

doi: 10.12452/j.fxcxb.26082002

基于UHPLC-Q-Orbitrap HRMS的不同品种金银花叶片代谢物差异分析

李淑芳^{1*}, 刘文斌¹, 王翔¹, 康双双¹, 冯书惠¹, 胡永建¹, 张晓申²,
于永杰³

(1. 河南省农业科学院农产品质量安全研究所, 河南 郑州 450002; 2. 郑州市农业科技研究院, 河南 郑州 450005; 3. 宁夏医科大学药学院, 宁夏 银川 750004)

摘要: 采用超高效液相色谱-四极杆静电场轨道阱高分辨质谱 (UHPLC-Q-Orbitrap HRMS) 结合 AntDAS 软件的非靶向代谢组学方法, 分析 6 个品种金银花叶片的代谢物组成及品种间差异。通过数据依赖性采集模式 (DDA) 获得的高分辨质谱数据经 AntDAS 软件自动解析, 共鉴定 72 种代谢物, 主要包括黄酮类、苯丙素类、氨基酸类、萜类等, 其中 24 种代谢物经标准品确证。层次聚类分析 (HCA)、主成分分析 (PCA) 和偏最小二乘-判别分析 (PLS-DA) 均能较好地地区分不同品种, PLS-DA 模型的 R^2X 、 R^2Y 和 Q^2 分别为 0.942、0.846 和 0.768。热图分析进一步表明, 不同品种在黄酮类、苯丙素类、环烯醚萜类及脂类等代谢物的积累水平上存在明显差异。基于变量重要性投影值 (VIP > 1) 筛选获得 17 种对品种分类具有重要贡献的关键代谢物, 其中木犀草苷、绿原酸等 7 种代谢物经标准品确证。进一步比较发现, 豫银蕾 1 号中绿原酸、异绿原酸 A、B、C 等咖啡酰奎宁酸类成分积累较高, 而封花 1 号中木犀草苷和芦丁等黄酮糖苷类成分相对富集。结果表明, 不同品种金银花叶片具有特征性代谢积累模式, 可为其品种鉴别、品质评价、优势品种筛选及高值化利用提供科学依据。

关键词: 金银花叶片; UHPLC-Q-Orbitrap-HRMS; 非靶向代谢组学; 化学计量学; AntDAS 软件

中图分类号: O657.63; R282 **文献标识码:** A **文章编号:** 1004-4957(XXXX)XX-0001-14

Differential Metabolite Analysis of Leaves from Different *Lonicera japonica* Thunb. Cultivars Based on UHPLC-Q-Orbitrap HRMS

LI Shu-fang^{1*}, LIU Wen-bin¹, WANG Xiang¹, KANG Shuang-shuang¹, FENG Shu-hui¹, HU Yong-jian¹, ZHANG Xiao-shen², YU Yong-jie³

(1. Institute of Quality Standard and Testing Technology for Agro-products, Henan Academy of Agricultural Science, Zhengzhou 450002, China; 2. Zhengzhou Academy of Agricultural Science and Technology, Zhengzhou 450005, China; 3. College of Pharmacy, Ningxia Medical University, Yinchuan 750004, China)

Abstract: An untargeted metabolomics approach based on ultra-high-performance liquid chromatography coupled with quadrupole-Orbitrap high-resolution mass spectrometry (UHPLC-Q-Orbitrap HRMS) combined with AntDAS software was employed to systematically characterize the metabolite composition and inter-cultivar differences in the leaves of six *Lonicera japonica* Thunb. (*L. japonica* Thunb.) cultivars, namely Beihua No. 1, Fenghua No. 1, Jinhua No. 3, Qinhua No. 6, Zhengyinhua No. 3, and Yuyinlei No. 1. HRMS data were acquired in data-dependent acquisition (DDA) mode and subsequently subjected to automated extraction, interpretation, and identification using AntDAS. A total of 72 metabolites were identified, mainly including flavonoids, phenylpropanoids, amino acids, terpenoids, and lipids, among which flavonoids and phenylpropanoids accounted for 43.1% and 23.6%, respectively, and 24 metabolites were further confirmed by reference standards. Hierarchical cluster analysis (HCA), principal component analysis

收稿日期: 2026-08-20; 修回日期: 2026-09-03

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (22378214); 河南省自然科学基金青年科学基金 (C类) 项目 (262300422413); 河南省农业科学院基本科研业务费专项 (2026ZC91); 河南省农业科学院博士科研启动费项目 (2026BX61); 河南省科技兴林资助项目 (豫财环资 [2025] 44 号)

* 通讯作者: 李淑芳, 博士, 助理研究员, 研究方向: 化学计量学仪器分析应用研究, E-mail: lishufang@hnagri.org.cn

网络首发日期: XXXX-XX-XX

(PCA), and partial least squares-discriminant analysis (PLS-DA) effectively differentiated the six cultivars. Fenghua No. 1 and Jinhua No. 3 showed relatively similar metabolic characteristics, as did Zhengyinhua No. 3 and Yuyinlei No. 1. The PLS-DA model showed good explanatory and predictive performance, with R^2X , R^2Y , and Q^2 values of 0.942, 0.846, and 0.768, respectively. Hierarchical clustering heatmap analysis further revealed distinct metabolite accumulation patterns among the cultivars. Beihua No. 1 and Fenghua No. 1 exhibited relatively high levels of flavonoids and coumarins; Qinhua No. 6 showed higher accumulation of iridoids, flavonoid glycosides, and lipids; some iridoids and flavonoid glycosides were relatively enriched in Zhengyinhua No. 3; whereas Yuyinlei No. 1 was characterized by higher levels of chlorogenic acid and isochlorogenic acids. Based on the variable importance in projection (VIP) scores of the PLS-DA model, 17 key metabolites with important contributions to cultivar discrimination were screened using $VIP > 1$ as the criterion. Among these, cynaroside, chlorogenic acid, sweroside, luteolin, rutin, isoquercitrin, and isochlorogenic acid A were confirmed by comparison with reference standards. Further comparison between Yuyinlei No. 1 and Fenghua No. 1 revealed that chlorogenic acid and isochlorogenic acids A, B, and C accumulated at higher levels in Yuyinlei No. 1, whereas Fenghua No. 1 showed relatively higher levels of flavonoid glycosides such as cynaroside and rutin. These results demonstrate that the leaves of different *L. japonica* Thunb. cultivars exhibit distinct metabolite accumulation patterns, providing a scientific basis for cultivar discrimination, quality evaluation, superior cultivar selection, and high-value utilization of *L. japonica* Thunb. leaves.

Key words: *Lonicera japonica* Folium; UHPLC-Q-Orbitrap-HRMS; untargeted metabolomics; chemometrics; AntDAS software

金银花 (*Lonicera japonica* Thunb.) 为忍冬科忍冬属多年生半常绿缠绕藤本, 是我国重要的药用植物。其干燥花蕾或初开的花以及干燥茎枝分别作为中药金银花和忍冬藤收载于《中国药典》^[1]。除传统医药领域外, 金银花已广泛应用于保健食品、功能饮料、日化产品及无抗饲料等领域^[2-3]。随着金银花产业规模的不断扩大, 开发利用其非传统药用部位、提高资源综合利用效率已成为研究热点。相较于采收期集中且受花期限制的花蕾, 金银花叶片具有生物量大、生长期可多次采收等优势, 其产量约为花蕾的 10 倍^[4-5]。现代化学及药理学研究表明, 金银花叶片富含酚酸类、黄酮类、环烯醚萜类等多种活性成分, 其化学组成与花蕾具有较高相似性, 并表现出抗氧化、抗炎等多种药理活性^[3-7], 具有较大的开发利用潜力。

近年来, 针对金银花叶的研究主要采用高效液相色谱 (HPLC) 和超高效液相色谱 (UPLC) 等技术, 以绿原酸、木犀草苷、芦丁、断氧化马钱苷等少数特征性成分为评价指标, 对不同品种、产地、生长期及药用部位的活性成分差异和质量特征进行了评价^[8-18]。已有研究表明, 不同品种叶片中绿原酸、异绿原酸类等酚酸类以及木犀草苷、芦丁等黄酮类物质的含量存在不同程度差异, 表明主要活性成分的积累具有一定的品种差异^[8, 9]。童凯等^[14]采用 HPLC 指纹图谱结合多变量统计分析发现, 不同种质来源金银花叶片的化学物质群特征具有一定的品种特异性, 并筛选出 10 个对品种间化学差异贡献较大的特征色谱峰。然而, 现有研究主要集中于少数已知活性成分的定量分析或 HPLC 指纹图谱比较, 前者受预设目标化合物范围限制, 难以覆盖金银花叶片中复杂多样的未知代谢物组成; 后者虽然能够从整体色谱轮廓反映样品间的化学差异, 但多数特征峰难以获得明确的结构鉴定。因此, 目前对不同品种金银花叶片整体代谢组成及品种间代谢差异缺乏系统研究。

