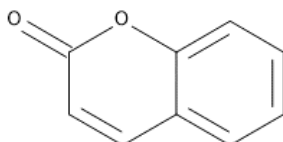


**Orvosi somkóró hajtásdrog (*Meliloti herba*) és termékeinek  
kumarintartalom-meghatározása / *Determination of coumarin  
content of melilot (*Meliloti herba*) drug and products*****1. BEVEZETŐ / INTRODUCTION**

Orvosi somkóró hajtásdrog (*Meliloti herba*) és termékeinek mennyiségi vizsgálata HPLC-PDA módszer alkalmazásával a minták kumarintartalmának meghatározása céljából. / *Quantitative analysis of melilot (*Meliloti herba*) and products using HPLC-PDA method for the determination of coumarin content.*



Kumarin

*Coumarin*

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**

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

<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> Orvosi somkóró hajtásdrog és termékek  <b>Azonosító / Document ID:</b> VJ-SOM-HPLC-002/2024
--	--	---

<b>Terméknév / Product name</b>	<b>Azonosító / Lot number</b>	<b>Vizsgálat dátuma / Date of analysis</b>
Orvosi somkórófü	FD/5816/2	2024.03.27.

### 3. DOKUMENTÁCIÓ / DOCUMENTATION

<b>Dokumentum / Document</b>	<b>Azonosító / ID</b>
Adaptációs jelentés / Adaptation report	AD-SOM-HPLC-01
Monográfia száma / Monograph number	07/2012:2120
HPLC módszer / HPLC method	Somkoro Ph. Eur. v01
HPLC szekvencia / HPLC sequence	A155-2024.03.27.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

10 db tableta 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 g por, granulátum vagy aprított növényi drog bemérése 50 ml-es mérőlombikba, és ultrahangos kádban extrakció 30 percig 40 ml metanollal a vízfürdő 65 °C-os temperálása mellett. Lehűlés után a mérőlombikot metanollal jelre állítjuk, majd a kivonatot centrifugáljuk 10 percig 4000 rpm-en. A tiszta felülúszót használjuk. 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 g powder, granules or powdered plant drug into a 50 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> Orvosi somkóró hajtásdrog és termékek</p> <p><b>Azonosító / Document ID:</b> VJ-SOM-HPLC-002/2024</p>
--	---	---

*volumetric flask and extract with 40 mL methanol for 30 minutes in an ultrasonic bath while the water bath is tempered at 65 °C. After cooling, complete to 50 mL with methanol and centrifuge for 10 minutes at 4000 rpm. Use the clear supernatant. Three parallel samples are prepared.*

#### 4.2. Standard oldat / Standard solution

1,0 mg kumarin CRS bemérése 10 ml-es mérőlombikba, feloldása metanolban, majd hígítás 10,0 ml-re. / Dissolve 1.0 mg of coumarin CRS in methanol and dilute to 10.0 mL with the same solvent.

### 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: 0,5g/l foszforsav oldat/ 0.5 g/L solution of phosphoric acid

B: Acetonitril / Acetonitrile

<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> Orvosi somkóró hajtásdrog és termékek</p> <p><b>Azonosító / Document ID:</b> VJ-SOM-HPLC-002/2024</p>
--	---	---

## 6. VIZSGÁLAT / MEASUREMENT

### 6.1. Analit azonosítása a vizsgálati mintákban / Identification of analyte in test solutions

A minta kivonatában a kumarin azonosítása a standard oldat kromatogramjának összehasonításával történik a csúcsok retenciós ideje és az UV-spektrumok elemzése alapján. / *The identification of coumarin 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. Standard oldat (3x) / *Standard solution (3x)*
2. Vizsgálati minták (1x) / *Test solutions (1x)*

## 7. 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:*

- Kumarin retenciós ideje = kb. 7.8 perc / *Retention time of coumarin = about 7.8 min.*
- Std. oldat csúcsterület relatív szórása (RSD 1-3)  $\leq 2,0\%$  / *Relative standard deviation of peak area of Std. (RSD 1-3) is  $\leq 2.0\%$*
- Std. oldat retenciós idejének relatív szórása (RSD 1-3)  $\leq 2,0\%$  / *Rel. standard deviation of peak retention time of Std. (RSD 1-3) is  $\leq 2.0\%$*

