

藿香中的两个新乌苏烷型三萜

任雅婷¹, 李蓓¹, 马洁¹, 李玉环², 臧应达¹, 李创军^{1*}, 张东明^{1*}

- (1. 中国医学科学院、北京协和医学院药物研究所, 天然药物活性物质与功能国家重点实验室, 北京 100050;
2. 中国医学科学院、北京协和医学院医药生物技术研究所, 北京 100050)

摘要: 采用硅胶、MCI、ODS 柱色谱和高效制备液相色谱等方法, 从藿香 80% 乙醇提取物中分离得到 2 个新乌苏烷型三萜和 12 个已知化合物。通过质谱、核磁共振和 ECD 等波谱学方法鉴定新化合物的结构分别为 2 α ,3 α -dihydroxy-24-nor-urs-4(23),12(13)-dien-28-oic acid (**1**) 和 2 α ,3 α -dihydroxy-24-nor-urs-4(23),12(13),20(30)-trien-28-oic acid (**2**), 命名为 agasursacid A 和 agasursacid B。对分离得到的部分化合物测定了抗柯萨奇病毒 B3 型 (CVB3) 活性, 化合物 **3**、**4**、**6**、**8** 对柯萨奇病毒 B3 型有抑制活性, IC₅₀ 值分别为 4.77、1.59、11.11、25.87 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 。

关键词: 藿香; 化学成分; 乌苏烷型三萜; 抗柯萨奇病毒 B3 型

中图分类号: R284 文献标识码: A 文章编号: 0513-4870(2023)06-1650-05

Two new ursane triterpenoids from *Agastache rugosa* (Fisch. et. Mey.) O. Kuntze

REN Ya-ting¹, LI Bei¹, MA Jie¹, LI Yu-huan², ZANG Ying-da¹, LI Chuang-jun^{1*}, ZHANG Dong-ming^{1*}

- (1. State Key Laboratory of Bioactive Substance and Function of Natural Medicines, Institute of Materia Medica, Chinese Academy of Medical Sciences and Peking Union Medical College, Beijing 100050, China; 2. Institute of Medicinal Biotechnology, Chinese Academy of Medical Sciences and Peking Union Medical College, Beijing 100050, China)

Abstract: Two new ursane triterpenoids along with twelve known compounds were isolated from 80% ethanol extract of *Agastache rugosa* (Fisch. et. Mey.) O. Kuntze by using silica gel column, MCI column, ODS column and HPLC. The structures of the new compounds were identified as 2 α ,3 α -dihydroxy-24-nor-urs-4(23),12(13)-dien-28-oic acid (**1**) and 2 α ,3 α -dihydroxy-24-nor-urs-4(23),12(13),20(30)-trien-28-oic acid (**2**) by HR-ESI-MS, NMR and ECD spectral data, named agasursacid A and agasursacid B. In addition, compounds **3**, **4**, **6**, **8** showed anti-coxsackievirus B3 (CVB3) activities with a IC₅₀ as 4.77, 1.59, 11.11 and 25.87 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$, respectively.

Key words: *Agastache rugosa* (Fisch. et. Mey.) O. Kuntze; chemical composition; ursane triterpenoid; anti-coxsackievirus B3 (CVB3) activities

藿香 (*Agastache rugosa* (Fisch. et. Mey.) O. Kuntze) 又称为排香草、大叶薄荷等。为唇形科藿香属多年生草本植物, 主产于我国四川、江苏、浙江、安徽等地, 在韩国及日本也有种植。藿香可作香料、景观植物, 亦可

药食兼用, 其全草入药, 主治中暑发热、外感风寒、胸闷腹胀、食欲不振等, 古代经典名方藿朴夏苓汤^[1]中所用“杜藿香”即为产于江浙、去除根及老茎的生品藿香。现代研究证明, 藿香提取物具有多种活性, 如抗氧化^[2]、抗炎^[3]、抗病毒^[4]、促进肠胃运动^[5]等。藿香是常用芳香化湿药, 对其挥发油部分的成分分析和活性研究报道较多, 但是对于非挥发性成分的研究较少。因此, 本课题对藿香非挥发性成分展开研究, 从藿香 80% 乙醇提取物中分离得到 2 个新乌苏烷型三萜类化合物 2 α ,3 α -

收稿日期: 2023-01-27; 修回日期: 2023-02-20.

