网络出版时间:2026-02-04 DOI:10.13207/j.jnwafu.2026.08.010

基于广泛靶向代谢组学的苦楝嫩叶和成熟叶次生代谢物差异解析

孙永康[1],王汗鑫[1],高亚娇[1],张超超[1],张东[2],陈仲[1]

(1 北京林业大学 林学院,林木资源高效生产全国重点实验室,国家能源非粮生物质原料研发中心,省部共建森林培育与保护教育部重点实验室,北京 100083;2 北京林业大学 生态与自然保护学院,北京 100083)

[摘 要] 【目的】探究苦楝嫩叶与成熟叶中次生代谢物种类及含量的差异,为苦楝叶片资源的精细化开发与利用提供理论依据。【方法】以苦楝嫩叶和成熟叶为试验材料,采用超高效液相色谱-串联质谱(UPLC-MS/MS)联用技术进行代谢物分析。通过自建数据库MVDB和公共代谢信息数据库,对嫩叶和成熟叶的差异代谢物进行主成分分析(PCA)、正交偏最小二乘判别分析(OPLS-DA)及聚类分析。基于京都基因与基因组百科全书(Kyoto encyclopedia of genes and genomes,KEGG)数据库对差异代谢物代谢途径进行注释,并筛选显著差异代谢物。【结果】在苦楝嫩叶和成熟叶中,共检测到1 329种差异代谢物,包括萜类、黄酮、氨基酸及其衍生物、酚酸类、生物碱、脂质、木脂素与香豆素、有机酸、核苷酸及其衍生物、鞣质、甾体、醌类等13类物质,其中萜类、黄酮和氨基酸及其衍生物3类次生代谢物占比较高,分别为30.02%,13.09%和13.09%。萜类物质是苦楝叶片中主要的次生代谢物成分,其也是重要的药理活性物质。代谢组学分析表明,成熟叶与嫩叶中存在615种上调差异代谢物和714种下调差异代谢物。KEGG富集分析显示,在苦楝嫩叶和成熟叶中差异代谢物主要参与核苷酸代谢、多种植物次生代谢物生物合成、硫代葡萄糖苷生物合成、色氨酸代谢及代谢途径等合成途径。【结论】苦楝嫩叶和成熟叶中的代谢物种类差异较小,但含量差异明显,且嫩叶中具有抗虫活性的萜类物质含量明显高于成熟叶。

[关键词] 苦楝;叶片;广泛靶向代谢组学;KEGG富集分析;差异代谢物

[中图分类号] S792.33 [文献标志码] A [文章编号] 1671-9387(2026)08-0093-09

Differential analysis of secondary metabolites between young and mature leaves of *Melia azedarach* based on widely targeted metabolomics

SUN Yongkang[1],WANG Hanxin[1],GAO Yajiao[1],ZHANG Chaochao[1],ZHANG Dong[2],CHEN Zhong[1]

(1 *College of Forestry,State Key Laboratory for Efficient Production of Forest Resources,Key Laboratory of Silviculture and Conservation of the Ministry of Education,National Energy R&D Center for Non-Food Biomass,Beijing Forestry University,Beijing* 100083,*China*;2 *School of Ecology and Nature Conservation,Beijing Forestry University,Beijing* 100083,*China*)

Abstract:【Objective】This research aims to explore the differences in the types and contents of secondary metabolites between young leaves and mature leaves of *Melia azedarach*,to provide a theoretical basis for the refined development and utilization of *M. azedarach* leaf resources.【Method】Young and mature leaves of *M. azedarach* were used as experimental materials,and ultra-high performance liquid chromatography-tandem mass

[收稿日期] 2025-06-08 [修回日期] 2025-07-28
[基金项目] 北京林业大学"5·5工程"科研创新团队项目(BLRC2023C02);国家林业和草原局委托项目(STS2024100096)
[作者简介] 孙永康(2000—),男,山西吕梁人,硕士,主要从事苦楝次生代谢研究。E-mail:sunyongkangsa@163.com
[通信作者] 陈仲(1989—),男,天津人,教授,博士生导师,主要从事林木栽培生理和功能基因组学研究。E-mail:zhongchen@bjfu.edu.cn

spectrometry (UPLC-MS/MS) was employed for metabolite analysis. Principal component analysis (PCA), orthogonal partial least squares discriminant analysis (OPLS-DA) and cluster analysis were performed on the differential metabolites between young and mature leaves by using the self-built database MVDB and public metabolic information databases. Based on the Kyoto encyclopedia of genes and genomes (KEGG) database, the metabolic pathways of differential metabolites were annotated, and significantly differential metabolites were screened out.【Result】A total of 1 329 differential metabolites were detected in the young and mature leaves of *M. azedarach*, which were classified into 13 categories, including terpenoids, flavonoids, amino acids and their derivatives, phenolic acids, alkaloids, lipids, lignans and coumarins, organic acids, nucleotides and their derivatives, tannins, steroids, and quinones. Among them, three categories of secondary metabolites-terpenoids, flavonoids, and amino acids and their derivatives accounted for relatively high proportions, representing 30.02%, 13.09%, and 13.09%, respectively. Terpenoids were the main secondary metabolites in *M. azedarach* leaves and also served as important pharmacologically active substances. Metabolomics analysis showed that there were 615 up-regulated differential metabolites and 714 down-regulated differential metabolites between mature leaves and young leaves. KEGG enrichment analysis revealed that the differential metabolites in young and mature leaves of *M. azedarach* were mainly involved in synthetic pathways such as nucleotide metabolism, biosynthesis of various plant secondary metabolites, glucosinolate biosynthesis, tryptophan metabolism, and metabolic pathways.【Conclusion】Only little difference is observed in the types of metabolites in young and mature leaves of *M. azedarach*, but their contents vary significantly. Moreover, the content of terpenoids with insect-resistant activity in young leaves is significantly higher than that in mature leaves.

