

不同产地烈香杜鹃的红外指纹图谱比较研究

桂 兰^{1,2}, 江 磊¹, 吴 楠^{1,2}, 王卫东^{1,2}, 陶燕铎¹, 梅丽娟^{1*}

1. 中国科学院西北高原生物研究所 中国科学院藏药研究重点实验室, 青海省藏药研究重点实验室, 青海 西宁 810008
2. 中国科学院大学, 北京 100049

摘 要 烈香杜鹃为常用藏药, 具有止咳、祛痰、平喘、清热解毒、健胃消肿之功效, 藏医常用于治疗类风湿性关节炎, 多数为野生药材; 为有效鉴别烈香杜鹃的真伪、产地和品质差异, 采用红外光谱法对 13 个不同产地的烈香杜鹃进行了红外光谱图的识别分析。红外光谱的扫描范围为 4 000~400 cm^{-1} , 实验发现其红外光谱相似; 对红外吸收谱带归属进行判别分析, 建立了烈香杜鹃红外指纹图谱, 其特征吸收峰位于 3 404, 2 921, 2 852, 1 734, 1 625, 1 449, 1 374, 1 266, 1 060 和 534 cm^{-1} 等处; 在 1 517, 1 316, 1 161, 825, 779 和 594 cm^{-1} 附近, 峰数目、峰位置与峰强度有差异。计算共有峰率和变异峰率, 建立共有峰率和变异峰率双指标序列, 利用 SPSS 软件对其红外图谱数据进行聚类分析。双指标序列分析法与聚类分析法的分析原理与角度不同, 分组结果基本一致, 表明这两种方法可靠, 可用于分析烈香杜鹃的产地与品质差异。双指标序列分析法比较结果显示, 样品的共有峰率 ≥ 68.75 , 变异峰率 ≤ 27.27 , 分组结果表明, 产地接近、气候条件与生长环境相似的烈香杜鹃之间共有峰率较高; 而产地、气候条件与生长环境相差较大的烈香杜鹃之间变异峰率较高。聚类分析结果显示, 当欧氏距离为 15 时, 可聚为三大类, R2, R3 和 R4 为一类, R7, R8, R10, R11 和 R12 为一类, 剩下的归为一类; 当欧氏距离为 20 时, 聚为两大类, R2, R3 和 R4 为一类, 剩下的归为一类; 当欧氏距离为 25 时, 13 个产地的烈香杜鹃聚为一类。将聚类分析结果与使用 ArcGIS 软件所做的烈香杜鹃采样点分布图结合起来分析, 能直观地看出烈香杜鹃品质与其产地的关系。综合以上分析, 建立的烈香杜鹃红外指纹图谱, 结合双指标序列分析法和聚类分析法, 可以为鉴别烈香杜鹃的真伪、产地和品质差异提供快速、有效的新方法。

关键词 烈香杜鹃; 红外光谱; 指纹图谱; 双指标序列分析法; 聚类分析法

中图分类号: O657.3 **文献标识码:** A **DOI:** 10.3964/j.issn.1000-0593(2019)10-3193-06

引 言

烈香杜鹃 (*Rhododendron anthopogonoides* Maxim.) 为杜鹃花科 (Ericaceae) 杜鹃属 (*Rhododendron* L.) 常绿灌木。临床药用烈香杜鹃别名小叶枇杷、白香柴、鬼枇杷、野枇杷、黄花杜鹃、香柴, 主要分布于甘肃省、青海省及四川省的西北部, 生长于 2 900~3 700 m 的高山坡、山地林下或灌丛中^[1], 含有的化学成分主要有挥发油^[2-3]、黄酮类^[4-5] 及其他类化合物^[6-7] 等, 花和叶是常用的藏药材, 被大量应用于藏成药制剂中, 藏医常用于治疗培根病寒热症^[8]、肺病、脾胃虚寒、消化不良、水土不服等^[9], 为重要的药用植物。

