

基于非靶向代谢组学技术的忍冬不同部位 差异代谢物分析

张绪鑫¹, 张璐哲¹, 林树乾², 赵增成², 孟兆青³, 董晓弟³, 曹桂云³, 贺吉香^{1*}, 王岱杰^{4*}

(1. 山东中医药大学药学院, 山东 济南 250355; 2. 山东省农业科学院家禽研究所, 山东 济南 250100;
3. 山东宏济堂制药集团股份有限公司, 山东 济南 250102; 4. 齐鲁工业大学(山东省科学院), 山东 济南 250353)

摘要:为研究忍冬不同部位的代谢物的差异性,采用基于超高效液相色谱串联质谱技术,对忍冬的茎、叶与花进行非靶向代谢组学研究。在忍冬不同部位样品中共鉴定到正离子模式代谢物 773 个,负离子模式代谢物 572 个。叶和花作比较共检测到 553 个差异代谢物;茎和花作比较共检测到 471 个差异代谢物,主要为酚酸类、氨基酸及其衍生物、黄酮以及异黄酮等化合物,差异代谢物相关的途径主要为苯丙烷生物合成、黄酮和黄酮醇生物合成、嘌呤代谢途径和花青素生物合成途径等。该研究分析了忍冬不同部位的优势化合物及参与的重要代谢途径,对比了茎和叶同药用部位花的差异性,为进一步开发利用忍冬植物资源提供了科学依据。

关键词:非靶向代谢组学;忍冬;差异代谢物;代谢通路

中图分类号:R284.1 文献标志码:A 文章编号:1002-4026(2025)06-0029-13

开放科学(资源服务)标志码(OSID):



Analysis of differential metabolites in different parts of *Lonicera japonica* Thunb. based on non-targeted metabolomics technology

ZHANG Xuxin¹, ZHANG Luzhe¹, LIN Shuqian², ZHAO Zengcheng², MENG Zhaoqing³,
DONG Xiaodi³, CAO Guiyun³, HE Jixiang^{1*}, WANG Daijie^{4*}

(1. College of Pharmacy, Shandong University of Traditional Chinese Medicine, Jinan 250355, China; 2. Institute of Poultry Science, Shandong Academy of Agricultural Sciences, Jinan 250100, China; 3. Shandong Hongjitang Pharmaceutical Group. Co., Ltd., Jinan 250102, China; 4. Qilu University of Technology (Shandong Academy of Sciences), Jinan 250353, China)

Abstract: To investigate the metabolic differences among different parts of *Lonicera japonica* Thunb., a nontargeted metabolomics study was conducted on its stems, leaves, and flowers using ultra-high-performance liquid chromatography-

收稿日期:2024-11-08 修回日期:2025-01-13

基金项目:山东省重点研发计划(2023TZXD083);山东省重点研发计划重大科技创新工程项目(2021CXGC010511);齐鲁工业大学(山东省科学院)科教产融合试点工程(2024ZDZX14);泉城 5150 引才倍增计划

作者简介:张绪鑫(1998—),男,硕士研究生,研究方向为现代药物分析。E-mail:zzxing0@qq.com

* 通信作者:贺吉香,教授,研究方向为现代药物分析。E-mail:987850250@qq.com

王岱杰,研究员,研究方向为天然产物化学及标准样品研究。E-mail:wangdaijie@qlu.edu.cn

tandem mass spectrometry (UHPLC-MS/MS). In total, 773 metabolites in positive-ion mode and 572 and 572 metabolites in negative-ion mode were identified in samples from different parts of *L. japonica* Thunb.; 553 differential metabolites were detected by comparing leaves and flowers; and 471 differential metabolites were detected by comparing stems and flowers, mainly phenolic acids, amino acids and their derivatives, flavonoids, and isoflavones. The pathways related to differential metabolites mainly include phenylpropanoid biosynthesis, flavonoid and flavonol biosynthesis, purine metabolism, and anthocyanin biosynthesis. This study analyzed the predominant compounds and important metabolic pathways involved in different parts of *L. japonica* Thunb., i.e., the stems, leaves, and flowers, comparing them with medically used flowers. The findings provides a scientific basis for the further development and utilization of *L. japonica* Thunb. resources.

Key words : nontargeted metabolomics; *Lonicera japonica* Thunb.; differential metabolites; metabolic pathway

忍冬(*Lonicera japonica* Thunb.)是忍冬科忍冬属半常绿缠绕藤本植物,在我国的分布范围较广^[1]。作为一种常见的临床中药,其最早药用名称为“别羈”,始记载于《神农本草经》,后在《名医别录》中更名为忍冬^[2]。而以“金银花”为名称,并且以花蕾入药的记载,最早可以追溯到宋代。现今,忍冬花蕾与茎在《中国药典》中分别记载为金银花和忍冬藤^[3]。相较于花,忍冬的茎叶资源更加丰富,产量更大,成本更低^[4],但其潜在的资源价值尚未被充分挖掘,造成资源浪费。

对忍冬有效成分的研究多集中于花蕾,主要成分有黄酮类、有机酸类、环烯醚萜苷类和挥发油等^[5],具有抗炎、抗病毒、降糖、抗过敏、抗氧化等多种药理作用^[6-9]。此外,由于其特定的活性,它还被用作食品、化妆品、软饮料等^[10-13]。近年来对茎叶的研究表明其化学成分与花蕾相似,在叶子中已经发现了木犀草素、忍冬苷、金丝桃苷、咖啡酸、3,4-O-二咖啡酰基奎宁酸和绿原酸等化合物^[14-15]。茎中已鉴定出香叶木苷、尿嘧啶核苷、马钱苷、断氧化马钱苷、獐牙菜苷等18种活性成分^[16-17],前人的研究也表明了忍冬茎叶提取物具有抗菌抗氧化等药理作用^[18-19],开发前景广阔。但目前对于忍冬花、茎、叶中代谢物的全面解析,特别是三个部位间成分的差异性亟待分析研究。

非靶向代谢组学(untargeted metabolomics)以发现为目的,可对植物组织内小分子代谢物进行系统分析,较为准确地比较各代谢物的相对含量^[20],并结合多元统计方法筛选差异代谢物,研究差异代谢物参与的代谢过程,揭示其参与的生命活动机制^[21-23]。现对忍冬代谢组学的相关研究多集中在不同花期和不同加工方式的影响方面,对忍冬不同药用部位的代谢物差异性分析研究报道还较少。因此本研究利用非靶向代谢组学技术,将忍冬植株的茎和叶与花进行比较,探究其中代谢物的差异性,拓宽其有效成分的研究范围,为提高忍冬作为生药资源的利用度提供理论依据。

1 实验材料

1.1 样品与试剂

忍冬于2024年5月采摘自解氏药业有限公司种植园,经山东中医药大学赵东升教授鉴定为忍冬(*Lonicera japonica* Thunb.)植株。取忍冬样品花、茎、叶鲜样至液氮中冷冻保存,后转入-80℃冰箱中。甲醇、甲酸:色谱纯,Thermo Fisher公司;实验用水:色谱纯,Merck公司;其余试剂均为分析纯。