Key words: *Melia azedarach*; leaves; broadly targeted metabolomics; KEGG enrichment analysis; differential metabolites

苦楝(*Melia azedarach* L.),又名楝树、紫花树、森树等,是楝科楝属落叶乔木,广泛分布于我国黄河以南各省区[1]。该植物环境适应力强,对土壤要求不高,常生于旷野或路旁,也适合作为造林树种[2]。苦楝不仅可做材用植物,亦可用作药物,其花、果实以及根皮均可入药,主要有驱虫解毒之功效。目前,苦楝主要在驱虫制剂、生物农药以及优质木材等领域应用广泛[3]。相关文献表明,苦楝中富含柠檬苦素类[4]、三萜类[5]、甾体类[6]、黄酮类[7]等多种次生代谢产物,并且这些次生代谢产物具有许多生物活性,如抗氧化[8]、抗病毒、抑制昆虫取食[9]、抗糖尿病[10]、抗真菌[11]、抗肿瘤细胞活性[12]等,研究其次生代谢物成分对于苦楝资源利用具有重要的理论和实践意义。2023年,CUI等[3]首次破译了印楝和苦楝全基因组密码,不仅明确了楝科植物的系统发育关系,还揭示了其木材发育的分子机制和柠檬苦素的生物合成机制。2025年,LIU等[13]将印楝和苦楝的基因组组装提升到端粒至端粒(T2T)水平,这不仅为解析印楝与苦楝的物种分化机制、揭示楝科植物川楝素的生物合成途径及化学多样性成因提供了全新视角,更为通过基因编辑等技术定向改良苦楝活性成分奠定了分子基础。另外,苦楝也是我国重要珍稀濒危野生动物林麝(*Moschus berezovskii*)的喜食植物之一,林麝在动物营养类型上属于典型的精饲动物,偏好植物嫩枝、嫩叶,对其食源植物苦楝进行深入研究,系统分析嫩叶与成熟叶中营养物质和次生代谢物的差异,可为林麝栖息地食物资源管理、人工驯养饲料优化及种群保护提供一定科学依据。

广泛靶向代谢组学作为一种高通量分析技术,相较于靶向代谢组学,该方法具有更高的通量,并且可以更准确地识别和定量代谢物[14],能够实现对样品中数千种外源化学物质和代谢物的精准检测,在新型化合物的发现与鉴定方面具有显著优势[15]。近年来,这一技术已成功应用于食品科学[16]、临床医学[17]、植物学[18]等多个生命科学领域,为新化合物的开发与利用提供了可靠的研究平台。

目前,苦楝次生代谢物的研究主要集中在根、树皮和果实等组织或器官,而叶片是次生代谢物提取的最广泛原料和林麝饲料的重要来源,目前关于苦楝叶片中次生代谢物种类和积累规律的研究尚鲜有报道。本研究利用广泛靶向代谢组学技术对苦楝叶片不同发育时期次生代谢产物进行比较分析,揭示其次生代谢产物的动态变化规律,以期为

苦楝叶片次生代谢产物的提取、利用和开发奠定理论基础，并为林麝饲料的筛选提供参考和科学依据。

1　材料与方法

1.1　试验材料

供试的苦楝叶片分别于2024年4月（嫩叶期）、9月（成熟期）取自北京林业大学苗圃。具体方法为：挑选3株生长健壮且无病虫害的苦楝无性系的新鲜叶片，放入50 mL离心管中，置于液氮干燥冷冻后，放入－80 ℃冰箱保存。嫩叶期叶片（嫩叶）样品分别编号为YS-1、YS-2、YS-3，成熟期叶片（成熟叶）样品分别编号为MS-1、MS-2、MS-3。

1.2　试验方法

1.2.1　*代谢物提取*　将采摘的叶片放置于冻干机中真空冷冻干燥63 h，利用研磨仪研磨至粉末状，用电子天平称取50 mg样品，加入1 200 μL于－20 ℃预冷的体积分数70%甲醇水内标提取液，每30 min涡旋1次，每次持续30 s，共涡旋6次；离心（12 000 r/min 3 min）后吸取上清液，用微孔滤膜（0.22 μm）过滤样并保存于进样瓶中，用于超高效液相色谱（ultra performance liquid chromatography，UPLC，ExionLC™ AD，https://sciex.com.cn/）和串联质谱（tandem mass spectrometry，MS/MS）分析。

1.2.2　*代谢物检测*　（1）UPLC检测条件。色谱柱：Agilent SB-C18 1.8 μm，2.1 mm×100 mm；流动相：A相为超纯水（加入体积分数0.1%甲酸），B相为乙腈（加入体积分数0.1%甲酸）；洗脱梯度：0.00 min B相比例为5%，9.00 min内B相比例线性增加到95%，并维持1 min；10.00～11.10 min，B相比例降为5%，并平衡至14 min；流速0.35 mL/min，柱温40 ℃，进样量2 μL。

（2）MS/MS检测条件。电喷雾离子源ESI温度500 ℃；离子喷雾电压（IS）5 500 V（正离子模式）/－4 500 V（负离子模式）；离子源气体Ⅰ（GSⅠ）、气体Ⅱ（GSⅡ）和气帘气（CUR）分别设置为344.50，413.40，172.35 kPa，碰撞诱导电离参数设置为高。QQQ扫描使用MRM模式，并将碰撞气体（氮气）设置为中等。为了监测样本在质谱分析过程中的重复性，在每10个检测分析样本中，插入1个由YS和MS样本混合而成的质控样本（QC）。

1.2.3　*数据处理与分析*　基于自建数据库MVDB以及代谢物数据公共库（http://www.kegg.jp/kegg/compound/），利用软件Analyst 1.6.3处理质谱数据。用R软件（www.r-project.org/）的内置统计prcomp函数进行主成分分析（PCA），通过对原始数据进行$\log_2$转换和中心化处理，最后利用R软件中的MetaboAnalystR包OPLSR.Anal函数进行正交偏最小二乘法判别分析（OPLS-DA）分析。基于OPLS-DA模型得到变量重要性投影（variable importance in projection，VIP），使用迈维云平台（https://www.metware.cn/）软件计算获得差异倍数（fold change，F_c），以$|\log_2 F_c| \geqslant 1$、VIP＞1且$P<0.05$作为筛选标准，筛选差异代谢物。采用京都基因与基因组百科全书（Kyoto encyclopedia of genes and genomes，KEGG）数据库，对筛选得到的差异代谢物进行富集通路分析，并通过P值判定其显著性；对代谢物在不同样本间的积累模式进行层次聚类分析（hierarchical cluster analysis，HCA）。使用Excel 2021进行数据统计，通过R软件的Complex Heatmap包绘图。

