

Study on preparation method of new-type notoginseng injury tablets and acute muscle strain treatment

Badanie metody przygotowania tabletek z notoginsengiem nowego typu i leczenia ostrego nadwyrężenia mięśni

DOI: 10.15199/62.2024.4.5

Próbki Notoginseng Radix et Rhizoma sproszkowano, ekstrahowano metanolem, sonikowano w 60°C i wirowano przy 4000 rpm przez 5 min. Ekstrakty przefiltrowano przez membranę i zbadano pod kątem składu chemicznego za pomocą wysokosprawnej chromatografii cieczowej w celu wykrycia zawartości ginsenozydów RG1 i RB1. Wyniki były dokładne i charakteryzowały się dobrą powtarzalnością. Metoda ta była zalecana do kontroli jakości i identyfikacji odmian roślin. Jakość tabletek Sanqi Shangyao została skontrolowana podczas nadzoru i inspekcji. Kłącze drynarii (*Rhizoma Drynariae*) było podstawowym lekiem w tabletkach Sanqi Shangyao z naringiną jako głównym składnikiem. Podano przydatne wskazówki i zalecenia dotyczące zapobiegania i leczenia ostрых urazów mięśni (badania z udziałem studentów i entuzjastów sportu).

Słowa kluczowe: *Panax notoginseng*, preparat, kontrola jakości, zastosowanie, nauczanie wychowania fizycznego

Notoginseng Radix et Rhizoma samples were pulverized, extd. with MeOH, sonicated at 60°C and centrifuged at 4000 rpm for 5 min. The exts. were filtered through a membrane and studied for chem. compn. by high-performance liq. chromatog. to det. the ginsenoside RG1 and RB1 contents. The results were accurate with good repeatability. The method was recommended for the quality control and identification of the plant varieties. The quality of Sanqi Shangyao tablets was well controlled in the supervision and inspection. Rhizoma Drynariae was the main drug in Sanqi Shangyao tablets, with naringin as the main component. The useful guidance and ref. for the prevention and treatment of acute muscle injury, based on serving college students and sports enthusiasts was given.

Keywords: *Panax notoginseng*, preparation, quality control, application, physical education teaching

Jako podstawę formułacji przyjęto chińskie ekstrakty lecznicze. Należy dążyć do standaryzacji surowców i procesów, aby zapewnić stabilność wielu wskaźników chińskich leków i kontrolować wahania zawartości składników oraz zmienność śladów w niewielkim zakresie. Wreszcie, ponieważ przepisywanie *Artemisia ordosica* i trawy skutkowało wysoką toksycznością, test graniczny akonityny był ważnym elementem związanym z bezpieczeństwem zaleceń. Podsumowano go wg poszczególnych standardów kontroli jakości, a do kontroli jakościowej i ilościowej wykorzystano tylko standard 5. Zaproponowano, że inne standardy powinny zostać zmienione w celu dalszego zapewnienia bezpieczeństwa przepisywania leków.

Tradycyjna medycyna chińska i medycyna etniczna są ważne w zapobieganiu i leczeniu chorób oraz w opiece zdrowotnej w Chinach. Kontrola źródeł materiałów leczniczych i procesu zarządzania ich produkcją jest niezbędna do kontrolowania jakości leków końcowych. Istnieje wiele

Chinese medicinal extracts were taken as the basis for formulation and the standardization of raw materials and processes should be gradually achieved to ensure the stability of multi-index transfer rate of Chinese medicinal, and control the fluctuation of index component content and the variation of fingerprint to a small range. Finally, because the prescription of Artemisia ordosica and grass had high toxicity, aconitine limit test was an important item related to prescription safety. It was summarized by individual quality control standards, and only Standard 5 was used for qualitative and quantitative inspection. It was suggested that other standards should be revised to further ensure the safety of the prescription.

Traditional Chinese medicine and ethnic medicine are important for the prevention and treatment of diseases and health care in China. The process control of the sources of medical materials and their production management is necessary to control the quality of final drugs. There are many requirements to establish quality standards of Chinese medicine¹⁻³). Depending on concepts, techniques and methods of pharmaceutical chemistry, the quality

* Address for correspondence/Adres do korespondencji:

School of Physical Education, Shandong University, Ji'nan, Shandong 250061, China; e-mail: liuqiang8892@hotmail.com

wymagań dotyczących ustanawiania standardów jakości medycyny chińskiej¹⁻³). W zależności od koncepcji, technik i metod chemii farmaceutycznej, standardy jakości dla chińskich leków są ustalane zgodnie z metodami nowoczesnej farmakologii. W związku z tym ustalono wskaźniki jakościowe i ilościowe w celu określenia niektórych „składników aktywnych” lub „składników wskaźnikowych” w formułach produktów. Ten model odgrywa ważną rolę w specyficznej chińskiej praktyce farmaceutycznej⁴⁻⁶).

Panax notoginseng (Araliaceae) to roślina, z której otrzymywany jest chiński lek ziołowy wspomagający krążenie krwi i usuwający zastoje krwi. Pierwotnie był używany przez mniejszości etniczne na południowym zachodzie, rozpowszechniony został w czasach dynastii Ming i szeroko stosowany w Chinach od końca XIX w. Zarówno *Panax notoginseng*, żeń-szeń amerykański, żeń-szeń chiński, jak i żeń-szeń koreański są cennymi lekami. Notoginseng, znany również jako Tianqi, to sucha bulwa (Notoginseng Radix et Rhizoma), której właściwości zależą od temperatury; jest słodka i lekko gorzka, nietoksyczna. Dawka kliniczna wynosiła 5–10 g/kg. Lek może mieć postać proszku do bezpośredniego spożycia lub zmieszania z wodą. W takim przypadku dawka wynosi zwykle 1–3 g jednorazowo (zwykle jednak występuje w postaci tabletek zawierających po 500 mg *Panax pseudoginseng*). W *Compendium of Materia Medica* zapisano, że „radix et Rhizoma Notoginseng jest lekiem ziołowym w fazie krwi meridianu Yangming Jueyin do leczenia różnych chorób”. *Panax notoginseng* cieszy się dobrą reputacją w leczeniu chorób krwi, takich jak zastój krwi, krwawienie i niedobór krwi. Radix et Rhizoma Notoginseng to lek usuwający zastoje krwi, zatrzymujący krwawienie oraz łagodzący obrzęki i ból. Jego kontrola jakości była konieczna, zgodnie z metodą analizy *Farmakopei Chińskiej* nr 37, zawartość badawcza⁷⁻⁹).