1.2 仪器与设备

Q Exactive™ HF 质谱仪及 Vanquish 超高效液相色谱(Thermo Fisher公司,Germany);Hypesil Gold column 色谱柱(100 mm×2.1 mm, 1.9 μm);Thermo Fisher公司(USA);D3024R 低温离心机;Scilogex公司(USA)。

2 代谢组学分析

2.1 代谢物提取

取100 mg液氮研磨的供试品,置于EP管中,加入500 μL的80%甲醇水溶液;涡旋振荡,冰浴静置5 min后,在12 560 r/min、4℃条件下离心20 min;取一定量的上清加质谱级水稀释至甲醇体积分数为53%;

12 560 r/min、4 °C 条件下离心 20 min,收集上清,用 0.22 μm 微孔滤膜对上清液过滤,续滤液为供试品溶液。分别取等体积的各实验样本,于试管内混匀,得 QC 样品(quality control samples,质控样品)。

2.2 UPLC-MS/MS 分析

色谱条件使用 Vanquish 超高效液相色谱仪,Hypesil Gold 液相色谱柱(100 mm×2.1 mm, 1.9 μm)。流动相为 0.1%甲酸水(A)—甲醇(B)。色谱梯度洗脱程序:0~1.5 min:2%B;>1.5~3.0 min:85%B;>3.0~10.0 min:100%B;>10.0~10.1 min:2%B;>10.1~12.0 min:2%B。

质谱条件采用 Want 等^[24]的方法,并稍作调整。扫描范围选择 m/z 100~1 500;ESI 源的设置如下:喷雾电压 3.5 kV;离子传输管温度 320 °C;离子导入射频电平 60;鞘气流速 35 psi(1 psi=6.895 kPa);辅助气流速 10 L/min;辅助气加热器温度 350 °C;极性 positive,negative;MS/MS 二级扫描为数据依赖性扫描。

2.3 数据处理

使用 KEGG 数据库(<https://www.genome.jp/kegg/pathway.html>)、HMDB 数据库(<https://hmdb.ca/metabolites>)和 LIPIDMaps 数据库(<http://www.lipidmaps.org/>)对鉴定到的代谢物进行注释。

对每个代谢物保留时间、质荷比等参数进行简单筛选,然后以第一个 QC 进行峰面积校正,再整合目标离子,然后通过分子离子峰和碎片离子进行分子式的预测并与 mzCloud(<https://www.mzcloud.org/L>)、mzVault 和 Masslist 数据库进行比对,得到代谢物的定性结果。

多元统计分析部分,使用 metaX 软件对数据进行处理,再进行主成分分析(PCA)和正交偏最小二乘法判别分析(OPLS-DA),进而得每个代谢物的 VIP(variable importance in projection)值。单变量分析部分,基于 t 检验来计算各代谢物在两组间统计学显著性(P 值),并计算代谢物在两组间的差异倍数(fold change)即 FC 值。差异代谢物筛选的默认标准为 VIP 值>1, P <0.05 且 FC 值≥2 或 FC 值≤0.5。用 R 软件 ggplot2 绘制火山图,用 R 软件 Pheatmap 进行绘制聚类热图,使用 z-score 对代谢物数据进行归一化。

3 结果与分析

3.1 离子色谱图分析

质控样品(QC)正、负离子模式下的总离子流(total ion current,TIC)如图 1 所示,所有 QC 样品的峰面积和保留时间的重叠度均较高,说明仪器稳定性强,实验数据可靠。