2　结果与分析

2.1　苦楝嫩叶和成熟叶代谢物数据的主成分分析和正交偏最小二乘法判别分析

苦楝嫩叶（YS）和成熟叶（MS）外部形态见图1。



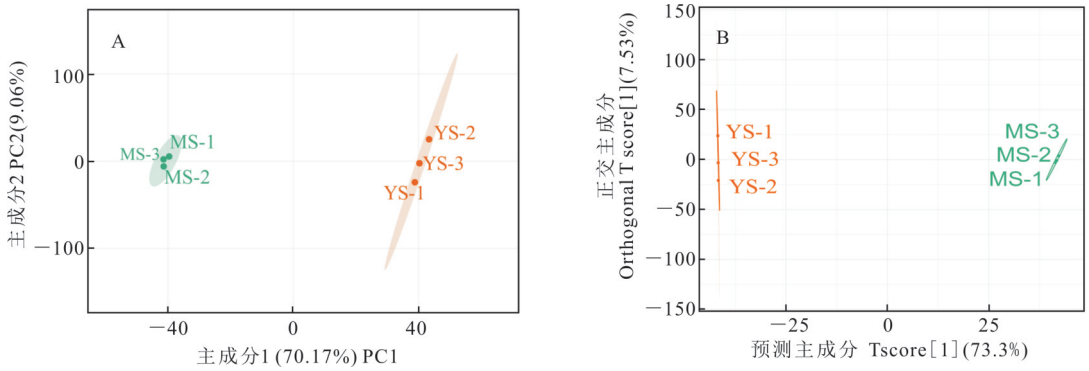
YS为嫩叶，MS为成熟叶；标尺为3.5 cm
YS represents young leaves，MS represents mature leaves；and the scale bar is 3.5 cm.

图1　苦楝的嫩叶和成熟叶

Fig. 1　Young leaves and mature leaves of *Melia azedarach*

对嫩叶和成熟叶代谢物数据进行主成分分析，结果（图2-A）表明，第一主成分（PC1）的贡献率为70.17%，能够清晰地区分2个时期的样本组，这表明嫩叶和成熟叶中的代谢产物存在显著差异；第二主成分（PC2）的贡献率为9.06%，样本间重复的聚类程度较高，说明各组内的3个生物学重复之间差异较小，组内变异度较低，进一步证实了数据的可靠性，可支持后续分析。为进一步验证样本分类的准确性，构建了正交偏最小二乘法判别分析（OPLS-DA）模型，结果显示，成熟叶样本均分布在

置信区间的右侧,嫩叶样本则集中分布在左侧,两者在得分图上呈现出明显的空间分离(图 2-B)。这表明 OPLS-DA 模型能够有效区分苦楝嫩叶和成熟叶样本,为后续差异代谢物的筛选奠定了可靠的数据基础。



YS-1、YS-2、YS-3 均为嫩叶样品,MS-1、MS-2、MS-3 均为成熟叶样品。

YS-1, YS-2, and YS-3 are all young leaf samples, while MS-1, MS-2, and MS-3 are all mature leaf samples.

图 2 苦楝嫩叶和成熟叶代谢物数据的主成分分析(A)和正交偏最小二乘法判别分析(B)

Fig. 2 Principal component analysis (A) and orthogonal partial least squares discriminant analysis (B) of metabolite data of young and mature leaves of *Melia azedarach*

2.2 苦楝嫩叶和成熟叶代谢物组成总体分析

基于 UPLC-MS/MS 平台及 MWDB 数据库,本研究共检测出 2 852 种次生代谢物,其中差异代谢物达 1 329 种。差异代谢物中,萜类有 399 种,占比最高,为 30.02%;黄酮 174 种,占比为 13.09%;氨基酸及其衍生物 174 种,占比为 13.09%;其他类物质 137 种,占比为 10.31%;酚酸类物质 134 种,占比为 10.08%;生物碱类物质 114 种,占比为 8.58%;木脂素和香豆素 55 种,占比为 4.14%;脂质类物质 48 种,占比为 3.61%;核苷酸及其衍生物 38 种,占比为 2.86%;有机酸 36 种,占比为 2.71%;鞣质 8 种,占比为 0.60%;甾体 7 种,占比为 0.53%;醌类 5 种,占比为 0.38%(表 1)。总体而言,萜类、黄酮、氨基酸及其衍生物是占比较高的三类次生代谢物,并且在嫩叶和成熟叶中次生代谢物的种类基本保持不变。同时,萜类、黄酮以及氨基酸及其衍生物物质在嫩叶期和成熟期均维持着较高含量,且多数物质在嫩叶中的含量高于成熟叶。

表 1 苦楝嫩叶和成熟叶中差异代谢物表达情况及相对含量

Table 1 Expression and relative content of differential metabolites in young and mature leaves of *Melia azedarach*

物质 Substance	上调 Up	下调 Down	总数 Total	占比% Percent	嫩叶相对含量 Relative content of young leaves	成熟叶相对含量 Relative content of mature leaves
萜类 Terpenoids	173	226	399	30.02	941 380 629.2 a	517 043 944.7 b
黄酮 Flavonoids	53	121	174	13.09	1 042 481 555.0 a	349 263 177.7 b
氨基酸及其衍生物 Amino acids and derivatives	65	109	174	13.09	1 191 970 105.0 a	614 398 879.0 b
其他类 Others	98	39	137	10.31	429 230 685.1 a	408 333 991.4 a
酚酸类 Phenolic acids	80	54	134	10.08	320 582 200.3 b	352 680 717.6 a
生物碱 Alkaloids	63	51	114	8.58	481 346 708.3 a	459 608 917.4 a
木脂素和香豆素 Lignans and Coumarins	44	11	55	4.41	94 356 391.5 b	137 840 290.1 a
脂质 Lipids	7	41	48	3.61	196 410 983.4 a	65 085 651.4 b
核苷酸及其衍生物 Nucleotides and derivatives	4	34	38	2.86	372 881 119.2 a	45 408 443.8 b
有机酸 Organic acids	16	20	36	2.71	273 453 967.1 a	113 956 131.5 b
鞣质 Tannins	5	3	8	0.60	36 805 875.4 a	3 390 915.5 b
甾体 Steroids	5	2	7	0.53	6 471 097.9 a	4 352 556.6 b
醌类 Quinones	2	3	5	0.38	19 709 168.3 b	6 831 559.2 a
总计 Total	615	714	1 329	100.00	5 407 080 485.0	30 781 95176.0

注:同行数据后标不同小写字母表示苦楝嫩叶与成熟叶之间差异显著($P<0.05$)。

Note: Different lowercase letters in the same row indicate significant difference between young leaves and mature leaves of *Melia azedarach* ($P<0.05$).

