

玫瑰花与月季花的高效薄层指纹图谱比较研究

梁渐崧^{1,2*},潘英杰^{1,2},陈紫颖^{1,2},
霍文杰^{1,2},薛翠丽^{1,2},龙桂宏^{1,2},陈李艳^{1,2}

¹广东一方制药有限公司; ²广东省中药配方颗粒企业重点实验室,佛山 528244

摘要:本研究旨在建立玫瑰花与月季花的高效薄层指纹图谱(HPTLC)分析方法,用于两者的鉴别。该方法采用HPTLC技术选用硅胶G60薄层板,乙酸乙酯-甲酸-水(15:1:1)为展开剂,10%硫酸乙醇溶液显色,在366 nm波长下测得薄层色谱图谱,采用指纹图谱系统解决方案软件建立指纹图谱,并进行相似度评价、聚类分析、主成分分析及正交偏最小二乘判别分析。结果显示玫瑰花与月季花样品分别含有9、11个共有峰。玫瑰花种内相似度≥0.987,月季花种内相似度≥0.982,玫瑰花与月季花的相似度为0.520,聚类分析、主成分分析及正交偏最小二乘判别分析均可将玫瑰花与月季花样品区分开,并筛选出11个差异性物质。本研究所建立的方法简便,重现性好,专属性强,可为玫瑰花和月季花的鉴别及质量评价提供参考。

关键词:玫瑰花;月季花;高效薄层指纹图谱;化学计量学;鉴别

中图分类号:R282

文献标识码:A

文章编号:1001-6880(2022)Suppl-0008-10

DOI:10.16333/j.1001-6880.2022. S. 002

Comparative study on high-performance thin-layer chromatographic fingerprints of *Rosa rugosa* and *R. chinensis*

LIANG Jian-song^{1,2*}, PAN Ying-jie^{1,2}, CHEN Zi-ying^{1,2},
HUO Wen-jie^{1,2}, XUE Cui-li^{1,2}, LONG Gui-hong^{1,2}, CHEN Li-yan^{1,2}

¹Guangdong Yifang Pharmaceutical Co., Ltd.; ²Guangdong Key Laboratory of Traditional Chinese Medicine Formula Granules, Foshan 528244, China

Abstract: The purpose of this study is to establish HPTLC fingerprint analysis method of *Rosa rugosa* and *R. chinensis* for the identification of both. The method adopts HPTLC technology, selects silica gel 60 HPTLC plate was adopted, ethyl acetate: formic acid: water (15: 1: 1) as developing agent. Visualization of the chromatogram was performed by spraying with 10% sulphuric acid-ethanol solution. The TLC chromatograms were measured at 366 nm. Fingerprint system solution software was used to establish fingerprint, and similarity evaluation, cluster analysis, principal component analysis and orthogonal partial least squares discriminant analysis were carried out. The results showed that *R. rugosa* and *R. chinensis* samples contained 9 and 11 common peaks respectively. The intraspecific similarity of *R. rugosa* samples ≥ 0.987, and that of *R. chinensis* ≥ 0.982. The similarity between *R. rugosa* and *R. chinensis* was 0.520. Cluster analysis, principal component analysis and orthogonal partial least squares discriminant analysis can distinguish *R. rugosa* from *R. chinensis*. The 11 differential substances were screened. The method established in this study is simple, reproducible and specific. It can provide a reference for the identification and quality evaluation of *R. rugosa* and *R. chinensis*.

Key words: *Rosa rugosa*; *Rosa chinensis*; HPTLC fingerprints; chemometrics; identification

玫瑰花为蔷薇科植物玫瑰 *Rosa rugosa* Thunb. 的干燥花蕾,具有行气解郁,和血,止痛的功效。用

于肝胃气痛,食少呕恶,月经不调,跌扑伤痛^[1]。月季花为蔷薇科植物月季 *Rosa chinensis* Jacq. 的干燥花,具有活血调经,疏肝解郁的功效。用于气滞血瘀,月经不调,痛经,闭经,胸胁胀痛^[1]。玫瑰花与月季花功效相近、性状相似,在临床应用中常被混淆^[2-6]。目前大多采用性状鉴别、显微鉴别及理化鉴

别对玫瑰花与月季花进行定性鉴别^[7-11]。传统的性状、显微等方法鉴别药材时存在一定的主观性,导致玫瑰花与月季花的鉴别区分存在一定的误差,而中药指纹图谱技术是整体性、可量化的鉴别模式,能够避免以上问题,有效地控制中药材质量^[12]。目前已有采用 IR、HPLC、UPLC 和 GC-MS 中药指纹图谱技术用于玫瑰花与月季花的区分鉴别的报道,尚未有采用成本低、速度快、直观性强的 HPTLC 指纹图谱技术应用于区分玫瑰花与月季花的文献报道。因此,本研究采用 HPTLC 法建立玫瑰花与月季花的指纹图谱,通过化学计量学分析比较两者差异,为月季花与玫瑰花的鉴别及质量评价提供参考。

