·论著·一次研究·

不同产地海金沙标准汤剂及其混淆品UPLC特征图谱研究

罗 茜[1,2]，段志文[2]，刘晓霞[2]，刘静蕊[2]，周 林[2]，陈向东[2]

1. 广州中医药大学（广州 510006）
2. 广东一方制药有限公司（广东佛山 528244）

【摘要】目的 建立海金沙标准汤剂的超高效液相色谱（UPLC）特征图谱，并与混淆品进行对比分析。**方法** 采用UPLC法建立了海金沙标准汤剂特征图谱，并经相似度评价、化学模式识别比较不同产地海金沙标准汤剂及其混淆品的差异。**结果** 海金沙标准汤剂特征图谱共标定8个特征峰，经质谱分析与对照品比对，确认其中5个成分，相似度均大于0.900。根据聚类分析、主成分分析及正交偏最小二乘判别分析结果将18批海金沙标准汤剂按产地分类，正交偏最小二乘判别分析共筛选出4个影响质量的共有特征峰。所建立特征图谱方法能够快速鉴别蒲黄、松花粉、石松子3种混淆品。**结论** 建立的UPLC特征图谱可用于不同产地海金沙标准汤剂的质量控制，为海金沙资源及其相关产品的质量评价提供了依据。

【关键词】海金沙；标准汤剂；超高效液相色谱特征图谱；化学模式识别；混淆品
【中图分类号】R284.1 **【文献标识码】**A

UPLC characteristic chromatographic analysis of *Lygodium japonicum* (Thunb.) Sw. standard decoction from different geographic origins and their adulterants

LUO Xi[1,2], DUAN Zhiwen[2], LIU Xiaoxia[2], LIU Jingrui[2], ZHOU Lin[2], CHEN Xiangdong[2]

1. Guangzhou University of Chinese Medicine, Guangzhou 510006, China
2. Guangdong Yifang Pharmaceutical Co., Ltd., Foshan 528244, Guangdong Province, China
Corresponding author: CHEN Xiangdong, Email: chenxd66@126.com

【Abstract】Objective To establish a characteristic chromatogram of ultra-high performance liquid chromatography (UPLC) for *Lygodium japonicum* (Thunb.) Sw. standard decoction, and to compare it with its adulterants. **Methods** A characteristic chromatogram was developed using UPLC. Similarity evaluation and chemical pattern recognition were applied to compare the differences among *Lygodium japonicum* (Thunb.) Sw. standard decoction from different origins and their adulterants. **Results** In the characteristic chromatogram of *Lygodium japonicum* (Thunb.) Sw. standard decoction, a total of 8 characteristic peaks were assigned. Through mass spectrometric analysis and comparison with reference substances, 5 of these peaks were identified, with all similarity values exceeding 0.900. Based on the results of hierarchical cluster analysis, principal component analysis, and orthogonal partial least-squares discriminant

DOI: 10.12173/j.issn.2097-4922.202607005
基金项目：佛山市南海区重点领域科技攻关专项（南科〔2023〕20号-18）
通信作者：陈向东，硕士，教授级高级工程师，硕士研究生导师，Email：chenxd66@126.com

analysis, the 18 batches of *Lygodium japonicum* (Thunb.) Sw. standard decoction were categorized according to their geographical origins. The orthogonal partial least-squares discriminant analysis screened out 4 common characteristic peaks that contributed significantly to quality differentiation. The developed characteristic chromatographic method enabled rapid distinction of 3 commonly confused adulterants, namely Typha pollen, Pinus pollen, and Lycopodium spores. **Conclusion** The established UPLC characteristic chromatogram can be used for the quality control of *Lygodium japonicum* (Thunb.) Sw. standard decoction from different geographical origins, and provides a basis for the quality evaluation of *Lygodium japonicum* (Thunb.) Sw. resources and their related products.

【Keywords】 *Lygodium japonicum* (Thunb.) Sw; Standard decoction; Ultra-high performance liquid chromatography; Chemical pattern recognition; Adulterants

海金沙为海金沙科植物海金沙［*Lygodium japonicum*（Thunb.）Sw.］的干燥成熟孢子，具有清利湿热、通淋止痛的功效，用于治疗热淋、石淋、血淋、膏淋、尿道涩痛等症[1]。其现代药理作用主要涉及利胆、防治结石、抗氧化、抗菌、抗病毒及抑制前列腺增生等方面[2-4]。海金沙的主要成分包括黄酮类、酚酸类、甾体类及挥发油类等，其中黄酮类成分如山柰酚、蒙花苷等具有抗氧化、抗炎作用，酚酸类成分如咖啡酸、原儿茶酸等具有利胆、抗菌活性[5-12]。海金沙药用部位为孢子，与同基原植物的干燥地上部分（海金沙草）化学成分差异显著，提示二者应分别建立质量控制标准[13]。目前已有学者建立了海金沙草配方颗粒、海金沙药材及金沙藤的HPLC或超高效液相色谱（ultra-high performance liquid chromatography，UPLC）指纹图谱，并采用化学计量学方法区分不同样品、指认差异成分[13-15]；也有研究采用红外光谱、薄层色谱及水试-液相色谱联用等方法鉴别海金沙与其掺伪品[16-19]。然而，尚未见到针对海金沙标准汤剂的系统UPLC特征图谱研究，缺乏结合产地的质量一致性评价。此外，海金沙在商品流通中常与蒲黄、松花粉、石松子等外观相似的药材相互混淆，仅凭传统性状与显微鉴别难以实现准确区分[20-21]。

本研究建立海金沙标准汤剂的UPLC特征图谱，结合聚类分析（hierarchical cluster analysis，HCA）、主成分分析（principal component analysis，PCA）及正交偏最小二乘判别分析（orthogonal partial least squares discriminant analysis，OPLS-DA）等多模式识别法对不同产地海金沙标准汤剂进行质量评价，辨识其差异化学成分，并实现对海金沙及其常见混淆品（蒲黄、松花粉、石松子）的有效区分，以期为海金沙标准汤剂的质量控制体系构建及配方颗粒工艺优化提供实验依据。