Głównymi składnikami tabletek na urazy sanqi są notoginseng, drynaria, korzeń kusnezoff monkshood, *Ligusticum wallichii*, krokosz barwierski, oliwnik wąskolistny (*Elaeagnus angustifolia*), korzeń czerwonej piwonii i zedoary, które mają działanie aktywujące krew, usuwające zastoje i łagodzące ból. Stosowany jest głównie w leczeniu urazów kości, reumatyzmu, zastoju krwi, bólów stawów, ostrych i przewlekłych skręceń i stłuczeń lub nerwobólów. Lek ten jest powszechnie stosowany u wielu pacjentów na oddziałach ortopedycznych. Konieczne jest ściśle i skuteczne kontrolowanie jego jakości. W ostatnich latach częstość występowania chorób ortopedycznych wzrasta z różnych powodów. Coraz częstsze stają się również stosowanie tabletek *Panax notoginseng*. Jednak w procesie produkcji leków, ze względu na niespójne standardy jakości wprowadzone przez różnych producentów, występują różnice w skuteczności leków, co nie sprzyja leczeniu pacjentów, a nawet je opóźnia. Ostre urazy mięśni mają często miejsce na zajęciach wychowania fizycznego na uczelniach. Zapobieganie ostrym urazom mięśni, leczenie w nagłych

standards for Chinese medicines are established according to the methods of modern pharmacology. In this respect, the qualitative and quantitative indicators are established to determine some “active components” or “indicator components” in product formulations. This model plays an important role in specific Chinese pharmaceutical practice⁴⁻⁶).

Panax notoginseng is a kind of Chinese herbal medicine to promote blood circulation and remove blood stasis. It was first used by ethnic minorities in the Southwest and was widely accepted in the Ming Dynasty. P. notoginseng, American ginseng, Chinese ginseng and Korean ginseng are valuable medicines. Ginseng is better known than traditional Chinese medicine. Notoginseng, also known as Tianqi, is a dry tuber of Notoginseng Radix et Rhizoma (Araliaceae). Its properties dependent on temperature are sweet and slightly bitter, but non-toxic. The clinical decocting dosage was 5–10 g/kg. The medicine can be ground into powder for direct ingestion or in admixture with water: In this case, the dose is usually 1–3 g per dose (usually in the form of tablets each containing 500 mg of Panax pseudoginseng). It is recorded in Compendium of Materia Medica that “radix et Rhizoma Notoginseng is a herbal medicine in the blood stage of Yangming Jueyin meridian for the treatment of various diseases”. P. notoginseng is a kind of Chinese herbal medicine widely used in China since the end of the 19th century. It enjoys a high reputation in the treatment of blood diseases such as blood stasis, bleeding, and blood deficiency. Radix et Rhizoma Notoginseng is a medicine for removing blood stasis, stopping bleeding, and relieving swelling and pain. Its quality control was necessary, according to the Chinese Pharmacopoeia No. 37 analysis method, research content⁷⁻⁹).

The main components of sanqi injury tablets are notoginseng, drynaria, kusnezoff monkshood root, ligusticum wallichii, safflower, elaeagnus angustifolia, red peony root and zedoary, which have the effects of activating blood, resolving stasis, dredging collaterals and relieving pain. It is mainly used for treating bone injury, rheumatism, blood stasis, arthralgia, acute and chronic sprain and contusion or neuralgia. Panax notoginseng tablets is a commonly used medicine in orthopedics department. There are many patients, so it is necessary to control its quality strictly and effectively. In recent years, the incidence of orthopedic diseases has also been increasing for various reasons. The use of Panax notoginseng tablets is also becoming more and more frequent. However, in the drug production process, due to the inconsistent quality standards implemented by different manufacturers, there are also differences in drug efficacy, which is not conducive to the treatment of patients, or even the delay of serious cases. Acute muscle injury is a common sports injury in the teaching process of physical education classes in universities. The prevention of acute muscle injury, emer-

wypadkach, leczenie po urazie i rehabilitacja po urazie są ważnymi treściami nauczania wychowania fizycznego na uniwersytetach.

Wykazano, że ginsenozyd Rd w *Notoginseng Radix et Rhizoma* i *Ginseng Radix et Rhizoma* hamuje ekspresję indukowalnej syntazy tlenku azotu i tlenku azotu w makrofagach myszy aktywowanych lipopolisacharydem oraz łągodzi uszkodzenia oksydacyjne związane z przyspieszonym starzeniem u myszy. Saponiny zawarte w *Panax notoginseng* (PNS) mają działanie przeciwnadciśnieniowe, przeciwzakrzepowe, przeciwmiażdżycowe i neuroprotektoryjne. PNS hamują wydzielanie kolagenu typu 1, ekspresję i proliferację cytokiny-1 w ludzkich komórkach zwłóknienia nerek. Dlatego mogą one przyczyniać się do zapobiegania i leczenia śródmiąższowego zwłóknienia nerek. Mogą promować indukowane interleukiną-1 różnicowanie i przerzuty szczyrzych komórek nabłonka kanalików nerkowych oraz wydzielanie macierzy zewnątrzkomórkowej w celu zmniejszenia ekspresji aktyny mięśni gładkich i wydzielania fibronektyny. PNS mają szerokie perspektywy zastosowania w zapobieganiu i leczeniu zwłóknienia śródmiąższowego nerek i zaawansowanej choroby nerek. PNS chronią przed nefrotoksycznością wywołaną cisplatyną u myszy poprzez zmniejszenie wewnątrzkomórkowego przeciążenia wolnym Ca^{2+} i tworzenie wiązań międzyłańcuchowych DNA i białek DNA¹⁰.