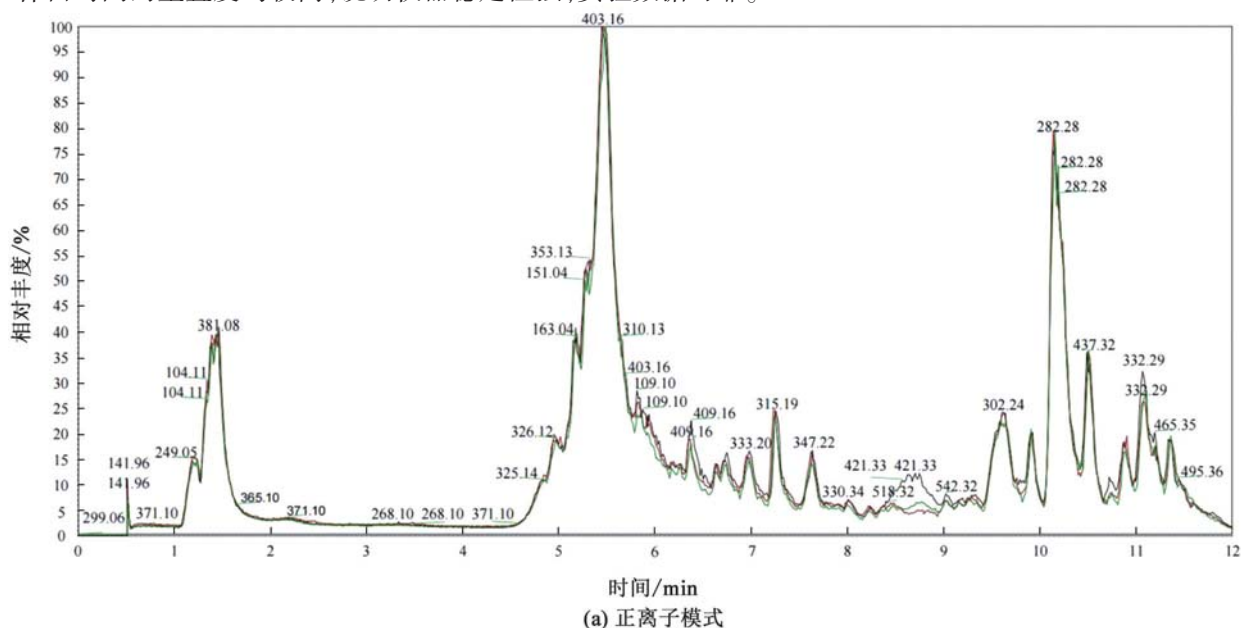


图 1 QC 样本质谱检测 TIC 叠加图

Fig.1 TIC overlap diagram of QC sample mass spectrometry detection

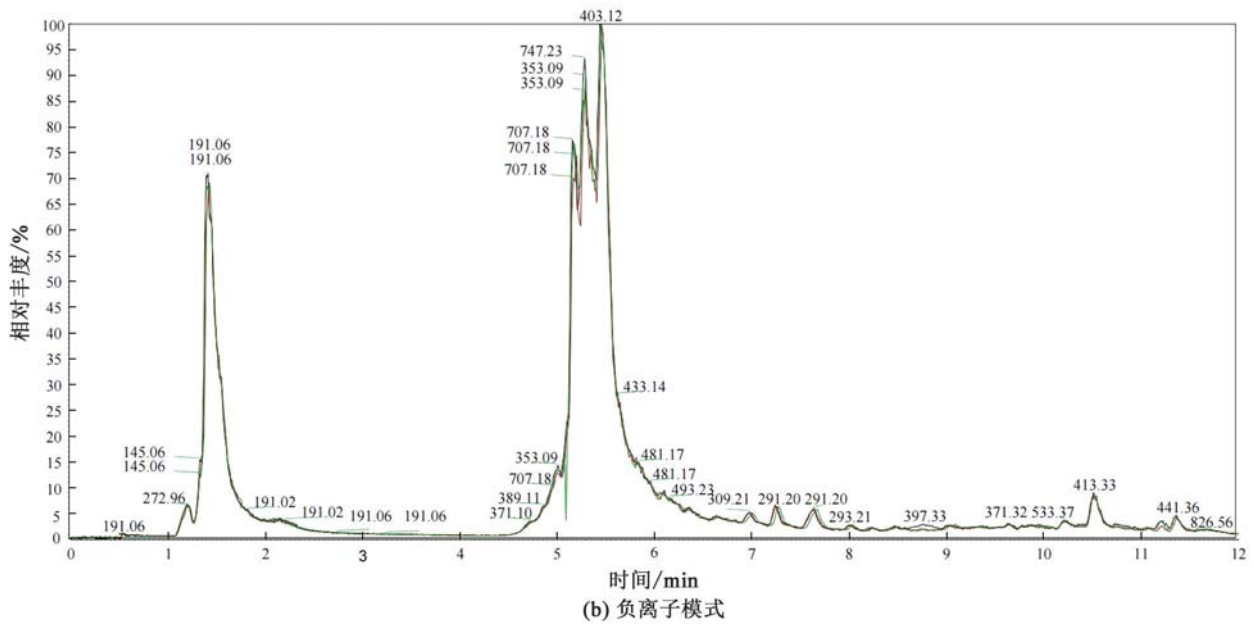


图 1(续)

3.2 主成分分析

主成分分析(principal component analysis, PCA)可以在高维复杂的数据基础上建立简化的数学模型,用于通过少数几个主成分来揭示多个变量间的内部结构,并使它们尽可能多地保留原始变量的信息^[25]。针对忍冬不同部位中代谢物含量进行PCA分析,如图2所示,第一主成分(PC1)、第二主成分(PC2)和第三主成分(PC3)表示3个主成分对数据集的解释率分别为39.71%、33.28%和6.55%。质控样品(QC)位于主成分分析三维图的中心点附近,忍冬各组样品之间有明显的分离趋势,表明各组内样本由生物学变异产生的差异较小,但不同部位之间代谢物存在显著差异,实验数据可靠。

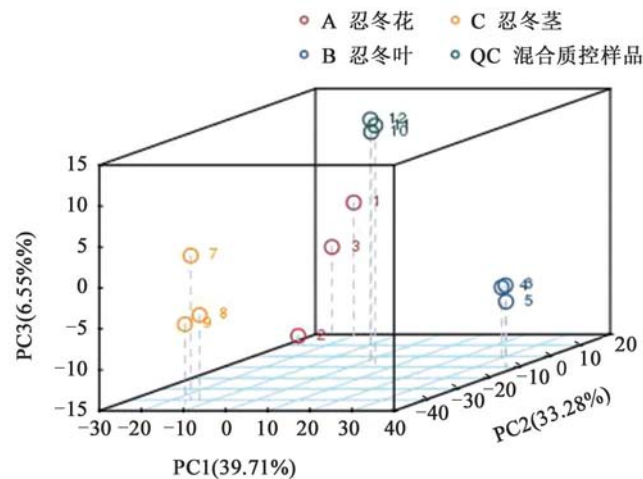


图 2 主成分分析三维图

Fig.2 Three dimensional diagram of the principal component analysis

3.3 忍冬不同部位的代谢物定性分析

在忍冬的花、茎、叶部位中,共检测出1345种代谢物,正离子模式代谢物773个,负离子模式代谢物572个,其中分类明确的化合物共有992种(详情见表1)。

表 1 忍冬花茎叶中鉴定出的代谢物种类数量

Table 1 Number of metabolite species identified in the stem and leaves of *Lonicera japonica* Thunb.

代谢物类别	代谢物数量			
	总量	花	叶	茎
脂质和类脂分子	305	277	263	272
苯丙烷类和聚酮类	197	154	175	167
有机氧化合物	105	96	95	100
有机酸及其衍生物	118	111	103	111
苯环型化合物	92	85	90	83
有机杂环化合物	89	83	84	75
核苷、核苷酸和类似物	37	34	27	34
木质素、新信号素和相关化合物	17	11	12	13
生物碱和衍生物	20	15	14	9
有机氮化合物	12	10	8	11
其他	353	308	302	301

3.4 代谢物通路及分类注释

基于 KEGG、HMDB、Lipid maps 等数据库信息对鉴定到的代谢物进行功能和分类注释,以了解不同代谢物的功能特性及分类情况。在 KEGG 通路分析表中,共有 678 个代谢物被注释,其中包含代谢物较多的是新陈代谢通路,有 637 个代谢物被注释到,主要注释到全局和总览图谱(229 个)、氨基酸代谢(88 个)和其他次级代谢物的生物合成(88 个)(图 3(a))。在 HMDB 数据库中注释到 698 个代谢物,主要有脂质和类脂质分子(178 个)、苯丙烷类和聚酮类化合物(135 个)和有机酸及其衍生物(95 个)(图 3(b))。在 Lipid maps 数据库中注释到 214 个代谢物,其中脂肪酸类(FA)55 个,甘油酯类(GL)3 个,甘油磷脂类(GP)36 个,鞘磷脂类(SP)2 个,固醇脂类(ST)18 个,孕烯醇酮脂类(PR)18 个,多聚乙烯类(PK)82 个(图 3(c))。

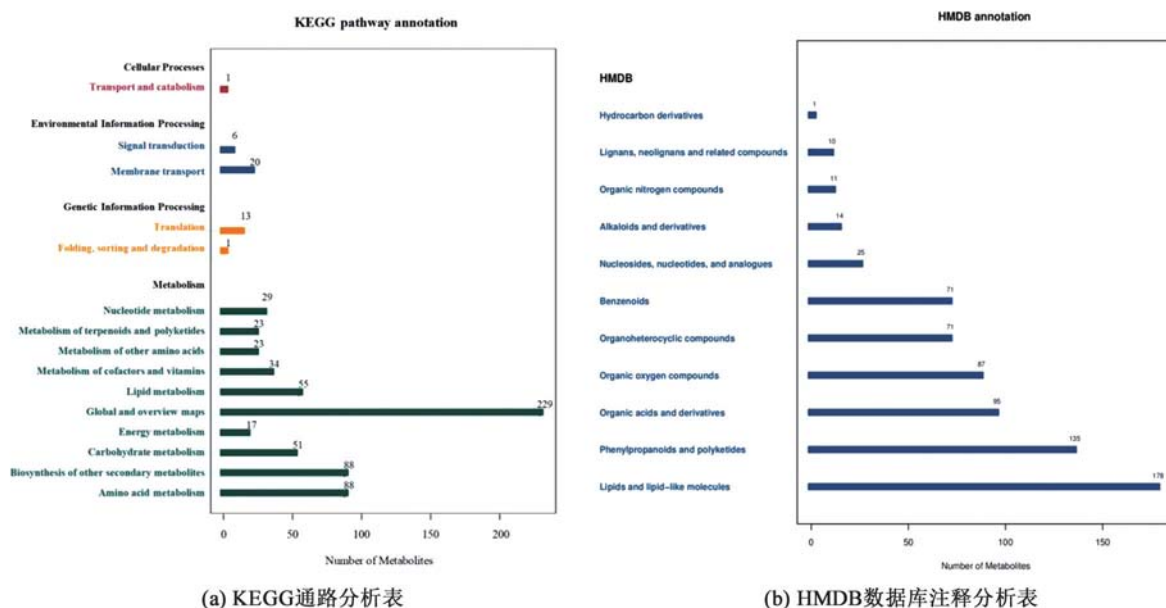


图 3 忍冬代谢物通路及注释分类

Fig.3 Classification of metabolite pathways and annotations of *Lonicera japonica* Thunb.