1 仪器与试药

1.1 主要仪器与材料

Agilent 1290高效液相色谱仪（美国安捷伦公司）；Waters H-Class高效液相色谱仪（美国沃特世公司）；Vanquish Thermo超高效液相色谱仪、Thermo Vanquish Fles（超）高效液相-Thermo Fisher QE高分辨质谱联用仪（配置加热电喷雾离子源）均购自美国赛默飞世尔科技公司；ME204E万分之一天平和XP26百万分之一天平购自梅特勒-托利多仪器（上海）有限公司；KQ500D数控超声波清洗器（昆山市超声仪器有限公司）；HWS28型恒温水浴锅（上海一恒科技有限公司）；Milli-Q Direct超纯水系统（德国默克股份有限公司）；TDL-4000C离心机（上海安亭科学仪器厂）。

1.2 主要药品与试剂

原儿茶酸（批号：110809-202207，纯度97.5%）、原儿茶醛（批号：110810-202210，纯度99.9%）、香草酸（批号：110776-201503，纯度99.8%）、咖啡酸（批号：110885-201703，纯度99.7%）、4-香豆酸（批号：112037-202102，纯度99.7%）等对照品均购自中国食品药品检定研究院；磷酸、乙腈为色谱纯；其余试剂均为分析纯；水为超纯水。

本研究共收集海金沙药材18批（编号：S1～S18），分别产自江西、湖北、四川、安徽，样品信息见表1；另收集混淆品各1批，即产于安徽亳州的蒲黄、湖南怀化的石松子及吉林白山的松花

粉；上述药材及混淆品经广东一方制药有限公司孙冬梅主任中药师鉴定，海金沙为海金沙科植物海金沙［*Lygodium japonicum* （Thunb.）Sw.］的干燥成熟孢子，蒲黄为香蒲科植物水烛香蒲（*Typha angustifolia* L.）的干燥花粉，石松子为石松科植物石松（*Lycopodium japonicum* Thunb.）的干燥孢子，松花粉为松科植物油松（*Pinus tabulieformis* Carr.）的干燥花粉，经广东一方制药有限公司质量中心检定，均符合《中国药典》2025年版的相关规定[1]。

表 1 样品信息

Table 1. Source information of samples

编号	产地信息	编号	产地信息
S1	湖北黄冈	S10	四川成都
S2	湖北黄冈	S11	四川成都
S3	湖北黄冈	S12	四川成都
S4	江西吉安	S13	四川达州
S5	江西吉安	S14	四川达州
S6	江西吉安	S15	四川达州
S7	江西宜春	S16	安徽宣城
S8	江西宜春	S17	安徽宣城
S9	江西宜春	S18	安徽宣城

2 方法与结果

2.1 海金沙标准汤剂的制备

取海金沙饮片 200 g，加水煎煮（包煎）2次，第1次煎煮加8倍量水，浸泡30 min，武火（功率：500 W）煮沸后文火（功率：200 W）保持微沸 30 min，用350目筛网趁热过滤，滤液迅速用冷水冷却；第2次煎煮加6倍量水，武火（功率：500 W）煮沸后文火（功率：200 W）保持微沸25 min，用350目筛网趁热过滤，滤液迅速用冷水冷却，合并2次滤液，转移至旋转蒸发仪中浓缩（水浴温度，65 ℃，转速90 r/min，真空度−0.08 ~ −0.1 MPa）至100 mL，分装至10 mL西林瓶中，每瓶分装体积为2 mL，分装完毕后转移至真空冷冻干燥机中冻干，取出，轧铝盖，即得。按以下公式计算出膏率：

$$Y(\%)=\frac{(m_1-m_0)\times m_t}{m_s\times m_c}\times 100\%$$

式中，Y为出膏率；m_1为冻干后冻干粉和包材的总质量；m_0为冻干前包材质量；m_s为本批标准汤剂饮片质量；m_c为冻干所用浓缩液质量；m_t为本批标准汤剂浓缩液总质量。出膏率结果见表2。

表2 18批海金沙标准汤剂出膏率（%）

Table 2. Extraction yields of 18 batches of *Lygodium japonicum* (Thunb.) Sw. standard decoction (%)

编号	出膏率	编号	出膏率
S1	3.14	S10	4.72
S2	3.08	S11	3.94
S3	3.33	S12	4.63
S4	3.31	S13	4.07
S5	4.44	S14	3.23
S6	4.30	S15	3.72
S7	4.91	S16	3.26
S8	4.12	S17	3.27
S9	3.06	S18	3.26

2.2 分析条件

2.2.1 UPLC色谱条件

色谱柱：Waters BEH C_{18}（100 mm × 2.1 mm，1.7 μm）；以乙腈（A）-0.2%磷酸溶液（B）为流动相，梯度洗脱（0 ~ 5 min，2%→3% A；5 ~ 15 min，3%→5% A；15 ~ 20 min，5%→12% A；20 ~ 30 min，12% A；30 ~ 35 min，12%→20% A；35 ~ 45 min，20%→25% A；45 ~ 50 min，25% A）；流速：0.30 mL/ min；检测波长：260 nm；柱温：25 ℃；进样量：1 μL。

2.2.2 液相色谱-质谱条件

色谱条件除流动相B改为0.2%甲酸溶液外，其余同“2.2.1”项。

质谱条件：采用加热电喷雾离子源，喷雾电压为2.50 kV，扫描模式为正、负离子模式；质量扫描范围为*m/z* 120 ~ 1 500；鞘气流速为65 Arb；辅助气流速为20 Arb；毛细管温度为500 ℃；辅助器加热温度为300 ℃；归一化碰撞能量为40 eV；S-lens电压为50 V。

2.3 溶液的制备

2.3.1 对照品溶液

取原儿茶酸、原儿茶醛、香草酸、咖啡酸、4-香豆酸对照品适量，精密称定，加甲醇制成每1 mL含原儿茶酸10 μg、原儿茶醛10 μg、香草酸20 μg、咖啡酸20 μg、4-香豆酸40 μg的对照品溶液，即得。

2.3.2 供试品溶液

取海金沙标准汤剂冻干粉适量，研细，取约0.2 g，精密称定，置具塞锥形瓶中，加入甲醇25 mL，超声处理（功率：250 W，频率：40 kHz）30 min，放冷，离心10 min，取上清液蒸干，残