红外光谱可以真实地反映中药最原始的信息, 不同产地

的同一中药, 因生长环境不同所含化学成分会有所差异, 这种差异表现在红外光谱的峰形状、峰数目、峰位置与峰强度上。傅里叶变换红外光谱法具有操作简便、分析速度快、所需样品量小、制样简单、重现性好和无损等优点^[10]。文献报道, 淡竹叶^[11]、黄精^[12] 和淡菜^[13] 等采用双指标序列分析方法^[14] 和聚类分析法对其红外指纹图谱进行了比较与识别研究。在烈香杜鹃质量控制与品质评价中, 目前尚无结合两种方法对不同产地烈香杜鹃进行分析的相关报道。本研究采用红外光谱法, 结合双指标序列分析法和聚类分析法对 13 个产地烈香杜鹃进行鉴别, 建立烈香杜鹃红外指纹图谱, 为鉴别烈香杜鹃的真伪、产地和品质差异提供了快速、有效的新方法。

收稿日期: 2018-09-04, 修订日期: 2019-01-11

基金项目: 国家自然科学基金项目(31701243), 青海省藏药研究重点实验室创新平台发展建设专项(2017-ZJ-Y11)资助

作者简介: 桂 兰, 女, 1993 年生, 中国科学院西北高原生物研究所硕士研究生 e-mail: guilan16@mails.ucas.ac.cn

* 通讯联系人 e-mail: meilijuan111@163.com

1 实验部分

1.1 仪器与试剂

傅里叶变换红外光谱仪 (IS50, Thermo Nicolet 公司); DTGS 检测器; 压片机 (YP-2, Specac 公司); 压片模具直径 13 mm (PIKE 公司); 电热鼓风干燥箱 101A-2B, 上海实验仪器有限公司, 万分之一天平 (XS105, 梅特勒-托利多仪器有限公司), 玛瑙研钵; KBr (光谱纯, 赛默飞公司)。

1.2 样品来源和制备

根据药品标准^[9], 2016 年 6 月于青海省 13 个产地采集烈香杜鹃的花和叶, 原植物标本由中国科学院西北高原生物研究所梅丽娟研究员鉴定为烈香杜鹃 (*Rhododendron anthopogonoides* Maxim.), 样品信息见表 1。取干燥的 13 个产地烈香杜鹃样品, 粉碎过 200 目筛。经 KBr 压片法制成样品片, 置于红外光谱仪中, 在室温下测定红外光谱图。红外光谱的扫描范围为 4 000~400 cm^{-1} , 每张光谱累加扫描 32 次, 分辨率为 4 cm^{-1} , 扫描过程中实时扣除二氧化碳和水蒸气干扰。

表 1 样品信息

Table 1 Information of samples

样品编号	经度	纬度	海拔高度/m	采集点
R1	101°31'43.8"	37°10'23.9"	2 979	大通县宝库林场
R2	101°24'43.3"	37°19'4.5"	3 578	大通县达板山北坡
R3	101°24'17.6"	37°22'3.1"	3 723	大通县达板山南坡
R4	101°24'13.7"	37°22'55.7"	3 353	门源县青石嘴
R5	102°0'0.3"	37°23'28.6"	3 298	门源县仙米林场
R6	102°15'12.7"	37°1'49.7"	3 025	互助县北山林场
R7	102°12'31.5"	37°0'56.3"	3 402	互助县北山十二盘南坡
R8	102°9'31.5"	37°0'7.4"	3 294	互助县北山十二盘北坡
R9	102°25'30.8"	36°44'37.5"	3 080	乐都区上北山林场
R10	101°58'33.7"	36°17'22"	3 176	化隆县青砂山
R11	101°37'42.8"	36°18'46.0"	3 304	湟中县群加林场
R12	101°28'34.9"	36°22'7.5"	3 521	贵德县拉脊山
R13	102°3'0.1"	36°59'13.3"	3 187	互助县林川乡

2 结果与讨论

2.1 13 个产地烈香杜鹃的红外指纹图谱分析

由图 1 可见, 13 个产地烈香杜鹃红外光谱图整体峰形相似, 在 3 404, 2 921, 2 852, 1 734, 1 625, 1 449, 1 374, 1 266, 1 060 和 534 cm^{-1} 附近均有吸收; 在 1 517, 1 316, 1 161, 825, 779 和 594 cm^{-1} 附近, 峰数目、峰位置、峰形状与峰强度有较大差异。R2 在 829 和 595 cm^{-1} 处有特征吸收, 但在 779 cm^{-1} 处没有吸收; R8 在 829 和 595 cm^{-1} 处没有吸收, 但在 779 cm^{-1} 处有特征吸收; R3 在 1 316 cm^{-1} 处有特征吸收; 可根据特征吸收峰对烈香杜鹃整体化学成分、产地进行初步判断, 建立的红外指纹图谱可用于烈香杜鹃药材真伪、掺假的鉴别。

