

侧蒿中一个新的桉烷型倍半萜及其肿瘤细胞毒活性

张彬^{1,2*}, 曾国平^{1,2}, 熊校勤^{1,2}, 周巧巧^{1,2}

(1. 湖北第二师范学院化学与生命科学学院, 湖北 武汉 430205; 2. 植物抗癌活性物质提纯与应用湖北省重点实验室, 湖北 武汉 430205)

摘要: 采用溶剂提取法, Diaion HP-20 大孔树脂、CHP20/P120 MCI、Sephadex LH-20 葡聚糖凝胶、硅胶及制备高效液相等色谱方法对侧蒿的乙醇提取物进行分离纯化, 得到 5 个化合物, 根据质谱、核磁共振谱以及 X-ray 单晶衍射等数据确定了它们的结构, 分别为侧蒿缩醛 (1)、7-羟基-6-甲氧基香豆素 (2)、6,7-二甲氧基香豆素 (3)、咖啡酸 (4) 和 4',5,7-三羟基黄酮 (5)。其中, 化合物 1 为新化合物。采用甲基噻唑蓝法 (MTT) 测试了化合物 1~5 对四种细胞株 (人肝癌细胞 HepG2、人非小细胞肺癌细胞 A549、人宫颈癌细胞 HeLa、人胚肺细胞 MRC-5) 的体外细胞毒活性, 结果表明, 化合物 1 和 5 对 A549 和 HepG2 显示出较强的生长抑制活性, IC_{50} 值分别为 8.36、16.51 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 和 17.06、7.95 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 。

关键词: 侧蒿; 化学成分; 侧蒿缩醛; 细胞毒活性

中图分类号: R284; O629

文献标识码: A

文章编号: 0513-4870(2021)10-2830-05

Tumour cytotoxic activities of a new eudesmane-type sesquiterpenoid from *Artemisia deversa* Diels

ZHANG Bin^{1,2*}, ZENG Guo-ping^{1,2}, XIONG Xiao-qin^{1,2}, ZHOU Qiao-qiao^{1,2}

(1. Department of Chemistry and Life Science, Hubei University of Education, Wuhan 430205, China; 2. Hubei Key Laboratory of Purification and Application of Plant Anti-cancer Active Ingredients, Wuhan 430205, China)

Abstract: Five compounds were isolated from an ethanol extract of *Artemisia deversa* Diels by solvent extraction, Diaion HP-20, CHP20/P120 MCI, Sephadex LH-20, silica gel and preparative high performance liquid chromatography. Their structures were elucidated by MS, NMR and X-ray as artemideversal (1), 7-hydroxy-6-methoxycoumarin (2), 6,7-dimethoxycoumarin (3), caffeic acid (4) and 4',5,7-trihydroxy flavone (5). Compound 1 is a new eudesmane-type sesquiterpene. *In vitro* cytotoxic activities of the five compounds were explored by MTT testing with HepG2, A549, HeLa and MRC-5 cell lines. Results show that compounds 1 and 5 significantly inhibited cellular proliferation. The IC_{50} of compound 1 in A549 and HepG2 cells was 8.36 and 16.51 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$; the IC_{50} of compound 5 in A549 and HepG2 cells was 17.06 and 7.95 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$.

Key words: *Artemisia deversa* Diels; chemical composition; artemideversal; cytotoxic activity

侧蒿 (*Artemisia deversa* Diels) 为菊科蒿属植物, 生长于陕西南部、甘肃东南部、湖北西部及四川东北部等, 生于海拔 1 000~2 300 m 地区林下、林缘、山谷、坡

地及河边等^[1]。民间常以此属植物全草入药, 具有清热利湿、抗菌消炎、平喘祛痰、通经活络、保肝利胆等功效^[2]。对蒿属植物化学成分研究显示, 该属植物富含苯丙素、黄酮和倍半萜类化合物, 其中部分化合物显示出较强的生理活性^[3-5], 如从黄花蒿中提取得到的青蒿素具有很好的抗癌活性, 滨蒿中的滨蒿内酯具有明显的平喘作用^[6], 茵陈蒿中的茵陈黄酮、异鼠李黄素和

收稿日期: 2021-05-24; 修回日期: 2021-06-24.