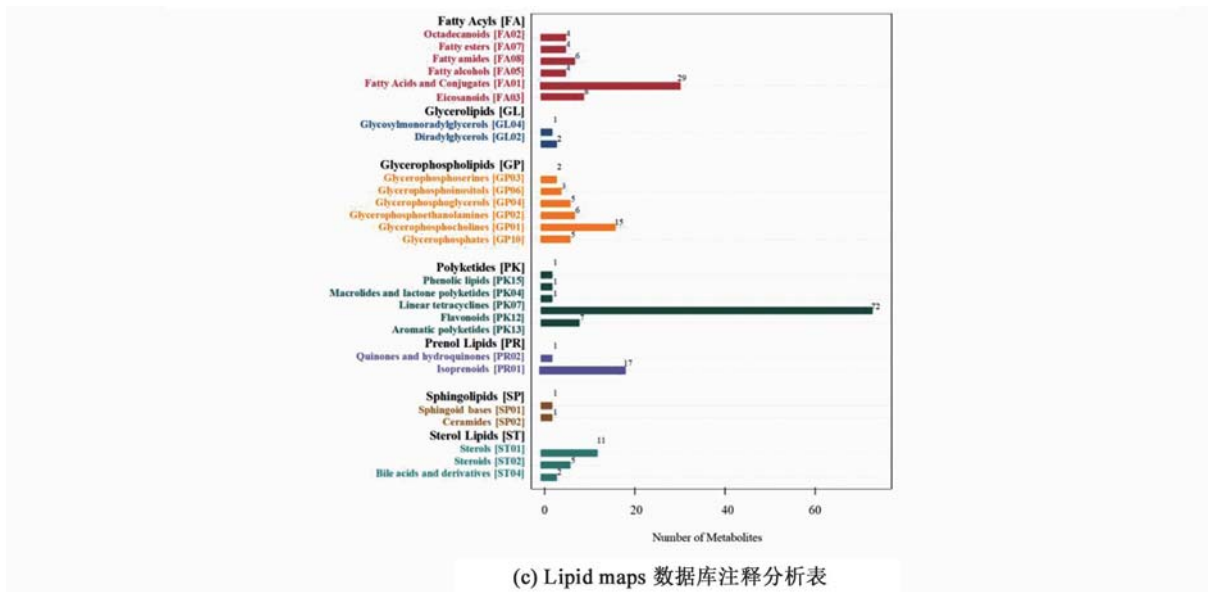


图3(续)

3.5 差异代谢物筛选和分析

由于代谢组数据具有高维度且变量间高度相关的特点,运用传统的单变量分析无法快速准确地挖掘数据内潜在的信息。因此在代谢组数据分析需要运用多元统计的方法,在最大程度保留原始信息的基础上对采集的多维数据进行降维和回归分析,差异代谢物的筛选及后续分析^[26]。

正交偏最小二乘法判别分析(orthogonal partial least squares discrimination analysis, OPLS-DA)是一种有监督的判别分析统计方法。该方法运用偏最小二乘回归^[27]建立代谢物表达量与样品类别之间的关系模型,在此基础上进行了正交变换的校正,提高模型的解析能力和有效性,实现对样品类别的预测。建立各比较组的 OPLS-DA 模型(图4)。忍冬花 vs. 忍冬叶模型的交叉验证参数为 $R^2 = 0.997, Q^2 = 0.983$,忍冬花 vs. 忍冬茎模型的交叉验证参数为 $R^2 = 0.995, Q^2 = 0.972$,忍冬茎 vs. 忍冬叶模型的交叉验证参数为 $R^2 = 0.999, Q^2 = 0.991$ 。两个模型中参数均大于0.5,说明模型的可解释度和可预测性良好,因此本研究建立的 OPLS-DA 模型能够解释两组之间的代谢差异。OPLS-DA 结果与 PCA 结果相似,组内样本差异较小,且样本间均没有重叠,说明3个不同部位的组间差异较明显。

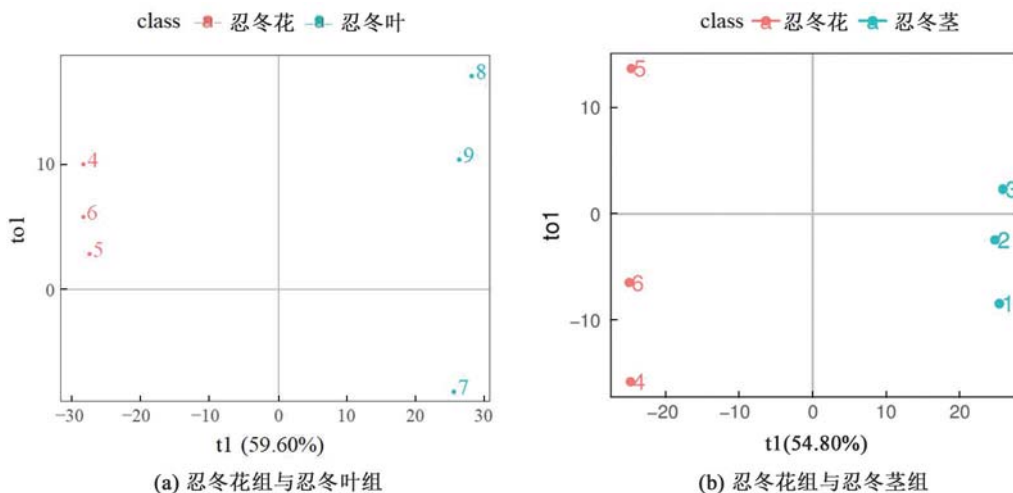


图4 OPLS-DA 得分散点图

Fig.4 OPLS-DA score scatter plot

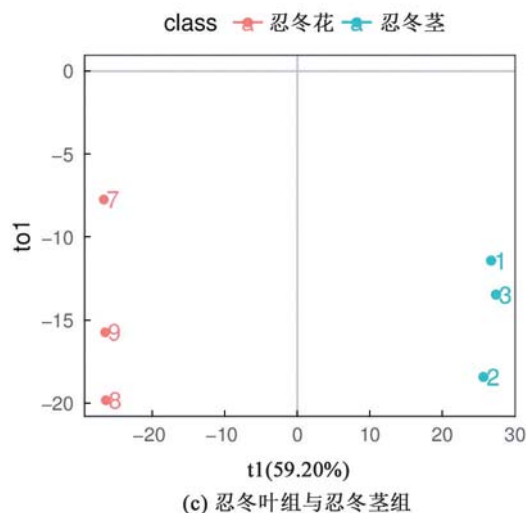


图 4(续)