基金项目: 国家重点研发计划资助项目 (2019YFC1711000); 中国医学科学院创新工程资助项目 (2021-I2M-1-028).

*通讯作者 Tel: 86-10-63165702, E-mail: lichuangjun@imm.ac.cn;

Tel: 86-10-63165227, E-mail: zhangdm@imm.ac.cn

DOI: 10.16438/j.0513-4870.2023-0067

dihydroxy-24-nor-urs-4(23), 12(13)-dien-28-oic acid (**1**) 和 2 α ,3 α -dihydroxy-24-nor-urs-4(23), 12(13), 20(30)-trien-28-oic acid (**2**) (图 1)、3 个已知黄酮类化合物 (**3**~**5**)、9 个已知三萜类化合物 (**6**~**14**)。其中, 化合物 **6**、**7**、**9**、**10**、**12** 首次由唇形科首次分离得到, 化合物 **8**、**11**、**13**、**14** 首次由藿香属分离得到。对部分化合物进行了抗柯萨奇病毒 B3 型 (CVB3) 活性筛选, 结果显示, 化合物 **3**、**4**、**6**、**8** 对 CVB3 有抑制活性。

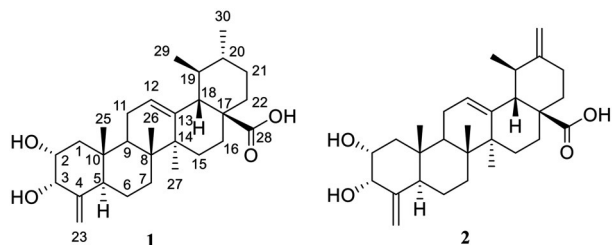


Figure 1 Structures of compounds **1** and **2**

结果与讨论

1 结构鉴定

化合物 **1**, 白色无定形粉末, $[\alpha]_D^{20} +11$ (c 0.10, MeOH), 通过 HR-ESI-MS m/z 479.312 0 $[M+Na]^+$ ($C_{29}H_{44}O_4Na$ 计算值 479.313 2) 分析, 确定其分子式为 $C_{29}H_{44}O_4$, 不饱和度为 8。化合物 **1** 的红外光谱显示了羟基 ($3\ 374\ cm^{-1}$)、羰基 ($1\ 687\ cm^{-1}$)、甲基 ($2\ 972, 2\ 870, 1\ 454, 1\ 378\ cm^{-1}$) 的特征吸收。化合物 **1** 的 1H NMR (pyridine- d_5 , 500 MHz, 表 1) 显示了 3 个烯键氢信号 δ_H 5.50 (1H, br s, H-12)、5.14 (1H, br s, H-23)、4.76 (1H, br s, H-23), 5 个甲基信号 δ_H 0.80 (3H, s, H-25)、1.09 (3H, s, H-26)、1.15 (3H, s, H-27)、1.00 (3H, d, $J = 6.4$ Hz, H-29)、0.95 (3H, d, $J = 6.3$ Hz, H-30)。化合物 **1** 的 ^{13}C NMR (pyridine- d_5 , 125 MHz) 显示了 29 个碳信号, 包括一个羧基碳信号 δ_C 180.2 (C-28), 两对双键碳信号 δ_C 153.3 (C-4)、109.8 (C-23)、126.0 (C-12)、139.8 (C-13), 5 个甲基信号 δ_C 14.7 (C-25)、17.7 (C-26)、24.0 (C-27)、17.8 (C-29)、21.6 (C-30)。通过 2D NMR 实验进一步确定了化合物 **1** 的平面结构, 化合物 **1** 的 1H - 1H COSY 谱图中 H-1/H-2/H-3、H-5/H-6/H-7、H-11/H-12、H-15/H-16、H-18/H-19/H-29、H-20/H-21/H-22 以及 H-20/H-30 相关, 确定结构中 C(1)-C(2)-C(3)、C(5)-C(6)-C(7)、C(11)-C(12)、C(15)-C(16)、C(18)-C(19)-C(29) 和 C(22)-C(21)-C(20)-C(30) 6 个片段 (图 2)。利用化合物 **1** 的 HSQC 和 HMBC 谱对上述结构片段连接, 在 HMBC 谱中, H-1 与 C-2/C-3/C-5/C-10/C-25 相关、H-3 与 C-2/C-4/C-5/C-23、H-23 与 C-3/C-4/C-5、H-7 与 C-8、H-11 与 C-9、H-12 与 C-9/C-14/C-18、H-15 与 C-14/C-17、H-15/H-18/H-22 与