渣加水25 mL溶解，用乙酸乙酯振摇提取3次，每次25 mL，合并乙酸乙酯液，蒸干，残渣加甲醇溶解并转移至5 mL量瓶中，摇匀，滤过，取续滤液，即得供试品溶液。

2.4 特征图谱方法学验证

2.4.1 精密度试验

取供试品溶液（编号：S1），按“2.2.1”项下色谱条件连续进样测定6次，以咖啡酸为对照（S）峰，计算得各特征峰与S峰的相对保留时间*RSD*为0.04%～0.13%，相对峰面积*RSD*为0.09%～2.45%（n = 6），均小于3.00%，表明仪器精密度良好。

2.4.2 稳定性试验

取室温放置的供试品溶液（编号：S1），分别在0、2、4、6、8、10、12、24 h时按“2.2.1”项下色谱条件进样测定，以咖啡酸为S峰，计算得各特征峰与S峰的相对保留时间*RSD*为0.04%～0.16%，相对峰面积*RSD*为0.12～1.14%（n=8），均小于3.00%，表明仪器稳定性良好。

2.4.3 重复性试验

取同一批海金沙标准汤剂冻干粉（编号：S1）6份，按“2.3.2”项下方法制备供试品溶液，并按“2.2.1”项下色谱条件进样测定，以咖啡酸为S峰，计算得各特征峰与S峰的相对保留时间*RSD*为0.12%～1.68%，相对峰面积*RSD*为0.96%～2.98%（n = 6），均小于3.00%，表明该方法重复性良好。

2.5 特征图谱的建立与分析

2.5.1 共有峰标定及相似度评价

分别取18批海金沙标准汤剂供试品溶液，按“2.2.1”项下条件进样测定，记录色谱图，将特征图谱CDF格式导入《中药色谱指纹图谱相似度评价系统》（2012版），以S1为参照特征图谱，生成18批海金沙标准汤剂特征图谱叠加图（图1）和海金沙标准汤剂特征图谱共有模式（图2），并对18批海金沙标准汤剂样品进行相似度评价（表3）。结果显示，18批样品均标定8个共有特征峰，且样品相似度均大于0.900，区间变动幅度较小，反映了18批海金沙标准汤剂在整体化学成分相似，不同批次之间一致性较好。

2.5.2 质谱分析

取海金沙标准汤剂粉末（编号：S1），按“2.3.2”项下方法制备供试品溶液，并按“2.2.2”项下分析条件进样测定。利用UPLC-四极杆/静电场轨道阱质谱技术分别采集负离子模式下的总离子流色谱图和260 nm处的紫外吸收图（图3），紫外吸收峰与总离子流峰的出峰时序及峰形趋势相匹配，保留时间基本吻合。所得原始数据先后导

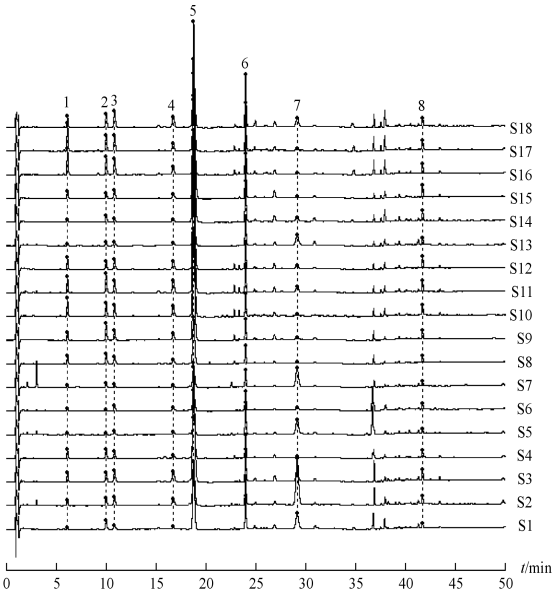

图 1 18批海金沙标准汤剂特征图谱叠加图

Figure 1. Overlay of fingerprint chromatograms of 18 batches of *Lygodium japonicum* (Thunb.) Sw. standard decoction

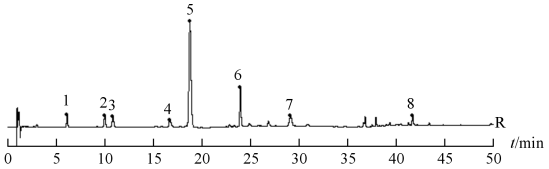

图 2 海金沙标准汤剂特征图谱共有模式图

Figure 2. Common pattern of characteristic chromatograms of *Lygodium japonicum* (Thunb.) Sw. standard decoction

表 3 18批海金沙标准汤剂相似度结果

Table 3. Similarity results of 18 batches of *Lygodium japonicum* (Thunb.) Sw. standard decoction

编号	相似度	编号	相似度
S1	0.962	S10	0.990
S2	0.992	S11	0.907
S3	0.990	S12	0.997
S4	0.976	S13	0.978
S5	0.995	S14	0.978
S6	0.927	S15	0.972
S7	0.950	S16	0.987
S8	0.988	S17	0.992
S9	0.991	S18	0.988

入 Compound Discoverer 3.3 软件与 Thermo mzVault 软件进行处理，同时检索 mzCloud 公共谱库及 OTCML 自建本地数据库。以实测质荷比与理论值之间的相对偏差小于 5×10^{-6} 为筛选阈值，对各色谱峰对应的分子式进行归属；最后综合数据库匹配得分和已发表文献信息，对各化合物进行初步结构指认，共鉴定出 8 个化合物（表 4）。