烈香杜鹃主要红外吸收谱带归属见表 2。可见不同产地烈香杜鹃在黄酮类物质的羟基取代位置与数量、取代糖的结构与数量有所差异, 因此黄酮类物质的数量有所差异。在此基础上, 进一步探讨采用共有峰和变异峰率的计算方法, 对不同产地烈香杜鹃进行比较。

2.2 13 个产地烈香杜鹃红外指纹图谱共有峰率、变异峰率双指标序列

2.2.1 共有峰的确定方法

对于一组吸收峰, 如果该组内吸收峰的波数最大差值小

于该组峰与其相邻组峰之间的平均波数之差, 确定该组峰为一组共有峰, 如对 1 620, 1 636, 1 640, 1 640, 1 620, 1 620, 1 620, 1 620, 1 621, 1 621, 1 620, 1 621 和 1 620 cm^{-1} 这一组峰, 平均波数值为 1 625 cm^{-1} , 该组峰内最大波数差为 20 cm^{-1} ; 该组峰前后相邻组峰的平均波数值分别 1 734 和 1 517 cm^{-1} , 与其前后相邻组峰的平均波数值差分别是 109 和 108 cm^{-1} , 20 cm^{-1} 小于 109, 108 cm^{-1} , 可判断该组峰是一组共有峰。

2.2.2 13 个产地烈香杜鹃红外指纹图谱共有峰率、变异峰率双指标序列

根据公式^[14], 计算 13 个产地烈香杜鹃样品之间红外指纹图谱的共有峰率和变异峰率, 建立了 13 个产地烈香杜鹃的双指标分析序列, 该序列可以在 $2+n$ 维 (n =样品数) 空间中精确判断任一样品与其他样品的亲缘远近关系, 具有很强的鉴别力。13 个产地烈香杜鹃的共有峰率和变异峰率双指标序列如下:

R1: R7R10(100.00; 0.00, 0.00), R2R5R6R13(93.33; 7.14, 0.00), R9(87.50; 7.14, 7.14), R4R8(86.67; 15.38, 0.00), R11R12(81.25; 15.38, 7.69), R3(75.00; 25.00, 8.33)

R2: R5R6R13(100.00; 0.00, 0.00), R1R7R10(93.33; 0.00, 7.14), R4(92.86; 7.69, 0.00), R9(81.25; 7.69, 15.38), R3R8(80.00; 16.67, 8.33), R11R12(75.00; 16.67,