Saponiny, główne bioaktywne składniki *Notoginseng Radix et Rhizoma*, są szeroko stosowane w leczeniu urazów, chorób sercowo-naczyniowych i przeciwzapalnych. Wiele leków zawiera *Notoginseng Radix et Rhizoma*, w tym tabletki *Notoginseng Radix et Rhizoma*, Yunnan Baiyao, tabletki Fufang Danshen, tabletki *Notoginseng Radix et Rhizoma Traumatological* i tabletki Zihuang. W Azji Wschodniej *Notoginseng Radix et Rhizoma* był stosowany jako lek i żywność funkcjonalna. Ponadto na amerykańskim rynku zdrowej żywności dostępne są różne produkty *Notoginseng Radix et Rhizoma* w postaci suplementów diety. Od czasów starożytnych do dziś *Notoginseng Radix et Rhizoma* dzieli się na „wiosenne qi” i „zimowe qi”. *Panax notoginseng* kwitnie jesienią, wiosenne zbiory odbywają się przed kwitnieniem, a zimowe po wysiewie zimą. Starożytni lekarze wierzyli, że jakość „wiosennego qi” jest lepsza niż „zimowego qi”. *Farmakopea Chińska* i *Farmakopea Stanów Zjednoczonych* zawierają tylko „wiosenne qi”. Identyfikacja wiosennego i zimowego qi pod względem cech morfologicznych jest wyzwaniem, zwłaszcza identyfikacja w stanie sproszkowanym. Ze względu na niską cenę i podobny wygląd „Dong Qi”, doszło do fałszowania *Radix et Rhizoma Notoginseng*. Dlatego ocena jakości ma ogromne znaczenie dla zapewnienia bezpiecznego i skutecznego stosowania. Istnieje jednak niewiele badań dotyczących oceny jakości wiosennego i zimowego qi. Niektórzy badacze opracowali metodę wysokosprawnej chromatografii cieczowej (HPLC) do analizy obu preparatów. Chociaż przebadano 17 aminokwasów, nie było moż-

gęcy treatment, post-treatment, and rehabilitation after injury are all important contents of physical education teaching in universities.

Ginsenoside Rd in Notoginseng Radix et Rhizoma and Ginseng Radix et Rhizoma has been demonstrated to inhibit the expression of inducible nitric oxide synthase and nitric oxide in lipopolysaccharide-activated mouse macrophages and to attenuate aging-related oxidative damage in aging-accelerated mice. The P. notoginseng saponins (PNS) have antihypertensive, antithrombotic, antiatherosclerotic, and neuroprotective effects. Therefore, it is timely to summarize the research results of this important Chinese medicinal material. P. notoginseng saponins inhibit the secretion of type 1 collagen, the expression and proliferation of cytokine-1 in human renal fibrosis cells. Therefore, P. notoginseng saponins may contribute to the prevention and treatment of renal interstitial fibrosis. It can promote interleukin-1-induced differentiation and metastasis of rat renal tubular epithelial cells and secretion of extracellular matrix to reduce smooth muscle actin expression and fibronectin secretion. PNS has a broad application prospect in the prevention and treatment of renal interstitial fibrosis and advanced renal disease. PNS protects cisplatin-induced nephrotoxicity in mice by reducing intracellular free Ca^{2+} overload and the formation of DNA inter-chain and DNA protein crosslinks¹⁰.

Saponins, the main bioactive components in Notoginseng Radix et Rhizoma, are widely used in trauma, cardiovascular disease, and anti-inflammation. Many drugs contain Notoginseng Radix et Rhizoma, including Notoginseng Radix et Rhizoma tablet, Yunnan Baiyao, Fufang Danshen tablet, Notoginseng Radix et Rhizoma Traumatological tablet, and Zihuang tablet. In East Asia, Notoginseng Radix et Rhizoma has been used as medicine and functional food. In addition, a variety of Notoginseng Radix et Rhizoma products are available as dietary supplements in the U.S. health food market. From ancient times till now, Notoginseng Radix et Rhizoma is divided into “spring qi” and “winter qi”. P. notoginseng flowers in autumn, spring harvest before flowering, internal strong, smooth appearance, winter harvest after sowing in winter, internal relaxation, skin wrinkles. Ancient physicians believed that the quality of “spring qi” was superior to that of “winter qi”. The Chinese Pharmacopoeia and the United States Pharmacopoeia include only “spring qi”. Identifying spring and winter qi from the perspective of morphological characteristics is a challenge, especially identifying its powdered state. Due to the low price and similar appearance of “Dong Qi”, there was adulteration of Radix et Rhizoma Notoginseng in the market. Therefore, the quality evaluation is of great significance to ensure its safe and effective use. However, there are few studies on the quality evaluation of “spring spirit” and “winter spirit”. Some researchers have established a high performance liquid chromatography (HPLC) method for the analysis of “spring qi” and

liwe zidentyfikowanie „wiosennego qi” i „zimowego qi”. Porównano szybkość suszenia, gęstość i zawartość pięciu saponin w „Spring Gas” i „Winter Gas” w tym samym czasie zbioru. Jednak wyniki badań były wciąż niezadowolające. Dlatego skuteczna metoda oceny jakości „wiosennego qi” i „zimowego qi” byłaby bardzo znacząca¹¹.

Rozpoznawanie wzorców chemicznych (CPR) jest skutecznym narzędziem do integracji informacji o związkach po analizie. Metody CPR można podzielić na metody nienadzorowane i nadzorowane. Metody nienadzorowane są wykonywane bez wcześniejszej znajomości jakichkolwiek parametrów próbki, w tym atrybutu hierarchicznego grupowania danych (HCA) i atrybutu analizy głównych składowych (PCA). Metoda nadzorowana została zastosowana ze wszystkimi znanymi informacjami o próbce, w tym częściową analizą dyskryminacyjną metodą najmniejszych kwadratów (PLS-DA)¹², ortogonalną częściową analizą dyskryminacyjną metodą najmniejszych kwadratów (OPLS-DA) i sztuczną siecią neuronową (ANN)¹³. Połączenie CPR i HPLC było szeroko stosowane do oceny jakości chińskich materiałów leczniczych, takich jak Cortex Mori i Radix Scutellariae. Zgodnie z najlepszą wiedzą Autorów, stosowanie HPLC-CPR do oceny CQ i DQ nie zostało zgłoszone.

Głównym celem tego artykułu było dostarczenie przydatnych wskazówek i odniesień do zapobiegania i leczenia ostrych urazów mięśni, na podstawie badania studentów i entuzjastów sportu. Opracowano skuteczną metodę oceny CQ i DQ przy użyciu wysokosprawnej chromatografii cieczowej i resuscytacji krążeniowo-oddechowej. Do stworzenia modelu klasyfikacji wykorzystano nienadzorowane (PCA) i nadzorowane (OPLS-DA) metody rozpoznawania wzorców.