<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> Orvosi somkóró hajtásdrog és termékek</p> <p><b>Azonosító / Document ID:</b> VJ-SOM-HPLC-002/2024</p>
---	---	---

**Kumarintartalom számolás / Calculation of coumarin content:**

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

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

$A_2$  = a kumarin csúcs területe a referens oldattal kapott kromatogramon (3 injektálás átlaga) / *area of the peak due to coumarin 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, grammban kifejezve / *mass of the herbal drug to be examined used to prepare the test solution, in grams*

$m_2$  = a referens oldat előállításához használt kumarin CRS tömege grammban / *mass of coumarin CRS used to prepare the reference solution, in grams*

$p$  = a kumarin CRS kumarintartalma / *percentage content of coumarin in coumarin CRS*

$D$  = a hígítási faktor a kumarin standard és a vizsgálati minta oldatainak térfogata között  $D=5$  / *dilution factor between the volume of coumarin standard solution and test solution  $D=5$*

**Kumarintartalom / Coumarin content: min. 0.3%**

<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> www.accredit.hu</p>	<p>VIZSGÁLATI JELENTÉS <i>TEST REPORT</i></p> <p>TARTALMI MÉRÉS <i>ASSAY</i></p> <p>HPLC-PDA</p>	<p><b>Terméknév / Product name:</b> Orvosi somkóro hajtásdrog és termékek</p> <p><b>Azonosító / Document ID:</b> VJ-SOM-HPLC-002/2024</p>
---	--	---