根据基于 FC 值 ≥ 1.5 或 FC 值 ≤ 0.833 、 $P \leq 0.05$ 、VIP 值 ≥ 1 的筛选标准,在对所检测到的代谢物比较分析后,比较在忍冬不同部位中代谢物相对定量信息发生的差异倍数变化,样品总差异代谢物聚类热图见图 5,图中的色块代表代谢物的丰度高低,颜色从红色到蓝色代表样品的代谢物丰度由高到低,聚类枝越短代表相似性越高。由图 5 可知忍冬的花和茎代谢物种类相似度较高,在对聚类热图的分析可知,忍冬的花、叶、茎的代谢谱存在不同的分组模式。叶中代谢物主要集中在红色高表达区域,而花和茎中代谢物主要集中在蓝色低表达区域,说明差异代谢物在叶中的表达量大多数高于花和茎中。

样品间差异代谢物火山图见图 6,通过火山图可直观显示差异代谢物的整体分布情况。表 2 为忍冬不同部位两两比较差异代谢物的分类统计,由表 2 可以看出,叶与花相比有 245 种代谢物的表达发生了变化,茎与花相比有 161 种代谢物的表达发生了变化,主要为有机酸类、甾体类、黄酮及黄酮醇等化合物。与忍冬的药用部位花相比,在叶中有 100 种代谢物含量下降,145 种代谢物含量上升;在茎中有 78 种代谢物含量下降,83 种代谢物含量上升,其余一千多种代谢物含量变化不显著。

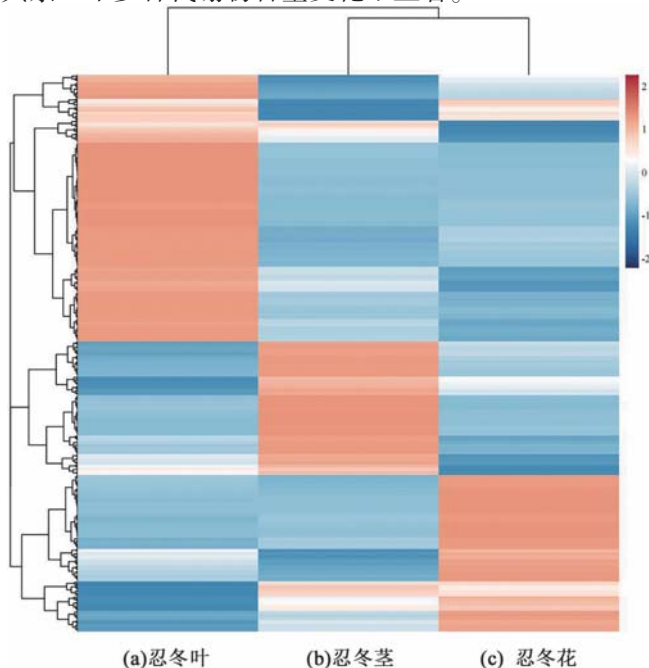


图 5 忍冬花茎叶差异代谢物聚类热图

Fig.5 Cluster heatmap of differential metabolites in stems and leaves of *Lonicera japonica* Thunb.

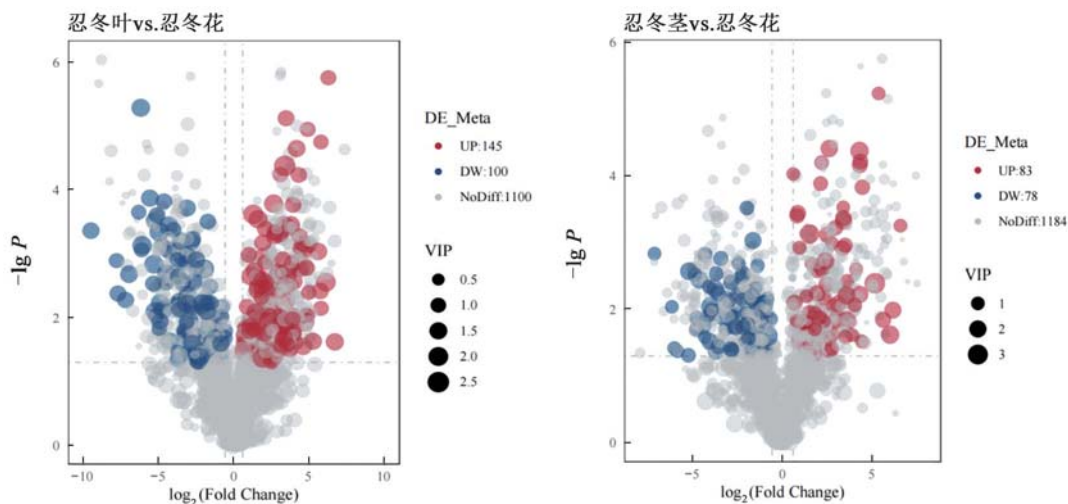


图6 忍冬不同部位差异代谢物火山图

Fig.6 Volcanic diagram of differential metabolites in different parts of *Lonicera japonica* Thunb.

表2为忍冬不同部位两两比较差异代谢物的分类统计。为了鉴定忍冬花叶茎中影响药理作用的关键代谢物,比较了其中黄酮类、有机酸类和环烯醚萜苷类差异代谢物的数目及含量倍数变化,见OSID科学数据与内容附表3~表5。在忍冬不同部位共检测到93种黄酮,118种有机酸及其衍生物,17种环烯醚萜苷及衍生物。在叶与花的比较中,有16种黄酮类、11种有机酸类和2种环烯醚萜苷类含量显著增加,10种黄酮类、11种有机酸类和3种环烯醚萜苷类含量显著下降;在茎与花的比较中,有19种黄酮类、9种有机酸类和2种环烯醚萜苷类含量显著增加,7种黄酮类、13种有机酸类和3种环烯醚萜苷类含量显著下降。

表2 忍冬不同部位两两比较差异代谢物的分类统计

Table 2 Classification and statistics of differential metabolites in different parts of *Lonicera japonica* Thunb. using pairwise comparison

代谢物类别	叶 vs. 花		茎 vs. 花		茎 vs. 叶	
	含量增加数量	含量降低数量	含量增加数量	含量降低数量	含量增加数量	含量降低数量
脂质和类脂分子	23	24	13	22	32	48
苯丙烷类和聚酮类	23	10	21	6	19	26
有机氧化物	13	7	5	4	5	10
有机酸及其衍生物	11	7	6	3	14	14
苯环型化合物	11	2	8	4	6	16
有机杂环化合物	10	6	1	9	7	18
核苷、核苷酸和类似物	2	5	2	2	4	4
木质素、新信号素和相关化合物	2	1	1	0	2	3
生物碱和衍生物	3	1	1	1	1	1
有机氮化合物	0	6	1	0	0	0
其他	47	31	24	27	27	43