代谢组学技术能够对生物体系中低分子代谢物进行系统性分析, 已广泛用于中药物质基础分析领域^[19]。其中, 基于超高效液相色谱-高分辨质谱 (Ultra-high performance liquid chromatography-high resolution mass spectrometry, UHPLC-HRMS) 的非靶向代谢组学技术具有高分辨率、高灵敏度和高通量等优势, 可以实现植物代谢物的广覆盖检测和高效鉴定, 已成为植物代谢组成解析及品质评价的重要技术手段^[19-21]。近年来, 该技术已被用于解析金银花不同花期^[22]、加工方式^[23]、药用部位^[24, 25]及产地^[26]间的代谢差异, 为金银花品质差异解析和资源开发利用提供了新的研究策略。然而, 非靶向代谢组学在实际应用中仍面临海量高分辨质谱数据处理复杂、代谢物规模化鉴定困难等关键问题的挑战。Wang 等^[27]发展的全流程自动化数据智能解析软件 AntDAS, 针对数据依赖性采集 (Data-dependent

acquisition, DDA) 模式获取的高分辨质谱数据, 可实现内源离子识别、自动谱图解析及代谢物精准注释, 有效提高复杂植物样品中代谢物的注释效率和鉴定准确性。基于该平台, 相关研究已成功应用于金银花加工品质评价^[25]及产地溯源分析^[26], 为金银花复杂代谢组成解析提供了可靠的技术支撑。

品种差异是影响植物次生代谢物合成与积累的重要因素, 系统解析不同品种金银花叶片的代谢组成特征及差异代谢物, 对于筛选优良品种、揭示品质形成基础以及促进叶片资源高值化利用具有重要意义。因此, 本研究选取北花1号、封花1号、金花3号、秦花6号、郑银花3号、豫银蕾1号等6个金银花品种为研究对象, 建立基于超高效液相色谱-四极杆静电场轨道阱高分辨质谱 (Ultra-high performance liquid chromatography-Quadrupole Orbitrap high-resolution mass spectrometry, UHPLC-Q-Orbitrap-HRMS) 结合 AntDAS 智能解析软件的非靶向代谢组学分析策略, 系统解析不同品种金银花叶片代谢物组成特征。进一步结合化学计量学方法筛选不同品种金银花叶片的差异代谢物, 阐明不同品种金银花叶片代谢组成特征及差异代谢物积累规律, 为金银花叶资源开发利用及优良品种筛选提供理论依据。

1 实验部分

1.1 主要仪器与试剂

Ultimate 3000-Q Exactive 型超高效液相色谱-四极杆静电场轨道阱高分辨质谱联用仪 (UHPLC-Q-Orbitrap-HRMS) (美国 Thermo Fisher Scientific 公司); SCIENTZ-18N/C 钟罩式冷冻干燥机 (宁波新芝冻干设备股份有限公司); BCE224-1CCN 电子天平 (赛多利斯科学仪器 (北京) 有限公司); KQ-500DE 型数控超声波清洗器 (江苏昆山市超声仪器有限公司); 5810 R 型台式高速大容量冷冻离心机 (德国 Eppendorf 公司); Milli-Q Synthesis 超纯水系统 (德国 Merck 公司)。

甲醇、乙腈及甲酸 (98%-100%) 均为质谱级, 购自德国 Merck 公司。

1.2 样品收集与制备

样品收集: 本研究6个品种金银花 (详见表1) 的鲜叶样品于2025年9月28日采摘于郑州市农业科技研究院试验基地 (东经113°28'13", 北纬34°46'3"), 各品种的栽种时间、生长环境及管理措施一致。样品收集时, 各品种均设有6个生物学重复。新鲜金银花叶片经液氮处理后低温冻干, 随后研磨成粉, 并置于-80℃环境避光保存。质量控制样品 (Quality control sample, QC) 由36份金银花叶片样本中各取出等量粉末 (0.2 g) 混合均匀而成。

表1 金银花品种信息
Table 1 Information on the *L. japonica* Thunb. cultivars

Cultivar Code 品种编号	Cultivar Name 品种名称	Cultivar Approval Number 鉴定编号	Breeding Institution 培育单位
V1	北花1号	鲁农学品鉴 2023001	平邑县九间棚农业科技园有限公司 山东北花农业科技有限公司 临沂市农业科学院
V2	封花1号	豫鉴中药 20170002	河南封丘县鑫丰农业种植专业合作社 河南省农业科学院植物保护研究所 封丘县金银花协会
V3	金花3号	陕 S-SC-LJ-010-2020	杨凌金山农业科技有限责任公司 西北农林科技大学
V4	秦花6号	陕 S-SC-LQ-003-2023	陕西省西北农林科技大学 蒲城县尧山镇闫家村股份经济合作社
V5	郑银花3号	JDZYC 20240606	河南省郑州市农业科技研究院
V6	豫银蕾1号	JDZYC 20260612	河南省农业科学院农产品质量安全研究所 禹州市中丰中药饮片有限公司

供试品溶液制备: 精密称取金银花叶片粉末20.0 mg, 置于2 mL离心管中, 加入1.5 mL提取溶剂 (甲醇/水=8/2, V/V), 经涡旋混匀后超声提取30 min (500 W, 20 kHz, 室温)。随后于12000 r/min高速离心10 min, 将上清液转移至1.5 mL色谱瓶中待分析。

1.3 超高效液相色谱条件

采用 Waters Acquity UPLC HSS T3 色谱柱 (2.1×100 mm, 1.8 μm) 进行分离; 流动相 A 为 0.1%

(v/v)的甲酸乙腈,流动相B为0.1% (v/v) 甲酸水溶液。梯度洗脱: 0~2 min, 100%~99%B; 2~5 min, 99%~95%B; 5~8 min, 95%~90%B; 8~16 min, 90%~85%B; 16~23 min, 85%~80%B; 23~28 min, 80%~70%B; 28~30 min, 70%~60%B; 30~38 min, 60%~22%B; 38~40 min, 22%~10%B; 40~43 min, 10%~0%B; 43~50 min, 0%B。流速0.2 mL/min; 柱温40 °C; 进样量2 μ L。

1.4 高分辨质谱条件

采用电喷雾离子源 (Electrospray ionization, ESI), 在正离子模式下, 以数据依赖性采集 (Data Dependent Acquisition, DDA) 模式进行质谱数据采集, 扫描方式为 Full MS-ddMS² (TOP4), 扫描范围为 120~1000 Da; 喷雾电压为 3.5 kV, 离子传输毛细管温度为 320 °C; 鞘气及辅助气均为氮气, 流量分别为 30 arb 及 10 arb。质谱分辨率分别为 35000 FWHM (MS1), 17500 FWHM (MS2); 自动增益控制 (AGC) 均为 5e6。最大注入时间分别为 100 ms (MS1)、25 ms (MS2)。二级质谱碰撞能量为阶梯模式 (20、40、60 eV)。

1.5 UHPLC-HRMS 数据分析

应用 Xcalibur 软件完成 UHPLC-Q-Orbitrap-HRMS 原始数据的采集后, 将数据文件导入全流程自动化解析软件——AntDAS^[26] 中进行数据分析, 实现数据解析及化合物鉴定。通过完成 (Extracted ion chromatogram, EIC) 峰构建与提取、峰对齐、质谱图构建、碎片离子识别、保留时间校正和化合物注册等处理, 将筛选到的高匹配度化合物的质谱图与 MS-DIAL 质谱数据库 (<https://systemsomicslab.github.io/comppms/msdial/main.html#MSP>) 及课题组自建对照品谱库进行化合物匹配鉴定。最终构建包含质荷比 (m/z)、保留时间 (retention time, RT) 及峰面积等信息的代谢物信息表, 用于后续化学计量学分析。多元统计分析及火山图绘制均在 R 语言环境中完成。

2 结果与讨论

2.1 基于 AntDAS 软件的代谢物自动化解析

将仪器采集的不同品种金银花叶片样品及 QC 样品的原始数据分为 7 组, 之后导入 AntDAS 软件进行整体分析。6 个不同品种金银花叶片样本的总离子流色谱图 (Total ion chromatogram, TIC) 如图 1a 所示。由图可见, 金银花叶片样本中检测到丰富的化学物质, 且各化合物在整个色谱流出时间范围内均表现出良好的 TIC 峰分离效果。尤其是在 30~35 min 保留时间区间, 不同品种金银花叶片样本的 TIC 峰形和峰响应强度存在显著差异, 提示其代谢物组成和相对丰度具有明显的品种差异。然而, 仅依据 TIC 图谱难以确定差异来源, 仍需结合代谢组学数据处理软件对高通量质谱数据进行深入解析。