Table 1 NMR spectral data of compounds **1** and **2**. a: 1H NMR (500 MHz in pyridine- d_5) and ^{13}C NMR (125 MHz in pyridine- d_5); b: 1H NMR (600 MHz in CD_3OD) and ^{13}C NMR (100 MHz in CD_3OD); c: Overlapped

No.	δ_C		δ_H	
	1 ^a	2 ^b	1 ^a	2 ^b
1	44.2	43.6	2.07 (dd, 12.5, 4.1) 1.87 (t, 11.9)	1.74 (m) 1.37 (m)
2	69.7	70.1	4.12 (m)	3.68 (dt, 11.6, 4.3)
3	76.8	77.0	4.68 (d, 3.4)	4.15 (d, 3.5)
4	153.3	152.4	—	—
5	45.6	45.9	2.64 (m)	2.20 (m)
6	21.0	21.4	1.48 (m) 1.41 (m)	1.47 (m)
7	32.2	32.8	1.53 (m) 1.33 (m)	1.63 (m) 1.40 (m)
8	40.4	40.9	—	—
9	45.7	46.3	1.92 (m)	1.82 (m)
10	38.3	38.7	—	—
11	24.7	25.2	1.99 (m)	2.10 (dt, 18.4, 5.2) 1.99 (m)
12	126.0	127.3	5.50 (br s)	5.30 (t, 3.7)
13	139.8	139.8	—	—
14	43.0	43.4	—	—
15	28.7	29.1	2.33 (dt, 13.3, 4.7) 1.18 ^c	1.97 (m)
16	25.1	25.3	2.11 (m)	2.26 (m) 1.77 (m)
17	48.4	49.2 ^c	—	—
18	54.0	56.7	2.64 (m)	2.27 (m)
19	39.7	38.5	1.44 (m)	2.41 (m)
20	39.7	154.5	1.04 (m)	—
21	31.3	33.3	1.44 (m) 1.37 (m)	2.23 (m) 2.35 (td, 13.7, 4.6)
22	37.7	40.4	1.96 (m)	1.85 (m) 1.63 (m)
23	109.8	110.9	5.14 (br s) 4.76 (br s)	5.03 (br s) 4.69 (m)
25	14.7	14.6	0.80 (s)	0.79 (s)
26	17.7	17.9	1.09 (s)	0.90 (s)
27	24.0	24.0	1.15 (s)	1.22 (s)
28	180.2	180.8	—	—
29	17.8	16.8	1.00 (d, 6.4)	1.02 (d, 6.5)
30	21.6	105.3	0.95 (d, 6.3)	4.69 (m) 4.64 (br s)

C-16、H-19/H-29 与 C-18、H-30 与 C-20 相关 (图 2), 确定了化合物 **1** 的乌苏烷母核和平面结构。化合物 **1** 的平面结构与 Ilekudinol B^[6] 一致, 化合物 **1** 与 ilekudinol B 的主要区别是 H-3 的偶合常数不同, 推测两者的主要区别是 C-2 与 C-3 位羟基相对构型不同。在化合物 **1** 的 NOESY 谱图中, H-2 与 H-1/H-3/H-25、H-3 与 H-2/H-23/H-25 相关 (图 2), 结合 H-3 的偶合常数 ($J = 3.4$ Hz) 表明化合物 **1** 的 C-2 和 C-3 羟基的相对构型为 2 α ,3 α , 确定化合物 **1** 的结构为 2 α ,3 α -dihydroxy-24-nor-urs-4(23), 12(13)-dien-28-oic acid。通过实验 ECD 及计算 ECD 确定了化合物 **1** 的绝对构型, 采用 ECD 计算方法