1 仪器与材料

1.1 仪器

ATS-4 全自动薄层色谱点样仪(瑞士卡玛公司);CAMAG REPROSTAR 3 型薄层成像仪(瑞士卡玛公司);TLC 专用加热板(瑞士卡玛公司);KQ-500E 超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司);Chromafinger 2020 色谱指纹图谱系统解决方案软件

(科迈恩科技有限公司);国家药典委员会“中药色谱指纹图谱相似度评价系统软件”(2012 版)。

1.2 试药

甲醇、乙醇、乙酸乙酯均为分析纯(西陇科学股份有限公司);甲酸为分析纯(天津市永大化学试剂有限公司);硫酸为分析纯(广州化学试剂厂);水为超纯水(取自实验室 Milli-Q 超纯水系统,默克股份有限公司);3 种 HPTLC 硅胶 G 预制板,分别为德国默克公司、青岛谱科分离材料有限公司、烟台银龙硅胶有限公司产品;异槲皮苷(批号:111809-201804,含量:97.2%)、槲皮苷(批号:111538-201606,含量:90.6%)均购自于中国食品药品检定研究院;金丝桃苷(批号:19103001,含量:97.2%,广州分析测试中心科力技术开发公司)。

1.3 药材

本次研究共收集到 10 批月季花、10 批玫瑰花,经广东一方制药有限公司质量中心鉴定为薔薇科植物月季 *Rosa chinensis* Jacq. 的干燥花或薔薇科植物玫瑰 *Rosa rugosa* Thunb. 的干燥花蕾。详细样品信息见表 1。

表 1 样品信息
Table 1 Sources of samples

批次 Batch	品名 Product name	基源 Source	产地 Origin
1	月季花	<i>Rosa chinensis</i> Jacq.	山东临沂平邑仲村镇
2	月季花	<i>R. chinensis</i>	山东临沂平邑仲村镇
3	月季花	<i>R. chinensis</i>	山东临沂平邑仲村镇
4	月季花	<i>R. chinensis</i>	山东临沂平邑仲村镇
5	月季花	<i>R. chinensis</i>	山东临沂平邑丰阳镇
6	月季花	<i>R. chinensis</i>	山东临沂平邑丰阳镇
7	月季花	<i>R. chinensis</i>	山东临沂平邑丰阳镇
8	月季花	<i>R. chinensis</i>	山东临沂平邑铜石镇
9	月季花	<i>R. chinensis</i>	山东临沂平邑铜石镇
10	月季花	<i>R. chinensis</i>	山东临沂平邑铜石镇
11	玫瑰花	<i>Rosa rugosa</i> Thunb.	山东济南平阴玫瑰镇
12	玫瑰花	<i>R. rugosa</i>	山东济南平阴玫瑰镇
13	玫瑰花	<i>R. rugosa</i>	山东济南平阴玫瑰镇
14	玫瑰花	<i>R. rugosa</i>	山东济南平阴孔村镇
15	玫瑰花	<i>R. rugosa</i>	山东济南平阴孔村镇
16	玫瑰花	<i>R. rugosa</i>	山东济南平阴孔村镇
17	玫瑰花	<i>R. rugosa</i>	山东济南平阴孝直镇
18	玫瑰花	<i>R. rugosa</i>	山东济南平阴孝直镇
19	玫瑰花	<i>R. rugosa</i>	山东济南平阴孝直镇
20	玫瑰花	<i>R. rugosa</i>	山东济南平阴孝直镇

2 方法与结果

2.1 玫瑰花与月季花 HPTLC 鉴别

2.1.1 混合对照品溶液的制备

精密称取金丝桃苷对照品、异槲皮苷对照品、槲皮苷对照品适量,加甲醇制成每 1 mL 含 0.4 mg 的混合溶液,作为混合对照品溶液。

2.1.2 供试品溶液的制备

取样品(月季花、玫瑰花)粉末各 1 g,加 70% 甲醇 20 mL,超声处理 40 min,滤过,取滤液作为供试品溶液。

2.1.3 薄层色谱条件

取混合对照品、月季花及玫瑰花供试品溶液各 5 μL ,点于预制硅胶 G 板(默克公司,110 $^{\circ}\text{C}$ 活化 30 min)上,展开剂:乙酸乙酯-甲酸-水(15:1:1),上行展开 8 cm,晾干,喷以 10% 硫酸乙醇溶液,在 105 $^{\circ}\text{C}$ 加热数分钟,立即置紫外光灯(366 nm)下检视。

2.2 玫瑰花与月季花 HPTLC 鉴别方法的优选

2.2.1 玫瑰花与月季花薄层色谱条件的考察

《中国药典》2020 年版一部玫瑰花项下未收录

薄层鉴别方法,本研究参考文献方法^[13]与《中国药典》月季花项下的薄层鉴别方法^[1],在温度 22 $^{\circ}\text{C}$ 、相对湿度 57% 条件下进行鉴别,方法 A:以乙酸乙酯-甲酸-水(15:1:1)为展开剂,喷以 10% 硫酸乙醇溶液显色,在 105 $^{\circ}\text{C}$ 加热数分钟,立即置紫外光灯 366 nm 下检视;方法 B:以三氯甲烷-甲醇-甲酸(18:6:1)为展开剂,置紫外灯 254 nm 下检视,结果见图 1。结果表明在方法 A 条件下月季花与玫瑰花样品均能显清晰的荧光斑点,且图谱信息较丰富,而方法 B 条件下月季花与玫瑰花图谱信息量少,且斑点清晰度和分离度均不佳,因此选用方法 A 作为本研究的 HPTLC 方法。