AntDAS 能够在完成所有 EIC 峰提取及其 m/z 值精确注释的同时进行离子识别。图 1c 为 AntDAS 对离子 m/z 449.1050 Da 构建的 EIC 结果, 共提取出 22 个色谱峰。可见, AntDAS 不仅能够精准识别强度较高的色谱峰 (13 号), 对于化合物离子丰度较低的色谱峰 (4 号, 19 号等), 亦能够准确识别化合物信息, 从而有效实现 EIC 中色谱峰的高质量提取。图 1d 为样本中化合物离子峰提取结果, 以及对应的二级质谱的数量。以 QC 样本为例, 经 AntDAS 软件解析后, 共检测到 50, 932 个 EIC 峰, 反映出金银花叶片样本具有复杂的化学组成。在数据依赖采集 (DDA) 模式下, 共有 7, 197 个色谱峰获得了对应的 MS/MS 二级质谱信息, 为后续基于高分辨精确质量数 (HRAM) 和碎片离子特征的代谢物鉴定奠定了数据基础。

基于 QC 样本对 UHPLC-Q-Orbitrap-HRMS 检测数据的稳定性进行评价。结果显示, 大部分 EIC 峰面积的相对标准偏差 (Relative Standard Deviation, RSD) 均控制在较低水平 (图 1b)。其中, RSD $\leq$ 20% 和 RSD $\leq$ 30% 的色谱峰分别占总峰数的 77.86% 和 89.52%, 说明绝大多数色谱峰具有良好的重复性, 表明该方法在批量进样过程中所采集的质谱数据质量可靠, 可满足后续非靶向代谢组学分析要求。

在质谱分析过程中, 化合物可能发生源内裂解 (in-source fragmentation), 产生多个碎片离子。若直接对离子峰进行注释, 同一化合物的母离子及其源内裂解离子可能被误识别为多个不同的代谢物。AntDAS 通过源内裂解离子识别与归并策略, 将属于同一化合物的相关离子进行关联, 有效消除了源内裂解带来的冗余注释, 提高了代谢物鉴定的准确性。图 2 为 AntDAS 进行代谢物鉴定的示例。在 AntDAS 构建的化合物一级质谱谱图中 (图 2a) 显示, 保留时间为 22.73 min 下, m/z 449.1050 Da 的离

子源内裂解识别结果主要包括两簇，分别是 m/z 449. 1049 Da 离子及其同位素离子、 m/z 287. 0526 Da 离子及其同位素离子。这些离子碎片的 EIC 色谱峰（图 2c）峰形相似，保留时间一致，判断可能来自同一个代谢物。分别将构建的一级、二级质谱谱图与数据库中的谱图进行比对（图 2b），鉴定该化合物为木犀草苷，其化合物结构信息见图 2d 中。根据精确质量数及裂解规律判断，在正离子模式下，木犀草苷的质子化分子离子（precursor ion）为 m/z 449. 1649 Da ($[M+H]^+$)，在碰撞诱导解离过程中，首先发生糖苷键断裂，中性丢失一个葡萄糖基 ($C_6H_{10}O_5$, 162. 0528 Da)，生成木犀草素苷元离子（product ion） m/z 287. 0534 Da ($[M+H-C_6H_{10}O_5]^+$)。随后，苷元发生 Retro-Diels-Alder (RDA) 裂解及连续中性分子脱除后形成特征产物离子 153. 0175 Da。此外，在质谱中还检测到低丰度的二聚体离子（dimer ion） m/z 898. 2017 Da，可归属于质子化二聚体 $[2M+H]^+$ ，该离子通常由电喷雾离子源中两分子木犀草苷通过非共价相互作用形成。

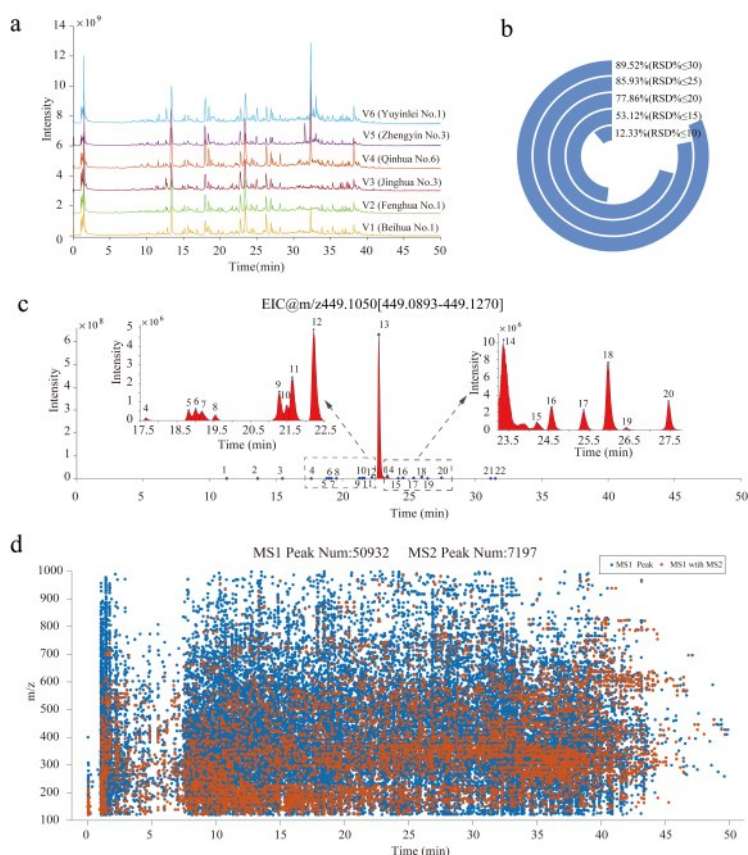


图 1 AntDAS 进行 UHPLC-Q-Orbitrap-HRMS 数据提取的示例。a. 不同品种金银花叶片的总离子流色谱图；b. 基于 QC 样本的 EIC 峰面积的相对标准偏差（RSD）；c. m/z 449. 1050 Da 的提取离子色谱结果；d. 化合物离子峰分布散点图

Fig. 1 Representative UHPLC-Q-Orbitrap-HRMS data extraction using AntDAS. a. TICs of leaves from different cultivars of *L. japonica* Thunb.; b. The relative standard deviation (RSD) of EIC peak area of QC samples; c. The EIC peak extraction results of m/z 449. 1050 Da; d. Scatter plot of compound ion peak distribution

2.2 不同品种金银花叶片的代谢物分析

基于上述代谢物鉴别流程，以二级匹配度大于 0.7 为筛选条件，共鉴定出 72 个代谢物（见表 2），主要分为 6 大类，包括黄酮类 31 个、苯丙素类 17 个、氨基酸及其衍生物 7 个、萜类 5 个、脂类 5 个及其他类代谢物 7 个。此外，其中 24 个代谢物通过标准品进行验证。从代谢物种类组成来看，黄酮类和苯丙素类是金银花叶片中最丰富的代谢物类别，分别占鉴定代谢物总数的 43. 1% 和 23. 6%（图 3a）。这一结果与金银花花蕾（*Lonicerae Japonicae Flos*）以黄酮类、苯丙素类及环烯醚萜类成分为主要特征的化学组成相一致，说明金银花叶片具有与花蕾相似的代谢基础。鉴定的黄酮类化合物主要包括黄酮及黄酮醇糖苷类成分，如木犀草苷、木犀草素、芦丁、异槲皮苷、紫云英苷等。苯丙素类化合物主要包括羟基肉桂酸及其衍生物，其中，咖啡酰奎宁酸类化合物占比较高，包括绿原酸、隐绿原酸、新绿原酸及异绿原酸 A、B、C 等。此外，还检测到秦皮甲素、秦皮乙素和茵芋苷等香豆素类成分。绿原酸类化

合物是金银花发挥清热解毒、抗炎及抗感染作用的重要活性成分，也是《中国药典》规定的质量评价指标之一。鉴定的当药苷、断氧化马钱苷、断氧化马钱苷酸和 (Z)-二聚断马钱苷烯醛等属于裂环烯醚萜苷，是环烯醚萜生物合成途径的重要中间产物。此外，氨基酸、脂类、核苷酸等初级代谢物主要参与植物生长发育、能量代谢及细胞结构维持，共同构成了金银花叶片的化学组成并支撑其生物学功能。

