos oldatába, szárítsuk meg levegőn, és 30 perc múlva vizsgáljuk meg ultraibolya fényben 365 nm-en. / *Dry the plate on room temperature, then heat at 100 °C for 5 min. Spray or dip the warm plate in a 10 g/L solution of diphenylboric acid aminoethyl ester in methanol; remove the solvent with cold air; spray or dip the plate in a 50 g/L solution of macrogol 400 in methanol, dry in air and examine after 30 min in ultraviolet light at 365 nm.*

6. VIZSGÁLAT / *MEASUREMENT*

A vékonyréteg lemezre az 1. pontra felvisszük a hiperozid és a klorogénsav referens oldatokat. A 2. pontra felvisszük a hiperozid és a rutin referens oldatokat. A következő pontokra a minták oldatát visszük fel, majd a mozgófázist tartalmazó futtatókádba helyezük. Az eluálás végpontja 3 cm-rel a lemez felső szélének elérése előtt van. / *The application of hyperoside and chlorogenic acid on the TLC plate is carried at point 1. The application of hyperoside and rutin on the TLC plate is carried at point 2. The solutions of the samples are applied to the following spots, then the TLC is placed in the developing chamber containing the mobile phase. The end point of the elution is 3 cm before reaching the upper edge of the plate.*

7. KIÉRTÉKELÉS / *EVALUATION*

A detektálás fejezetben leírt műveletek után a referencia oldattal és a vizsgálati oldattal kapott kromatogramokon a zónák sorrendjét az **1. ábra** mutatja. A vizsgálati oldattal kapott kromatogramon további halvány vagy nagyon halvány fluoreszkáló zónák is jelen lehetnek,

<p>ACCREDIT LABORATÓRIUM</p> <p>Székhely: 6725 Szeged, Pálffy u. 52.3 Telephely: 6728 Szeged, Budapesti út 9. Tel.: +36305259395 e-mail: contact@accredit.hu www.accredit.hu</p>	<p>VIZSGÁLATI JELENTÉS <i>TEST REPORT</i></p> <p>MINŐSÉGI VIZSGÁLAT <i>QUALITY ANALYSIS</i></p> <p>NHVRK / HPTLC</p>	<p>Terméknév / Product name: Orbánfü hajtasdrog és termékek</p> <p>Azonosító / Document ID: VJ-HYP-HPTLC-001/2024</p>
---	---	---

amelyek lehetnek kék, vörös vagy narancssárga színűek, különösen a hipericin és pszeudohipericin okozta vörös zónák felett; a klorogénsav okozta világoskék fluoreszkáló zónát átfedheti a hiperozid okozta sárga vagy narancssárga fluoreszkáló zóna. / *After the operations described in the detection chapter, the sequence of zones present in the chromatograms obtained with the reference solution and the test solution is presented in **Figure 1**. Furthermore, in the chromatogram obtained with the test solution, other faint to very faint fluorescent zones, which may be blue, red or orange-yellow, may be present, especially above the red zones due to hypericin and pseudohypericin; the light blue fluorescent zone due to chlorogenic acid may be overlapped by the yellow or orange fluorescent zone due to hyperoside.*

Rendszeralkalmassági vizsgálat / System suitability test

A kromatogram alsó harmadban 2 különálló zónát mutat, amelyek átfedhetnek. Az alsó zóna (klorogénsav) világoskék fluoreszcenciát, a felső zóna (hiperozid) pedig sárga vagy narancssárga fluoreszcenciát mutat. / *The chromatogram shows 2 distinct zones in the lower third which may, however, be partially overlapping. The lower zone (chlorogenic acid) shows a light blue fluorescence and the upper zone (hyperoside) shows a yellow or orange fluorescence.*

A lemez teteje / Top of the plate

	Piros vagy halvány piros fluoreszcens zóna /1
	2 piros fluoreszcens zóna (hipericin és pszeudohipericin) /2-3
	2 sárga vagy narancssárga fluoreszcens zóna (lehet halvány) /4-5
	Sárga vagy narancssárga fluoreszcens zóna (lehet halvány) /6
Sárga vagy narancssárga fluoreszcens zóna (hiperozid) /R1	Sárga vagy narancssárga fluoreszcens zóna (lehet intenzív) /7
	Világoskék fluoreszcens zóna (lehet halvány) (klorogénsav) /8
Sárga vagy narancssárga fluoreszcens zóna (hiperozid) /R2	Sárga vagy narancssárga fluoreszcens zóna (rutin) /9
Referens oldat / Reference solution	Vizsgálati oldat / Test solution

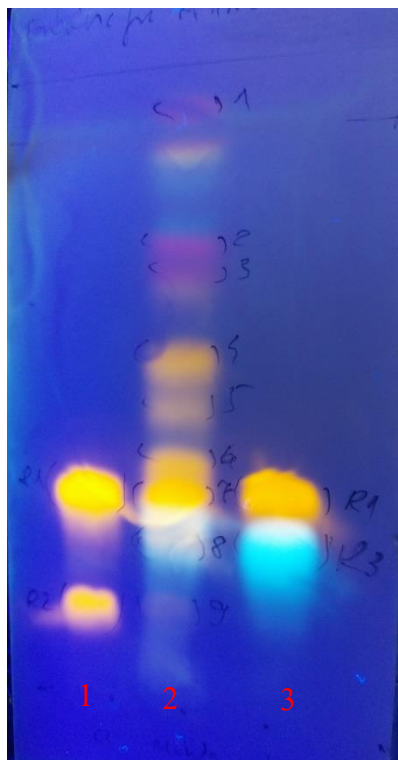
1. ábra A fluoreszkáló zónák sorrendje a referens és a vizsgálati oldatban. / **Figure 1.** The sequence of fluorescent zones in the referent and test solutions

A felviteli sorrend / Order of the application

- 1: hiperozid és rutin standard / *hyperoside and rutin standard*
- 2: Vizsgálati minta / *Test sample*: Orbánfű (40-3-127-0077-19-01-2024)
- 3: hiperozid és klorogénsav standard / *hyperoside and chlorogenic acid standard*

8. EREDMÉNYEK / RESULTS

Az „Orbánfű (40-3-127-0077-19-01-2024)” minta ujjlenyomat-kromatogramja megfelel a gyógyszerkönyvi követelménynek. / *The fingerprint chromatogram of "Orbánfű (40-3-127-0077-19-01-2024)" " sample complies with the pharmacopoeial requirement.*



2. ábra Ujjlenyomat-kromatogram: hiperozid és rutin standard (1), vizsgálati minta (2), hiperozid és klorogénsav standard (3) / **Figure 2.** Fingerprint chromatogram: hyperoside and rutin standard (1), test sample (2), hyperoside and chlorogenic acid standard (3)

Szeged, 2024. 03.01.



Dr. Csupor-Löffler Boglárka Ph.D

Ügyvezető / *Executive Director*

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



dr. Vollár Martin

Gyógyszeranalitikus / *Pharmaceutical analyst*