Część doświadczalna

Materiały

Wzorce referencyjne dla ginsenozydu RB1 (CHB190131, 98,0%), ginsenozydu RB3 (CHB190103, 98,0%), ginsenozydu RE (CHB160518, 98,0%), ginsenozydu RG1 (CHB190110, 98,0%) i ginsenozydu RH1 (CHB181127, 98,0%) zostały zakupione w Chengdu Chroma. Referencyjne ekstrakty Notoginseng Radix et Rhizoma zostały dostarczone przez Państwową Agencję Żywności i Leków (Pekin). Wysokiej jakości acetonitryl (ACN) i metanol (MeOH) do chromatografii cieczowej zostały zakupione w firmie Merck (Darmstadt, Niemcy). Stosowano wodę oczyszczoną przez Milli-q Water Purification System (MA, USA). Trzydzieści reprezentatywnych próbek pobrano z chińskiego rynku preparatów leczniczych w prowincji Yunnan w Chinach, w tym 27 partii CQ i 8 partii DQ.

Metodyka badań

Zastosowano system HPLC Alliance e2695 (Waters, Milford, MA, USA), w tym system dostarczania rozpuszczalnika z czwartorzędową solą amoniową, detektor

“winter qi”. Although 17 amino acids were studied, it was not possible to identify “spring qi” and “winter qi”. The drying rate, density and contents of five saponins of “Spring Gas” and “Winter Gas” at the same collection time were compared. However, the classification of “spring qi” and “winter qi” was still unsatisfactory. Therefore, an efficient method to evaluate the quality of “spring qi” and “winter qi” would be very meaningful¹¹.

Chemical pattern recognition (CPR) is, as effective tool to integrate the information of compounds behind analysis. It can be divided into unsupervised and supervised methods. Unsupervised methods are performed without knowing any sample attributes in advance, including hierarchical data clustering attribute (HCA) and principal component analysis attribute (PCA). The supervised method was applied with all the known sample information, including partial least squares discriminant analysis (PLS-DA)¹², orthogonal partial least squares discriminant analysis (OPLS-DA), and artificial neural network (ANN)¹³. The combination of CPR and HPLC has been widely used for the quality evaluation of Chinese medicinal materials such as Cortex Mori and Radix Scutellariae. To the best of our knowledge, the use of HPLC-CPR for the evaluation of CQ and DQ has not been reported.

The main purpose of this paper was to provide useful guidance and reference for the prevention and treatment of acute muscle injury, based on serving college students and sports enthusiasts. An effective method for the evaluation of CQ and DQ using high performance liquid chromatography with cardiopulmonary resuscitation was established. Unsupervised (PCA) and supervised (OPLS-DA) pattern recognition methods were used to establish the classification model.

Experimental

Materials

Reference standards for ginsenoside RB1 (CHB190131,98.0%), ginsenoside RB3 (CHB190103,98.0%), ginsenoside RE (CHB160518,98.0%), ginsenoside RG1 (CHB190110,98.0%) and ginsenoside RH1 (CHB181127,98.0%) were all purchased from Chengdu Chroma. Reference extracts of Notoginseng Radix et Rhizoma were provided by the State Food and Drug Administration (Beijing). High performance liquid chromatographic grade acetonitrile (ACN) and methanol (MeOH) were purchased from Merck (Darmstadt). The water is purified by the Milli-q Water Purification System (MA, USA). Thirty representative samples were collected from the Chinese Medicinal Materials Market in Yunnan Province, China, including 27 batches of the CQ and 8 batches of the DQ.

Methods

An Alliance e2695 HPLC system (Waters, milford, MA, USA) was used, including a quaternary ammonium salt solvent delivery system, photodiode array detector (PDA),

z matrycą fotodiodową (PDA), detektor kolumny temperaturowej i autosampler. Wszystkie izolaty otrzymano w kolumnie Shiseido Capcell PAK C18 ACR (3,0 mm × 250 mm, 3 μm). Faza ruchoma składała się z ACN (A) i wody (B). Elucję gradientową przeprowadzono przy 0–10 min/5–20% A, 10–20 min/20–23% A, 20–29 min/23–29% A, 29–45 min/29–55% A. Objętość wtrysku i szybkość przepływu ustawiono na odpowiednio 5 μL i 0,5 mL/min. Temperatura kolumny wynosiła 25°C, a długość fali detekcji 203 nm. Wszystkie próbki *Notoginseng Radix et Rhizoma* zostały sproszkowane i przefiltrowane przez sito o oczkach 50. Dokładnie masę 0,6 g proszku próbki przeniesiono do kolby stożkowej o pojemności 100 mL, potraktowano roztworem MeOH (50 mL, stężenie 70% obj.) i poddano działaniu ultradźwięków w temp. 60°C przez 60 min. Następnie dodano roztwór MeOH (70% obj.) w celu skompensowania utraty masy podczas ekstrakcji. Ekstrakt odwirowywano przy 4000 rpm przez 5 min, a na koniec supernatant przefiltrowano przez membranę o grubości 0,22 mm. Podczas walidacji ten sam roztwór próbki został wstrzyknięty 6 razy kolejno tego samego dnia w teście precyzji. Względne odchylenie standardowe czasu retencji i powierzchni pików (20 wspólnych pików) wynosiło odpowiednio 0,02–0,04% i 0,50–1,49%. W teście powtarzalności 6 niezależnych próbek wstrzyknięto i wyekstrahowano równolegle tego samego dnia. Względne odchylenie standardowe czasu retencji i powierzchni pików (20 wspólnych pików) wynosiło odpowiednio 0,02–0,07% i 1,67–2,96%. W teście stabilności roztwór próbki umieszczono w temperaturze pokojowej na 0, 2, 4, 8, 12, 24 i 48 h przed pobraniem próbki. Względne odchylenie standardowe czasu retencji i powierzchni pików (20 wspólnych pików) wynosiło odpowiednio 0,02–0,07% i 0,50–2,84%. Wyniki potwierdziły stabilność próbki i wiarygodność metody.