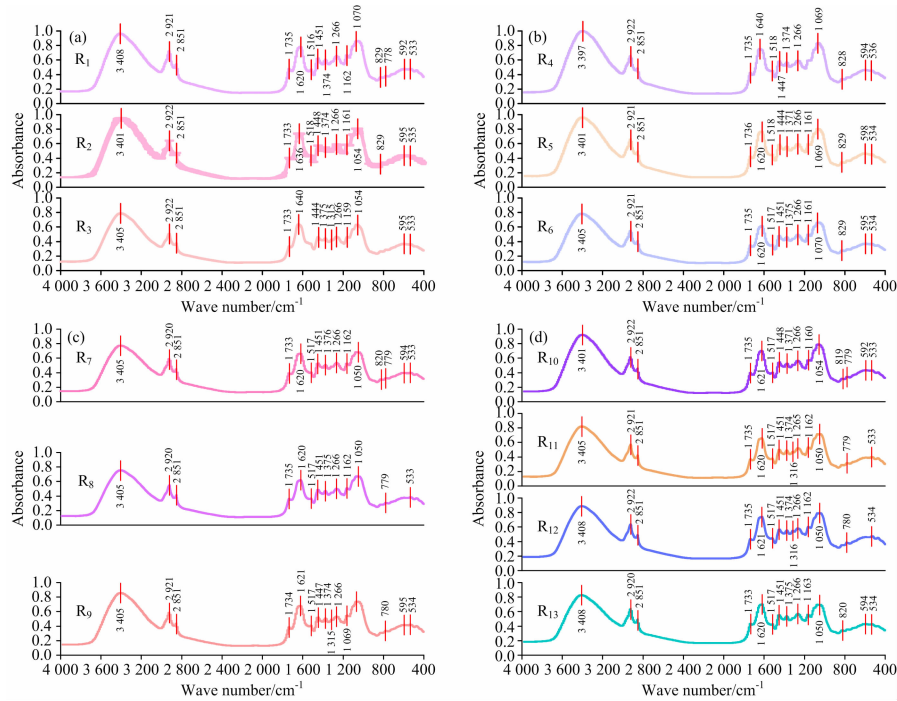


图 1 13 个产地烈香杜鹃的红外光谱图

Fig. 1 FTIR spectra of *R. anthopogonoides* from 13 regions

表 2 烈香杜鹃主要红外吸收谱带归属

Table 2 The assignments of main IR absorption peaks of *R. anthopogonoides*

波数/cm ⁻¹	主要基团和振动方式	主要峰归属
3 410~3 392	$\nu(\text{O}-\text{H})$	酚类
2 922~2 920	$\nu_{\text{as}}(\text{C}-\text{H})$	糖(苷)类
2 851	$\nu(\text{C}-\text{H})$	糖(苷)类
1 736~1 733	$\nu(\text{C}=\text{O})$	羧酸、酯类
1 640~1 620	$\nu(\text{C}=\text{O})$	黄酮类、酯类
1 518~1 517	$\nu(\text{C}=\text{C})$	苯环骨架振动
1 451~1 444	$\delta_{\text{as}}(\text{C}-\text{H}), \delta(\text{C}-\text{H}), \nu(\text{C}=\text{C})$	$-\text{CH}_3, -\text{CH}_2$, 苯环骨架振动
1 374~1 371	$\delta_{\text{s}}(\text{C}-\text{H})$	$-\text{CH}_3$
1 316~1 315	$\delta(\text{C}-\text{H})$	$-\text{CH}_3$
1 266	$\delta_{\text{as}}(\text{C}-\text{C}-\text{O}), \delta(\text{O}-\text{H})$	醚类、酯类
1 162~1 159	$\nu_{\text{s}}(\text{C}-\text{O})$	糖(苷)类
1 070~1 050	$\delta(\text{C}-\text{O})$	糖(苷)类
829~819	$\gamma_{\varphi}\text{H}$	取代苯
780~778	$\gamma_{\varphi}\text{H}$	取代苯
598~592	$\nu(\text{C}-\text{C})$	黄酮类
536~533	$\nu(\text{C}=\text{C})$	芳环(杂环)骨架振动

16.67)

R3: R9 (86.67; 0.00, 15.38), R2R5R6R11R12R13 (80.00; 8.33, 16.67), R1R7R10 (75.00; 8.33, 25.00), R4R8(73.33; 18.18, 18.18)

R4: R2R5R6R13 (92.86; 0.00, 7.69), R1R7R10 (86.67; 0.00, 15.38), R9 (75.00; 8.33, 25.00), R3R8 (73.33; 18.18, 18.18), R11R12 (68.75; 18.18, 27.27)

R5: R2R6R13 (100.00; 0.00, 0.00), R1R7R10 (93.33; 0.00, 7.14), R4 (92.86; 7.69, 0.00), R9 (81.25;

7.69, 15.38), R3R8 (80.00; 16.67, 8.33), R11R12 (75.00; 16.67, 16.67)

R6: R2R5R13 (100.00; 0.00, 0.00), R1R7R10 (93.33; 0.00, 7.14), R4 (92.86; 7.69, 0.00), R9 (81.25; 7.69, 15.38), R3R8 (80.00; 16.67, 8.33), R11R12 (75.00; 16.67, 16.67)

R7: R1R10 (100.00; 0.00, 0.00), R2R5R6R13 (93.33; 7.14, 0.00), R9 (87.50; 7.14, 7.14), R4R8 (86.67; 15.38, 0.00), R11R12 (81.25; 15.38, 7.69), R3

(75.00; 25.00, 8.33)

R8: R11R12 (92.86; 0.00, 7.69), R1R7R9R10 (86.67; 0.00, 15.38), R2R5R6R13 (80.00; 8.33, 16.67), R3R4 (73.33; 18.18, 18.18)

R9: R11R12 (93.33; 7.14, 0), R1R7R10 (87.50; 7.14, 7.14), R3R8 (86.67; 15.38, 0), R2R5R6R13 (81.25; 15.38, 7.69), R4 (75.00; 25.00, 8.33)