现代药理学表明,环烯醚萜类化合物具有抗炎、抗氧化、免疫调节、神经保护等活性^[28],酚酸类和黄酮类成分具有解热抗炎、抗菌、抗病毒等活性^[29],由表2数据看出,环烯醚萜苷类化合物在忍冬花中的平均含量高于茎叶,有机酸和黄酮类在叶中含量高于花和茎,这与WANG等^[30]的结论相似,茎中代谢物总量相对较

少,可能是由于茎的生理作用多是参与代谢物的运输,而不积累代谢物,但 8-表番木鳖酸和哈巴苷在茎中表达较高,王凯等^[31]的研究表明 8-表番木鳖酸具有较强的保肝作用,这对进一步开发利用忍冬藤具有参考意义。

3.6 差异代谢物 KEGG 富集

多种差异代谢物在生物体内相互作用,形成不同的通路。KEGG (Kyoto encyclopedia of genes and genomes) 是进行生物体内代谢分析、代谢网络研究的强有力工具^[32],利用 KEGG 数据库对差异代谢物进行注释并展示。根据差异代谢物结果,进行了 KEGG 通路富集(图 7)。在叶和花的比较中,有 63 个差异代谢物注释到 34 条代谢通路上,其中显著代谢通路有 2 条($P < 0.05$),分别为①甘油酯代谢(glycerolipid metabolism),包含的差异代谢物有 LPA 16:0、LPA 20:0、(2R)-2,3-二羟基丙酸;LPA 18:2;②脂肪酸生物合成(fatty acid biosynthesis),包含的差异代谢物有肉豆蔻酸、油酸、癸酸。茎与花相比,有 35 个差异代谢物注释到 35 条代谢通路上,其中显著代谢通路有 2 条($P < 0.05$),分别为①花青素生物合成(anthocyanin biosynthesis),包含的差异代谢物有氯化花葵素、矢车菊素-3-O-葡萄糖苷、飞燕草素-3-葡萄糖鼠李糖苷;②氰胺酸代谢(cyanoamino acid metabolism),包含的差异代谢物有(R)-野樱苷、L-天冬氨酸和苯丙氨酸。

叶与花相比,在甘油酯代谢合成途径中,叶中 LPA 16:0、LPA 20:0、LPA 18:2 含量降低,差异倍数分别为 0.070、0.106、0.191;(2R)-2,3-二羟基丙酸含量上升,差异倍数为 4.270。在脂肪酸生物合成途径中,叶与花相比,叶中肉豆蔻酸、油酸含量降低,差异倍数分别为 0.117、0.179;癸酸含量上升,差异倍数为 9.431。研究发现肉豆蔻酸具有抗肿瘤、抗菌的作用^[33],油酸可调节炎症和免疫疾病^[34],癸酸具有抗炎作用^[35-36]。

茎与花相比,在花青素生物合成途径中,茎中氯化花葵素、矢车菊素-3-O-葡萄糖苷、飞燕草素-3-葡萄糖鼠李糖苷含量均上升,差异倍数分别为 2.715、35.070、6.751。研究显示花青素类成分具有多种功能活性,氯化花葵素可以通过调节细胞内的氧化还原状态,发挥抗氧化作用,进而抑制肺癌细胞 A549 的生长^[37];矢车菊素-3-O-葡萄糖苷可抑制破骨细胞增殖、分化和成熟,也有助于减轻酒精性肝损伤^[38-39];飞燕草素-3-葡萄糖鼠李糖苷有抗氧化作用,对多种癌症也有预防和抑制作用^[40-41]。在氰胺酸代谢途径中,茎中(R)-野樱苷、L-天冬氨酸含量均降低,差异倍数分别为 0.358、0.543;苯丙氨酸含量上升,差异倍数为 3.788。

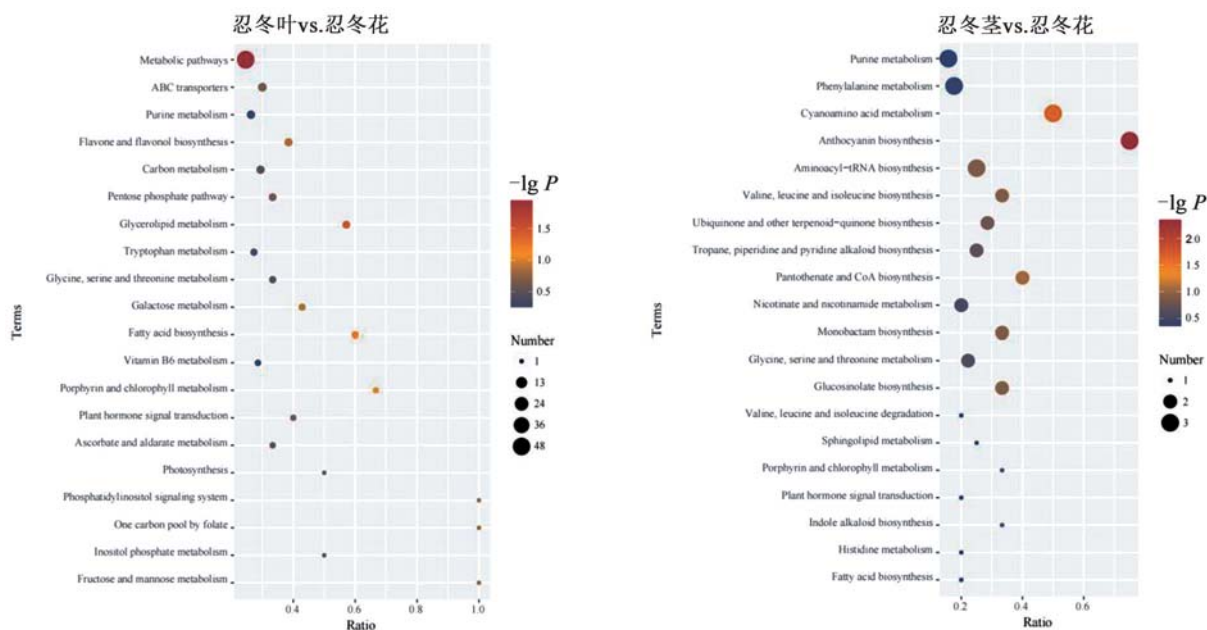


图 7 差异代谢物 KEGG 富集图

Fig.7 KEGG enrichment plot of differential metabolites

将茎 vs.花和叶 vs.花含量降低的代谢物进行交集,可得到花相对于其他部位含量共同上升的代谢物,即为花的优势代谢物,茎和叶的优势代谢物同理。如表3所示,花、叶、茎中分别有11、18、9个优势代谢物。对优势差异代谢物所属的KEGG通路进行分析,花中优势差异代谢物参与的代谢通路有11条,叶中有8条,茎中有13条,花和茎优势代谢物有较多相同的代谢通路。

表3 忍冬不同部位中优势代谢物及参与的代谢通路

Table 3 Dominant metabolites and metabolic pathways involved in *Lonicera japonica* Thunb.