2.3　苦楝嫩叶和成熟叶差异代谢物分析

代谢组学分析结果（表 1）表明，在苦楝成熟叶与嫩叶样本中共检测到 1 329 种差异代谢产物，成熟叶与嫩叶相比，其中上调代谢物有 615 个，下调代谢物有 714 个，且下调代谢物占比略高。表 1 和图 3 显示，叶片中占比较大的萜类、氨基酸及其衍生物、黄酮等次生代谢物含量在嫩叶和成熟叶间差异显著，并且在成熟叶中含量较低，而在嫩叶中含量较高；酚酸类、木脂素和香豆素类物质的含量则相反，呈现出明显的叶片发育阶段特异性分布特征。

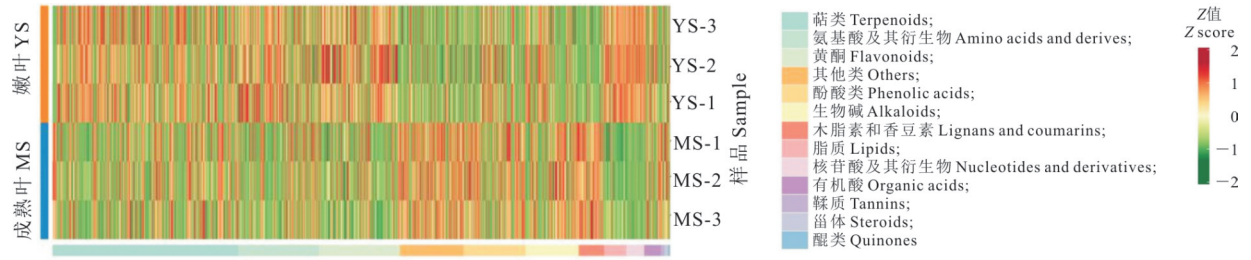


图 3　苦楝嫩叶和成熟叶差异代谢物聚类热图

Fig. 3　Clustering heatmap of differential metabolites between young leaves and mature leaves of *Melia azedarach*

2.4　苦楝嫩叶与成熟叶萜类代谢物差异分析

本研究表明，萜类代谢物作为苦楝的主要次生代谢产物，在叶片发育进程中变化明显。对比苦楝嫩叶与成熟叶的差异萜类代谢物后发现，三萜类物质在萜类代谢物中比例最高达 68.92%；其次是单萜和倍半萜，占比分别为 13.28% 和 10.53%；二萜、其他萜类和三萜皂苷占比较少，分别为 5.01%，1.25% 和 1%。此外，对苦楝主要萜类驱虫活性物质的定量分析结果（表 2）表明，多数驱虫活性物质在成熟叶中的含量明显低于嫩叶。

表 2　苦楝嫩叶和成熟叶中主要萜类驱虫活性物质对比

Table 2　Comparison of main terpenoid insect-repellent active substances in young leaves and mature leaves of *Melia azedarach*

成分 Component	分子式 Molecular formula	分子量 Molecular weight	成熟叶与嫩叶相对含量的比值 The ratio of the relative content in mature leaves to that in young leaves	变化趋势 Change trend
川楝素 Toosendanin	$C_{30}H_{38}O_{11}$	574.241 4	2.32	上调 Up
苦楝萜酮内酯 Kulactone	$C_{30}H_{44}O_3$	452.329 0	6.38	上调 Up
Trichilin C	$C_{35}H_{46}O_{13}$	674.293 8	28.68	上调 Up
南岭楝酮 B Dubione B	$C_{30}H_{44}O_4$	468.324 0	2.72	上调 Up
苦楝萜醇内酯 Kulolactone	$C_{30}H_{46}O_3$	454.344 7	0.16	下调 Down
苦楝子酮内酯 Melianone lactone	$C_{30}H_{44}O_4$	468.324 0	0.07	下调 Down
仙醇内酯 Sendanolactone	$C_{30}H_{42}O_4$	466.308 0	0.13	下调 Down
苦楝子酮 Melianone	$C_{30}H_{46}O_4$	470.339 6	0.14	下调 Down
印楝醛 Ohchinal	$C_{35}H_{40}O_8$	588.272 3	0.06	下调 Down
Ohchinolide（A、C）	$C_{37}H_{42}O_{10}$	652.324 7	0.03	下调 Down

2.5　苦楝叶片成熟过程中的差异代谢物富集分析和聚类分析

基于 KEGG 数据库对苦楝嫩叶与成熟叶样本的差异代谢物通路进行分析，结果显示主要富集在 20 个代谢途径（图 4）。随后，以 $P<0.05$ 进行 KEGG 路径差异富集分析，筛选出 7 个不同的显著差异代谢途径，包括代谢途径、硫代葡萄糖苷生物合成、色氨酸代谢、多种植物次生代谢产物的生物合成、核苷酸代谢以及苯丙氨酸、酪氨酸和色氨酸的生物合成与嘌呤代谢。本研究从中筛选了 4 条显著富集的代谢通路，对其差异代谢物表达模式进行了聚类分析，结果显示：（1）在色氨酸代谢通路中，大部分生物碱类物质在成熟叶中特异性积累，酚酸类物质和氨基酸及其衍生物则表现出相反的积累趋势（图 5-A）。（2）在硫代葡萄糖苷生物合成通路中，只有氨基酸及其衍生物存在，且大部分氨基酸物质均在嫩叶中特异性积累（图 5-B）。（3）在多种植物次生代谢产物的生物合成通路中，氨基酸及其衍生物、生物碱、酚酸、有机酸及其他类物质均在成熟叶中特异性积累，只有木脂素和香豆素类物质在嫩叶中特异性积累（图 6-A）。（4）在核苷酸代谢通路中，大部分核苷酸及其衍生物、氨基酸及其衍生物均在嫩叶中特异性积累，只有脱氧腺苷-磷酸表现出相反的积累趋势（图 6-B）。