Przetwarzanie danych

Najpierw zebrano i zintegrowano piki. Następnie dane zostały znormalizowane przy użyciu transformaty Z-score (oprogramowanie SPSS 20.0 IBM, Chicago, USA). Na koniec wygenerowano macierz danych o wymiarach 35 (próbka) × 20 (skład chemiczny) do późniejszej analizy głównych składowych i analizy OPLS-DA (oprogramowanie SIMCA-p14.0 Umetrics AB, Umea, Szwecja). Zarówno PCA, jak i OPLS-DA były szeroko stosowane w analizie wielowymiarowej. Analiza składowych głównych (PCA) była szeroko stosowana do zmniejszenia wymiaru oryginalnego zestawu danych w celu wyjaśnienia korelacji między liczbą zmiennych a niewielką liczbą potencjalnych czynników (składowa główna, PC), podczas gdy analiza OPLS-DA koncentrowała się na klasyfikacji próbek i różnicach między próbkami, z większym potencjałem grupowania, modelowania i analizy. W przypadku zastosowania nadzorowanej metody rozpoznawania wzorców, próbki były zazwyczaj dzielone na zestaw szkoleniowy i zestaw testowy. Rolą zestawu szkoleniowego było ustanowienie

*temperature column detector, and autosampler. All isolates were performed on a Shiseido Capcell PAK C18 ACR column (3.0 mm × 250 mm, 3 μm). The mobile phase consisted of ACN (A) and water (B). Gradient elution was performed at 0–10 min/5–20% A, 10–20 min/20–23% A, 20–29 min/23–29% A, 29–45 min/29–55% A. The injection volume and flow rate were set to 5 μL and 0.5 mL/min, respectively. The column temperature was 25°C and the detection wavelength was 203 nm. All *Notoginseng Radix et Rhizoma* samples were pulverized and filtered with 50-mesh sieve. Accurately mass 0.6 g of sample powder was transferred to a 100 mL conical flask, treated with MeOH solution (50 mL, concentration 70% by volume), and sonicated at 60°C for 60 min. Then, MeOH solution (70% by volume) was added to compensate the mass loss during extraction. The extract was centrifuged at 4000 rpm for 5 min and finally the supernatant was filtered through a 0.22 μm membrane. During validation, the same sample solution was injected 6 times consecutively on the same day in the precision test. The relative standard deviation of the retention time and peak areas of the 20 common peaks was 0.02–0.04% and 0.50–1.49%, respectively. In a repeatability test, 6 independent samples were injected and extracted in parallel on the same day. The relative standard deviation of the retention time and peak areas of the 20 common peaks was 0.02–0.07% and 1.67–2.96%, respectively. In stability test, the sample solution was placed at room temperature for 0, 2, 4, 8, 12, 24, and 48 h before sampling. The relative standard deviation of the retention time and peak areas of the 20 common peaks were 0.02–0.07 and 0.50–2.84%, respectively. The results confirmed stability of the sample and reliability of the method.*

Data processing

First, the peaks were collected and integrated. Then the data were normalized using the Z-score transform (SPSS 20.0 software IBM, Chicago, USA). Finally, a data matrix of dimension 35 (sample) × 20 (chemical composition) was generated for subsequent principal component analysis and OPLS-DA analysis (SIMCA-p14.0 software Umetrics AB, Umea). Both PCA and OPLS-DA were widely used in multivariate analysis. Principal component analysis (PCA) was widely used to reduce the dimension of the original data set to explain the correlation between the number of variables and a small number of potential factors (principal component, PC). While OPLS-DA focused on sample classification and differences between samples, with greater potential for grouping, modeling, and analysis. When a supervised pattern recognition method was used, the samples were generally divided into a training set and a test set. The role of the training set was to establish a judgment model, and the role of the test set was to verify the judgment and prediction accuracy of the model.

modelu oceny, a rolą zestawu testowego była weryfikacja oceny i dokładności przewidywania modelu.

Do analizy i opisu wszystkich badanych próbek wykorzystano analizę składowych głównych. Analiza PCA została przeprowadzona z wykorzystaniem macierzy danych 35 (próbka) × 20 (skład chemiczny). Na podstawie uzyskanych wartości własnych wybrano składową główną (PC), a pierwsze trzy PC odpowiadały za 76,9% całkowitej wariancji, co było wystarczające do opisanie zmienności. Współczynnik walidacji krzyżowej Q^2 (cum) = 0,415 wskazywał, że model był uzasadniony i miał dobrą zdolność analizy i przewidywania. Wyniki pokazały, że próbki CQ i DQ można początkowo podzielić na 2 grupy, co wskazuje, że zawartość 20 wspólnych pików w obu grupach była różna. Nadzorowane metody rozpoznawania wzorców były wymagane do identyfikacji określonych składników chemicznych, które mogły powodować różnice w jakości.

Właściwości biologiczne *Notoginseng Radix et Rhizoma* były dalej oceniane przez OPLS-DA. Trzydzieści partii próbek zostało losowo podzielonych na 2 grupy (próbki szkoleniowe i próbki testowe). Probki S1–S25 zostały użyte jako zestaw szkoleniowy, w tym 20 partii CQ i 5 partii DQ, a S26–S35 zostały użyte jako zestaw testowy. R2X, R2Y i Q2 były powszechnie używane do oceny wiarygodności modeli OPLS-DA. Na poziomie ufności 95% skumulowany wkład R2X (cum) 0,731, R2Y (cum) 0,882 i walidacji krzyżowej Q^2 (cum) wyniósł 0,719 w modelu OPLS-DA. Dlatego też, w porównaniu z analizą głównych składowych, mógł on wyjaśnić wariancję większości danych i miał większą zdolność dopasowywania i przewidywania. Oddzielenie CQ i DQ zostało wyraźnie zaobserwowane na wykresach wyników 2D. Następnie przeprowadzono 200 testów permutacyjnych w celu przetestowania odporności i zdolności przewidywania modelu.