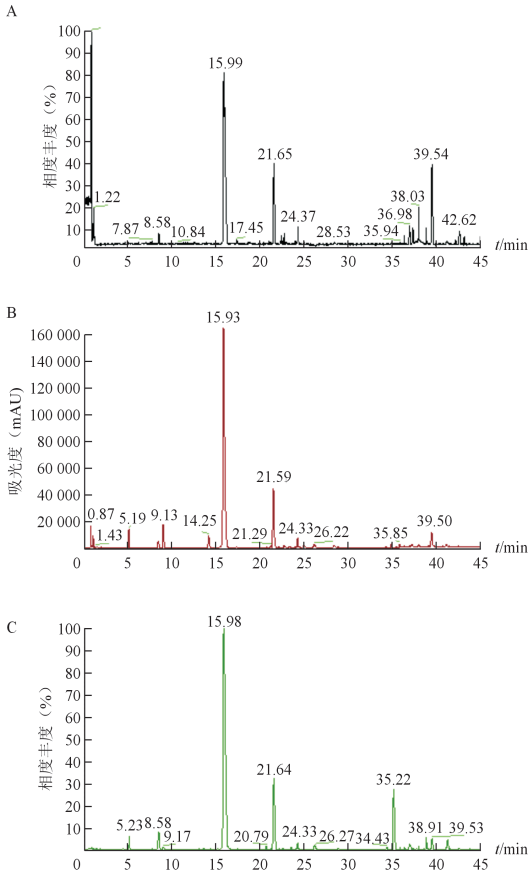

图 3 海金沙标准汤剂特征图谱总离子流图和紫外吸收图

Figure 3. Total ion current chromatograms and UV absorption chromatogram of the characteristic chromatogram of *Lygodium japonicum* (Thunb.) Sw. standard decoction

注：A. 正离子模式总离子流图；B.260 nm 紫外吸收图；C. 负离子模式总离子流图。

2.5.3 共有峰对照品确认

在未知化合物指认中，质谱提供的精确质量数和特征碎片信息可快速指向可能的分子式或结构骨架，完成初步指认。但同分异构体或离子源内裂解等因素常使单一质谱证据不足，因此需借助 UPLC 在完全相同的色谱条件下通过对照品的保留时间并结合紫外-可见光 3D 光谱分析，对质谱指认结果进行最终确认。结果确认 5 个特征峰，分别是峰 1 为原儿茶酸、峰 2 为原儿茶醛、峰 4 为香草酸、峰 5 为咖啡酸、峰 6 为 4-香豆酸（图 4）。

2.6 化学计量学分析

2.6.1 HCA

利用数据分析软件，以 18 批海金沙样品的 8 个共有峰的峰面积为变量，采用组间平均联接法，以欧氏平方距离为测度进行聚类分析，结果见图 5，当类间距为 8 ~ 10 时 18 批样品可以聚为 3 类，江西、湖北产地（编号：S1 ~ S9）聚为Ⅰ类；四川产地（编号：S10 ~ S15）聚为Ⅱ类，安徽产地（编号：S16 ~ S18）聚为Ⅲ类。结果表明，江西、湖北产地的海金沙在含量上具有一定相似性，安徽和四川产地的海金沙各有一定差异，表明不同地理位置对药材生长条件的影响，进而影响了药材的化学成分和质量。

2.6.2 PCA

以 18 批样品的 8 个共有峰的峰面积为变量，将数据导入 SIMCA 14.1 数据分析软件分析，建立 PCA 模型。主成分模型累计贡献率 R^2X 为 95.2%，

表 4 海金沙化学成分鉴定结果

Table 4. Identification of chemical constituents from *Lygodium japonicum* (Thunb.) Sw.

序号	保留时间（min）	成分	分子式	分子量	加合离子	一级质谱质荷比（*m/z*）		质量准确度（ppm）	二级质谱质荷比（*m/z*）	参考文献
						实测值	理论值			
1	5.23	原儿茶酸	$C_7H_6O_4$	154.12	$[M-H]^-$	153.018	153.018 7	4.5	109.028 0	[22]
2	8.53	原儿茶醛	$C_7H_6O_3$	138.12	$[M-H]^-$	137.023 1	137.023 7	4.3	119.012 4，109.028 0，93.033 2，	[23]
3	9.13	对羟基苯甲酸	$C_7H_6O_3$	138.12	$[M-H]^-$	137.023 8	137.024 4	4.3	93.033 2	[24]
4	14.25	香草酸	$C_8H_8O_4$	168.15	$[M-H]^-$	167.033 9	167.034 3	2.3	152.010 2，123.043 8，108.020 2	[25]
5	15.99	咖啡酸	$C_9H_8O_4$	180.16	$[M-H]^-$	179.033 7	179.034 2	2.7	135.043 8	[26]
6	21.59	4-香豆酸	$C_9H_8O_3$	164.16	$[M-H]^-$	163.038 7	163.039 3	3.6	119.048 8	[27]
7	24.33	壬二酸	$C_9H_{14}O_4$	188.22	$[M-H]^-$	187.096 8	187.097 6	4.2	125.098 5，97.064 4	[28]
8	39.50	癸二酸	$C_{10}H_{18}O_4$	202.25	$[M-H]^-$	201.112 3	201.113 2	4.4	183.101 5，139.111 6	[29]

注：质量准确度 =（*m/z* 实测值 − *m/z* 理论值）/ *m/z* 理论值 × 10^6。

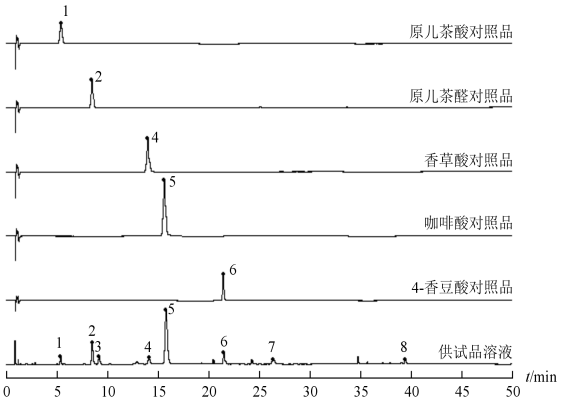

图 4 海金沙标准汤剂共有峰确认

Figure 4. Identification of reference substances in *Lygodium japonicum* (Thunb.) Sw. standard decoction