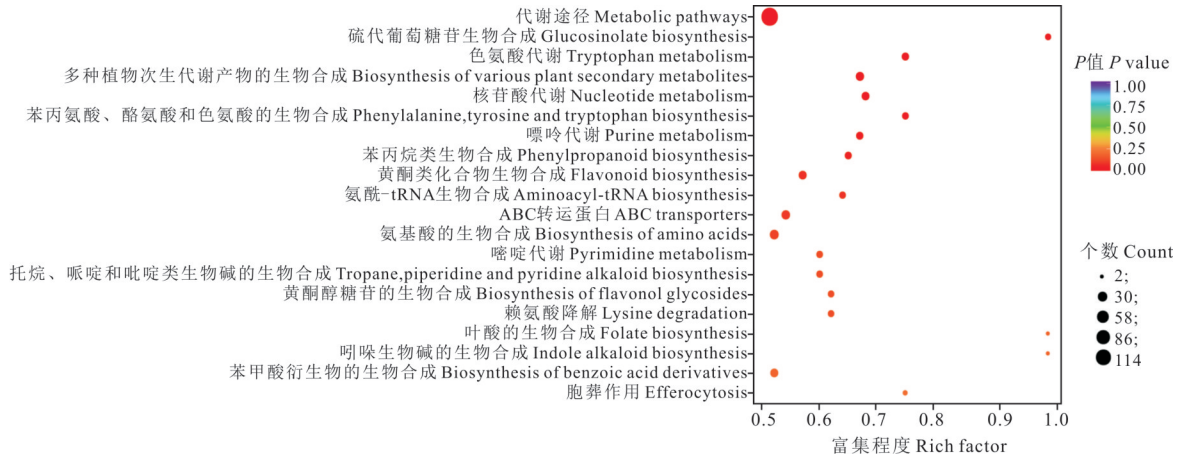


图 4 苦楝嫩叶和成熟叶差异代谢物通路分析

Fig. 4 Pathway analysis of differential metabolites between young leaves and mature leaves of *Melia azedarach*

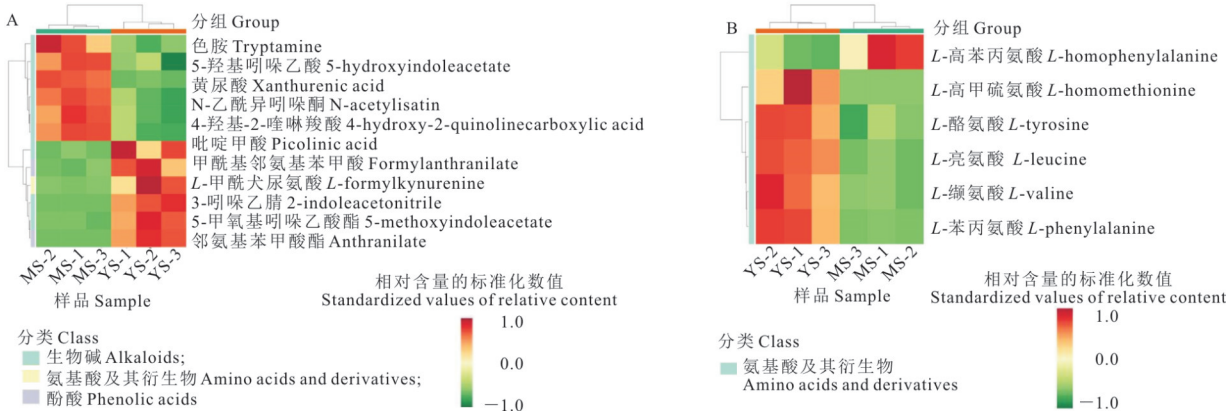


图 5 苦楝嫩叶和成熟叶中色氨酸代谢通路(A)与硫代葡萄糖苷生物合成通路(B)中差异代谢物的表达模式聚类热图

Fig. 5 Clustering heatmap of the expression patterns of differential metabolites in the tryptophan metabolic pathway (A) and the glucosinolate biosynthesis pathway (B) in young and mature leaves of *Melia azedarach*

3 讨 论

3.1 苦楝叶不同生长阶段萜类化合物的变化

萜类作为关键次生代谢产物,不仅具有抗肿瘤与驱虫等活性,还在植物体内可以作为化感物质和抗氧化物质参与调控植物体内一系列生理过程,对植物抵抗逆境胁迫起到了关键作用[19]。张新月等[1]和赵豹等[20]发现三萜类化合物为苦楝的主要活性成分之一,这与本研究结果一致。本研究发现,在苦楝叶片生长过程中,萜类化合物数量基本维持不变,但总含量整体呈下降趋势。刘晶晶等[21]对不同发育阶段茶树的鲜叶和花进行了代谢组与转录组分析,发现茶树叶片中萜类化合物含量受发育阶段影响,表现为嫩叶含量高、老叶含量低,且相关萜类合成酶基因在嫩叶中的表达量远高于成熟叶。这与本研究结论一致,印证了植物嫩叶中萜类物质富集的普遍规律。另外,本研究还发现,苦楝叶片中含有苦楝子酮内酯、苦楝萜醇内酯等多种驱虫活性物质,在嫩叶中其含量较高,这些物质可通过干扰寄生虫的神经传导及抑制其代谢活动,显著降低林麝肠道寄生虫感染率,有效改善林麝消化功能与营养吸收,进而促进林麝的健康生长与繁殖。值得注意的是,前人研究多聚焦于苦楝果实与树皮等部位[20],关于苦楝叶片的研究较少,而苦楝嫩叶是林麝饲料的重要来源,本研究则拓宽了苦楝次生代谢物的来源范围,为苦楝资源的开发利用提供了新的研究方向。