Określanie wskaźników kontroli jakości składników tabletek Sanqi Shangyao

Aby skuteczniej kontrolować jakość ginsenozydu RB1 w tabletkach Sanqi Shangyao, poprawiono jakościową identyfikację ginsenozydu RB1 za pomocą TLC. Innymi słowy, przeprowadzono pobieranie próbek ginsenozydu RB1, RG i notoginsenozydu R na tej samej płytce z żelazem krzemionkowym i uzyskano zadowalające wyniki. W trakcie eksperymentu najpierw przygotowano roztwór, pobrano produkt 2r, zmielono, dokładnie zważono, dodano dokładnie 50 mL metanolu, zważono, pozostawiono na noc, poddano działaniu ultradźwięków (moc 350 W, częstotliwość 50 kHz) przez 40 min, schłodzono, zważono, uzupełniono metanolem, dobrze wstrząsnęto, przefiltrowano i dokładnie odmierzone 25 mL ciągłego filtratu. Pozostałość odparowano w łaźni wodnej, rozpuszczono w 15 mL wody, nasycono wodą i *n*-butanolem 3 razy, każdorazowo po 20 mL, następnie połączono z roztworem *n*-butanolu, odparowaną pozostałość rozpuszczono w metanolu, przeniesiono do kolby miarowej o pojemności 10 mL, dodano ilościowo

Principal component analysis was used to analyze and describe all samples studied. The PCA analysis was performed based on a data matrix of 35 (sample) × 20 (chemical composition). Principal component (PC) was selected from the obtained eigenvalues, and the first three PCs accounted for 76.9% of the total variance, which was enough to describe the variability. The cross-validation coefficient Q^2 (cum) = 0.415 indicated that the model was reasonable and had good analysis and prediction ability. The results showed that the CQ and DQ samples could be initially divided into 2 groups, indicating that the contents of the 20 common peaks in both groups were different. Supervised pattern recognition methods were required to identify specific chemical components that could result in quality differences.

*The biological characteristics of *Notoginseng Radix et Rhizoma* were further evaluated by OPLS-DA. Thirty batches of samples were randomly divided into 2 groups (training samples and test samples). S1–S25 were used as the training set, including 20 batches of CQ and 5 batches of DQ, and S26–S35 were used as the test set. R2X, R2Y, and Q2 were commonly used to evaluate the reliability of OPLS-DA models. At the 95% confidence level, cumulative contribution R2X (cum) 0.731, R2Y (cum) 0.882, and cross-validation Q^2 (cum) was 0.719 in the OPLS-DA model. Therefore, compared with principal component analysis, it could explain the variance of most data, and had stronger fitting and prediction ability. The separation of the CQ and DQ was clearly observed from the 2D score plots. Then 200 permutation tests were performed to test the robustness and prediction ability of the model.*

Determination of quality control indexes of components in Sanqi Shangyao tablets

*In order to control the quality of ginsenoside RB1 in Sanqi Shangyao tablets more effectively, the qualitative identification of ginsenoside RB1 was improved by TLC in this paper. In other words, on-site sampling of ginsenoside RB1, RG and notoginsenoside R on the same silica gel plate was performed, and satisfactory results were obtained. In the process of experiment, the solution was firstly prepared, product 2r was taken, ground, accurately weighed, 50 mL methanol was accurately added, weighed, placed overnight, ultrasonic treatment (power 350 W, frequency 50 kHz) 40 min, cooled, weighed, supplemented with methanol, shaken well, filtered, and accurately measured 25 mL of continuous filtrate. The residue was evaporated in a water bath, dissolved in 15 mL of water, saturated with water and *n*-butanol for 3 times, at 20 mL/time, then combined with *n*-butanol solution, the evaporated residue was dissolved with methanol, transferred to a 10 mL volumetric flask, quantitatively added into the scale, and shaken well to obtain the final product. Then methanol was added, and the standard curve was plotted and the regression equation was calculated using*

i dobrze wstrząśnięto w celu uzyskania produktu końcowego. Następnie dodano metanol, wykreślono krzywą wzorcową i obliczono równanie regresji, wykorzystując stężenie substancji referencyjnej jako współrzędną poziomą i obszar piku jako współrzędną. Na podstawie wyników przeprowadzono testy stabilności i powtarzalności, a następnie określono ilość odzyskiwanych materiałów leczniczych.

Określanie wskaźników kontroli jakości Rhizoma Drynariae i Radix Paeoniae Rubra w tabletkach Sanqi Shangyao

Dwa ważne składniki Rhizoma Drynariae i Radix Paeoniae Rubra zostały jednocześnie oznaczone za pomocą wysokosprawnej chromatografii cieczowej. W celu przygotowania referencyjnych roztworów podstawowych naringiny i paeonifloriny odważono 10 mg naringiny i 10 mg paeonifloriny. Naringinę i paeoniflorinę rozcieńczono metanolem. Następnie roztwór próbki przygotowano przez usunięcie powłoki z 40 tabletek, zmielenie w celu uzyskania masy 0,5 g, dokładne zważenie, dodanie dokładnie 25 mL metanolu, zważenie, poddanie działaniu ultradźwięków przez 30 min, schłodzenie, ponowne zważenie, uzupełnienie masy metanolem, przefiltrowanie i uzyskanie odczynnika z filtratu. Na koniec 0,5 g próbki negatywnej (złamanie i Radix Paeoniae Rubra zgodnie z recepturą) wykorzystano do przygotowania roztworu kontroli negatywnej zgodnie z metodą roztworu testowego i przygotowano roztwór kontroli pozytywnej.

Wyniki badań i ich omówienie

Badania wykazały, że istniały znaczące różnice w zawartości niektórych składników chemicznych między obiema roślinami. R2 i Q2 wyniosły odpowiednio 0,342 ($< 0,4$) i -0,918 ($< 0,05$), wskazując, że ustalony model nie został nadmiernie dopasowany, a dokładność przewidywania była dobra. Próbki w zestawie testowym zostały wykorzystane do weryfikacji dokładności modelu.

Oznaczono zawartość ginsenosydu RG1 3,7894 mg/g, ginsenosydu RB1 2,8578 mg/g, 6 części każdy, ok. 1,0 g, oraz zawartość ginsenosydu RG1 (0,04462 mg/mL) i ginsenosydu RB1 (0,035064 mg/mL) w roztworze referencyjnym, a wynik oznaczenia wyniósł 50 mL. Średnie odzyski ginsenosydu RG1 i RB1 wyniosły odpowiednio 99,01% i 2,52% oraz 98,38% i 1,51%. Następnie zmierzono granicę wykrywalności i granicę oznaczalności. Granicą wykrywalności był sygnał; stosunek sygnału do szumu został poprawiony 3-krotnie. Ginsenosyd RG1 (0,5 μ L) został dokładnie oznaczony przy użyciu standardowego roztworu ginsenosydu RG1 (138,0 μ g/mL) i standardowego roztworu ginsenosydu RB1 (121,6 μ g/mL). Granice wykrywalności wynosiły odpowiednio 0,069 μ g i 0,061 μ g. Limity oznaczalności dla ginsenosydu RG1 (138,0 μ g/mL) i ginsenosydu RB1 (121,6 μ g/mL) wynosiły odpowiednio 1,5 μ L oraz 0,207 μ g i 0,183 μ g. Średnie wartości wynosiły odpowiednio 84,71 (RSD 1,27%) i 52,67 (RSD 2,32%), co spełniało wymogi analizy ilościowej.

the concentration of reference substance as the horizon coordinate and the peak area as the coordinate. On basis of the results, stability and repeatability tests were performed, followed by determination of the recovery amount of medicinal materials.