组别	优势代谢物种类	优势代谢物	KEGG 代谢通路编号
花	苯丙烷类和聚酮类	木通苯乙醇苷 B、蒙花苷	-
	核苷酸及衍生物	腺苷 3'5'-环磷酸	map00230
			map00260
			map00261
			map00290
			map00860
			map00970
	有机酸及其衍生物	苏氨酸	map01100
			map01110
			map01230
			map02010
有机杂环化合物	鸟嘌呤	map00230	
		map01100	
脂质和类脂分子	15-氧代 EDE、鹅去氧胆酸、衣康酸	map01100 map00660	
苯丙烷类和聚酮类	6-甲基香豆素、7-去甲基软木花椒素	-	
苯环型化合物	β,β -二甲基丙烯酰阿卡宁、异香草酸	-	
核苷酸及衍生物	S-(5'-腺苷)-L-高半胱氨酸	-	
叶	有机酸及其衍生物	2-氧代己二酸、D-苯丙氨酸、 羽扇豆素 A、柠檬酸三乙酯	map00300
			map00310
			map00380
			map01100
			map01210
			map01230
	map00360		
	有机氧化合物	13,14-dihydro-15-keto-tetranor Prostaglandin D2	-
有机杂环化合物	4-吡哆酸盐、古伦宾 吡啶-3-丙酮酸、犬尿喹啉酸	map00750	
		map01100	
		map00380	
脂质和类脂分子	18- β -甘草次酸、土木香内酯	-	
苯丙烷类和聚酮类	(+) -儿茶素、槲皮素-3-O- β -吡喃葡萄糖基-6'-乙酸酯	map00941	
		map01110	
苯环型化合物	3-羟基萘-2,7-二磺酸	-	

表3(续)

组别	优势代谢物种类	优势代谢物	KEGG 代谢通路编号
茎	有机酸及其衍生物	DL-蛋氨酸、L-苯丙氨酸 N-乙酰基-L-苯丙氨酸	map00941
			map01110
			map00360
			map00400
			map00460
			map00940
			map00960
			map00966
			map00970
			map01100
			map01110
			map01210
			map01230
map02010			
	脂质和类脂分子	山楂酸、熊果酸	-

4 结论

本研究利用基于超高效液相色谱串联质谱的非靶向代谢组学技术,对忍冬花、茎和叶中的代谢物进行了比较分析。共检测出 1 345 种代谢物,其中正离子模式代谢物有 773 个,负离子模式代谢物有 572 个。代谢物数量较多的类别有脂质和类脂分子(22.68%)、苯丙烷类和聚酮类(14.65%)及有机酸化合物(8.77%)。经分析发现忍冬花、茎和叶中的化学成分有一定的差异,花中环烯醚萜苷类化合物种类相对较多,茎叶中的酚酸类、黄酮类化合物的种类多于花,3 个部位中都含有大量的脂质和类脂分子。环烯醚萜苷类化合物整体在花中含量较高,其次是叶,在茎中含量最少,但 8-表番木鳖酸和哈巴苷在茎中表达较高,有机酸和黄酮类化合物的含量在叶中相对较高。KEGG 通路分析表明,叶与花中显著差异代谢通路为甘油酯代谢和脂肪酸生物合成通路,茎和花中显著差异代谢通路为花青素生物合成和氰胺酸代谢通路。主要参与的代谢物为氨基酸及衍生物、脂质和类脂分子、黄酮类化合物等。非靶向代谢组学技术是一种高通量检测方法,后续还可以针对忍冬中儿茶素、野漆树苷、山奈酚、8-表番木鳖酸、獐牙菜苷、哈巴苷等多种特定差异代谢物及其代谢通路展开进一步深入研究,为忍冬茎叶资源的进一步开发利用提供科学依据。

参考文献:

- [1] 石钺, 石任兵, 陆蕴如. 我国药用金银花资源、化学成分及药理研究进展[J]. 中国药学杂志, 1999, 34(11): 724. DOI:10.3321/j.issn:1001-2494.1999.11.002.
- [2] 王德群. 神农本草经图考[M]. 北京: 北京科学技术出版社, 2017.
- [3] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典 一部: 2020 年版[M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2020.
- [4] GE L L, XIE Q J, JIANG Y Y, et al. Genus *Lonicera*: New drug discovery from traditional usage to modern chemical and pharmacological research[J]. Phytomedicine, 2022, 96: 153889. DOI:10.1016/j.phymed.2021.153889.
- [5] WANG L N, JIANG Q, HU J H, et al. Research progress on chemical constituents of *Lonicerae japonicae Flos*[J]. BioMed Research International, 2016, 2016: 8968940. DOI:10.1155/2016/8968940.
- [6] KANG O H, CHOI J G, LEE J H, et al. Luteolin isolated from the flowers of *Lonicera japonica* suppresses inflammatory mediator