3.2 苦楝叶不同生长阶段黄酮类化合物的变化

黄酮类化合物不仅参与植物的防御机制和授粉活动,还在调节植物生长发育、参与细胞信号转导以及影响酶活性等生理过程中发挥着关键作用。研究表明,黄酮类化合物在苦楝的不同器官中存在显著差异,从苦楝叶和果实中提取获得的总黄酮含量较高[22]。本研究中,黄酮类化合物含量在苦楝叶片生长过程中呈下降趋势。李辛雷等[23]对崇左金花茶的老叶与新叶中类黄酮成分及含量进行定性

与定量分析，结果显示，叶片类黄酮含量远低于花朵，且老叶显著低于新叶；YANG 等[24]对中华红叶杨及其绿叶亲本不同发育阶段的代谢组与转录组检测发现，中华红叶在幼嫩阶段的黄酮类物质（尤其是花青素）积累量显著高于绿叶亲本，这与结构基因及转录因子的高表达相关。上述研究与本研究结果类似，均表明黄酮类化合物在苦楝嫩叶中的含量高于成熟叶。

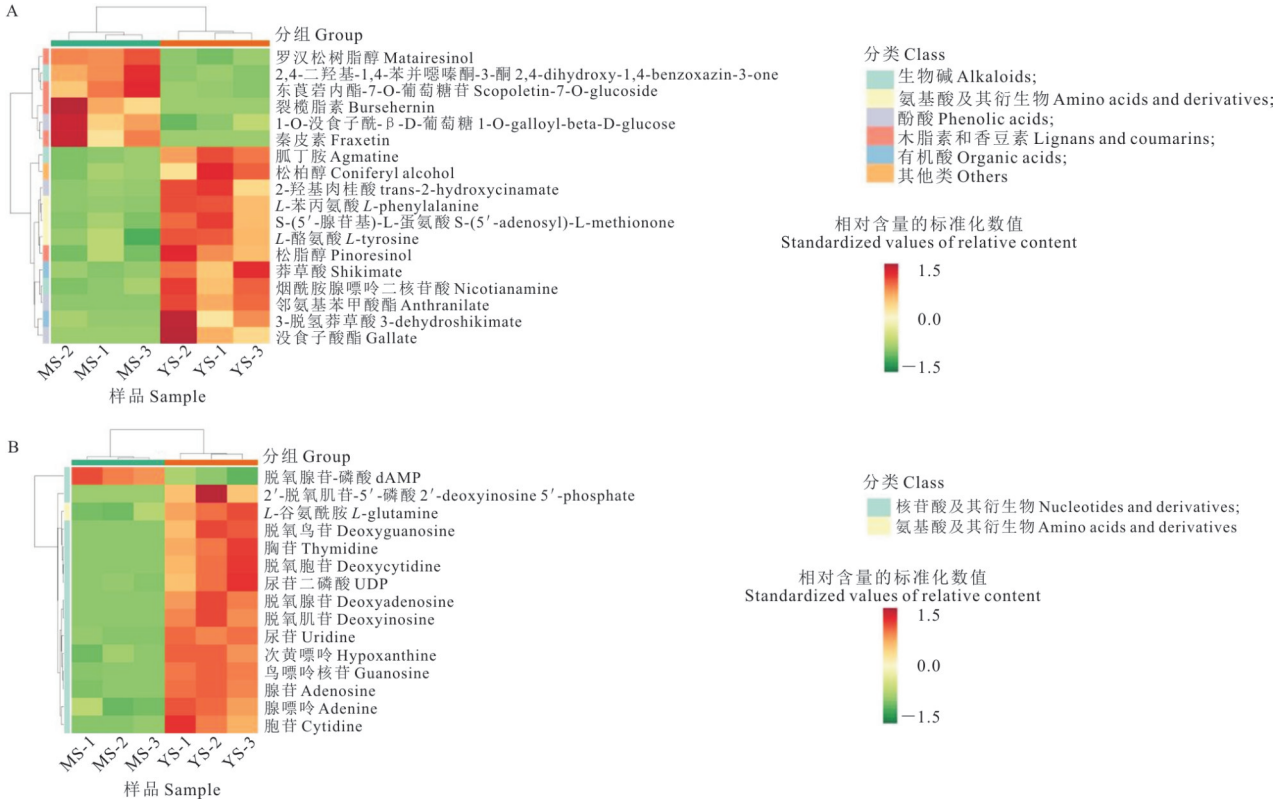


图 6　苦楝嫩叶和成熟叶中多种植物次生代谢产物的生物合成通路（A）与核苷酸代谢通路（B）中差异代谢物的表达模式聚类热图

Fig. 6　Clustering heatmap of the expression patterns of differential metabolites in the synthetic pathways of multiple plant secondary metabolites (A) and the nucleotide metabolic pathway (B) in young and mature leaves of *Melia azedarach*

3.3　苦楝叶不同生长阶段氨基酸及其衍生物类化合物的变化

氨基酸及其衍生物是蛋白质合成与活性代谢物生成的重要前体，其组成和含量是评价蛋白质营养价值的核心，在多种疾病治疗中也至关重要。王文霞等[25]对林麝食源植物苦楝的氨基酸进行了研究，发现其含有 17 种基础氨基酸，但尚未系统考察氨基酸衍生物。本研究成功鉴定出 174 种氨基酸及其衍生物类物质，并且发现氨基酸及其衍生物类化合物含量在苦楝叶片生长过程中呈下降趋势。邹薛等[26]通过检测代茶冬青春季嫩叶、夏季成熟叶及秋季老叶的营养成分发现，不同季节叶片的氨基酸含量存在显著差异，其中春季嫩叶中的必需氨基酸含量最高，夏季成熟叶次之，秋季老叶最低。这与本研究结果一致，可知植物叶片发育阶段对代谢物积累有显著影响。综上所述，本研究结果既为林麝喜食苦楝嫩叶提供了科学依据，完善了林麝食源植物氨基酸谱系数据库，又为植物源氨基酸代谢多样性及药理价值研究提供了新的支撑。