2.2.2 点样量的考察

取混合对照品、月季花及玫瑰花供试品溶液分别点样 2、5、8 μL ,点于同一块薄层板上按照“2.1.3”中所述方法操作(温度 22 $^{\circ}\text{C}$,相对湿度 57%)。所得色谱图见图 2,结果表明点样量为 2 μL 时部分斑点不清晰,点样量 8 μL 时会出现条带展宽,分离度下降。确定 5 μL 为最佳点样量。

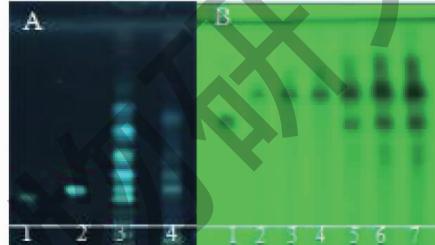


图 1 薄层色谱条件考察图

Fig. 1 Investigation chart of TLC conditions

注:A. 1:金丝桃苷;2:异槲皮苷;3:月季花;4:玫瑰花。B. 1:槲皮苷;2~4:玫瑰花;5~7:月季花。Note: A. 1:Hypericin;2:Isoquercetin;3:R. chinensis;4:R. rugosa. B. 1:Quercetin;2-4:R. rugosa;5-7:R. chinensis.

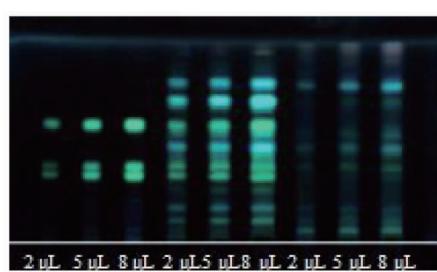


图 2 点样量考察鉴别图

Fig. 2 Identification chart of sample size inspection

注:1~3:混合对照品;4~6:月季花;7~9:玫瑰花。Note:1-3:Mixed reference;4-6:R. chinensis;7-9:R. rugosa.

2.3 HPTLC 的方法学验证

2.3.1 专属性

分别吸取混合对照品、月季花及玫瑰花供试品

溶液及 70% 甲醇空白溶液各 5 μL ,点于同一块薄层板上,按“2.1.3 薄层色谱条件”中所述方法操作(温度 22 $^{\circ}\text{C}$,相对湿度 57%)。所得图谱(见图 3)

显示,月季花供试品色谱中黄绿色条带所呈现的颜色和位置分别与金丝桃苷、异槲皮苷、槲皮苷对照品条带一致,玫瑰花供试品色谱中的黄绿色条带所呈

现的颜色和位置与异槲皮苷对照品条带一致,且空白溶液无干扰。说明该薄层方法专属性良好。

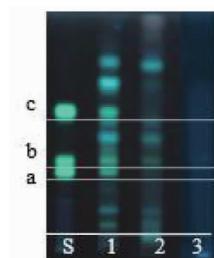


图3 专属性鉴别

Fig. 3 Specificity identification

注:S:混合对照品(a. 金丝桃苷;b. 异槲皮苷;c. 槲皮苷);1:月季花;2:玫瑰花;3:空白溶液。Note:S:Mixed reference(a. Hypericin;b. Isoquercetin;c. Quercetin);1:R. chinensis;2:R. rugosa;3:Blank solution.

2.3.2 稳定性

取同一份供试品溶液(月季花样品1、玫瑰花样品11),于制备后0、1、2、3天,按“2.1.3”中所述方

法操作(温度22℃,相对湿度57%)。结果表明(见图4),供试品溶液在3天内测定稳定。

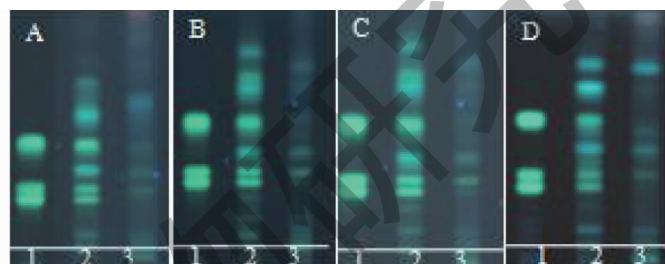


图4 稳定性考察

Fig. 4 Stability investigation

注:A~D:0~3天。1:混合对照品;2:月季花;3:玫瑰花。Note:A-D:0-3 days. 1: Mixed reference;2:R. chinensis;3:R. rugosa.