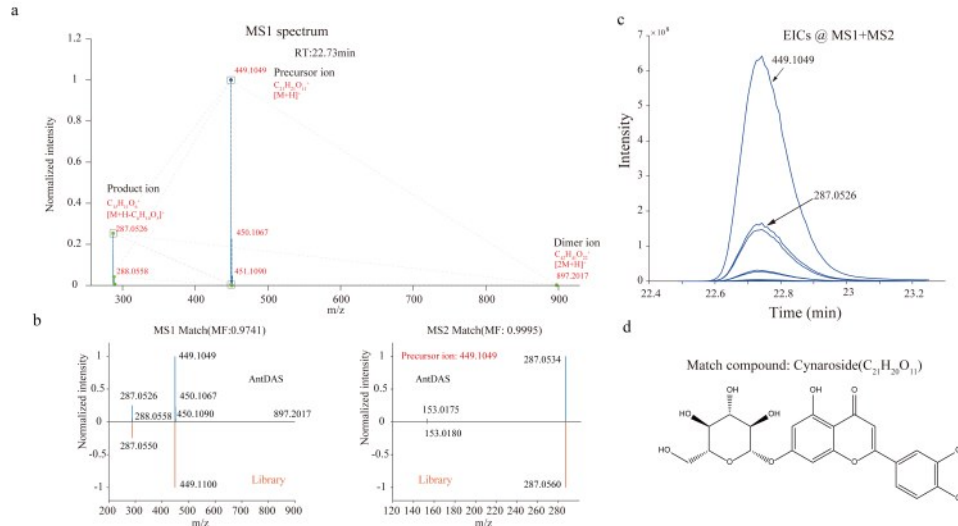


图2 AntDAS进行代谢物鉴定的示例。a. 识别代谢物的一级质谱谱图；b. 构建质谱谱图与标准谱库的匹配结果；c. 识别代谢物的碎片离子色谱图；d. 识别代谢物的结构信息

Fig. 2 Representative example of metabolite identification using AntDAS. a. MS1 spectrum of the identified metabolite; b. Matching results for the construct spectrum with the reference spectral library; c. Chromatographic elution curves correspond to the fragment ions of the identified metabolite; d. Chemical structure information of the identified metabolite

不同品种金银花叶片中各类代谢物峰面积占比情况如图3b所示。结果表明，不同品种整体代谢组成特征相似，但不同类别代谢物的相对积累水平存在一定差异。其中，黄酮类和脂质类代谢物为主要贡献组分。黄酮类代谢物在各品种中的相对丰度均保持较高水平，占总峰面积的55.8%~68.0%，表明黄酮类物质是金银花叶片的重要优势代谢物。不同品种间黄酮类代谢物比例存在一定差异，其中，V1、V2和V5中黄酮类代谢物占比较高，分别达到68.0%、67.3%和67.1%；而V6和V3中相对较低，仅为55.8%和57.3%。脂质类代谢物在不同品种间差异更加明显。V4和V6中脂质类代谢物比例较高，分别达到29.2%和28.0%，明显高于其他品种，而V5、V2和V1中脂质类比例相对较低，分别为18.5%、19.1%和19.9%。苯丙素类代谢物在V6和V3中比例最高，分别为9.5%和9.3%，约为V1（2.8%）的3倍，提示不同品种可能存在不同程度的苯丙素类代谢途径调控。氨基酸及其衍生物、萜类及其他类代谢物在各品种中的比例相对稳定，分别维持在约3.0%~3.8%、2.0%~3.8%和1.5%~2.4%。总体而言，不同品种金银花叶片具有相似的代谢组成基础，但部分次生代谢途径（如黄酮和苯丙素代谢）的积累水平存在明显差异，可能与品种遗传背景及代谢调控机制相关。

表2 不同品种金银花叶片中代谢物的鉴定结果

Table 2 The metabolite identification results in leaves from different *L. japonica* Thunb. cultivars

No. 序号	m/z 质量数	t_R / min 保留时间	Compound 化合物	Formula 分子式	CAS No. CAS号	MS2 MF 匹配度	MS2 compound fragments 二级碎片离子
Flavonoids (黄酮类)							
1	273.0743	25.72	Naringenin (柚皮素)	$C_{15}H_{12}O_5$	480-41-1	0.953	153.0176, 147.0434, 171.0286, 119.0492
2	287.0537	30.56	Luteolin (木犀草素)*	$C_{15}H_{10}O_6$	491-70-3	1.000	153.0175, 135.0435
3	299.0897	37.63	7-Dimethoxy-3-hydroxyflavone (3', 7-二甲氧基-3-羟基黄酮)	$C_{17}H_{14}O_5$	151698-63-4	0.978	256.0729, 284.067

(续表)

No. 序号	m/z 质量数	t_R / min 保留时间	Compound 化合物	Formula 分子式	CAS No. CAS 号	MS2 MF 匹配度	MS2 compound fragments 二级碎片离子
4	301.0687	27.56	Chrysoeriol (金圣草黄素)	$C_{16}H_{12}O_6$	491-71-4	0.993	286.0458, 258.0511
5	305.0642	12.39	Taxifolin (二氢槲皮素)	$C_{15}H_{12}O_7$	480-18-2	0.826	153.0176, 123.0438, 149.0224, 259.0593, 231.0659
6	331.0796	32.77	Tricin (苜蓿素)	$C_{17}H_{14}O_7$	520-32-1	0.952	315.0483, 270.0511, 287.0538
7	417.1156	15.16	Puerarin (葛根素)	$C_{21}H_{20}O_9$	3681-99-0	0.840	297.0743, 267.064, 268.0718, 399.1057, 381.0952
8	433.1104	26.07	Apigetrin (大波斯菊苷)	$C_{21}H_{20}O_{10}$	578-74-5	1.000	271.0588, 153.0175, 119.0489
9	433.1107	21.34	Vitexin (牡荆素)	$C_{21}H_{20}O_{10}$	3681-93-4	0.948	313.0697, 283.0594, 415.1003, 284.0668, 397.0904
10	433.1110	21.87	Isovitexin (异牡荆素)	$C_{21}H_{20}O_{10}$	29702-25-8	0.965	283.0588, 313.0692, 337.0687, 367.08, 309.0751
11	449.1049	22.73	Cynaroside (木犀草苷) *	$C_{21}H_{20}O_{11}$	5373-11-5	1.000	287.0533, 153.0174
12	449.1052	25.97	Astragalin (紫云英苷) *	$C_{21}H_{20}O_{11}$	480-10-4	0.999	287.0537, 153.0182
13	449.1057	24.57	Luteolin-4'-O-glucoside (木犀草素-4'-O-葡萄糖苷)	$C_{21}H_{20}O_{11}$	6920-38-3	0.995	287.0537, 85.0287
14	465.1001	22.38	Isoquercetin (异槲皮苷) *	$C_{21}H_{20}O_{12}$	482-35-9	0.997	303.0485, 85.0286, 229.0489, 153.0177, 69.034
15	477.1375	30.11	Cirsimarín (滨藜黄苷)	$C_{23}H_{24}O_{11}$	13020-19-4	0.948	315.0848, 300.0605
16	479.1159	23.48	Nepetin-7-glucoside (假荆芥属苷)	$C_{22}H_{22}O_{12}$	569-90-4	0.985	317.064, 302.0407, 274.0457
17	479.1161	26.23	Isorhamnetin-3-O-glucoside (异鼠李素-3-O-葡萄糖苷) *	$C_{22}H_{22}O_{12}$	5041-82-7	0.985	317.0641, 85.0287, 285.0356
18	493.1320	27.30	Tricin 5-glucoside (三羟基黄酮 5-葡萄糖苷)	$C_{23}H_{24}O_{12}$	32769-00-9	0.990	331.0796, 315.0482, 270.0511, 316.0562, 287.0529
19	535.1059	27.26	Luteolin 7-O- (6''-malonylglucoside) (木犀草素 7-O- (6''-丙二酰葡萄糖苷))	$C_{24}H_{22}O_{14}$	98767-38-5	0.941	287.0546, 127.0384
20	551.1002	24.08	Quercetin-3-O- (6''-malonylglucoside) (槲皮素-3-O- (6''-丙二酰基葡萄糖苷))	$C_{24}H_{22}O_{15}$	96862-01-0	0.995	303.0483, 85.0289, 81.0339, 69.0341, 127.0393
21	563.1737	30.17	Chrysin 7-O-neohesperidoside (白杨素 7-O-新橙皮糖苷)	$C_{27}H_{30}O_{13}$	35775-46-3	0.992	255.0641
22	579.1674	25.21	Rhoifolin (野漆树苷)	$C_{27}H_{30}O_{14}$	17306-46-6	0.985	271.0588, 433.111
23	581.1468	21.28	6''-O-L-Arabinopyranosylastragalin (6''-OL-阿拉伯吡喃糖基异黄酮)	$C_{26}H_{28}O_{15}$	110352-79-9	0.999	287.0536, 449.1059
24	595.1623	16.19	Apigenin-6, 8-di-C-glucoside (芹菜素-6, 8-二-C-葡萄糖苷)	$C_{27}H_{30}O_{15}$	23666-13-9	0.790	325.0693, 457.1113, 295.0588, 337.0689, 379.0796
25	609.1776	27.13	Diosmin (香叶木苷)	$C_{28}H_{32}O_{15}$	520-27-4	0.934	301.0691, 286.0457, 258.051
26	611.1568	21.64	Rutin (芦丁) *	$C_{27}H_{30}O_{16}$	153-18-4	0.983	303.0485, 85.0286, 71.0496, 229.0481
27	625.1723	24.15	Isorhamnetin-3-O-rutinoside (水仙苷)	$C_{28}H_{32}O_{16}$	604-80-8	0.973	317.064, 302.0406, 274.0462