3.4　苦楝叶不同生长阶段酚酸类、木脂素和香豆素类物质的变化

酚酸作为药用植物中一类关键的活性成分，具有广泛的生物活性，包括抗氧化、抗炎、抗菌、抗动脉粥样硬化、降血脂及缓解心功能障碍等[27]。张新月等[1]的研究已证实苦楝皮的主要化学成分包含酚酸类物质，但尚未对其具体成分及含量展开深入分析。本试验结果显示，苦楝叶片中检出的酚酸类物质共计 134 种，且其含量随叶片发育呈上升趋势，推测这可能与叶片发育过程中的物质积累有关。

木脂素和香豆素类化合物具有不同生物活性，如抗炎、抗病毒、抑菌、抗凝血、抗癌、抗哮喘、抗骨质疏松、保护神经等作用[28]。本研究中，在苦楝叶片发育过程中，木脂素和香豆素类化合物有 55 种，其含量呈上升趋势。这与王增斌等[27]在枇杷叶中

的研究结果相似。此外,在苦楝叶片生长过程中,酚酸类、木脂素及香豆素类物质含量从4月到9月持续增加,这一现象可能与两方面因素相关:一方面,这些物质的积累可能为花后果实发育储备物质基础[27];另一方面,成熟叶可能面临更复杂的生物与非生物胁迫(如病虫害侵袭、紫外线辐射等),而酚酸类和香豆素类物质具有抗菌、抗病毒及吸收紫外线等防御功能,为适应胁迫环境,苦楝成熟叶中此类物质的合成与积累明显增强。

4 结 论

苦楝嫩叶和成熟叶的代谢物含量差异较大,从嫩叶和成熟叶样本中筛选得到了1 329种差异代谢物,包括萜类、黄酮、氨基酸及其衍生物、酚酸类、生物碱、脂质、木脂素与香豆素、有机酸、核苷酸及其衍生物、鞣质、甾体、醌类等13类物质,并且差异代谢物以萜类、黄酮、氨基酸及其衍生物为主。鉴定了萜类代谢物中的所有二级代谢物,发现其组成以三萜类物质为主,且具有抗虫活性的萜类物质在嫩叶中的含量总体高于成熟叶。差异代谢物主要富集在20条KEGG通路中,并且筛选出4条主要的代谢通路,分别为色氨酸代谢、硫代葡萄糖苷生物合成、多种植物次生代谢产物的生物合成和核苷酸代谢通路。本研究通过解析苦楝叶不同发育阶段的代谢物差异,揭示了其药理活性的变化规律,这不仅为天然药物开发提供了理论依据,同时也为林麝的食性调控策略优化及健康养殖实践奠定了基础。

[参考文献]

[1] 张新月,王晓蕾,袁浩,等. 苦楝化学成分及药理活性的研究进展[J]. 中药材,2024,47(11):2922-2929.
ZHANG X Y,WANG X L,YUAN H,et al. Research progress on chemical constituents and pharmacological activities of *Melia azedarach*[J]. Journal of Chinese Medicinal Materials,2024,47(11):2922-2929.

[2] 王家源,郭杰,喻方圆. 不同种源苦楝种子生物学特性差异[J]. 南京林业大学学报(自然科学版),2013,37(1):49-54.
WANG J Y,GUO J,YU F Y. The differences of seed biological characters in *Melia azedarach* L. from different provenances[J]. Journal of Nanjing Forestry University (Natural Sciences Edition),2013,37(1):49-54.

[3] CUI G F,LI Y,YI X,et al. Meliaceae genomes provide insights into wood development and limonoids biosynthesis[J]. Plant Biotechnology Journal,2023,21(3):574-590.

[4] SONG M,ZHANG J,CHAN G,et al. Bioactive limonoids and triterpenoids from the fruits of *Melia azedarach*[J]. Journal of Natural Products,2020,83(12):3502-3510.

[5] WANG W Q,XIA Z Z,TIAN Z H,et al. Chemical constituents from the fruits of *Melia azedarach* (Meliaceae)[J]. Biochemical Systematics and Ecology,2020,92:104094.

[6] ZHANG S N,HUANG L,MA R J,et al. Chemical constituents from the barks of *Melia azedarach* and their PTP1B inhibitory activity[J]. Natural Product Research,2021,35(22):4442-4447.

[7] ZENG J,ZHANG S N,SONG H Z,et al. Flavonoid and lignan glycosides from the leaves of *Melia azedarach*[J]. Chemistry of Natural Compounds,2020,56(2):323-324.

[8] SALIB J Y,MICHAEL H N,EL-NOGOUMY S I. New lactoyl glycoside quercetin from *Melia azedarach* leaves[J]. Chemistry of Natural Compounds,2008,44(1):13-15.

[9] CARPINELLA C,FERRAYOLI C,VALLADARES G,et al. Potent limonoid insect antifeedant from *Melia azedarach*[J]. Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry, 2002, 66(8):1731-1736.

[10] 谭钦刚,赖春华,张贵杰,等. 苦楝化学成分及抗糖尿病活性研究[J]. 天然产物研究与开发,2014,26(2):162-166.
TAN Q G,LAI C H,ZHANG G J,et al. Chemical constituents from *Melia azedarach* and their anti-diabetes activities[J]. Natural Product Research and Development,2014,26(2):162-166.

[11] JABEEN K,JAVAID A,AHMAD E,et al. Antifungal compounds from *Melia azedarach* leaves for management of *Ascochyta rabiei*, the cause of chickpea blight[J]. Natural Product Research,2011,25(3):264-276.

[12] NTALLI N G,COTTIGLIA F,BUENO C A,et al. Cytotoxic tirucallane triterpenoids from *Melia azedarach* fruits[J]. Molecules,2010,15(9):5866-5877.

[13] LIU J,WANG Z,SU X,et al. Comparative genomics provides insights into the biogeographic and biochemical diversity of *Meliaceous* species[J]. Nature communications, 2025, 16(1):2603.

[14] ZHANG X M,CHEN J,FENG K Y,et al. Widely targeted metabolomics reveals the different metabolic changes in leaves and roots of two cotton varieties under drought stress[J]. Journal of Agronomy and Crop Science,2021,207(6):1041-1049.