[B3LYP/6-311G(2d,p), MeOH] 计算了 **1a** (2*R*, 3*S*, 8*R*, 10*R*, 14*S*, 17*S*, 18*S*, 19*S*, 20*R*) 和 **1b** (2*S*, 3*R*, 8*S*, 10*S*, 14*R*, 17*R*, 18*R*, 19*R*, 20*S*) 的 ECD 谱, 化合物 **1** 的实验 ECD 与 **1a** 的计算 ECD 匹配较好 (图 3), 因此, 确定化合物 **1** 的绝对构型为 2*R*, 3*S*, 8*R*, 10*R*, 14*S*, 17*S*, 18*S*, 19*S*, 20*R*, 命名为 agasursacid A。

化合物 **2**, 白色无定形粉末, $[\alpha]_{\text{D}}^{20.6} +149$ (c 0.10, MeOH), 通过 HR-ESI-MS m/z 477.297 5 $[M+Na]^+$ ($C_{29}H_{42}O_4Na$ 计算值 477.298 7) 分析, 确定其分子式为 $C_{29}H_{42}O_4$, 不饱和度为 9。化合物 **2** 的红外光谱显示了羟基 (3384 cm^{-1})、羧基 (1697 cm^{-1})、双键 (1648 cm^{-1})、甲基 ($2932, 1453, 1386\text{ cm}^{-1}$) 的特征吸收。化合物 **2** 的 ^1H NMR (CD_3OD , 600 MHz, 表 1) 谱显示了 5 个烯键氢信号 δ_{H} 5.30 (1H, t, $J = 3.7\text{ Hz}$, H-12)、5.03 (1H, br s, H-23)、4.69 (2H, m, H-23,30)、4.64 (1H, br s, H-30), 4 个甲基信号 δ_{H} 0.79 (3H, s, H-25)、0.90 (3H, s, H-26)、1.22 (3H, s, H-27)、1.02 (3H, d, $J = 6.5\text{ Hz}$, H-29)。化合物 **2** 的 ^{13}C NMR (CD_3OD , 100 MHz) 也显示了 29 个碳信号, 包括羧基、双键和甲基等特征信号。以上数据表明化合物 **2** 也是一个降碳乌苏烷型三萜, 其波谱数据与 patrinalide C^[7] 相似, 主要区别是化合物 **2** 在 C-2 位多 1 个羟基取代。进一步通过化合物 **2** 的 ^1H - ^1H COSY 谱

图中 H-1/H-2/H-3 相关, 以及 HMBC 谱中 H-1 与 C-2/C-3/C-25、H-2 与 C-1/C-3、H-3 与 C-2/C-4/C-5/C-23 的相关, 确定 2 个羟基分别位于 C-2 位及 C-3 位 (图 2)。根据 H-3 位 (δ_{H} 4.15) 偶合常数为 3.5 Hz 推断羟基的相对构型为 $2\alpha, 3\alpha$ ^[8]。观察化合物 **2** 的 NOESY 谱图, 发现 H-2 与 H-1/H-3/H-25 相关、H-3 与 H-2/H-23/H-25 相关 (图 2), 进一步表明 C-2 位、C-3 位羟基的相对构型为 $2\alpha, 3\alpha$ 。因此, 化合物 **2** 的结构确定为 $2\alpha, 3\alpha$ -dihydroxy-24-nor-urs-4(23), 12(13), 20(30)-trien-28-oic acid。通过实验 ECD 及计算 ECD 进一步确定了化合物 **2** 的绝对构型, 对 **2a** (2*R*, 3*S*, 8*R*, 10*R*, 14*S*, 17*S*, 18*S*, 19*S*) 和 **2b** (2*S*, 3*R*, 8*S*, 10*S*, 14*R*, 17*R*, 18*R*, 19*R*) 进行 ECD 计算 [B3LYP/6-311G(2d,p), MeOH], 化合物 **2** 的实验 ECD 与 **2a** 的计算 ECD 匹配较好 (图 3), 因此, 确定化合物 **2** 的绝对构型为 2*R*, 3*S*, 8*R*, 10*R*, 14*S*, 17*S*, 18*S*, 19*S*, 命名为 agasursacid B。