(续表)

No. 序号	m/z 质量数	t_R / min 保留时间	Compound 化合物	Formula 分子式	CAS No. CAS 号	MS2 MF 匹配度	MS2 compound fragments 二级碎片离子
28	627. 1521	13.5 8	Quercetin-3, 4'-O-diglucoside (槲皮素 3, 4'-二葡萄糖苷)	$C_{27}H_{30}O_{17}$	29125- 80-2	0.99 1	303.0487, 465.1006, 85.0287
29	641. 1674	16.2 6	Isorhamnetin-3, 7-di-O-glucoside (异鼠李素-3, 7-O-二葡萄糖苷)	$C_{28}H_{32}O_{17}$	6758- 51-6	0.96 2	317.0656
30	741. 2186	22.2 2	Robinin (刺槐素)	$C_{33}H_{40}O_{19}$	301-19- 9	0.99 5	287.0537, 595.1640, 85.0287
31	757. 2136	18.8 1	Kaempferol 3-O-glucosyl-rhamnosyl-glucoside (山奈酚 3-O-葡萄糖基-鼠李糖基-葡萄糖苷)	$C_{33}H_{40}O_{20}$	136449- 09-7	0.99 0	287.0535, 449.1066
Phenylpropanoids (苯丙素类)							
32	133. 0644	12.2 5	Trans-cinnamaldehyde (反式肉桂醛)	C_9H_8O	14371- 10-9	0.86 5	105.0699, 91.0545, 115.0540, 55.0185
33	163. 0747	11.9 4	Methyl trans-cinnamic acid (对甲基肉桂酸)	$C_{10}H_{10}O_2$	1866- 39-3	0.87 4	131.0487, 103.0542
34	179. 0332	12.1 2	Aesculetin (秦皮乙素)	$C_9H_6O_4$	305-01- 1	0.97 2	123.0437, 133.0278, 151.0386
35	179. 0699	4.09	Coniferaldehyde (松柏醛)	$C_{10}H_{10}O_3$	20649- 42-7	0.88 6	147.0434, 119.0489, 91.0544, 161.0592
36	183. 0645	12.8 4	Syringaldehyde (丁香醛)	$C_9H_{10}O_4$	134-96- 3	0.84 8	95.0493, 123.0438, 140.0461, 155.0697
37	325. 0908	10.2 7	Skimmin (茵芋苷)	$C_{15}H_{16}O_8$	93-39-0	0.94 7	163.0383, 135.0437
38	341. 0852	11.3 8	Aesculin (秦皮甲素) *	$C_{15}H_{16}O_9$	531-75- 9	0.97 8	179.0331, 123.0438, 133.0279
39a	344. 1323	12.9 2	p-Coumaric acid glucoside (对香豆酸葡萄糖苷)	$C_{15}H_{18}O_8$	14364- 05-7	0.97 0	147.0434, 165.0541, 119.049, 85.0287
40	355. 1003	12.6 5	Chlorogenic acid (绿原酸) *	$C_{16}H_{18}O_9$	327-97- 9	0.98 7	163.0383, 135.0436, 145.0279, 117.0332
41	355. 1006	13.2 0	Cryptochlorogenic acid (隐绿原酸) *	$C_{16}H_{18}O_9$	87099- 73-8	0.81 3	163.0384, 145.0279
42	355. 1008	10.5 7	Neochlorogenic acid (新绿原酸) *	$C_{16}H_{18}O_9$	906-33- 2	0.94 8	163.0382, 135.0432
43	369. 1166	17.2 0	Methyl chlorogenate (绿原酸甲酯)	$C_{17}H_{20}O_9$	29708- 87-0	0.90 1	177.0548, 145.0288
44	517. 1303	24.9 7	Isochlorogenic acid A (异绿原酸 A) *	$C_{25}H_{24}O_{12}$	2450- 53-5	0.98 2	163.0383, 135.0437, 145.0278, 117.0337
45	517. 1310	24.2 5	Isochlorogenic acid B (异绿原酸 B) *	$C_{25}H_{24}O_{12}$	14534- 61-3	0.92 7	163.0383, 135.0431, 89.0389, 145.0282, 117.0338
46	517. 1310	26.8 3	Isochlorogenic acid C (异绿原酸 C) *	$C_{25}H_{24}O_{12}$	57378- 72-0	0.98 5	163.0384, 135.0436, 145.0283, 117.0337
47a	540. 2410	22.0 6	Dihydrodehydrodiconiferyl alcohol-9'-O-β-d-glucopyranoside (二氢去氢双松柏醇-9'-O-β-D-吡喃葡萄糖苷)	$C_{26}H_{34}O_{11}$	1992045- 13-2	0.95 6	331.1524, 151.0748, 137.0594, 287.1272, 313.1423
48a	760. 2976	20.3 7	Liriodendrin (丁香脂素二葡萄糖苷)	$C_{34}H_{46}O_{18}$	573-44- 4	0.93 7	205.0851, 173.0592, 265.1061, 167.0697, 217.0853
Amino acids and derivatives (氨基酸及其衍生物)							
49	132. 1017	4.36	Isoleucine (异亮氨酸) *	$C_6H_{13}NO_2$	73-32-5	0.97 0	86.0967, 72.9376, 90.9480, 113.9635
50	132. 1017	4.71	Leucine (亮氨酸) *	$C_6H_{13}NO_2$	61-90-5	0.98 4	86.0967, 72.9376, 90.9479, 113.9637
51	147. 0760	1.25	Glutamine (谷氨酰胺)	$C_5H_{10}N_2O_3$	56-85-9	0.99 6	84.0446, 130.0495, 56.0501, 101.0708
52	148. 0598	1.29	Glutamic acid (谷氨酸) *	$C_5H_9NO_4$	56-86-0	0.99 8	84.0446, 102.0549, 130.0494, 56.0501
53	166. 0858	8.48	Phenylalanine (苯丙氨酸) *	$C_9H_{11}NO_2$	63-91-2	0.99 8	120.0804, 103.0541, 131.0486

(续表)

No. 序号	m/z 质量数	t _R / min 保留时间	Compound 化合物	Formula 分子式	CAS No. CAS 号	MS2 MF 匹配度	MS2 compound fragments 二级碎片离子
54	175. 1182	1. 21	Arginine (精氨酸) *	C ₆ H ₁₄ N ₄ O ₂	74-79-3	0. 96 9	70. 0656, 60. 0562, 116. 0704, 130. 0971
55	182. 0808	4. 50	Tyrosine (酪氨酸) *	C ₉ H ₁₁ NO ₃	60-18-4	0. 97 4	136. 0752, 123. 0437, 119. 0488, 91. 0543, 165. 054
Terpenoids (萜类)							
56	197. 21. 9 1162 7		Lololide (毛地黄内酯)	C ₁₁ H ₁₆ O ₃	5982-2- 6	0. 94 5	179. 1059, 133. 1007, 107. 0854, 135. 1163, 161. 0955
57	359. 15. 6 1314 2		Sweroside (当药苷) *	C ₁₆ H ₂₂ O ₉	14215- 86-2	0. 97 2	127. 0386, 197. 0801, 111. 0803, 179. 0695, 131. 0487
58	405. 17. 9 1363 7		Secoxyloganin (断氧化马钱苷)	C ₁₇ H ₂₄ O ₁₁	58822- 47-2	0. 97 9	165. 054, 151. 0384, 95. 0492, 123. 0437, 225. 076
59a	408. 12. 7 1477 8		Secoxyloganic acid (断氧化马钱苷酸)	C ₁₆ H ₂₂ O ₁₁	59472- 23-0	0. 97 5	151. 0384, 211. 0602, 95. 0494, 123. 0441
60a	776. 26. 8 2917 9		(Z) -Aldosecologanin (Z) -二聚断马钱苷烯醛)	C ₃₄ H ₄₆ O ₁₉	82474- 97-3	0. 74 6	165. 0542, 367. 1157, 315. 0855, 347. 112
Lipids (脂质类)							
61	279. 38. 2 2301 7		α-linolenic acid (α-亚麻酸)	C ₁₈ H ₃₀ O ₂	463-40- 1	0. 97 1	67. 0547, 81. 0701, 95. 0856, 109. 101, 123. 1164
62	478. 37. 1 2901 4		LPE 18: 2 (溶血磷脂酰乙醇胺 (18: 2))	C ₂₃ H ₄₄ NO ₇ P	85046- 18-0	0. 85 6	337. 2723, 81. 0702, 67. 0547, 95. 0856, 69. 0703
63	496. 37. 7 3374 0		LPC 16: 0 (溶血磷脂酰胆碱 (16: 0))	C ₂₄ H ₅₀ NO ₇ P	17364- 18-0	0. 94 1	184. 0725, 86. 0966, 124. 9995
64	520. 37. 1 3370 9		LPC 18: 2 (溶血磷脂酰胆碱 (18: 2))	C ₂₆ H ₅₀ NO ₇ P	22252- 07-9	0. 89 0	184. 0725, 86. 0966, 124. 9994, 60. 0813
65	522. 38. 1 3523 9		LPC 18: 1 (溶血磷脂酰胆碱 (18: 1))	C ₂₆ H ₅₂ NO ₇ P	19420- 56-5	0. 79 0	184. 0726, 86. 0966, 124. 9994, 60. 0813, 504. 3422
Others (其他)							
66	123. 0537	2. 23	Nicotinamide (维生素 B3)	C ₆ H ₆ N ₂ O	98-92-0	0. 97 5	80. 0497, 96. 0444, 78. 0342
67	220. 1164	9. 51	Pantothenic acid (维生素 B5) *	C ₉ H ₁₇ NO ₅	79-83-4	0. 98 4	90. 0551, 202. 1066, 184. 0963, 98. 0237
68	377. 15. 8 1434 8		Riboflavin (维生素 B2) *	C ₁₇ H ₂₀ N ₄ O ₆	83-88-5	0. 96 5	243. 0868, 172. 0863, 198. 0663
69	136. 0614	2. 31	Adenine (腺嘌呤) *	C ₆ H ₅ N ₃ O	73-24-5	0. 99 9	119. 0351
70	152. 0565	2. 34	Guanine (鸟嘌呤) *	C ₅ H ₅ N ₅ O	73-40-5	0. 95 0	110. 0347, 135. 0296
71	298. 0957	10. 9 0	5'-Methylthioadenosine (5-脱氧-5-甲硫腺苷)	C ₁₁ H ₁₅ N ₅ O ₃ S	2457- 80-9	0. 99 8	136. 0613, 61. 0112, 75. 0266
72	190. 0491	11. 6 1	Kynurenic acid (犬尿喹啉酸)	C ₁₀ H ₇ NO ₃	492-27- 3	0. 98 8	162. 0542, 190. 049, 116. 0492, 89. 0385