Determination of quality control indexes of Rhizoma Drynariae and Radix Paeoniae Rubra in Sanqi Shangyao tablets

Two important components of Rhizoma Drynariae and Radix Paeoniae Rubra were simultaneously determined by high performance liquid chromatography. First, 10 mg of naringin and 10 mg of paeoniflorin were added into the preparation of reference stock solution of naringin and paeoniflorin, respectively, and naringin and paeoniflorin were diluted with methanol, respectively. Secondly, the sample solution was prepared by removing the coating from 40 tablets, milling to obtain 0.5 g, accurately weighing, accurately adding 25 mL of methanol, weighing, performing ultrasonic treatment for 30 min, cooling, weighing again, supplementing the weight with methanol, filtering, and obtaining the reagent from the filtrate. Finally, 0.5 g negative sample (fracture and Radix Paeoniae Rubra according to the prescription) was used to prepare the negative control solution according to the test solution method and the negative control solution was prepared.

Results and discussion

The results showed that there were significant differences in the contents of some chemical components between the two plants. R2 and Q2 were 0.342 (< 0.4) and -0.918 (< 0.05), respectively, indicating that the established model was not over-fitted, and the prediction accuracy was good. The samples in the test set were used to verify the accuracy of the model.

The contents of ginsenoside RG1 3.7894 mg/g, ginsenoside RB1 2.8578 mg/g, six parts each, about 1.0 g, and the contents of ginsenoside RG1 (0.04462 mg/mL) and ginsenoside RB1 (0.035064 mg/mL) in the reference solution were determined, and the determination result was 50 mL. The average recoveries of ginsenoside RG1 and RB1 were 99.01% and 2.52%, 98.38% and 1.51%, respectively. Then the detection limit and quantitation limit were measured. The detection limit was signal, and the signal-to-noise ratio was improved by 3 times. Ginsenoside RG1 (0.5 μ L) was accurately determined using ginsenoside RG1 standard solution (138.0 μ g/mL) and ginsenoside RB1 standard solution (121.6 μ g/mL). The detection limits were 0.069 μ g and 0.061 μ g, respectively. The assay limits for ginsenoside RG1 (138.0 μ g/mL) and ginsenoside RB1 (121.6 μ g/mL) were 1.5 μ L and 0.207 μ g and 0.183 μ g, respectively. The mean values were 84.71 (RSD 1.27%) and 52.67 (RSD 2.32%), respectively. Meets the requirements of quantitative analysis.

Zajęcia z wychowania fizycznego są dla studentów ważnym sposobem na poprawę sprawności fizycznej i poziomu sportowego. Jednak podczas takich zajęć często zdarzają się kontuzje. Urazy sportowe mają nie tylko fizjologiczne skutki dla studentów, ale także wpływają na ich entuzjazm do ćwiczeń fizycznych. Urazy sportowe są nieuniknione na zajęciach wychowania fizycznego, ale wzmocnienie środków zapobiegawczych może zmniejszyć lub ograniczyć prawdopodobieństwo wystąpienia urazu, poprawiając w ten sposób samoochronę i umiejętności udzielania pierwszej pomocy. Omawiane tabletki mają działanie pobudzające krążenie krwi i zmniejszające obrzęk, głównie w celu rozluźnienia ścięgien i rozproszenia zastoju krwi, pobudzenia krążenia krwi i złagodzenia bólu. Mogą być stosowane w przypadku urazów spowodowanych upadkami, reumatoidalnego zapalenia stawów, ostrych i przewlekłych skręceń i stłuczeń, różnych rodzajów bólu neuropatycznego i innych.

Wnioski

Badania wykazały, że oznaczanie zawartości ginsenosydów RG1 i RB1 było sensowne, a metoda była prosta i wykonalna. Nie stwierdzono żadnych negatywnych zakłóceń. Wyniki były dokładne i charakteryzowały się dobrą powtarzalnością, co można wykorzystać jako standard kontroli jakości do identyfikacji odmian Radix et Rhizoma Notoginseng. Tabletki *Panax notoginseng* są powszechnie stosowane w ortopedii. Jakość tabletek Sanqi Shangyao była dobrze kontrolowana podczas nadzoru i inspekcji. Przy obecnych standardach jakości odmian niemożliwe jest dokonanie bardziej kompleksowego i naukowego pomiaru jakości odmian. Dlatego w przypadku stałej recepty tylko tabletki *Panax notoginseng* o różnym dawkowaniu powinny przyjąć ujednolicony standard jakości i stanowić uzasadniony wskaźnik kontroli jakości, aby zapewnić jakość leków oraz bezpieczeństwo i skuteczność ich stosowania przez ludzi. Rhizoma Drynariae był podstawowym lekiem w tabletkach Sanqi Shangyao, z naringiną jako głównym składnikiem. Pozycje oznaczania zawartości zostały ustalone, ale faza mobilna była nieco inna. W Standardach 3 i 4 nie ustalono żadnej pozycji i zalecono jej zwiększenie. Zawartość naringiny oznaczono zgodnie z metodą oznaczania naringiny w *Farmakopei Chińskiej* (wydanie z 2005 r.). Wśród pozostałych 80 partii zakwalifikowanych próbek, z wyjątkiem jednej partii próbek niekwalifikowanych, zawartość kilku próbek była znacząco inna, przy czym największa zawartość była 3,1 razy większa od najmniejszej zawartości. Chociaż wszystkie one spełniają krajowe standardy jakości, ich skuteczność w zastosowaniach klinicznych jest bardzo zróżnicowana. Obecnie preparaty medycyny chińskiej na receptę oparte są na dawkach netto materiałów leczniczych określonych w krajowych normach jakości. W tym samym gatunku materiałów leczniczych składniki aktywne różnią się znacznie, co wynika z wpływu klimatu pochodzenia, środowiska wzrostu, gleby, zbioru

College physical education classes are an important means for students to enhance their physical fitness and improve their athletic level. However, sports injuries often occur during physical education classes. Sports injuries not only have physiological effects on students but also affect their enthusiasm for physical exercise. Sports injuries are inevitable in physical education classes, but strengthening preventive measures can reduce or reduce the probability of injury occurrence, thereby improving self-protection and self first aid abilities. This tablet has the effect of promoting blood circulation and reducing swelling, mainly for relaxing tendons and dispersing blood stasis, promoting blood circulation and relieving pain. It can be used for injuries caused by falls, rheumatoid arthritis, acute and chronic sprains and contusions, various types of neuropathic pain, etc.