注：1. 原儿茶酸；2. 原儿茶醛；4. 香草酸；5. 咖啡酸；6.4-香豆酸。

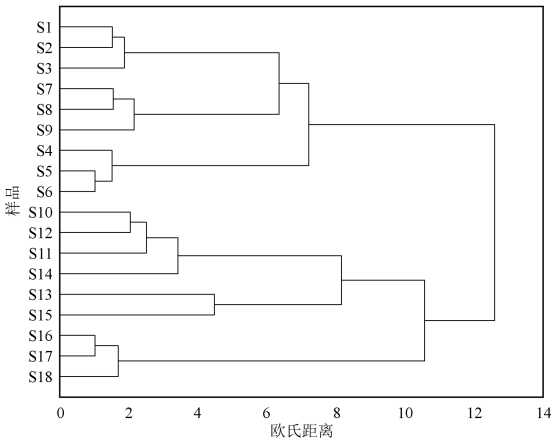

图 5 HCA 结果

Figure 5. Results of HCA

Q^2 值为 0.794 > 0.5，表明模型有效。PCA 得分图（图 6）显示，18 批样品可划分为 4 个大类：第 1 类（编号：S1 ~ S3）来源于湖北产地，第 2 类（编号：S4 ~ S9）来源于江西产地，第 3 类（编号：S10 ~ S15）来源于四川产地，第 4 类（编号：S16 ~ S18）来源于安徽产地。

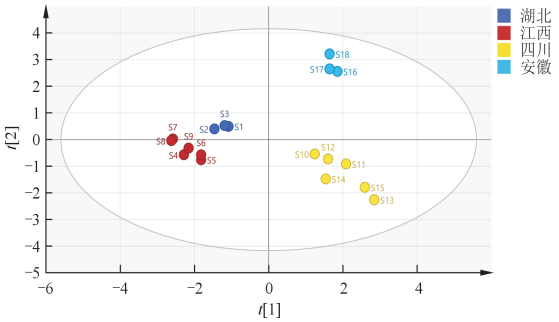

图 6 PCA 得分图

Figure 6. Score plot of PCA

2.6.3 OPLS-DA

以 18 批海金沙样品的 8 个共有峰峰面积为变量，得到 OPLS-DA 得分图（图 7），R^2X = 0.839，R^2Y = 0.849，Q^2 = 0.848，表明所建立的模型具有良好的稳定性及预测能力，随机排列 200 次该模型数据，并对其进行置换检验，结果 R^2 = 0.121 < 0.3，Q^2 = −0.502 < 0，说明模型不存在过度拟合现象（图 8-A），其共有峰的峰面积均落在 95% 置信区间内。以投影变量重要性（variable importance projection，VIP）值 > 1.0 为差异性筛选标准，筛选得到了 4 个差异性标志物，如图 8-B 所示，分别为峰 5（咖啡酸）、峰 6、峰 3、峰 1（原儿茶酸），提示这几个成分可能为引起海金沙质量差异的潜在标志性成分，对区分不同产地海金沙标准汤剂的贡献较大。

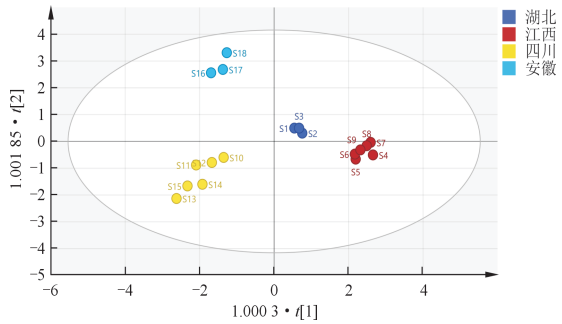

图 7 OPLS-DA 得分图

Figure 7. OPLS-DA score plot of fingerprints

2.7 与混淆品特征图谱对比

根据“2.1”项下方法分别制备混淆品蒲黄、松花粉、石松子标准汤剂，按照“2.3.2”项下方法制备供试品溶液，采用已确定的海金沙标准汤剂特征图谱方法进样测定，并与海金沙标准汤剂特征图谱进行对比分析，结果如图 9 所示，海金沙标准汤剂与伪品蒲黄、松花粉、石松子特征图谱存在一定的差异。

与海金沙标准汤剂特征图谱相比，石松子中峰 3、峰 4（香草酸）及峰 6（4-香豆酸）为共有峰，但响应值显著高于海金沙，峰 5（咖啡酸）亦为共有但响应值低于海金沙，峰 1（原儿茶酸）不含或仅微含，石松子缺少峰 2（原儿茶醛）和峰 7，并具有专属峰 9；蒲黄中峰 1（原儿茶酸）、峰 3、峰 4 为共有峰，蒲黄特有峰 10 至峰 14，且缺少海金沙的峰 2、峰 5、峰 7；松花粉中峰 1、峰 3、峰 4 为共有峰，但峰 3 响应强度明显高于海金沙，松花粉缺少海金沙的峰 2、峰 5、峰 7、峰 8，