(标注“a”的化合物为 [M+NH₄]⁺, 其余化合物均为 [M+H]⁺; *: 经标准品确证。)

a: Except for the compound detected as [M+NH₄]⁺ (marked with a), all compounds were detected as adduct ion [M+H]⁺. *: verified by reference standards

2.3 不同品种金银花叶片的多元统计分析

为阐明在相同的生长环境和农艺措施下不同品种金银花叶片中代谢物组成差异潜在科学内涵, 本研究基于鉴定的 72 种代谢物进行多元统计分析, 结果如图 4 所示。层次聚类分析 (Hierarchical clustering analysis, HCA) 是一种基于样本间相似性或距离关系的无监督分析方法, 可根据代谢特征差异对样本进行层次聚类, 从而揭示样本的整体分布趋势。HCA 分析表明 (图 4a), 6 个品种金银花能够

明显区分,并聚为两大类,其中V5、V6、V3、V2聚为一类,V4和V1聚为另一类。综合分析发现,聚类结果与品种来源具有一定相关性。V1为山东平邑金银花株系,由道地金银花品种“大毛花”芽变选育而来;V2来源于河南封丘地区;V3、V4均来源于陕西金银花株系,其中V3由秦岭北麓野生金银花中优良单株无性繁育获得,V4由“北花1号”(V1)芽变选育而来。V5和V6是近年新培育的金银花品种,均来源于河南新密金银花株系。不同地理来源及遗传背景可能导致其代谢组成产生差异。

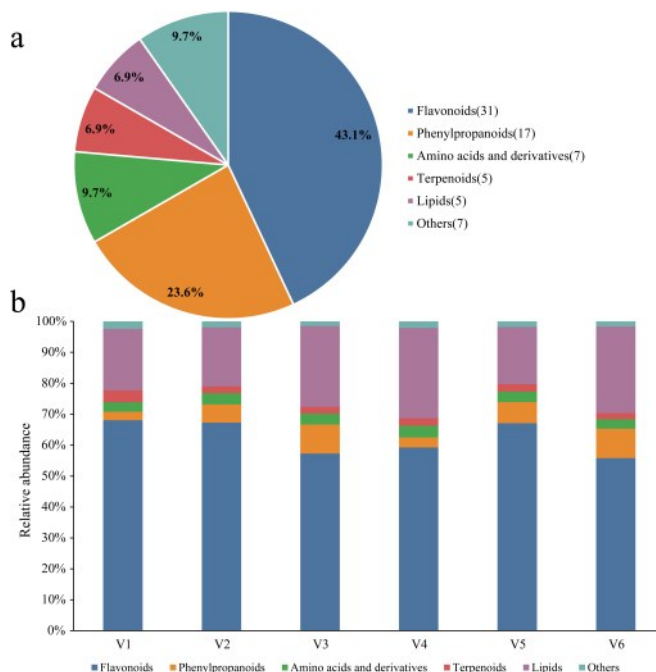


图3 不同品种金银花叶片中代谢物分类及相对丰度。a. 各类代谢物的数量及占比; b. 不同品种金银花叶片中各类代谢物的相对丰度

Fig. 3 Classification and relative abundance of metabolites in leaves from different *L. japonica* Thunb. cultivars.

a. Number and proportion of metabolite classes; b. Relative abundance of different metabolite classes in leaves from different *L. japonica* Thunb. cultivars.

主成分分析 (Principal component analysis, PCA) 是一种无监督多元统计分析方法,通过对高维代谢数据进行降维处理,将样本投影至由主成分构成的低维空间,以反映样本间整体代谢特征的差异。不同品种金银花叶片样本PCA分析结果如图4b所示,QC样本均聚集于中心区域,表明实验过程稳定,数据具有良好的重复性和可靠性。前两个主成分PC1和PC2分别解释了总方差的29.1%和23.7%,累计贡献率达到52.8%,能够较好地反映样本间的整体代谢特征变化。不同品种样本在PCA空间中分别聚集成独立的类群,其中V2与V3、V5与V6距离较近,表现出较高相似性;而V1与V4则相对独立,说明不同品种间存在不同程度的代谢组成差异。

为进一步评价不同品种金银花叶片代谢特征的差异及样本分类能力,采用偏最小二乘-判别分析 (Partial least squares-discriminant analysis, PLS-DA) 进行有监督模式识别分析。PLS-DA通过结合样本类别信息建立判别模型,筛选对组间差异贡献较大的变量,从而实现样本分类及代谢特征差异分析。如图4c所示,PLS-DA分析结果与PCA分析趋势一致,不同品种样本呈现出清晰的聚类与明显的分离趋势,且同一品种的生物重复样本聚集紧密,表明模型具有良好的分类能力和稳定性。PLS-DA模型中自变量拟合指数 R^2X 、因变量拟合指数 R^2Y 和交叉验证预测指数 Q^2 值分别为0.942、0.846和0.768,说明模型具有较好的拟合能力和预测性能。进行200次置换检验及异常值诊断分析后,未发现模型过拟合及明显离群样本,表明不同品种间代谢差异分析结果稳健可靠。

为直观揭示不同品种金银花叶片代谢物的积累模式,基于72种鉴定代谢物的相对丰度数据进行层次聚类热图分析(图4d)。结果显示,同一品种的生物重复样本聚集良好,不同品种呈现出明显不同的代谢物积累模式。72种代谢物依据相对丰度可聚为3个主要类别。Cluster I (30个) 主要由黄酮类、香豆素类、部分环烯醚萜及氨基酸类代谢物组成,在V1和V2中整体积累较高,而在V5和V6中相对较低; Cluster II (22个) 主要包括环烯醚萜、黄酮糖苷、脂质及部分维生素类代谢物,在V4中整

体丰度较高,并在V5中部分富集;Cluster III(20个)主要由绿原酸及异绿原酸类、槲皮素和异鼠李素糖苷等酚酸及黄酮类代谢物组成,在V6中显著富集,而在其余品种中含量相对较低,表明V6具有独特的代谢积累特征。总体来看,不同品种金银花叶片具有各自特征性的代谢物积累模式,与前述HCA、PCA和PLS-DA分析结果一致。