R10: R1R7 (100.00; 0.00, 0.00), R2R5R6R13 (93.33; 7.14, 0.00), R9 (87.50; 7.14, 7.14), R4R8 (86.67; 15.38, 0.00), R11R12 (81.25; 15.38, 7.69), R3 (75.00; 25.00, 8.33)

R11: R12 (100.00; 0.00, 0.00), R9 (93.33; 0.00, 7.14), R8 (92.86; 7.69, 0.00), R1R7R10 (81.25; 7.69, 15.38), R3 (80.00; 16.67, 8.33), R2R5R6R13 (75.00; 16.67, 16.67), R4 (68.75; 27.27, 18.18)

R12: R11 (100.00; 0.00, 0.00), R9 (93.33; 0.00, 7.14), R8 (92.86; 7.69, 0.00), R1R7R10 (81.25; 7.69, 15.38), R3 (80.00; 16.67, 8.33), R2R5R6R13 (75.00; 16.67, 16.67), R4 (68.75; 27.27, 18.18)

R13: R2R5R6 (100.00; 0.00, 0.00), R1R7R10 (93.33; 0.00, 7.14), R4 (92.86; 7.69, 0.00), R9(81.25; 7.69, 15.38), R3R8(80.00; 16.67, 8.33), R11R12(75.00; 16.67, 16.67)

其中 R1: R9(87.50; 7.14, 7.14)表示该序列以 R1 为标准计算其他样品指纹图谱的共有峰率与变异峰率, R1 与 R9 的共有峰率为 87.50, R1 的变异峰率为 7.14, R9 的变异峰率为 7.14。R1: R7R10(100.00; 0.00, 0.00)表示 R7, R10 与 R1 的共有峰率相同, 为 100.00, R7, R10 与 R1 具有相同的变异峰率, 为 0.00。

从以上序列可以看出, 在不同的序列中, 不同的共有峰率表明样品之间存在着不同的关系。某一样品与另一样品具有相同的共有峰率时, 多数变异峰率不同, 少数变异峰率相同, 如 R1: R4R8 (86.67; 15.38, 0.00), 表明 R4 和 R8 相对于 R1 具有相同的共有峰率, 为 86.67, R4、R8 相对于 R1 的变异峰率不同, 分别是 15.38 与 0.00, 此时能很好地区分 R4 与 R8。R1: R7R10(100.00; 0.00, 0.00)中, R7 和 R10 相对于 R1 具有相同的共有峰率与变异峰率, 说明 R7 和 R10 相对于 R1 非常相似, 可在更深层次上做出认同或区分。运用双指标序列分析法从共性和变异性两方面分析药材的红外指纹图谱, 可以准确地找出化学成分最相似与差异最大的烈香杜鹃。

2.2.3 13 个产地烈香杜鹃样品的基本关系组、对及分析

依据建立的序列, 对烈香杜鹃样品进行基本的分组, 在最相似样品对、组中, 根据共有峰率分为以下几组:

A 组: R1: R7R10(100.00; 0.00, 0.00), R2: R5R6R13 (100.00; 0.00, 0.00), R5: R2R6R13 (100.00; 0.00, 0.00), R6: R2R5R13 (100.00; 0.00, 0.00), R7: R1R10 (100.00; 0.00, 0.00), R10: R1R7 (100.00; 0.00, 0.00), R11: R12 (100.00; 0.00, 0.00), R12: R11 (100.00; 0.00, 0.00), R13: R2R5R6 (100.00; 0.00, 0.00)

B 组: R9: R11R12 (93.33; 7.14, 0.00), R4: R2R5R6R13 (92.86; 0.00, 7.69), R8: R11R12 (92.86; 0.00, 7.69)

C 组: R3: R9(86.67; 0.00, 15.38)

在 A 组中, 序列 R1: R7R10; R2: R5R6R13; R11: R12 的共有峰率、变异峰率相同, 吸收峰情况完全对应, 序列对应的产地分别为大通县宝库林场与互助县北山十二盘南坡、化隆县青砂山; 大通县达板山北坡与门源县仙米林场、互助县北山林场、互助县林川乡; 群加林场与贵德县拉脊山; 每对序列的地理位置接近, 气候条件和生长环境近似, 所产烈香杜鹃的质量相似性高。