2.3.3 耐用性

2.3.3.1 不同厂家高效薄层板

吸取混合对照品、月季花及玫瑰花供试品溶液各5 μL,分别点于不同厂家HPTLC硅胶G预制板

上,按“2.1.3”中所述方法操作(温度22℃,相对湿度57%)。结果表明(见图5),不同厂家高效薄层板对玫瑰花与月季花薄层鉴别无明显影响,该方法对不同厂家高效薄层板的耐用性好。

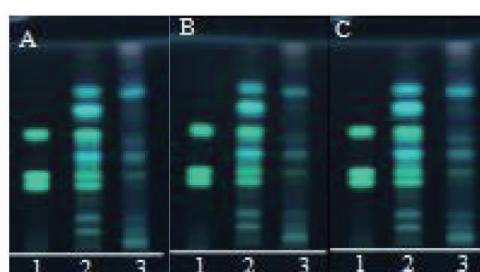


图5 不同厂家HPTLC硅胶G预制板的考察

Fig. 5 Investigation of HPTLC silica gel G precast slab from different manufacturers

注:A:德国默克;B:烟台银龙;C:青岛谱科。1:混合对照品;2:月季花;3:玫瑰花。Note:A:German Merck;B:Yantai Yinlong;C:Qingdao spectrum. 1: Mixed reference;2:R. chinensis;3:R. rugosa.

2.3.3.2 不同展开温度

点样后的 HPTLC 硅胶 G 预制板, 分别在 8 ℃ 和 22 ℃ 下展开, 相对湿度均为 57%, 展开过程按“2.1.3”

中所述方法操作(见图 6)。结果表明, 温度对玫瑰花与月季花薄层鉴别无明显影响, 说明该薄层鉴别方法对不同温度耐用性好。

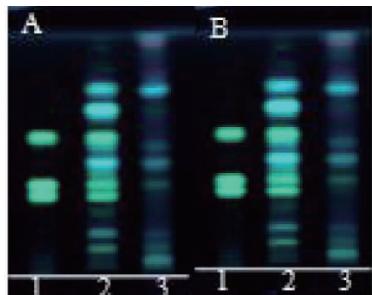


图 6 不同展开温度的考察

Fig. 6 Investigation of different temperature

注:A:8 ℃;B:22 ℃。1:混合对照品;2:月季花;3:玫瑰花。Note:A:8 ℃;B:22 ℃. 1:Mixed reference;2;*R. chinensis*;3;*R. rugosa*.

2.3.3.3 不同展开湿度

点样后的 HPTLC 硅胶 G 预制板, 分别在相对湿度 46% 和 78% 下展开, 温度均为 24 ℃, 展开过程按“2.1.3 薄层色谱条件”中所述方法操作。结果

(见图 7)表明, 湿度对玫瑰花与月季花薄层鉴别无明显影响, 说明该薄层鉴别方法对不同湿度耐用性好。

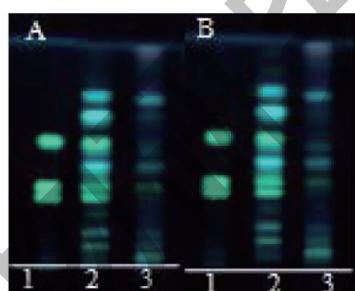


图 7 不同展开相对湿度(A)、(B)的考察

Fig. 7 Investigation of different relative humidity

注:A:46%;B:78%。1:混合对照品;2:月季花;3:玫瑰花。Note:A:46%;B:78%. 1:Mixed reference;2;*R. chinensis*;3;*R. rugosa*.

2.3.4 重复性

取同一批样品(月季花样品 1、玫瑰花样品 11)各 6 份, 按“2.1.2 项”制备供试品, 分别按“2.1.3

薄层色谱条件”中所述方法操作(温度 25 ℃, 相对湿度 45%)。结果(见图 8)表明该方法重复性良好。

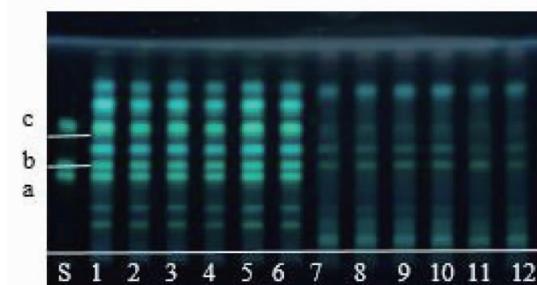


图 8 月季花(1~6)与玫瑰花(7~12)重复性考察

Fig. 8 Repeatability of *R. chinensis*(1-6) and *R. rugosa*(7-12)

注:S:混合对照品(a. 金丝桃苷;b. 异槲皮苷;c. 槲皮苷)。Note:S:Mixed reference(a. Hypericin;b. Isoquercetin;c. Quercetin).