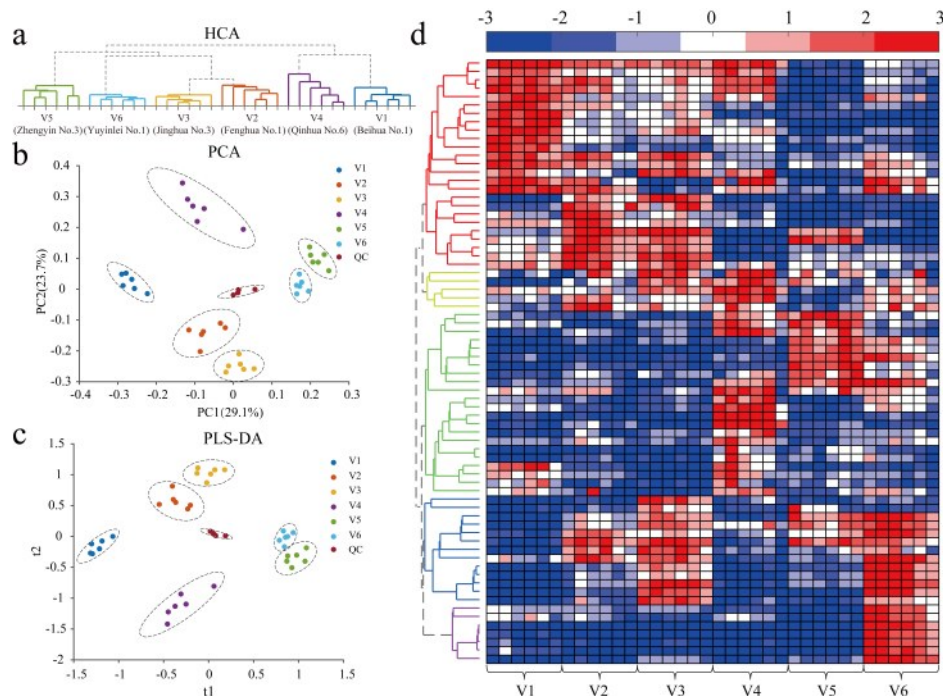


图4 不同品种金银花叶片的多元统计分析

Fig. 4 Multivariate statistical analysis of metabolites in leaves from different *Lonicera japonica* Thunb. cultivars. the compound number in heatmap analysis is referred to Table 2. (注: 热图分析中的化合物编号参见表2.)

2.4 金银花叶片关键代谢物的差异分析

基于PLS-DA模型的变量重要性投影值(Variable importance in projection, VIP)评价各代谢物对6个不同品种金银花叶片样本分类的贡献,以VIP>1为筛选标准,共获得17个对品种区分具有重要贡献的关键代谢物(表3)。其中,脂质类和黄酮类代谢物占据主要比例,表明脂质代谢及黄酮类次生代谢途径可能是不同品种金银花叶片代谢差异的重要因素。在筛选获得的关键代谢物中,LPC 18: 1、Cynaroside、LPC 18: 2、Puerarin和Diosmin的VIP值均大于2,表明这些代谢物对不同品种样本分类具有较高贡献。其中,LPC 18: 1和LPC 18: 2属于溶血磷脂类代谢物,其差异积累提示膜脂代谢变化可能参与不同品种金银花叶片代谢特征的形成。此外,多种黄酮类化合物(如Cynaroside、Puerarin、Diosmin、Luteolin、Rutin、Apigetrin和Isoquercetin等)表现出较高VIP值,说明黄酮类代谢物可能是影响不同品种金银花叶片特征差异的重要物质基础。值得关注的是,木犀草苷(Cynaroside, VIP=2.603)、绿原酸(Chlorogenic acid, VIP=1.995)、当药苷(Swerside, VIP=1.756)和异绿原酸A(Isochlorogenic acid A, VIP=1.001)等部分《中国药典》规定花蕾中的功能性成分同样表现出较高的区分贡献,提示其差异积累可能与不同品种金银花品质特征的形成密切相关。

鉴于豫银蕾1号(V6)为新培育品种、封花1号(V2)为河南封丘地区优势栽培品种,进一步比较了两品种叶片中主要功能成分的峰面积(图5)。结果表明,V6中绿原酸、异绿原酸A、异绿原酸B、异绿原酸C及(Z)-二聚断马钱苷烯醛的峰面积均显著高于V2,其中绿原酸、异绿原酸A和异绿原酸C为极显著。此外,当药苷和断氧化马钱苷在两品种间差异不显著,而木犀草苷则在V2中显著富集。

表3 基于PLS-DA筛选的不同品种金银花叶片关键代谢物

Table3 Key metabolites contributing to the discrimination of different *L. japonica* Thunb. cultivars based on PLS-DA analysis

Key metabolites 关键代谢物	Com ID* 化合物ID*	VIP value VIP值
LPC 18: 1	65	2.778
Cynaroside	11	2.603
LPC 18: 2	64	2.464
Puerarin	7	2.436
Diosmin	25	2.358
Chlorogenic acid	40	1.995
Sweroside	57	1.756
Luteolin	2	1.591
Rutin	26	1.556
Apigetrin	8	1.541
Isoquercetin	14	1.325
LPE 18: 2	62	1.298
Phenylalanine	53	1.231
6''-O-L-Arabinopyranosylastragalin	23	1.224
α -linolenic acid	61	1.079
Apigenin-6, 8-di-C-glucoside	24	1.024
Isochlorogenic acid A	44	1.001

* The Com ID in this table is referred to Table 2. (*本表中的 Com ID 参见表2。)

在比较主要功能成分差异的基础上, 为全面揭示 V6 与 V2 之间的代谢差异, 基于 72 种代谢物数据构建火山图 (图6)。以倍数变化 (Fold Change, FC) ≥ 2 或 ≤ 0.5 及显著性水平 $P < 0.05$ 为筛选标准, 共筛选出 18 种显著差异代谢物, 主要包括酚酸类、黄酮类及其他苯丙素类化合物。其中上调代谢物 12 种, 包括 5 种酚酸类化合物 (Chlorogenic acid、Cryptochlorogenic acid、Neochlorogenic acid、Isochlorogenic acid B 和 Isochlorogenic acid C) 和 7 种黄酮类化合物 (Astragalin、Isoquercetin、Cirsimarlin、Isorhamnetin-3-O-glucoside、Luteolin 7-O- (6''-malonylglucoside)、Quercetin-3-O- (6''-malonylglucoside) 和 Isorhamnetin-3, 7-di-O-glucoside); 下调代谢物 6 种, 包括 2 种苯丙素类化合物 (Methyl trans-cinnamic acid、Aesculetin) 和 4 种黄酮类化合物 (3', 7-Dimethoxy-3-hydroxyflavone、Taxifolin、Luteolin-4-glucoside 和 Rutin)。其中, 显著上调和下调代谢物分别表示在 V6 和 V2 中相对积累的代谢物。结果表明, 两个品种的差异并非仅体现在酚类物质积累水平的高低, 而是表现为不同类型酚类化合物的选择性积累。V6 主要富集咖啡酰奎宁酸类化合物, 包括绿原酸及其异构体, 表明其酚酸类代谢途径具有较强的积累优势; 而 V2 则富集木犀草苷、芦丁等黄酮糖苷类化合物。酚酸类和黄酮类化合物在植物抗氧化、防御响应及药理活性方面具有不同的生物学功能, 因此两品种可能形成了不同的酚类代谢特征和功能优势。

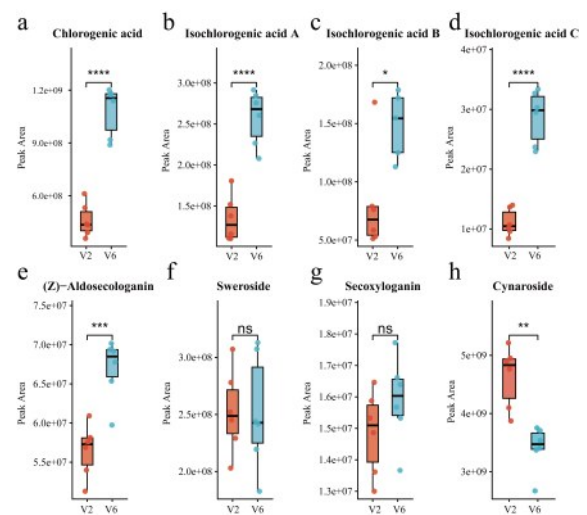


图5 封花1号 (V2) 和豫银蕾1号 (V6) 叶片中8种功能成分峰面积比较

Fig. 5 Comparison of peak areas of eight functional compounds in leaves from *L. japonica* Thunb. cultivars V2 and V6

Statistical significance is indicated as * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$, **** $P < 0.0001$; ns, not significant. (注: 显著性差异表示为: * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$, **** $P < 0.0001$; ns 表示差异不显著。)

3 结 论

本研究基于 UHPLC-Q-Orbitrap HRMS 结合 AntDAS 软件的非靶向代谢组学方法, 系统分析了 6 个品种金银花叶片的代谢物组成, 共鉴定出 72 种代谢物。不同品种金银花叶片呈现出明显的代谢特征差异, 6 个品种具有以黄酮类、苯丙素类和环烯醚萜类为主体的共同代谢基础, 但在不同类型代谢物的组成及积累水平方面存在明显差异, 表明不同品种叶片具有各自的优势代谢物特征, 并可能具有差异化的资源利用潜力。基于 PLS-DA 模型筛选获得 17 种对品种分类具有重要贡献的关键代谢物, 其中木犀草苷、绿原酸、当药苷、木犀草素、芦丁、异槲皮苷和异绿原酸 A 等已通过标准品确证, 可作为表征不同品种金银花叶片代谢特征的重要成分。进一步比较发现, 豫银蕾 1 号中绿原酸及异绿原酸 A、B、C 等咖啡酰奎宁酸类成分积累水平较高, 而封花 1 号中木犀草苷、芦丁等黄酮糖苷类成分相对富集, 进一步体现了不同品种具有较为明显的特征性成分优势。本研究揭示了不同品种金银花叶片的代谢组成差异及其特征性积累模式, 为金银花叶片的品种鉴别、品质评价、优势品种筛选及差异化资源利用提供了参考。