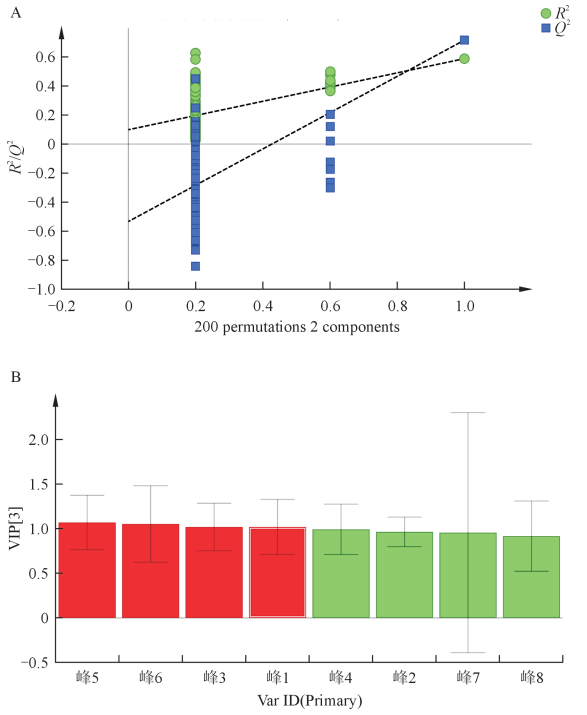

图 8 OPLS-DA 模型置换检验图（A）和 VIP 值（B）

Figure 8. Permutation test plot of the OPLS-DA model（A）and VIP values（B）

注：红色为 VIP 值 > 1；绿色为 VIP 值 < 1。

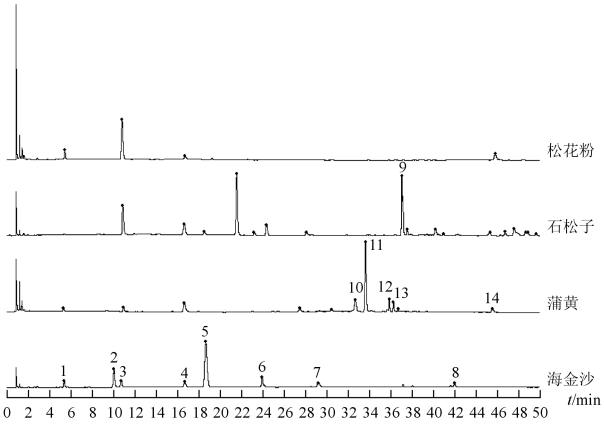

图 9 松花粉、蒲黄、石松子标准汤剂与海金沙标准汤剂特征图谱对比

Figure 9. Comparative characteristic chromatograms of pine pollen （*Pinus massoniana*） standard decoction，cattail pollen （*Typha angustifolia*） standard decoction，Lycopodium spores （*Lycopodium japonicum*） standard decoction， and *Lygodium japonicum* （Thunb.） Sw. standard decoction

注：1. 原儿茶酸；2. 原儿茶醛；4. 香草酸；5. 咖啡酸；6.4-香豆酸。

并具有专属峰 14。综上，该色谱条件能够有效区分由海金沙饮片制备的标准汤剂与其常见混淆品（石松子、蒲黄、松花粉）制备的标准汤剂，专属性强，结果可靠。

3 讨论

本研究成功建立了海金沙标准汤剂的 UPLC 特征图谱方法。在方法学构建过程中，系统考察了不同品牌色谱柱（Waters ACQUITY UPLC BEH C_{18}、Agilent ZORBAX SB C_{18}、Thermo Scientific Acclaim 120 C_{18}）、柱温（23 ~ 27 ℃）、流速（0.2、0.30、0.32 mL/min）、检测波长（210、260、320 nm）及流动相体系对色谱分离度的影响，综合各因素后确定了“2.2”项下最优色谱参数。

在供试品溶液制备方面，评估了提取溶剂（水、不同浓度甲醇及乙醇）、提取方式（超声处理与加热回流）、提取时间（30、45、60 min）、萃取次数（2 ~ 4 次）及取样量（0.2、0.5 g）对 8 个特征峰成分提取效率的影响，优选出最佳制备条件。所建立的特征图谱共标定 8 个共有峰，借助高分辨质谱与对照品双重验证，指认了原儿茶酸、原儿茶醛、香草酸、咖啡酸和 4-香豆酸 5 个化合物，为海金沙标准汤剂的物质基础研究提供了可靠依据。

18 批海金沙标准汤剂相似度均大于 0.900，表明其化学组成总体稳定、质量均一性良好，化学计量学分析均将样品按产地划分类别。其中 HCA 将样品聚为赣鄂、川、皖三大类，反映赣鄂同处长江中下游流域所带来的化学成分宏观相似性，PCA 进一步将赣鄂拆分为湖北与江西两个亚群，提示除大气候背景相似外，局地微环境差异同样可能影响其化学成分，而四川、安徽样品在两种方法中均独立成类，验证了其化学成分轮廓的独特性，四川样品独立成类可能与其盆地特殊气候条件及土壤类型有别于其他产区有关，安徽样品显著离散除与当地气候有关外，也不排除其采收期、产地加工方式与其他产区存在差异。OPLS-DA 模型稳定可靠，以 VIP 值 > 1.0 筛选出峰 1（原儿茶酸）、峰 3、峰 5（咖啡酸）、峰 6（4-香豆酸）共 4 个差异性标志物，提示酚酸类成分含量的差异化分布是不同产地海金沙质量差异的主要物质基础。上述结果表明，产地生态环境、气候条件及采收加工方式等因素共同构成影响不同产地海金沙化学成分差异的外部因素。

在成分鉴定方面，本研究采用 UPLC-四极杆/静电场轨道阱质谱技术，基于负离子模式下的高精度质谱数据，成功指认了 8 个主要化学成分，

包括原儿茶酸、原儿茶醛、对羟基苯甲酸、香草酸、咖啡酸、4-香豆酸、壬二酸和癸二酸，以上成分涵盖了酚酸类和二元羧酸类等多种结构类型，较为全面地反映了海金沙标准汤剂的化学物质基础。

在混淆品鉴别方面，本研究同步比较了海金沙与石松子、蒲黄及松花粉3种常见混淆品汤剂的UPLC色谱图。结果表明，海金沙与各混淆品在特征峰的数量分布和信号响应上均呈现显著且可重复的种属特异性差异，该特征图谱可实现海金沙饮片汤剂与各类混淆品汤剂的区分。但是本研究方法学上存在显著局限，所有验证均基于100%纯品混淆品，无法覆盖实际流通中正品掺杂少量混淆品的常见掺伪场景，后续可开展梯度掺伪模拟试验，以推动该方法从纯品鉴别向掺伪风险监控的实际应用转化。

综上所述，本研究建立的UPLC特征图谱方法操作简便、稳定可靠，能有效表征海金沙标准汤剂的化学组成特征，结合化学计量学分析可实现对不同产地样品的质量评价及其与混淆品的区分。该研究为海金沙配方颗粒的专属鉴别与质量控制提供了技术参考，也为进一步完善海金沙药材及相关产品的质量标准体系提供了科学依据和方法支撑。

参考文献

1 中国药典2025年版. 一部[S]. 2025: 297.

2 边虹铮, 王乐, 陈晶. 海金沙对大鼠实验性前列腺增生的影响[J]. 佳木斯职业学院学报, 2018(6): 401-402. [Bian HZ, Wang L, Chen J. Effect of *Spora lygodii* on experimental prostatic hyperplasia in rats[J]. Journal of Jiamusi Vocational Institute, 2018(6): 401-402.] DOI: 10.3969/j.issn.1000-9795.2018.06.264.

3 胡露红, 卞荆晶, 吴晓娟. 海金沙提取物对实验性大鼠肾草酸钙结石形成的影响[J]. 医药导报, 2011, 30(8): 1007-1010. [Hu LH, Bian JJ, Wu XJ. Effect of extract of *Lygodium japonicum* on formation of renal calcium oxalate stones in experimental rats[J]. Herald of Medicine, 2011, 30(8): 1007-1010.] DOI: 10.3870/yydb.2011.08.011.