2.4 玫瑰花与月季花 HPTLC 的建立

按“2.1.2”制备 10 批月季花、10 批玫瑰花的供

试品溶液,按“2.1.3”点样,展开、显色、成像(温度 22 ℃,相对湿度 57%),获得薄层色谱图见图 9。

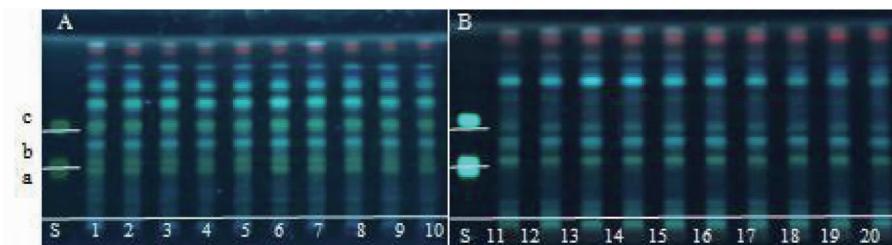


图 9 月季花(A)与玫瑰花(B)鉴别

Fig. 9 Thin layer chromatogram of *R. chinensis* (A) and *R. rugosa* (B)

注:S:混合对照品(a. 金丝桃苷;b. 异槲皮苷;c. 槲皮苷)。Note: S: Mixed reference(a. Hypericin; b. Isoquercetin; c. Quercetin).

2.5 玫瑰花与月季花 HPTLC 分析及相似度评价

2.5.1 玫瑰花、月季花指纹图谱的建立

将 10 批月季花、10 批玫瑰花样品的薄层色谱

图导入 Chromafinger 2020 色谱指纹图谱系统解决方案软件,生成灰色扫描图并积分,混合对照品及样品灰色扫描图(见图 10)。再将得到的灰色扫描图分

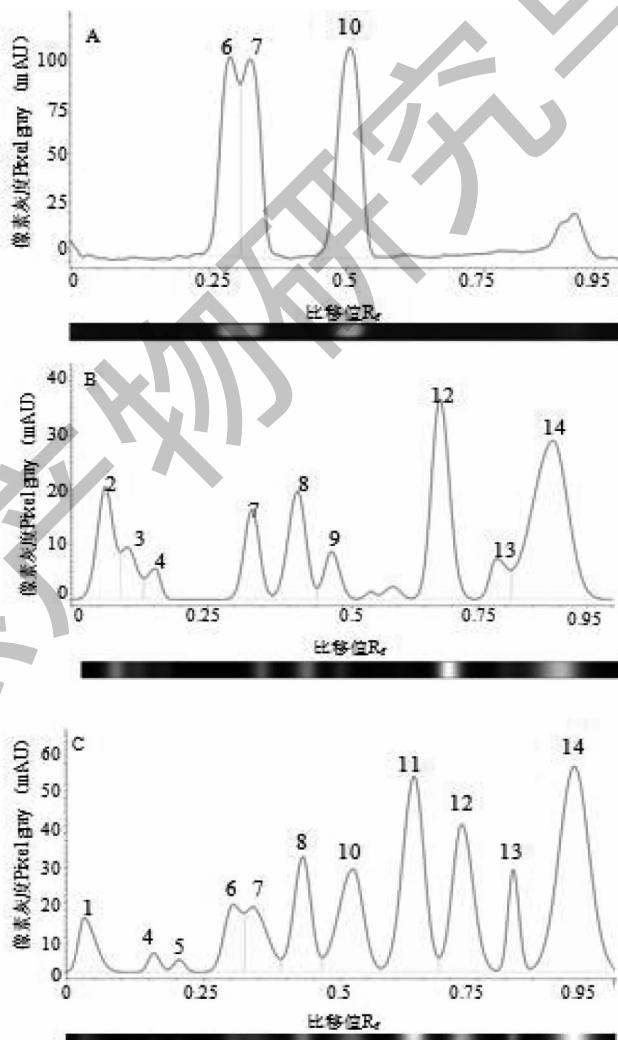


图 10 混合对照品(A)、玫瑰花(B)及月季花(C)灰色扫描图

Fig. 10 Gray scanning diagram of mixed reference substance (A), *R. rugosa* (B) and *R. chinensis* (C)

别导入“中药色谱指纹图谱相似度评价系统”(2012版)软件,分别以玫瑰花样品11和月季花样品1为参照图谱,并以0.1的时间宽度进行峰匹配,得到玫瑰花、月季花的薄层指纹图谱叠加图及采用平均数

的方法生成对照图谱(见图11),从图11中可看出,玫瑰花的指纹图谱有9个共有峰,月季花指纹图谱有11个共有峰。经与混合对照品对比,指认峰6为金丝桃苷、峰7为异槲皮苷、峰10为槲皮苷。