通过谱学数据与文献对照, 确定 12 个已知化合物分别为滨藜黄素 (**3**)^[9]、刺槐素 (**4**)^[9]、香叶木素 (**5**)^[9]、 $2\alpha, 3\beta$ -二羟基-23-去甲-4(24)-12-二烯-齐墩果酸 (**6**)^[10]、 $2\alpha, 3\alpha$ -二羟基熊果酸 (**7**)^[10]、 $2\alpha, 3\alpha$ -dihydroxy-24-nor-4(23), 12-oleanadien-28-oic acid (**8**)^[11]、 $2\alpha, 3\beta$ -dihydrox-yolean-13(18)-en-28-oic acid (**9**)^[12]、psiguanins A (**10**)^[13]、 $2\alpha, 3\alpha$ -2, 3-dihydroxyursa-12, 20(30)-dien-28-oic acid (**11**)^[14]、

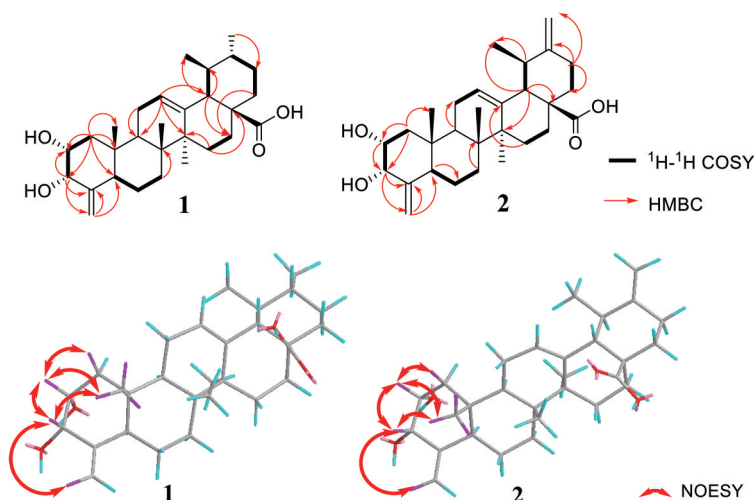


Figure 2 ^1H - ^1H COSY, key HMBC and NOESY correlations of compounds **1** and **2**

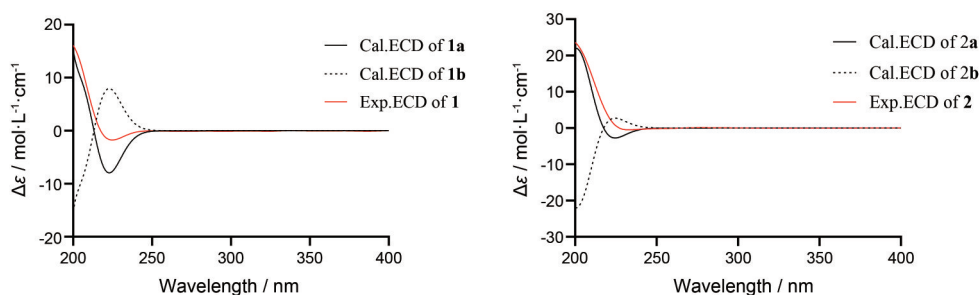


Figure 3 Experimental and calculated ECD spectra of compounds **1** and **2**

3 β -acetoxy-olean-11,13(18)-dien-28-oic acid (**12**)^[15]、3 β -acetoxyurs-11-en-28,13-olide (**13**)^[16]、3 β -O-乙酰熊果酸 (**14**)^[17]。其中,化合物**6**、**7**、**9**、**10**、**12**首次由唇形科首次分离得到,化合物**8**、**11**、**13**、**14**首次由藿香属分离得到。

2 化合物活性检测

对化合物**3**、**4**、**6**、**8**、**9**、**11**测定了其抗柯萨奇病毒B3型(CVB3)活性,结果显示:化合物**3**、**4**、**6**、**8**对柯萨奇病毒B3型有抑制活性,IC₅₀值分别为4.77、1.59、11.11、25.87 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$,化合物相应SI值为2.7~21.0(表2),阳性对照药利巴韦林IC₅₀值为95.45 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$,SI值为16.3。

Table 2 Antiviral activity against Coxsackie virus B3 for compounds **3**, **4**, **6**, **8**

Compd.	IC ₅₀ / $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$	SI
3	4.77	9.0
4	1.59	21.0
6	11.11	4.3
8	25.87	2.7