4 王润霞, 王秀芳, 谢安建, 等. 海金沙提取液抑制草酸钙结石的化学基础研究[J]. 通化师范学院学报, 2010, 31(4): 1-4. [Wang RX, Wang XF, Xie AJ, et al. Chemical basic research of Lygodium extract on inhibiting calcium oxalate crystal[J]. Journal of Tonghua Normal University, 2010, 31(4): 1-4.] DOI: 10.13877/j.cnki.cn22-1284.2010.04.001.

5 岑庚钰, 蒙小丽, 梁远芳, 等. 海金沙化学成分和药理作用研究概况[J]. 中国民族民间医药, 2018, 27(14): 48-50. [Cen GY, Meng XL, Liang YF, et al. Study on the chemical composition and pharmacological activity of the *Lygodium japonicum*[J]. Chinese Journal of Ethnomedicine and Ethnopharmacy, 2018, 27(14): 48-50.] DOI: 10.3969/j.issn.1007-8517.2018.14.zgmzmjyyzz201814018.

6 张雷红, 殷志琦, 叶文才, 等. 海金沙草化学成分的研究[J]. 中国中药杂志, 2005, 30(19): 1522-1524. [Zhang LH, Yin ZQ, Ye WC, et al. Studies on the chemical constituents in herb of *Lygodium japonicum*[J]. China Journal of Chinese Materia Medica, 2005, 30(19): 1522-1524.] DOI: 10.3321/j.issn:1001-5302.2005.19.011.

7 黄亮辉, 苏琪, 赵婷婷, 等. 海金沙的化学成分及药理活性研究进展[J]. 中药材, 2011, 34(1): 150-154. [Huang LH, Su Q, Zhao TT, et al. Research progress on chemical constituents and pharmacological activities of *Lygodium japonicum*[J]. Journal of Chinese Medicinal Materials, 2011, 34(1): 150-154.] DOI: 10.13863/j.issn1001-4454.2011.01.047.

8 王桃云, 陈娟, 彭志任, 等. 海金沙黄酮体外抗氧化活性研究[J]. 食品工业科技, 2010, 31(3): 193-195. [Wang TY, Chen J, Peng ZR, et al. Study on antioxidant activity of flavones from *Lygodium japonicum in vitro*[J]. Science and Technology of Food Industry, 2010, 31(3): 193-195.] DOI: 10.13386/j. issn1002-0306.2010.03.002.

9 丁利君, 孙俊, 周送霞. 超声波辅助提取海金沙黄酮及其抑菌效果研究[J]. 现代食品科技, 2009, 25(10): 1212-1215. [Ding LJ, Sun J, Zhou SX. Ultrasound-assisted extraction of flavonoids from Lygodium and its bacteriostasis properties[J]. Modern Food Science and Technology, 2009, 25(10): 1212-1215.] DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2009.10.004.

10 尹超, 崔木平. 海金沙治疗泌尿系结石经验[J]. 光明中医, 2025, 40(5): 975-978. [Yin C, Cui MP. Experience of *Spora lygodii* in the treatment of urinary calculus[J]. Guangming Journal of Chinese Medicine, 2025, 40(5): 975-978.] DOI: 10.3969/j.issn.1003-8914.2025.05.041.

11 杨斌, 陈功锡, 唐克华, 等. 海金沙提取物抑菌活性研究[J]. 中药材, 2011, 34(2): 267-272. [Yang B, Chen GX, Tang KH, et al. Study on antibacterial activity of extracts from *Lygodium japonicum*[J]. Journal of Chinese Medicinal Materials, 2011, 34(2): 267-272.] DOI: 10.13863/j.issn1001-4454.2011.02.044.

12 熊艳梅, 开翠玲, 李勇, 等. 海金沙总黄酮对鸡胚血管生成的影响的研究[J]. 食品与药品, 2015, 17(1): 27-30. [Xiong YM, Kai CL, Li Y, et al. Impact of flavonoids from *Lygodium japonicum* (Thunb.) Sw. on angiogenesis in chick embryo chorioallantoic membrane[J]. Food and Drug, 2015, 17(1): 27-30.] DOI: 10.3969/j.issn.1672-979X.2015.01.010.

13 王明明, 刘春辉, 朱莉, 等. 基于高效液相色谱指纹图谱与多元统计分析评价海金沙孢子与金沙藤的差异[J]. 品牌与标准化, 2025(2): 32-36. [Wang MM, Liu CH, Zhu L, et al. Evaluation of the differences between *Sporophyllum lycopodii* spores and *Lygodium japonicum* based on HPLC fingerprint and multivariate statistical analysis[J]. Enterprise Standardization, 2025(2): 32-36.] DOI: 10.3969/j.issn.1674-4977.2025.02.008.

14 魏家保, 唐双燕, 赵伟志, 等. 基于标准汤剂的海金沙草配方颗粒质量标准研究[J]. 广东药科大学学报, 2023, 39(6): 44-53. [Wei JB, Tang SY, Zhao WZ, et al. Study on quality standard

of *Lygodium japonicum* (Thunb.) Sw. formula granules based on standard decoction[J]. Journal of Guangdong Pharmaceutical University, 2023, 39(6): 44-53.] DOI: 10.16809/j. cnki. 2096-3653.2023082101.

15 Duan ZW, Qiu HB, Liu XX, et al. Comprehensive ultra-high-performance liquid chromatography fingerprint profiling and network pharmacology analysis for the quality assessment of *Lygodium japonicum* (Thunb.) Sw.[J]. JTCMS, 2025, 12(3): 1996-2007. DOI: 10.1016/j.jtcms.2025.04.001.

16 穆二廷, 袁如柏, 杨青山. 基于微性状法的海金沙掺假研究[J]. 山东中医杂志, 2017, 36(3): 269-272. [Mu ET, Yuan RB, Yang QS. Study on the adulteration of *Lygodium japonicum* (Thunb.) Sw. based on microscope character identification[J]. Shandong Journal of Traditional Chinese Medicine, 2017, 36(3): 269-272.] DOI: 10.16294/j.cnki.1007-659x.2017.03.022.