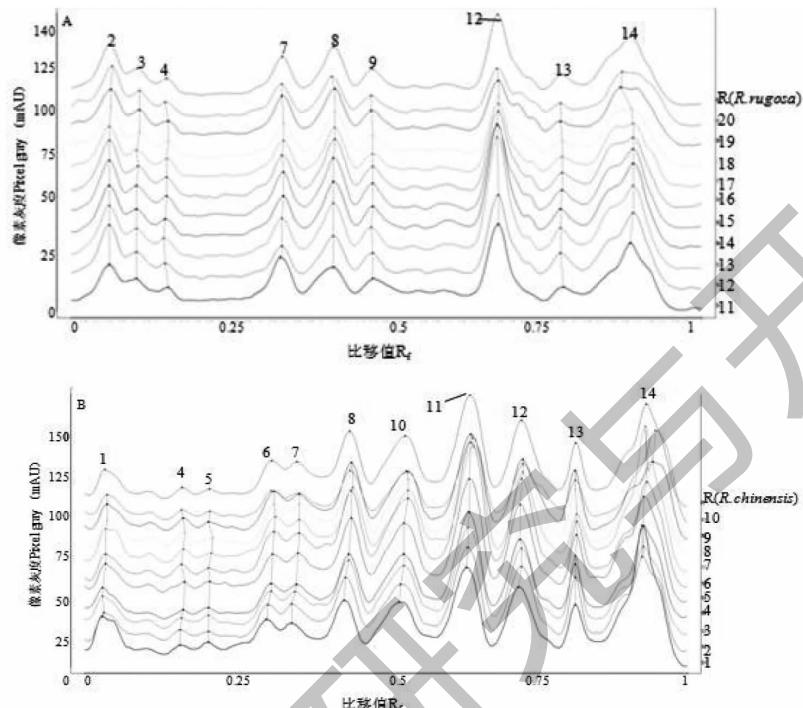


图11 玫瑰花(A)、月季花(B)的指纹图谱叠加图

Fig. 11 Fingerprint of *R. rugosa* (A) and *R. chinensis* (B)

注:6:金丝桃苷;7:异槲皮苷;10:槲皮苷。Note:6:Hypericin;7:Isoquercetin;10:Quercetin.

2.5.2 相似度评价

计算月季花样品(1~10)、玫瑰花样品(11~

20)与各自对照图谱之间的相似度(见表2),表明

10批月季花的相似度均 ≥ 0.982 ,10批玫瑰花的相

表2 月季花、玫瑰花样品与各自对照图谱的相似度评价结果

Table 2 Similarity evaluation results of *R. chinensis* and *R. rugosa* samples with their each reference maps

批次 Batch	月季花 <i>R. chinensis</i>	相似度 Similarity	批次 Batch	玫瑰花 <i>R. rugosa</i>	相似度 Similarity
1		0.982	11		0.997
2		0.999	12		0.997
3		0.996	13		0.994
4		0.998	14		0.998
5		0.999	15		0.999
6		0.990	16		0.998
7		0.995	17		1.000
8		0.998	18		0.999
9		0.998	19		0.997
10		0.992	20		0.987

似度均 ≥ 0.987 ,表明月季花与玫瑰花的质量稳定。将玫瑰花与月季花的对照指纹图谱导入“中药色谱指纹图谱相似度评价系统”(2012版)软件,计算玫瑰花与月季花对照指纹图谱间的相似度为0.520,表明两者指纹图谱差异较大。

2.6 化学计量学分析

2.6.1 聚类分析

将玫瑰花、月季花HPTLC中各共有峰的峰面积

数据标准化处理后,运用IBM_SPSS20.0软件(SPSS for windows 20.0, SPSS, Chicago, IL, USA), Ward's法作为合并原则,并以欧式平方距离作为变量进行聚类分析,聚类结果以树状图形式输出(见图12),结果表明20批样品聚为玫瑰花、月季花两大类。

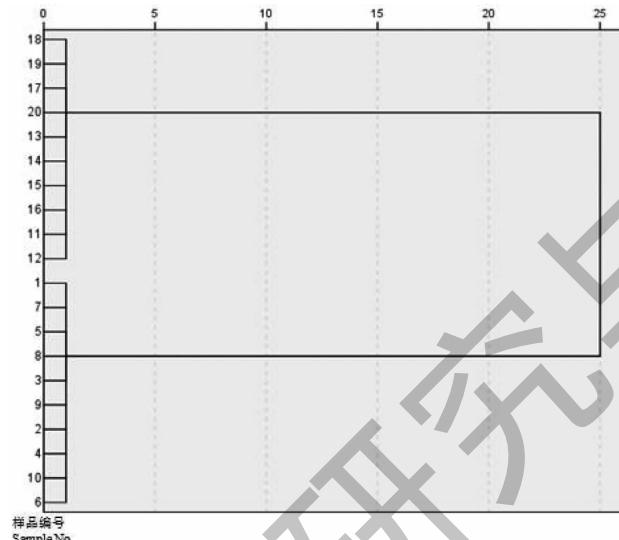


图12 玫瑰花、月季花样品聚类分析图

Fig. 12 Cluster analysis chart of *R. rugosa* and *R. chinensis*

2.6.2 主成分分析^[14]

将玫瑰花、月季花HPTLC中各共有峰的峰面积数据标准化处理后导入SIMCA-P13.0软件,进行主成分分析。提取前2个主成分使样品的多维数据转化成二维数据,得主成分分析得分图(见图13)。

$R^2 X(\text{cum}) = 0.984, Q^2(\text{cum}) = 0.873$,说明模型具有较好的变量解释能力和分组预测能力,结果可将玫瑰花和月季花样品区分开来,与聚类分析结果一致。