[15] 陆岸芷,张乐毅,王平平,等. 3个品种雪茄烟叶发酵前后代谢物的差异分析[J]. 西北农林科技大学学报(自然科学版),2024,52(12):51-62.
LU A Z,ZHANG L Y,WANG P P,et al. Differences in leaf metabolites of three cigar varieties before and after leaf fermentation[J]. Journal of Northwest A&F University (Natural Science Edition),2024,52(12):51-62.

[16] 王红梅,李哲,李令,等. 川南白酒产区主要酿酒高粱理化性质与代谢组学分析[J]. 酿酒科技,2023(7):44-56.
WANG H M,LI Z,LI L,et al. Physicochemical properties and metabolomics of liquor-making sorghum from southern Sichuan[J]. Liquor-Making Science & Technology,2023(7):44-56.

[17] 朱欣，尹竹君，田媛，等．基于网络药理学和血清代谢组学探讨洋川芎内酯Ⅰ改善脓毒症急性肝损伤作用机制[J/OL]．中药药理与临床，2015：1-28．[2025-07-25]．https://doi．org/10．13412/j．cnki．zyyl．20250521．001．
ZHU X，YIN Z J，TIAN Y，et al．Serum metabolomics and network pharmacology reveal the mechanism of senkyunolide 1 in ameliorating sepsis-associated acute liver injury[J/OL]．Pharmacology and Clinics of Chinese Materia Medica，2015：1-28．[2025-07-25]．https://doi．org/10．13412/j．cnki．zyyl．20250521．001

[18] 安飞飞，罗秀芹，薛晶晶，等．白心与黄心糖木薯代谢物及相关基因表达分析[J]．江西农业大学学报，2022，44(5)：1092-1100．
AN F F，LUO X Q，XUE J J，et al．Analysis of metabolites and related gene expression of sugar cassava with white and yellow fleshes[J]．Acta Agriculturae Universitatis Jiangxiensis，2022，44(5)：1092-1100．

[19] 薛永常，王贺贤，赵娣，等．植物萜类化合物生物合成及其功能研究进展[J/OL]．植物研究，2015：1-14[2025-07-25]．http://kns．cnki．net/kcms/detail/23．1480．S．20250303．1504．002．html．
XUE Y C，WANG H X，ZHAO D，et al．Research progress on the biosynthesis and functions of plant terpenoids[J/OL]．Bulletin of Botanical Research，2015：1-14[2025-07-25]．http://kns．cnki．net/kcms/detail/23．1480．S．20250303．1504．002．html．

[20] 赵豹，程明，薛雁斌，等．苦楝皮化学成分、药理活性及临床应用的研究进展[J]．华西药学杂志，2023，38(2)：227-235．
ZHAO B，CHENG M，XUE Y B，et al．Research progress on chemical constituents，pharmacological activities and clinical application of *Melia* cortex[J]．West China Journal of Pharmaceutical Sciences，2023，38(2)：227-235．

[21] 刘晶晶，王富民，刘国峰，等．茶树萜类香气物质代谢谱与相关基因表达谱时空变化的关系[J]．园艺学报，2014，41(10)：2094-2106．
LIU J J，WANG F M，LIU G F，et al．Correlation between spatiotemporal profiles of volatile terpenoids and relevant terpenoid synthase gene expression in *Camellia sinensis*[J]．Acta Horticulturae Sinica，2014，41(10)：2094-2106．

[22] 岳仁芳．苦楝果与苦楝叶中黄酮含量[J]．广西热作科技，1992，5(2)：43．
YUE R F．Flavonoids content in neem fruit and neem leaves[J]．Agricultural Research and Application，1992，5(2)：43．

[23] 李辛雷，王佳童，孙振元，等．崇左金花茶花朵和叶片类黄酮UPLC-Q-TOF-MS分析[J]．植物研究，2019，39(3)：365-371，379．
LI X L，WANG J T，SUN Z Y，et al．UPLC-Q-TOF-MS analysis of flavonoids in flowers and leaves of *Camellia chongzuensis*[J]．Bulletin of Botanical Research，2019，39(3)：365-371，379．

[24] YANG Y，CHEN M J，ZHANG W，et al．Metabolome combined with transcriptome profiling reveals the dynamic changes in flavonoidsin flavonoids in red and green leaves of *Populus*×*Euramericana*‘Zhonghuahongye’[J]．Frontiers in Plant Science，2023，14：1274700-1274700．

[25] 王文霞，何岚，卫宁，等．圈养林麝常用树叶类饲料氨基酸含量及其营养价值分析[J]．家畜生态学报，2013，34(9)：44-49．
WANG W X，HE L，WEI N，et al．Analysis on the amino acid content and feed value of commonly used tree leaves fed to captive forest musk deer(*Moschus berezovskii*)[J]．Acta Ecologiae Animalis Domastici，2013，34(9)：44-49．

[26] 邹薛，扈嘉鑫，袁虎威，等．代茶冬青不同季节叶片营养成分分析[J]．天然产物研究与开发，2023，35(10)：1747-1754．
ZOU X，HU J X，YUAN H W，et al．Analysis of nutritional components in leaves of *Ilex asprella*（Hook．et Arn．）Champ．ex Benth．in different seasons[J]．Natural Product Research and Development，2023，35(10)：1747-1754

[27] 王增斌，宋雪，王洋，等．基于UHPLC-MS技术的枇杷叶次生代谢物周年变化研究[J]．西北农林科技大学学报(自然科学版)，2023，51(2)：43-52．
WANG Z B，SONG X，WANG Y，et al．Study on annual changes of secondary metabolites in loquat leaves based on UHPLC-MS technology[J]．Journal of Northwest A&F University(Natural Science Edition)，2023，51(2)：43-52．

[28] 吕华伟，梁慧敏，朱梦迪，等．香豆素类化合物的生物合成关键酶及活性研究进展[J]．中国中药杂志，2024，49(14)：3693-3705．
LÜ H W，LIANG H M，ZHU M D，et al．Research progress on key enzymes in biosynthesis and activities of coumarin compounds[J]．China Journal of Chinese Materia Medica，2024，49(14)：3693-3705．

（责任编辑：李小平）