17 杨琳, 王兴海, 程虎印, 等. 海金沙本草考证[J]. 陕西中医药大学学报, 2021, 44(1): 55-62. [Yang L, Wang XH, Cheng HY, et al. Textual research on the materia medica of Haijinsha[J]. Journal of Shaanxi University of Chinese Medicine, 2021, 44(1): 55-62.] DOI: 10.13424/j.cnki.jsctcm.2021.01.009.

18 张道英, 陈娇婷, 王妙飞, 等. FT-IR 法鉴定中药海金沙正品及其掺伪品[J]. 安徽农业科学, 2017, 45(10): 115-117. [Zhang DY, Chen JT, Wang MF, et al. Identification of quality goods and adulterants of traditional Chinese medicine *Lygodium japonicum* (Thunb.) Sw by FT-IR[J]. Journal of Anhui Agricultural Sciences, 2017, 45(10): 115-117.] DOI: 10.13989/j. cnki. 0517-6611.2017.10.039.

19 王康, 郭舟, 张勤, 等. 海金沙中非法添加柠檬黄的快速鉴别研究[J]. 中国药业, 2021, 30(8): 55-57. [Wang K, Guo Z, Zhang Q, et al. Rapid identification of lemon yellow illegally added in *Lygodii Spora*[J]. China Pharmaceuticals, 2021, 30(8): 55-57.] DOI: 10.3969/j.issn.1006-4931.2021.08.016.

20 刘香英, 王海祥, 劳敏华. 蒲黄及其伪品的鉴别[J]. 中国药物经济学, 2013(6): 26-31. [Liu XY, Wang HX, Lao MH. Identification of *Pollen Typhae* and its adulterants[J]. China Journal of Pharmaceutical Economics, 2013(6): 26-31.] DOI: 10.3969/j.issn.1673-5846.2013.06.010.

21 龙全江, 徐雪莲, 刘峰林, 等. 蒲黄及其伪品的鉴别[J]. 甘肃中医学院学报, 2000, 17(2): 49-51. [Long QJ, Xu XL, Liu FL, et al. Identification of *Pollen Typhae* and its adulterants[J]. Journal of Gansu College of Traditional Chinese Medicine, 2000, 17(2): 49-51.] DOI: 10.3969/j.issn.1003-8450.2000.02.028.

22 Wang X, Zeng Q, Contreras MDM, et al. Profiling and quantification of phenolic compounds in Camellia seed oils: natural tea polyphenols in vegetable oil[J]. Food Res Int, 2017, 102: 184-194. DOI: 10.1016/j.foodres.2017.09.089.

23 亢倩丽, 李壮壮, 范珊珊, 等. 基于 UPLC-Q-Exactive-Orbitrap-MS 的紫苏叶与紫苏梗化学成分分析[J]. 中国实验方剂学杂志, 2020, 26(13): 156-162. [Kang QL, Li ZZ, Fan SS, et al. Qualitative analysis on *Perilla frutescens* leaves and stalks by UPLC-Q-Exactive-Orbitrap-MS[J]. Chinese Journal of Experimental Traditional Medical Formulae, 2020, 26(13): 156-162.] DOI: 10.13422/j.cnki.syfjx.20201512.

24 梁清光, 林希光, 孟江. 基于谱效关系分析牡丹皮炭止血活性成分[J]. 中国实验方剂学杂志, 2026, 32(4) 183-190. [Liang QG, Lin XG, Meng J. Analysis of hemostatic active components in *Moutan Cortex* Carbonisata based on spectrum-effect relationship[J]. Chinese Journal of Experimental Traditional Medical Formulae, 2026, 32(4): 183-190.] DOI: 10.13422/j.cnki.syfjx.20251965.

25 朱星宇, 张熊莉, 李华柳, 等. 基于 UHPLC Q-Exactive Plus Orbitrap HRMS 和 HPLC-UV 的川参通注射液化学成分定性和定量研究[J]. 中国新药杂志, 2025, 34(23): 2541-2551. [Zhu XY, Zhang XL, Li HL, et al. Qualitative and quantitative study of constituents in Chuanshentong injection based on UHPLC-Q-Exactive Plus Orbitrap HRMS and HPLC-UV[J]. Chinese Journal of New Drugs, 2025, 34(23): 2541-2551.] DOI: 10.20251/j.cnki.1003-3734.2025.23.012.

26 Clifford MN, Johnston KL, Knight S, Kuhnert N. Hierarchical scheme for LC-MSn identification of chlorogenic acids[J]. J Agric Food Chem, 2003, 51(10): 2900-2911. DOI: 10.1021/jf026187q.

27 Moreira MM, Morais S, Barros AA, et al. A novel application of microwave-assisted extraction of polyphenols from brewer's spent grain with HPLC-DAD-MS analysis[J]. Anal Bioanal Chem, 2012, 403(4): 1019-1029. DOI: 10.1007/s00216-011-5703-y.

28 肖观林, 江洁怡, 程青云, 等. UPLC-Q-TOF-MS/MS 法分析栾樨叶的化学成分[J]. 分析测试学报, 2023, 42(11): 1424-1433. [Xiao GL, Jiang JY, Cheng QY, et al. Analysis of chemical constituents in the leaves of *Pluchea Indica* (L.) Less. by UPLC-Q-TOF-MS/MS[J]. Journal of Instrumental Analysis, 2023, 42(11): 1424-1433.] DOI: 10.19969/j.fxcsxb.23062501.

29 赵毅萌, 张礼欣, 杨舒昀, 等. 基于 UHPLC-Q-TOF-MS/MS 技术的中药荆芥穗化学成分表征与鉴定[J]. 中国中药杂志, 2024, 49(2): 420-430. [Zhao YM, Zhang LX, Yang SY, et al. Characterization and identification of chemical constituents from *Schizonepetae Spica* based on UHPLC-Q-TOF-MS/MS technique[J]. China Journal of Chinese Materia Medica, 2024, 49(2): 420-430.] DOI: 10.19540/j.cnki.cjcmm.20230822.201.

收稿日期：2026 年 07 月 03 日 修回日期：2026 年 09 月 23 日
本文编辑：周璐敏 冼静怡