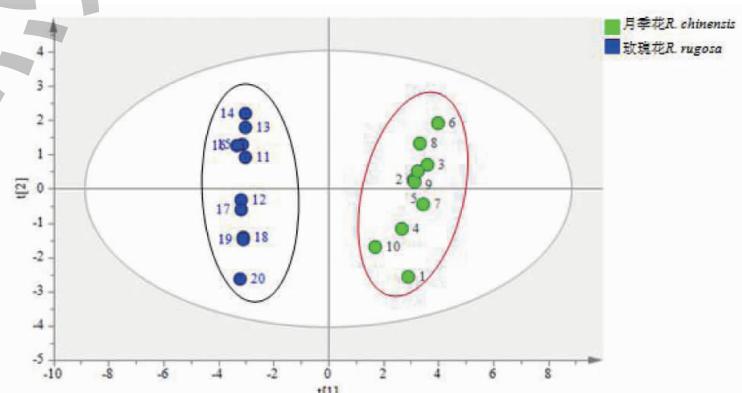


图13 玫瑰花、月季花样品主成分分析得分图

Fig. 13 PCA score scatter plot of *R. rugosa* and *R. chinensis*

2.6.3 正交偏最小二乘判别分析^[15]

在无监督的主成分分析的基础上,进一步进行有监督的OPLS-DA分析,获得相应的模型。累积解析能力参数 R_x^2 和 R_y^2 分别为0.731、0.984,预测能力参数 Q^2 为0.983,说明所建立模型有较好的解析能力和预测能力,可用于玫瑰花与月季花样品的区分。OPLS-DA得分图见图14。结果可将玫瑰花和

月季花样品区分开来,结果与主成分分析、聚类分析一致。对玫瑰花和月季花的数据差异性进行整体分析,得到变量权重重要性排序预测值(VIP,见图15)。以VIP>1为提取标准,得到玫瑰花和月季花的差异性标志物分别为峰2、峰10(槲皮苷)、峰9、峰11、峰8、峰1、峰6(金丝桃苷)、峰14、峰5、峰3、峰13,可作为区分玫瑰花与月季花的指标性物质。

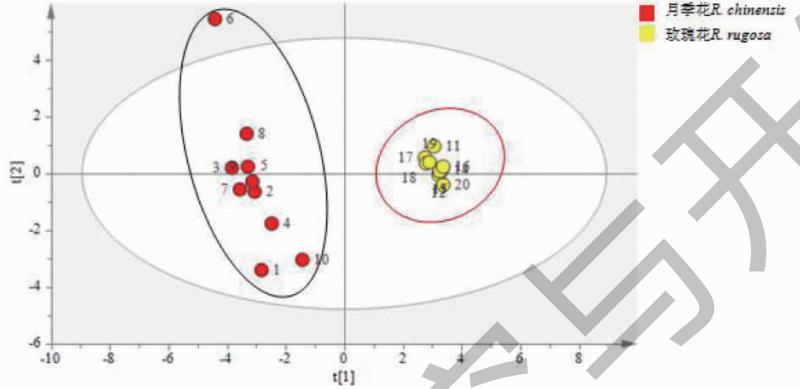


图14 正交偏最小二乘判别分析得分图

Fig. 14 Score chart of orthogonal partial least squares discriminant analysis

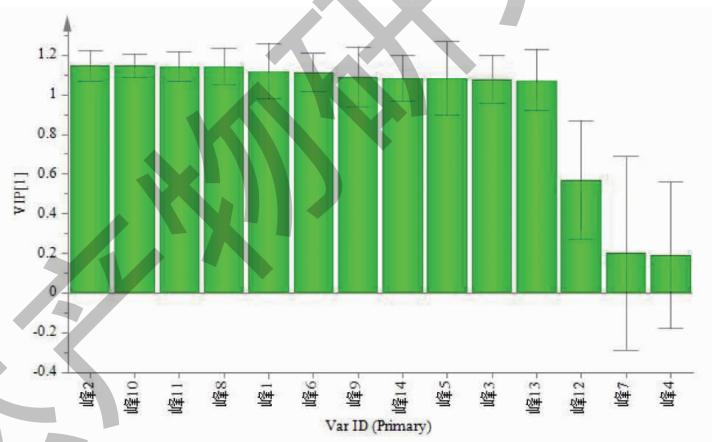


图15 正交偏最小二乘判别分析VIP图

Fig. 15 VIP chart of orthogonal partial least squares discriminant analysis

3 讨论与结论

HPTLC指纹图谱操作简单、成本低、重现性好,同时从本研究薄层色谱条件的考察结果可知,薄层色谱可通过显色剂衍生化增加指纹图谱信息量,使得薄层色谱指纹图谱法在实际应用中具有更大的优势。本研究采用HPTLC法建立玫瑰花与月季花的指纹图谱分析方法,测定了10批玫瑰花、10批月季花样品的指纹图谱。玫瑰花样品指纹图谱有9个共有峰,指认了异槲皮苷1个共有峰;月季花样品有11个共有峰,指认了金丝桃苷、异槲皮苷、槲皮苷3