- release by blocking NF-kappaB and MAPKs activation pathways in HMC-1 cells[J]. *Molecules*, 2010, 15(1): 385-398. DOI:10.3390/molecules15010385.
- [7] TIAN J, CHE H L, HA D, et al. Characterization and anti-allergic effect of a polysaccharide from the flower buds of *Lonicera japonica*[J]. *Carbohydrate Polymers*, 2012, 90(4): 1642-1647. DOI:10.1016/j.carbpol.2012.07.044.
- [8] 黄喜茹, 刘伟娜, 曹冬. 金银花的化学成分药理作用研究评析[J]. *中医药学刊*, 2005, 23(3): 418-419. DOI:10.13193/j.archtem.2005.03.35.huangxr.015.
- [9] JEONG S H, PARK M Y, BHOSALE P B, et al. Potential antioxidant and anti-inflammatory effects of *Lonicera japonica* and *Citri reticulatae* pericarpium polyphenolic extract (LCPE)[J]. *Antioxidants*, 2023, 12(8): 1582. DOI:10.3390/antiox12081582.
- [10] JEONG Y T, JEONG S C, HWANG J S, et al. Modulation effects of sweroside isolated from the *Lonicera japonica* on melanin synthesis[J]. *Chemico-Biological Interactions*, 2015, 238: 33-39. DOI:10.1016/j.cbi.2015.05.022.
- [11] 申屠超, 程青青, 单伟光, 等. 金银花泡腾饮料片加工工艺的研究[J]. *食品工业科技*, 2012, 33(12): 255-258. DOI:10.13386/j.issn1002-0306.2012.12.069.
- [12] 王晓英. 金银花、绿豆皮纤维保健饮料的研制[J]. *食品研究与开发*, 2013, 34(10): 65-68. DOI:10.3969/j.issn.1005-6521.2013.010.017.
- [13] 褚晓波, 严冰心. 药用观赏植物金银花在园林绿化中的应用与展望[J]. *安徽农业科学*, 2014, 42(13): 3854-3856. DOI:10.13989/j.cnki.0517-6611.2014.13.087.
- [14] WANG D J, DU N, WEN L, et al. An efficient method for the preparative isolation and purification of flavonoid glycosides and caffeoylquinic acid derivatives from leaves of *Lonicera japonica* thunb. using high speed counter-current chromatography (HSCCC) and prep-HPLC guided by DPPH-HPLC experiments[J]. *Molecules*, 2017, 22(2): 229. DOI:10.3390/molecules22020229.
- [15] 郝梦超. 忍冬叶中化学物质的提取与分析[D]. 汉中: 陕西理工大学, 2024.
- [16] WANG Y, LI L L, JI W H, et al. Metabolomics analysis of different tissues of *Lonicera japonica* thunb. based on liquid chromatography with mass spectrometry[J]. *Metabolites*, 2023, 13(2): 186. DOI:10.3390/metabo13020186.
- [17] 马荣, 殷志琦, 张聪, 等. 忍冬藤正丁醇萃取部位的化学成分[J]. *中国药科大学学报*, 2010, 41(4): 333-336.
- [18] 任敏, 金振锐, 徐小博, 等. 金银花不同器官提取物抑菌作用研究[J]. *安徽农学通报*, 2019, 25(9): 41-42. DOI:10.16377/j.cnki.issn1007-7731.2019.09.014.
- [19] 向极轩, 王应玲, 刘晓鹏, 等. 忍冬藤总黄酮超声辅助提取工艺及其体外抗氧化活性研究[J]. *食品工业科技*, 2017, 38(2): 251-256. DOI:10.13386/j.issn1002-0306.2017.02.040.
- [20] 高薇, 邓丽丽, 韦霄, 等. 基于非靶向代谢组学的牛尾菜植株不同部位代谢物差异分析[EB/OL].[2025-02-26]. <http://kns.cnki.net/kcms/detail/46.1068.S.20240515.1626.002.html>.
- [21] 汪琪, 高雁, 薛娟娟, 等. 液相色谱-质谱非靶向代谢组学分析3种不同生产原料波杂发酵饮品的代谢差异[J]. *食品科学*, 2024, 45(23): 81-92.
- [22] 刘茂柯, 田新惠, 刘瑶, 等. 基于非靶向代谢组技术解析不同酿酒稻米品种的成分差异[J]. *食品科学*, 2024, 45(23): 180-186.
- [23] SHAN X, LI L, LIU Y, et al. Untargeted metabolomics analysis using UPLC-QTOF/MS and GC-MS to unravel changes in antioxidant activity and compounds of almonds before and after roasting[J]. *Food Research International*, 2024, 194: 114870. DOI:10.1016/j.foodres.2024.114870.
- [24] WANT E J, MASSON P, MICHOPoulos F, et al. Global metabolic profiling of animal and human tissues via UPLC-MS[J]. *Nature Protocols*, 2013, 8(1): 17-32. DOI:10.1038/nprot.2012.135.
- [25] ASTEL A, TSAKOVSKI S, BARBIERI P, et al. Comparison of self-organizing maps classification approach with cluster and principal components analysis for large environmental data sets[J]. *Water Research*, 2007, 41(19): 4566-4578. DOI:10.1016/j.watres.2007.06.030.
- [26] 马晓玲, 彭巍, 舒适. 基于 LCMS 技术对牦牛围产后期的血清动态代谢组学分析[J]. *畜牧兽医学报*, 2022, 53(11): 3811-3826.
- [27] BOULESTEIX A L, STRIMMER K. Partial least squares: A versatile tool for the analysis of high-dimensional genomic data[J]. *Briefings in Bioinformatics*, 2007, 8(1): 32-44. DOI:10.1093/bib/bbl016.

- [28] KOU Y Y, LI Z H, YANG T, et al. Therapeutic potential of plant iridoids in depression: A review[J]. *Pharmaceutical Biology*, 2022, 60(1): 2167-2181. DOI:10.1080/13880209.2022.2136206.
- [29] 熊乐文, 黄文静, 张龙霏, 等. 干燥方式对金银花酚酸类和黄酮类成分的影响[J]. *中华中医药杂志*, 2024, 39(5): 2444-2450.
- [30] WANG Y D, HE Y, DAI Z, et al. A comparative study on bioactive constituents in different parts of *Lonicera japonica* determined by HPLC-ESI-MS(n)[J]. *Journal of Asian Natural Products Research*, 2016, 18(10): 988-1003. DOI:10.1080/10286020.2016.1205039.
- [31] 王凯, 刘双, 李蒙, 等. 忍冬叶化学成分及其保肝活性研究[J]. *中草药*, 2022, 53(8): 2285-2291. DOI:10.7501/j.issn.0253-2670.2022.08.004.
- [32] KANEHISA M, GOTO S. KEGG Kyoto encyclopedia of genes and genomes[J]. *Nucleic Acids Research*, 2000, 28(1): 27-30. DOI:10.1093/nar/28.1.27.
- [33] CHEN X R, ZHAO X C, DENG Y H, et al. Antimicrobial potential of myristic acid against *Listeria monocytogenes* in milk[J]. *The Journal of Antibiotics*, 2019, 72(5): 298-305. DOI:10.1038/s41429-019-0152-5.
- [34] SALES-CAMPOS H, SOUZA P R, PEGHINI B C, et al. An overview of the modulatory effects of oleic acid in health and disease [J]. *Mini Reviews in Medicinal Chemistry*, 2013, 13(2): 201-210.
- [35] 张翀, 金海振, 周纯, 等. 癸酸能够活化 CD8⁺T 细胞并提高其抗肿瘤免疫反应能力[J]. *中国肿瘤生物治疗杂志*, 2024, 31(5): 437-444. DOI:10.3872/j.issn.1007-385x.2024.05.002.
- [36] NEGM A, SEDKY A, ELSAWY H. Capric acid behaves agonistic effect on calcitriol to control inflammatory mediators in colon cancer cells[J]. *Molecules*, 2022, 27(19): 6624. DOI:10.3390/molecules27196624.
- [37] YUE L W, LI Y, LUO Y T, et al. Pelargonidin inhibits cell growth and promotes oxidative stress-mediated apoptosis in lung cancer A549 cells[J]. *Biotechnology and Applied Biochemistry*, 2024, 71(5): 1195-1203. DOI:10.1002/bab.2621.
- [38] 胡博森, 周波. 矢车菊素-3-O-葡萄糖苷及矢车菊素对破骨细胞的调节作用[J]. *国际药学研究杂志*, 2017, 44(9): 835-839. DOI:10.13220/j.cnki.jipr.2017.09.003.
- [39] ZHU L F, CAO F L, HU Z M, et al. Cyanidin-3-O-glucoside alleviates alcoholic liver injury via modulating gut microbiota and metabolites in mice[J]. *Nutrients*, 2024, 16(5): 694. DOI:10.3390/nu16050694.
- [40] 庄媛, 李延辉, 卢云凤, 等. 飞燕草素葡萄糖苷通过上调 SOX2OT 减轻高糖诱导的心肌细胞损伤[J]. *中国药师*, 2021, 24(7): 228-234. DOI:10.19962/j.cnki.issn1008-049X.2021.07.005.
- [41] SHARMA A, CHOI H K, KIM Y K, et al. Delphinidin and its glycosides' war on cancer: Preclinical perspectives [J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2021, 22(21): 11500. DOI:10.3390/ijms222111500.