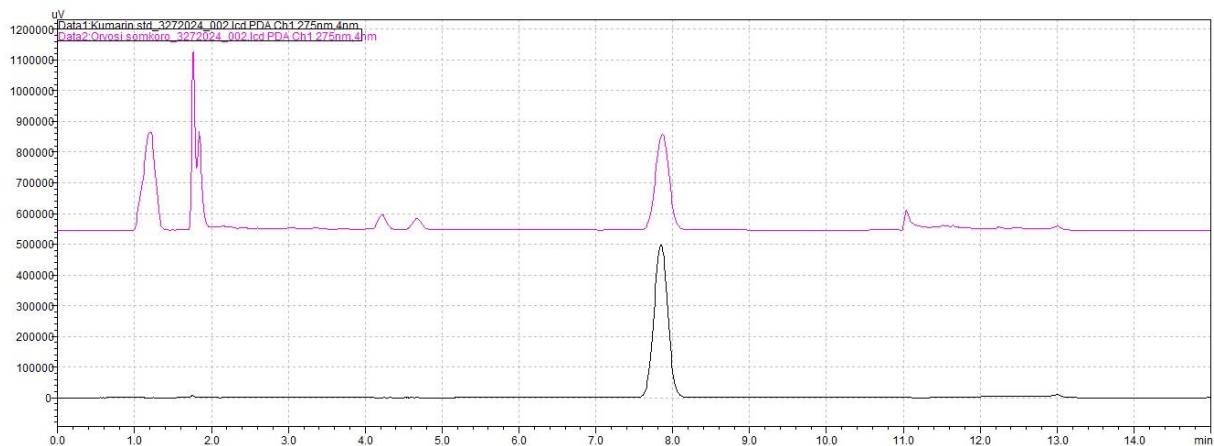
## 8. EREDMÉNYEK / RESULTS

### 8.1. Rendszeralkalmassági vizsgálat

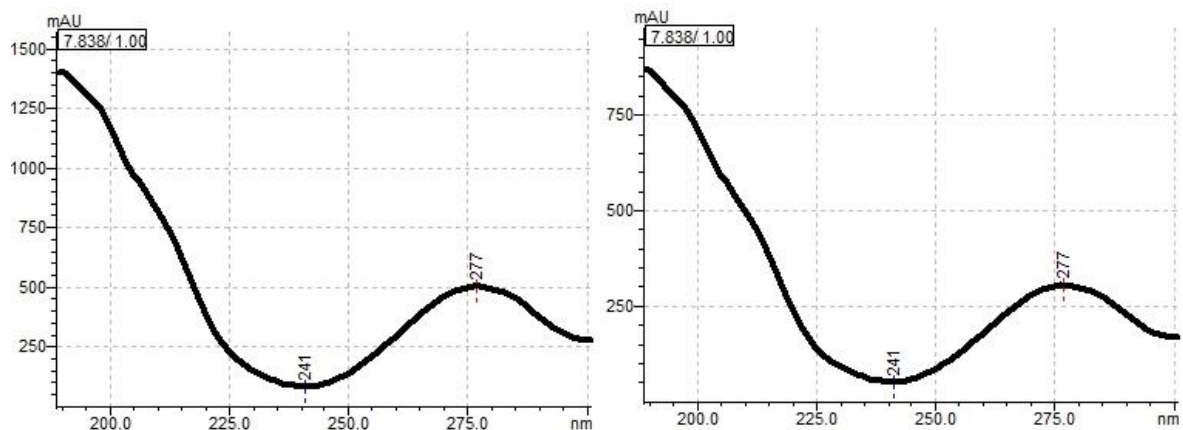
Rendszeralkalmassági vizsgálat / System suitability test		
Standard	Kumarin <i>Coumarin</i>	
Tartalom / Content (%)	100.00	
Injektálás <i>Injection</i>	Std. retenciósi ideje <i>Retention time of Std.</i> (perc / minutes)	Std. csúcsterület <i>Peak area of Std.</i> (mAU)
1	7.759	6261268
2	7.847	6261026
3	7.861	6263082
Átlag / Mean (1-3)	7.822	6261792
Szórás / SD (1-3)	0.055	1124
RSD%	0.7	0.02

Rendszeralkalmassági vizsgálat / System suitability test	
Standard oldat csúcsterület relatív szórása (RSD 1-3) $\leq 2,0\%$ <i>Relative standard deviation of peak area of Std. sol. (RSD 1-3) is <math>\leq 2.0\%</math></i>	0.02
Standard oldat retenciósi idejének relatív szórása (RSD 1-3) $\leq 2,0\%$ <i>Rel. standard deviation of peak retention time of Std. (RSD 1-3) is <math>\leq 2.0\%</math></i>	0.7
Kumarin retenciósi ideje = kb. 7.8 perc <i>Retention time of coumarin = about 7.8 min.</i>	7.8

## 8.2. Azonosítás / Identification



**1. ábra** A kumarin standard (fekete) és az Orvosi somkórófű (FD/5816/2) minta (rózsaszín) oldatainak HPLC kromatogramja (275 nm hullámhosszon detektálva). / **Figure 1** Chromatogram of solutions of coumarin standard (black) and Orvosi somkórófű (FD/5816/2) sample (pink) (detected at 275 nm).



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

<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> www.accredit.hu</p>	<p>VIZSGÁLATI JELENTÉS <i>TEST REPORT</i></p> <p>TARTALMI MÉRÉS <i>ASSAY</i></p> <p>HPLC-PDA</p>	<p><b>Terméknév / Product name:</b> Orvosi somkóró hajtásdrog és termékek</p> <p><b>Azonosító / Document ID:</b> VJ-SOM-HPLC-002/2024</p>
---	--	---

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

Gyártási szám <i>Product ID</i>	Bemérés <i>Weighing</i> (g)	Csúcsterület <i>Peak area</i> (mAU)	Tartalom <i>Assay</i> (%)	Átlagtartalom <i>Mean assay</i> (%)	Szórás <i>SD</i>	RSD%
FD/5816/2	1.000	4398059	0.379	0.4	0.001	0.2
	1.000	4386984	0.378			

Megjegyzés / *Note*: A harmadik mérés eredménye nagymértékben eltér a másik kettő mérés eredményétől, ezért csak két mérés eredménye lett kiértékelve. / *The result of the third measurement is very different from the results of the other two measurements, thus only the results of two measurements were evaluated.*

Az Orvosi somkórófü (FD/5816/2) minta kumarintartalma megfelel az Európai Gyógyszerkönyv (Ph. Eur. 11.5) követelményének (min 0,3%). / *The coumarin content of Orvosi somkórófü (FD/5816/2) sample meets the requirement of European Pharmaceutical (Ph. Eur. 11.5) (min. 0.3%).*

Szeged, 2024. 03. 28.



**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*