Conclusions

The results showed that the content determination of ginsenoside RG1 and RB1 was reasonable, and the method was simple and feasible. No negative interference was found. The results were accurate and with good repeatability, which could be used as the quality control standard for the identification of Radix et Rhizoma Notoginseng varieties. P. notoginseng tablets are commonly used in orthopedics. The quality of Sanqi Shangyao tablets was well controlled in the supervision and inspection. Under the current quality standards of varieties, it is impossible to make a more comprehensive and scientific measurement of the quality of varieties. Therefore, for the fixed prescription, only the P. notoginseng tablets with different dosage forms should adopt the unified quality standard and establish a more reasonable quality control index, so as to ensure the quality of drugs and the safety and effectiveness of drug use by people. Secondly, Rhizoma Drynariae was the main drug in Sanqi Shangyao tablets, with naringin as the main component. The content determination items were established for the first time and the fifth time, but the mobile phase was slightly different. No item was established in Standards 3 and 4, and it was recommended to increase. Thirdly, according to the determination method of naringin in Chinese Pharmacopoeia (2005 edition), the content of naringin was determined. Among the remaining 80 batches of qualified samples, except for one batch of unqualified samples, the content of a few samples changed significantly, with the highest content being 3.1 times of the lowest content. Although they all meet the national quality standards, their efficacy fluctuates greatly in clinical application. At present, Chinese medicine prescription preparations are based on the net dosage of medicinal materials stipulated in the national quality standards. Due to the same species of medicinal materials, the active components are greatly different

i innych czynników. W związku z tym zalecono, aby podstawą preparatów były chińskie ekstrakty lecznicze (w tym ekstrakty złożone), a standaryzacja surowców i procesów powinna być stopniowo osiągnięta, aby zapewnić stabilność wskaźnika transferu wielu indeksów chińskiego leku i kontrolować wahania zawartości składników indeksu oraz zmienność śladów w niewielkim zakresie. Wreszcie, ponieważ przepisywanie *Artemisia ordosica* i trawy skutkowało wysoką toksycznością, test graniczny akonityny był ważnym elementem związanym z bezpieczeństwem zaleceń. Podsumowano go wg poszczególnych standardów kontroli jakości, a do kontroli jakościowej i ilościowej wykorzystano tylko standard 5. Zasugerowano, że inne standardy powinny zostać zmienione w celu dalszego zapewnienia bezpieczeństwa przepisywania leków. Głównym celem tego artykułu było dostarczenie przydatnych wskazówek i odniesień do zapobiegania i leczenia ostrych urazów mięśni u studentów i entuzjastów sportu.

under the influence of climate of origin, growth environment, soil, picking and other factors. Therefore, it was recommended that Chinese medicinal extracts (including compound extracts) should be taken as the basis of the preparations, and the standardization of raw materials and processes should be gradually achieved to ensure the stability of multi-index transfer rate of Chinese medicinal, and control the fluctuation of index component content and the variation of fingerprint to a small range. Finally, because the prescription of Artemisia ordosica and grass had high toxicity, aconitine limit test was an important item related to prescription safety. It was summarized by individual quality control standards, and only Standard 5 was used for qualitative and quantitative inspection. It was suggested that other standards should be revised to further ensure the safety of the prescription. The main purpose of this article is to provide useful guidance and reference for the prevention and treatment of acute muscle injury, based on serving college students and sports enthusiasts.

Received/Otrzymano: 09-07-2023

REFERENCES/LITERATURA

- [1] A. Hancu, *J. Environ. Prot. Ecol.* 2015, **16**, 740.
- [2] D. Zhou, A. Al-Durra, K. Zhang, A. Ravey, F. Gao, *J. Power Sources* 2018, **399**, 314.
- [3] K.H. Cha, L. Hadjiiski, R.K. Samala, *Med. Phys.* 2016, **43**, 1882.
- [4] Ma Changhao, Qu Zhiya, Qi Guiping, Li Huaiwei, *Shandong Chem. Ind.* 2019, **48**, No. 8, 85.
- [5] Chen Yan, *Antiinfective Med.* 2019, **16**, No. 1, 12.
- [6] Peng Jiang-yun, Yunnan University of Traditional Chinese Medicine, 2016.
- [7] Hu Xu, Meili Li, Wang Mingjuan, liujing, Dai Zhong, Ma Shuangcheng, *Chinese J. Pharmacy* 2015, **50**, No. 4, 299.
- [8] Hu Xiaoru, Meili Li, Sun Lei, Wang Mingjuan, Li Aihua, Dai Zhong, Ma Shuangcheng, *Chinese J. Pharm. Anal.* 2014, **34**, No. 10, 1755.
- [9] Meili Li, Dai Zhong, Hu Xiaoru, Lu Jing, Ma Shuangcheng, *Chinese J. Pharm. Anal.* 2014, **34**, No. 5, 924.
- [10] Yao Yudian, Fu Yu, Ping Jiang, Zhang Wenzhong, *China Pharm.* 2007, No. 3, 206.
- [11] Shu Zhu et al., *Planta Medica.* 2004, **70**, No. 7, 666; doi:10.1055/s-2004-827192.
- [12] Xue Li, Jie Liu, Tian-tian Zuo, Ying Hu, Zheng Li, Hong-da Wang, Xiao-yan Xu, Wen-zhi Yang, De-an Guo, *Nat. Prod. Rep.* 2022, **39**, 875.
- [13] Yuangui Yang, Zhengcai Ju, Yingbo Yang, Yanhai Zhang, Li Yang, Zhengtao Wang, *J. Ginseng Res.* 2021, **45**, 1.

PUTChemikon

II Ogólnopolska Konferencja Naukowa – 18.05.2024