实验部分

紫外可见分光光度仪(JASCO V-650型,日本);旋光测定仪(Rhdolph Autopol V型,美国);红外光谱仪(Thermo Nicolet 57000型,美国);高分辨质谱仪(Thermo Q Exactive Focus组合型四级杆Orbitrap质谱仪,美国);核磁共振波谱仪(Bruker AVANCE-III 400 MHz,德国;中科牛津WNMR-I 500 MHz,中国;Bruker AVANCE-III HD 600 MHz,德国);圆二色谱测定仪(JASCO J-815型,日本);高效液相色谱仪(Aglient1100)(安捷伦科技有限公司,美国);制备液相色谱仪(LC-6AD,日本岛津公司);中压制备液相色谱系统(Büchi Gradient Former B-687, RP C18,瑞士);硅胶柱色谱填料和薄层色谱用硅胶GF₂₅₄(100~200目,200~300目,青岛海洋化工有限公司);MCI柱色谱填料(CHP20/P120,日本三菱化学公司);ODS柱色谱填料(YMC-ODS C18 50 μm ,日本);薄层显色(10%硫酸乙醇溶液显色)。

药材于2020年7月采摘自安徽省亳州市涡阳县,经上海中医药大学俞桂新研究员鉴定为藿香(*Agastache rugosa* (Fisch. et Mey.) O. Ktze)。标本储存在中国医学科学院药物研究所标本室(ID-25092)。

1 提取与分离

藿香全草30 kg经粉碎后,用80%乙醇加热回流提取两次,两次提取液合并后减压浓缩,浓缩液经乙酸乙酯重复萃取3次,乙酸乙酯层合并后减压浓缩蒸干,得到乙酸乙酯部位浸膏(409.8 g)。浸膏用硅胶拌样并装柱,采用石油醚:乙酸乙酯=5:1~2:1,石油醚:乙酸乙酯:甲醇=11:4:1,95%乙醇作为流动相洗脱得到41个

组分:A1~A41。其中的A28~A34(29 g)经MCI柱以40%甲醇(2 L)、50%甲醇(2 L)、60%甲醇(2 L)、70%甲醇(4 L)、80%甲醇(4 L)、90%甲醇(2 L)洗脱及甲醇冲柱得到B1~B28;选择B18~B23(4.9 g)经中压液相色谱以60%~100%甲醇-水进行梯度洗脱,得到M1~M48;M8经40%乙腈-水纯化(ODS制备柱,8 mL \cdot min⁻¹)得到化合物**3**(35.12 mg);M18经55%乙腈-水纯化(ODS制备柱,8 mL \cdot min⁻¹)得到化合物**4**(16.33 mg);M21经55%乙腈-水分离(ODS制备柱,8 mL \cdot min⁻¹),70%甲醇-水纯化(ODS半制备柱,4 mL \cdot min⁻¹)得到化合物**1**(4.67 mg)和化合物**8**(5.10 mg);M19经55%乙腈-水分离(ODS制备柱,8 mL \cdot min⁻¹),70%甲醇-水纯化(ODS半制备柱,4 mL \cdot min⁻¹)得到化合物**2**(4.08 mg);M25经55%乙腈-水分离(ODS制备柱,8 mL \cdot min⁻¹),得到化合物**6**(25.16 mg)和M25-4, M25-4再经52.5%乙腈-水纯化(ODS半制备柱,8 mL \cdot min⁻¹),得到化合物**11**(4.58 mg);M27经62.5%乙腈-水分离(ODS制备柱,8 mL \cdot min⁻¹),得到M27-4、M27-5, M27-4经75%甲醇-水纯化(ODS半制备柱,4 mL \cdot min⁻¹)得到化合物**9**(4.14 mg), M27-5经80%甲醇-水纯化(ODS半制备柱,4 mL \cdot min⁻¹)得到化合物**7**(42.99 mg)、**10**(8.72 mg)。A3~A6(37.6 g)经MCI柱以70%甲醇(3 L)、80%甲醇(4 L)、90%甲醇(4 L)、甲醇(4 L)洗脱及甲醇:二氯甲烷=1:1(2 L)冲柱得到3B1~3B28;选择3B24~3B28(8.9 g)经硅胶柱以石油醚:二氯甲烷=1:1(2 L)、石油醚:二氯甲烷=1:2(2 L)、甲醇(1 L)进行洗脱得到BG1~BG26;BG6~BG9合并(1.2 g)经开放ODS柱以80%~100%甲醇-水进行梯度洗脱,得到BG6-1~BG6-15;BG6-12经95%乙腈-水纯化(ODS半制备柱,4 mL \cdot min⁻¹)得到化合物**12**(2.58 mg);BG18经92.5%乙腈-水分离(ODS制备柱,8 mL \cdot min⁻¹),得到化合物**14**(281.13 mg),93%甲醇-水纯化(ODS半制备柱,4 mL \cdot min⁻¹)得到化合物**13**(13.44 mg)。A35~38(102.0 g)经MCI柱以20%甲醇(4 L)、40%甲醇(4 L)、50%甲醇(2 L)、60%甲醇(6 L)、70%甲醇(8 L)、80%甲醇(10 L)、90%甲醇(8 L)、94%甲醇(4 L)及甲醇冲柱,得到C1~C38,选择C20~C21(3.5 g)经开放ODS柱以50%~100%乙腈进行梯度洗脱,得到CO1~CO40;CO6经60%~90%甲醇-水分离(ODS制备柱,8 mL \cdot min⁻¹)得到CO6-4,再经85%甲醇-水纯化(纤维素-4手性半制备柱,4 mL \cdot min⁻¹)得到化合物**5**。