在 B 组中, 序列共有峰率很高, 且十分接近, R2, R5, R6 和 R13 相对于 R4 有相同的共有峰率, 为 92.86, R4 变异峰率为 0.00, R2, R5, R6 和 R13 变异峰率为 7.69, 说明 R2, R5, R6, R13 与 R4 之间化学成分很接近, 对应的产地分别为大通县达板山北坡、仙米林场、北山林场、互助县林川乡、门源县青石嘴, 这 5 个产地地理位置相对较近, 气候条件与生长环境相似; R11 与 R12 相对 R8 和 R9 的共有峰率很接近, 变异峰率较小, 由此可见 R8, R9, R11 和 R12 的化学成分较相似。

在 C 组中, R9 相当于 R3 共有峰率为 86.67, R3 的变异峰率为 0.00, 但 R9 变异峰率为 15.38, 说明这两个产地的烈香杜鹃的化学成分差异最大, 从地理位置上分析, 乐都区上北山林场与大通县达板山南坡的经度跨度最大, 具有明显的产地差异。

由上述分析可知, 产地接近、气候条件与生长环境相似的烈香杜鹃之间共有峰率较高; 而产地、气候条件与生长环境相差较大的烈香杜鹃之间变异峰率较高, 分析结果确切地反映了实际情况。

2.2.4 13 个产地烈香杜鹃红外指纹图谱聚类分析

使用 SPSS 20 对 13 个产地烈香杜鹃的红外指纹图谱做系统聚类分析, 聚类方法选择组间联接法, 区间选择 Euclidean 距离, 对 13 个产地烈香杜鹃红外指纹图谱进行聚类分析, 见图 2。

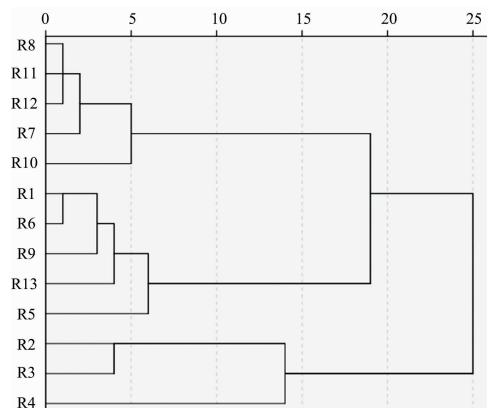


图 2 13 个产地烈香杜鹃红外指纹图谱聚类图

Fig. 2 Cluster analysis of FTIR fingerprint of *R. anthopogonoides*

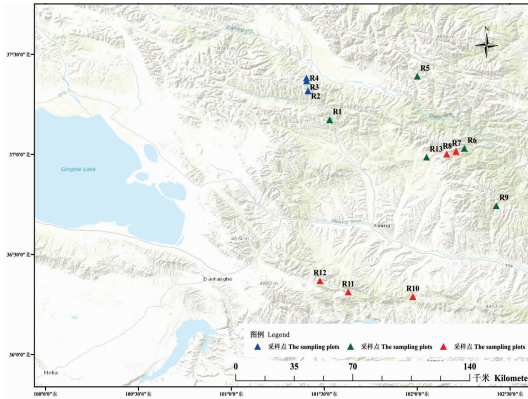


图 3 烈香杜鹃采样点分布

Fig. 3 Location of the sampling plots

从图 2 中可以看出,互助县北山十二盘北坡、湟中县群加林场与贵德县拉脊山的烈香杜鹃最先聚为一类,与双指标序列分析法得到的结论一致,表明这 3 个产地的烈香杜鹃的化学成分十分相似。烈香杜鹃采样点分布如图 3 所示,根据聚类分析结果,当欧氏距离为 15 时,可聚为三大类,聚类分析归为一类的用相同颜色采样点表示。其中大通县达板山南坡与北坡、门源县青石嘴的烈香杜鹃为一类,用蓝色采样点表示;互助县北山十二盘北坡与北坡、湟中县群加林场、贵德县拉脊山、化隆县青砂山的烈香杜鹃归为一类,用红色采样点表示;其余归为一类,用绿色采样点表示。蓝色采样点的地理位置、气候与生长环境非常接近,且 3 个产地烈香杜鹃的化学成分十分相似;5 个绿色采样点比较分散,所产烈香杜鹃的化学成分相似;5 个红色采样点分散,所产烈香杜鹃化学成分相似。R6, R7, R8 与 R13 产地均位于互助县,在欧氏距离为 20 时,互助县所产烈香杜鹃归为两大类,从此产地向北随着纬度的增加,无红色采样点出现;随着纬度的