个共有峰。玫瑰花、月季花与各自对照图谱相似度分别为0.987~1.000、0.982~0.999,说明玫瑰花、月季花的内在质量相对较稳定。玫瑰花与月季花对照图谱间的相似度为0.520,说明两者存在较大差异。

比较玫瑰花、月季花对照图谱可知,峰4、峰7、峰8、峰12、峰13、峰14为玫瑰花与月季花指纹图谱共有的特征峰。峰2、峰3、峰9为玫瑰花的特征峰,峰1、峰5、峰6(金丝桃苷)、峰10(槲皮苷)、峰11为月季花的特征峰,可用于玫瑰花与月季花的鉴别。

在化学统计学分析中,分别对玫瑰花与月季花样品进行了聚类分析和主成分分析,结果聚类分析和主成分分析均可将玫瑰花与月季花区分开。正交偏最小二乘判别分析显示,所建立的模型具有较好的解析能力和预测能力,分析结果与聚类分析、主成分分析一致,均能将玫瑰花与月季花样品区分开,并确定了峰2、峰10(槲皮苷)、峰9、峰11、峰8、峰1、峰6(金丝桃苷)、峰14、峰5、峰3、峰13为玫瑰花和月季花的差异性物质。

本研究建立了简便、直观、稳定可靠的玫瑰花和月季花高效薄层指纹图谱分析方法,结果显示玫瑰花与月季花所含化学成分存在较明显的差异,可用于玫瑰花与月季花的鉴别。

参考文献

- 1 Chinese Pharmacopoeia Commission. Pharmacopoeia of the People's Republic of China: Vol I (中华人民共和国药典:第一部) [M]. Beijing: China Medical Science Press, 2020;77,209.
- 2 Cai J. Similarities and differences between *Rosa rugosa* and *Rosa chinensis* [J]. J North Pharm (北方药学), 2014, 11 (2):14-15.
- 3 Liu ZQ, Liu J. Identification of authenticity of *Rosa rugosae* [J]. Capital Food Med(首都食品与医药), 2010, 17 (7): 54.
- 4 Han DC. The difference between *Rosa chinensis* and *Rosa rugosae* [N]. Chin News Tradit Chin Med(中国中医药报), 2014-08-07 (5).
- 5 Huang W, Xiao YJ, Han J. On the differences and different usages between *Rosa rugosa* and *Rosa chinensis* [J]. Capital Food Med(首都食品与医药), 2015, 22 (16):91-92.
- 6 Yao TS. Differentiation of miscible drugs *Rosa rugosa* and *Rosa chinensis* [J]. Lishizhen Med Mater Med Res(时珍国医国药), 2001, 12:609.
- 7 Wang DQ, Yin T, Han ZB, et al. Identification and quality evaluation of *Rosa rugosa* [J]. Lishizhen Med Mater Med Res (时珍国医国药), 2019, 30:2661-2664.
- 8 Xu Y, Li XE, Qin MJ, et al. Studies on the HPLC Fingerprint of *Flos Rosae Rugosae* [J]. Chin Wild Plant Res(中国野生植物资源), 2010, 29 (4):31-33.
- 9 Wu JJ, Cao KH, Zhao YF, et al. Study of differences of non-volatile chemical constituents of rose and Chinese rose by UPLC-QTof-MS [J]. Chin Food Addit(中国食品添加剂), 2020, 31 (12):91-98.
- 10 Zeng XY, Liu YJ, Yu YF, et al. Characters identification and GC-MS analysis of *Rosae Rugosae Flos* and *Rosae Chinensis Flos* [J]. J Hunan Univ Chin Med(湖南中医药大学学报), 2015, 35 (6):21-23.
- 11 Xia Z, Zhou Y, Wang LJ, et al. ISSR analysis and identification of medicinal plants *Rosa chinensis*, *Rosa rugosa* and their relative specie [J]. Chin Tradit Herb Drugs(中草药), 2016, 47:4433-4438.
- 12 Jiang ZH, Shi ZP, Shao SJ, et al. Chemical composition and quality evaluation method of Chinese materia medica *Rosa Rugosa Flos* [J]. J Gansu Univ Chin Med(甘肃中医药大学学报), 2021, 38 (1):86-91.
- 13 Ajigu A, Chu GH, Kuerbanjiang A, et al. TLC fingerprint of rose oral liquid for uigur medicine [J]. J Kashgar Teach Coll (喀什师范学院学报), 2012, 33 (6):49-51.
- 14 Zhang ZW, Zhang NN, Shi L. Investigation of comprehensive evaluation for traditional Chinese medicine preparations based on principal component analysis [J]. Chin J Exper Tradit Med Form(中国实验方剂学杂志), 2013, 19 (16): 18-21.
- 15 Han SN, Zhang XH, Zhou PP, et al. Application of chemometrics in composition-activity relationship research of traditional Chinese medicine [J]. China J Chin Mater Med(中国中药杂志), 2014, 39:2595-2602.