2 结构鉴定

化合物**1** 白色无定形粉末, $[\alpha]_{\text{D}}^{20} +11$ (c 0.10, MeOH); UV (MeOH) λ_{max} (log ϵ)/nm: 203 (6.54); CD (MeOH): $\Delta\epsilon_{224.5\text{nm}} -1.76$; IR/cm⁻¹: 3 374、1 687、2 972、

2 870、1 454、1 378; ^1H NMR (pyridine- d_5 , 500 MHz)、 ^{13}C NMR (pyridine- d_5 , 125 MHz) 数据见表 1; (+)-(HR-ESI-MS: m/z 479.312 0 $[\text{M}+\text{Na}]^+$ ($\text{C}_{29}\text{H}_{44}\text{O}_4\text{Na}$ 计算值 479.313 2)。

化合物 2 白色无定形粉末, $[\alpha]_{\text{D}}^{20} +149$ (c 0.10, MeOH); UV (MeOH) λ_{max} ($\log \epsilon$)/nm: 204 (4.02); CD (MeOH): $\Delta\epsilon_{200\text{nm}} +23.6$; IR/ cm^{-1} : 3 384、1 697、1 648、2 932、1 453、1 386; ^1H NMR (CD_3OD , 600 MHz)、 ^{13}C NMR (CD_3OD , 100 MHz) 数据见表 1; (+)-(HR-ESI-MS: m/z 477.297 5 $[\text{M}+\text{Na}]^+$ ($\text{C}_{29}\text{H}_{42}\text{O}_4\text{Na}$ 计算值 477.298 7)。

3 ECD 计算

化合物三维结构采用 Chem3D 19.0 获取, 用分子力学方法在 MM2 力场下进行粗略优化; 使用 Conflex 8B 进行构象搜索; 采用 Gaussian16, 在导体极化连续模型 (CPCM) 中, MeOH 为溶剂, 以时间依赖密度泛函理论 (TDDFT) 方法在 B3LYP/6-311G(2d,p) 水平对主要构象进行计算优化, 在计算优化的构象基础上采用相同的基组与方法计算谱学性质; 采用 SpecDis 1.70.1 软件根据玻尔兹曼分布加权拟合出 ECD 谱图。

4 抗柯萨奇病毒 B3 型活性测定

以 Vero (非洲绿猴肾) 细胞为病毒宿主, 利巴韦林为阳性对照药, 采用细胞病变效应法 (cytopathic effect, CPE) 评价。Vero 细胞种 96 孔培养板, 24 h 后感染柯萨奇病毒 B3 型 10^5 , 吸附 2 h, 弃病毒液, 加入含有不同稀释度样品及阳性对照药的维持液, 同时设细胞对照孔和病毒对照孔, 5% CO_2 、37 $^{\circ}\text{C}$ 培养。待病毒对照组 CPE 达 4+ 时观察各组细胞 CPE, 用 Reed-Muench 法分别计算样品对细胞的半数有毒浓度 (TC_{50}) 和对病毒的半数抑制浓度 (IC_{50})。