减小,无绿色采样点出现,推断此产地可能为这两类烈香杜鹃分布的重叠区域。当欧氏距离为 20 时,绿色采样点与红色采样点代表的两类烈香杜鹃归为一类,蓝色采样点归为一类。当欧氏距离为 25 时,13 个产地的烈香杜鹃聚为一类。

本研究运用的双指标序列分析法与聚类分析法,分析的分析原理、角度不同,得到的分组结果基本一致,表明这两种分析方法可靠^[11],可用于快速分析不同产地的烈香杜鹃。

3 结 论

傅里叶变换红外光谱技术避免了一般指纹图谱分析技术前处理过程复杂、成分提取不完全、药材用量大、分离难度大的缺点,因此,本研究采用傅里叶变换红外光谱技术开展了烈香杜鹃花和叶的红外指纹图谱研究,建立烈香杜鹃药材的红外指纹图谱,对红外光谱主要吸收谱带进行

了基团归属,为烈香杜鹃的真伪鉴别、质量控制提供依据。双指标序列分析法能精确地辨认关系最近的样品,可以快速、准确地对两个及多个样品进行可靠的区分,但共有峰率、变异峰率的计算较为繁琐;聚类分析法多用于大样本量的分析,操作简单快捷,但只适用于一般归类。从实验结果可以看出,双指标序列分析法与聚类分析法互补,可用于分析烈香杜鹃红外指纹图谱数据。

运用双指标序列分析法和聚类分析法分析红外指纹图谱,表明不同产地、气候与生长环境相似的烈香杜鹃红外指纹图谱的相似度很高,进一步证明,中药的化学成分及其含量受气候条件与生长环境的影响,与程云清等^[15]和黄瘤萍等^[16]的研究结果一致。红外指纹图谱结合双指标序列分析法和聚类分析法为鉴别烈香杜鹃的真伪、产地和品质差异提供了快速、有效的新方法,也为烈香杜鹃药材资源的综合开发利用提供参考。

References

- [1] The Editorial Committee of FRPS(中国科学院中国植物志编辑委员会). Flora of China(中国植物志). Beijing: Science Press(北京:科学出版社), 1999. 180.
- [2] Yang Kai, Zhou Yuxin, Wang Chengfang, et al. *Molecules*, 2011, 16(9): 7320.
- [3] Bai Penghua, Bai Chunqi, Liu Qizhi, et al. *Zeitschrift Fur Naturforschung Section C-a Journal of Biosciences*, 2013, 68(7-8): 307.
- [4] Jing Linlin, Ma Huiping, Fan Pengcheng, et al. *Complementary and Alternative Medicine*, 2015, 15(1): 1.
- [5] FAN Min-xia, ZHAO Jian-qiang, YUAN Xiang, et al(范民霞, 赵建强, 苑 祥, 等). *Chinese Traditional and Herbal Drugs(中草药)*, 2016, 47(21): 3769.
- [6] Naoki I, Susumu K. *Journal of Natural Products*, 2010, 73(7): 1203.
- [7] Naoki I, Susumu K. *Chemical & Pharmaceutical Bulletin*, 2011, 59(11): 1409.
- [8] Dimaer · Danzengpengcuo(帝玛尔·丹增彭措). *Jing Zhu Materia Medica(晶珠本草)*. Shanghai: Shanghai Science and Technology Press(上海:上海科学出版社), 2012. 115.
- [9] Chinese Pharmacopoeia Commission(国家药典委员会). *Drug Standard of Ministry of Public Health of the People's Republic of China(中华人民共和国卫生部药品标准)*. Beijing: People's Medical Publishing House(北京:人民卫生出版社), 1995. 78.
- [10] Sun Suqin, Chen Jiabo, Zhou Qun, et al. *Planta Medica*, 2010, 76(17): 1987.
- [11] SHAO Ying, WU Qi-nan, GU Wei, et al(邵 莹, 吴启南, 谷 巍, 等). *China Journal of Chinese Materia Medica(中国中药杂志)*, 2014, 39(9): 1644.
- [12] ZHOU Ye, LI Pei-fu, ZHANG Qing-wei, et al(周 晔, 李佩孚, 张庆伟, 等). *Spectroscopy and Spectral Analysis(光谱学与光谱分析)*,