参考文献:

- [1] Chinese Pharmacopoeia Commission. *China pharmacopoeia: volume I*. Beijing: Chinese medical science and technology press (国家药典委员会. 中华人民共和国药典: 一部. 北京: 中国医药科技出版社), 2020.
- [2] He H Y, Meng P P, Yu B Y, Zhang H R. *J. Shaoguan Univ.* (何海燕, 孟盼盼, 于白音, 张红瑞. 韶关学院学报), 2023, 44 (3): 68-72.
- [3] Hao M C, Yao T, Liu E N, Wu R, Liu C F, Tian G H. *Chin. J. Pharm. Anal.* (郝梦超, 姚甜, 刘二奴, 吴睿, 刘存芳, 田光辉. 药物分析杂志), 2024, 44 (2): 195-213.
- [4] Zhu H, Chen J X, Wen L, Wang Z P, Jing F, Wang D J. *Shandong Sci.* (朱姮, 陈静娴, 文蕾, 王召平, 井凤, 王岱杰. 山东科学), 2016, 29 (6): 30-39.
- [5] Cui X S, Ma Z, Tian Q C, Gao X Q, Guo Y H. *North. Hort.* 崔旭盛, 马召, 田清存, 高秀强, 郭玉海. *北方园艺*, 2017, (21): 150-154.
- [6] Zhao Y Y, Yang Q R, Hao J B, Li W D. *China J. Chin. Mater. Med.* (赵媛媛, 杨倩茹, 郝江波, 李卫东. 中国中药杂志), 2016, 41 (13): 2422-2427.
- [7] Li J, Han Y Y. *Chin. Arch. Tradit. Chin. Med.* (李静, 韩燕雨. 中华中医药学刊), 2020, 38 (4): 43-50.
- [8] Fu X, Yin Y S, Zhong Y X, Yin H X. *Chem. Eng. Manage.* 付雪, 尹营松, 钟延霞, 殷海霞. *化工管理*, 2025, (21): 58-60.
- [9] Xu X B, Xu P, Si Z M, Miao R L, Zhang Y F, Chen L S, Fotina H, Li Y C. *Sci. Technol. Food Ind.* 徐小博, 徐萍, 司志敏, 苗瑞利, 张艳芳, 陈磊山, FOTINA Hanna, 李勇超. *食品工业科技*, 2024, 45 (19): 247-255.
- [10] Huang H Y, Geng Z Y, Li W D, Zang S G, Li Y. *China J. Chin. Mater. Med.* (黄厚钰, 耿泽宇, 李卫东, 张绍国, 刘勇. 中国中药杂志), 2022, 47 (16): 4341-4346.
- [11] Guo X Y, Wang Y W, Yu X, Yang R, Wang L N, Zhang F, Zhang Y Q. *China J. Chin. Mater. Med.* (国晓莹, 王雨伟, 于晓, 杨然, 王玲娜, 张芳, 张永清. 中国中药杂志), 2022, 47 (8): 2148-2157.
- [12] Zhao Q C, Guan R W, Zhang C B, Lu J X. *Chin. Tradit. Herb. Drugs.* (赵秋晨, 管仁伟, 张才波, 路俊仙. 中草药), 2025, 56 (17): 6370-6377.
- [13] Liu C H, Li H N, Wang Y Y, Ge W J, Zhang X X, He Y X, Zhou M. *Chin. J. Hosp. Pharm.* (刘长河, 李华妮, 王艳艳, 葛文静, 张雪侠, 何颖欣, 周敏. 中国医院药学杂志), 2021, 41 (13): 1313-1317.
- [14] Tong K, Shen G Q, Huang Y, Li J Y, Zeng F F, Yan M, Gan W Y, Li D. *Mod. Food Sci. Technol.* (童凯, 沈国强, 黄月, 李洁媛, 曾繁富, 闫蒙, 甘婉莹, 李东. 现代食品科技), 2021, 37 (3): 294-300.
- [15] Ma Y N, Li Z N, Wang T, Wang Z Y, Wei Y, Zhang H Y. *Jiangsu Agri. Sci.* (马艳妮, 李智宁, 王韬, 王志尧, 魏悦, 张海艳. 江苏农业科学), 2020, 48 (7): 226-229.
- [16] Lu J X, Lv L, Zhang C B. *J. Chin. Med. Mater.* (路俊仙, 吕凌, 张才波. 中药材), 2019, 42 (5): 1085-1089.
- [17] Tian W, Fan S S, Zhen Y Q, Feng Y, Chen Z, Niu L Y. *China J. Chin. Mater. Med.* (田伟, 范帅帅, 甄亚钦, 冯玉, 陈钟, 牛丽颖. 中国中药杂志), 2019, 44 (1): 100-105.
- [18] Wu D D, Wang Y Y, Lu Y L, Li X, Zhu J H, Liu X H, Zhao D B. *Chem. Res.* (吴丹丹, 王悠悠, 鲁义磊, 李杏,

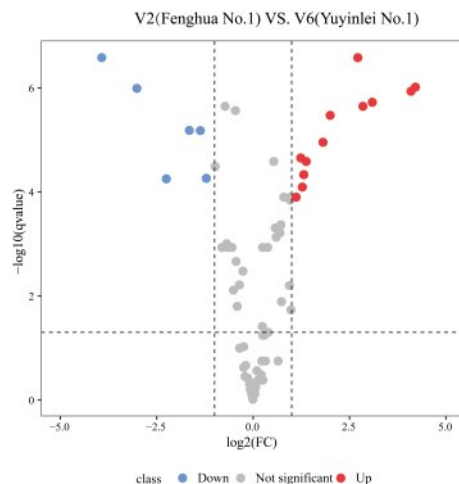


图6 豫银蕾1号(V6)与封花1号(V2) 72种代谢物差异分析火山图

Fig. 6 Volcano plot of the 72 identified metabolites between V6 and V2

- 朱金花, 刘绣华, 赵东保. 化学研究), **2018**, 29 (1): 30–36.
- [19] Wu Y Z, Wang G J, Hao H P. *J. China Pharm. Univ.* (吴昱铮, 王广基, 郝海平. 中国药科大学学报), **2014**, 45 (2): 129–135.
- [20] Xu T R, Liu X Y, Xu G W. *J. Instrum. Anal.* (徐天润, 刘心昱, 许国旺. 分析测试学报), **2020**, 39 (1): 10–18.
- [21] Sun X S, Lu X, Xu G W. *J. Chin. Mass Spectrom. Soc.* (孙晓珊, 路鑫, 许国旺. 质谱学报), **2021**, 42 (5): 787–803.
- [22] Li L L, Li Y, Lu H, Wang X. *J. Instrum. Anal.* (李丽丽, 李月, 卢恒, 王晓. 分析测试学报), **2020**, 39 (12): 1501–1507.
- [23] Li S F, Hao X F, Wang H Q, Guo X M, Feng S H, Yin H Y, Liu D M, Yu Y J. *Chin. J. Appl. Chem.* (李淑芳, 郝学飞, 王红旗, 郭晓萌, 冯书惠, 尹海燕, 刘冬梅, 于永杰. 应用化学), **2022**, 39 (5): 819–827.
- [24] Liu S P, Huang H Y, Wang X X, Hao J H, Li W D. *Food Sci.* (刘舒鹏, 黄厚钰, 王笑雪, 郝巨辉, 李卫东. 食品科学), **2024**, 45 (20): 1–11.
- [25] Chen L, Huang H, Zhao P J, Li Z E, Song Y, Fang C Q. *J. Instrum. Anal.* (陈林, 黄涵, 赵培敬, 李中娥, 宋颖, 方朝清. 分析测试学报), **2025**, 44 (4): 645–651.
- [26] Bai L, Zhou J J, Yu H H, Wang L H, Li S F, Liu W B, Fan Y L, Han L, Yu Y J. *Chem. Reagents.* (白莲, 周婕婕, 余海花, 王龙鹤, 李淑芳, 刘文斌, 樊亚玲, 韩璐, 于永杰. 化学试剂), **2026**, 48 (6): 1–10.
- [27] Wang X C, Zhang J N, Zhao J J, Guo X M, Li S F, Zheng Q X, Liu P P, Lu P, Fu H Y, Yu Y J, She Y B. *Anal. Chem.*, **2023**, 95: 638–649.

(责任编辑: 丁 岩)