作者贡献: 任雅婷是本文的第一作者, 负责成分分离、结构鉴定和论文撰写; 李蓓、马洁、臧应达协助提取分离工作; 李玉环进行化合物抗柯萨奇病毒 B3 型活性的测定; 李剑军和张东明是本文的通讯作者, 设计和组织了整个研究, 并对论文进行了修改。

利益冲突: 所有作者声明不存在任何利益冲突。

References

- [1] Ren QQ, Liu YY, Feng J, et al. Herbal textual research on huoxiang in famous classical formulas [J]. Chin J Exp Tradit Med Form (中国实验方剂学杂志), 2023, 29: 1-13.
- [2] Park CH, Yeo HJ, Baskar TB, et al. *In vitro* antioxidant and antimicrobial properties of flower, leaf, and stem extracts of Korean mint [J]. Antioxidants (Basel), 2019, 8: 75.
- [3] Oh HM, Kang YJ, Kim SH, et al. *Agastache rugosa* leaf extract inhibits the iNOS expression in ROS 17/2.8 cells activated with TNF-alpha and IL-1beta [J]. Arch Pharm Res, 2005, 28: 305-310.
- [4] Wang KC, Chang JS, Chiang LC, et al. 4-Methoxycinnamaldehyde inhibited human respiratory syncytial virus in a human larynx carcinoma cell line [J]. Phytomedicine, 2009, 16: 882-886.
- [5] Zhang HH. Research on the Effects of Gastrointestinal Function in *Agastache rugosa* (藿香对小鼠胃肠功能影响的研究) [D]. Chengdu: Chengdu University of TCM, 2014.
- [6] Nishimura K, Fukuda T, Miyase T, et al. Activity-guided isolation of triterpenoid acyl CoA cholesteryl acyl transferase (ACAT) inhibitors from *Ilex kudincha* [J]. J Nat Prod, 1999, 62: 1061-1064.
- [7] Liu ZH, Ma RJ, Yang L, et al. Triterpenoids and iridoids from *Patrinia scabiosaefolia* [J]. Fitoterapia, 2017, 119: 130-135.
- [8] Ballesta-Acosta MC, Pascual-Villalobos MJ, Rodriguez B. A new 24-nor-oleanane triterpenoid from *Salvia carduacea* [J]. J Nat Prod, 2002, 65: 1513-1515.
- [9] Jia RF, Liu HX, Huang ML, et al. Chemical constituents from *Agastache rugosa* [J]. Chin Tradit Herb Drugs (中草药), 2021, 52: 2884-2889.
- [10] Yu M, Li X, Zhang L, et al. Chemical composition of the fruit of *Aronia melanocarpa* [J]. Chin Tradit Herb Drugs (中草药), 2010, 41: 544-546.
- [11] Kolak U, Hacibekiroglu I, Ozturk M, et al. Antioxidant and anticholinesterase constituents of *Salvia pocolata* [J]. Turkish J Chem, 2009, 33: 813-823.
- [12] Zeng N, Shen Y, Li LZ, et al. Anti-inflammatory triterpenes from the leaves of *Rosa laevigata* [J]. J Nat Prod, 2011, 74: 732-738.
- [13] Shao M, Wang Y, Huang XJ, et al. Four new triterpenoids from the leaves of *Psidium guajava* [J]. J Asian Nat Prod Res, 2012, 14: 348-354.
- [14] Cai YH, Guo Y, Li Z, et al. Discovery and modelling studies of natural ingredients from *Gaultheria yunnanensis* (FRANCH.) against phosphodiesterase-4 [J]. Eur J Med Chem, 2016, 114: 134-140.
- [15] Lin H, Zhang YW, Bao YL, et al. Secondary metabolites from the stem bark of *Juglans mandshurica* [J]. Biochem Syst Ecol, 2013, 51: 184-188.
- [16] Katani M, Terai T, Meguri H. Triterpenoids of the bark of *Pieris japonica* D. Don (Japanese name: asebi). II. ^{13}C Nuclear magnetic resonance of the γ -lactones of ursane- and oleanane-type triterpenes [J]. Chem Pharm Bull, 1983, 31: 1567-1571.
- [17] Dong JJ, Wang DC, Li YS, et al. Chemical constituents of *Rabdosia japonica* var. *glaucoalyx* [J]. Lishizhen Med Mater Med Res (时珍国医国药), 2011, 22: 2346-2348.