- 2013, 33(7): 1791.
- [13] WANG Yan, WANG Bin, XU Yin-feng, et al(王 燕, 王 斌, 徐银峰, 等). Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology(中国食品学报), 2013, 13(1): 178.
- [14] ZOU Hua-bin, YUAN Jiu-rong, DU Ai-qin, et al(邹华彬, 袁久荣, 杜爱琴, 等). Chinese Traditional Patent Medicine(中成药), 2004, 26(10): 779.
- [15] CHENG Yun-qing, LIU Jian-feng, LIU Qiang, et al(程云清, 刘剑锋, 刘 强, 等). Journal of Nanjing Agricultural University(南京农业大学学报), 2011, 34(5): 155.
- [16] HUANG Li-ping, WU Jing(黄丽萍, 吴 静). Journal of Chinese Materia Medica(中国中药杂志), 2011, 36(11): 1441.

A Comparative Study of Infrared Fingerprint of *Rhododendron anthopogonoides* Maxim. from Different Regions

GUI Lan^{1,2}, JIANG Lei¹, WU Nan^{1,2}, WANG Wei-dong^{1,2}, TAO Yan-duo¹, MEI Li-juan^{1*}

1. Key Laboratory of Tibetan Medicine Research, Northwest Institute of Plateau Biology, Chinese Academy of Sciences, Qinghai Provincial Key Laboratory of Tibetan Medicine Research, Xining 810008, China
2. University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049, China

Abstract *Rhododendron anthopogonoides* Maxim., a traditional Tibetan ethnodrug, has been used for antitussive, expectorant, antiasthmatic, heat-clearing and detoxicating, stomachic and swelling agent for a long time, besides, it is also commonly used for treating rheumatoid arthritis. And most of them are wild. Thus, in this study, *R. anthopogonoides* from 13 different regions were identified in the range of 4 000~400 cm⁻¹ by adopting infrared fingerprint (IR) in order to identify the adulterants, regions and quality of this herbal medicine effectively. Results showed that the infrared spectrum of the samples are similar. And the main IR absorption peaks of the samples were identified and assigned. Then, the fingerprint of *R. anthopogonoides* was established and the characteristic peaks were at 3 404, 2 921, 2 852, 1 734, 1 625, 1 449, 1 374, 1 266, 1 060, 534 cm⁻¹. However, there were still some differences in the number, position and intensity of the characteristic peaks at 1 517, 1 316, 1 161, 825, 779, 594 cm⁻¹. Moreover, the common peak ratio and variant peak ratio dual-indexes sequential were also calculated and established, respectively. In addition, the cluster analysis was used to analyze the fingerprint data by using SPSS software. What's more, the grouping results of sequential analysis of dual-indexes and cluster analysis were nearly the same although the analysis principle and aspect of the two methods were different. And it was shown that the two methods are reliable and can be used to analyze the differences in regions and quality of the samples. Results also showed that the common peak ratios of the samples are ≥ 68.75 , and the variant peak ratios are ≤ 27.27 . The common peak ratios are higher when the samples grow in the closer regions with the similar climatic conditions and growing environments, while variant peak ratios are higher when the samples grow in the farther regions with the different climatic conditions and growing environments. The results of cluster analysis showed that when the Euclidean distance is 15, the samples can be clustered into three categories, where R2, R3 and R4 are one class, R7, R8, R10, R11 and R12 are another class, and the rest are classified into the last class. When the Euclidean distance is 20, the samples are divided into two categories, where R2, R3 and R4 are one class, and the rest are classified into the other class. When the Euclidean distance is 25, the samples from 13 regions are grouped together. So, the relationships between the quality of *R. anthopogonoides* and their origins can be summarized intuitively by combining the results of cluster analysis with the figure of sampling plots' location made with ArcGIS. To sum up, fingerprint combined with sequential analysis of dual-indexes and cluster analysis provides a new method which is effective and rapid for the identification of *R. anthopogonoides* with the adulterants, regions and quality.

Keywords *Rhododendron anthopogonoides* Maxim.; Infrared spectrum; Fingerprint; Sequential analysis of dual-indexes; Cluster analysis

(Received Sep. 4, 2018; accepted Jan. 11, 2019)

* Corresponding author