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (81903115); 湖北省教育厅科学技术研究项目 (B2019183).

*通讯作者 Tel: 86-27-87943931, E-mail: jaina96@163.com

DOI: 10.16438/j.0513-4870.2021-0781

6,7-二羟基香豆素有抑制H9淋巴细胞内HIV复制的作用等^[7]。目前,对于侧蒿仅有本课题组前期对侧蒿挥发油进行了报道^[8],为了进一步阐明侧蒿的化学成分、筛选出结构新颖的具有生理活性的天然产物,本文对侧蒿80%乙醇提取物进行分离纯化,从中分离得到1个倍半萜类、3个苯丙素类和1个黄酮类化合物(图1),其中侧蒿缩醛(**1**)为新化合物,7-羟基-6-甲氧基香豆素(**2**)、6,7-二甲氧基香豆素(**3**)、咖啡酸(**4**)和4',5,7-三羟基黄酮(**5**)为已知化合物,化合物**1**~**5**均是首次从该植物中分离得到。MTT法显示化合物**1**、**2**、**3**和**5**具有体外肿瘤细胞毒活性。

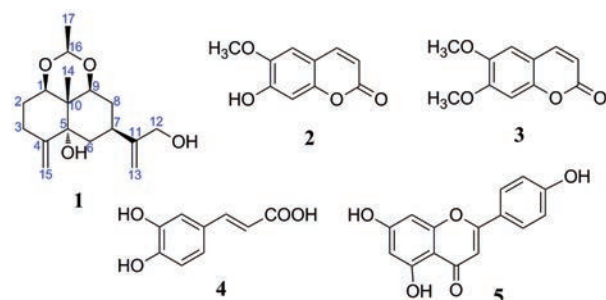


Figure 1 Chemical structures of compounds 1-5

结果与讨论

1 结构鉴定

化合物**1**为无色针状晶体,易溶于氯仿。正离子模式下的HR-ESI-MS得出分子式为 $C_{17}H_{26}O_4$ (m/z 317.172 2 [$M+Na$]⁺, 计算值 317.172 9), 拥有5个不饱和度。它的红外光谱在3 369、3 082、1 656、905 cm^{-1} 处有吸收峰,提示结构中含有羟基和碳碳双键功能团。在氘代氯仿的¹H NMR谱(表1)中,检测到两组末端烯质子信号: 4.98, 5.11 (each 1H, br s, H-13); 4.76, 4.87 (each 1H, br s, H-15), 一个特别的四重峰缩醛质子: 4.90 (1H, q, $J = 5.1$ Hz, H-16), 两个连氧次甲基质子信号: 4.20 (1H, dd, $J = 11.7, 5.0$ Hz, H-1) 与 4.16 (1H, dd, $J = 11.4, 4.9$ Hz, H-9), 一组连烯键的羟甲基偶质子信号: 4.14, 4.18 (each 1H, br d, $J = 14.8$ Hz, H-12), 以及高场处的两个甲基: 1.35 (3H, d, $J = 5.1$ Hz, H-17) 与 0.91 (3H, s, H-14)。在它的¹³C NMR谱(表1)中共检测到17个碳信号,包括低场区的两组末端烯碳信号: 152.1 (s, C-11), 149.0 (s, C-4), 109.6 (t, C-13), 109.4 (t, C-15), 以及一个特征性的缩醛碳: 99.8 (d, C-16); 在高场区检测到两个季碳(其中一个氧化的)、3个次甲基碳(其中两个氧化的)、5个亚甲基碳(其中一个氧化的)以及两个甲基碳信号。检测到双峰甲基与缩醛质子有¹H,¹H-COSY相关信号(图2),表明结构中含有一个乙缩醛取代基,而剩下的15个碳源于倍半萜母核。

经氢核磁数据仔细比较,其母核部分与已报道的桉烷型倍半萜5 α -hydroxy- β -costol相似^[9],主要差异在于化合物**1**的图谱中新检测到两个氧化次甲基碳信号: δ_C 77.2 与 77.7。在它的HMBC谱中(图2),观测到单峰甲基氢信号(H-14)与这两个氧化次甲基碳有相关,说明C-1与C-9位被氧化了。此外,缩醛质子信号也与C-1、C-9有HMBC相关,表明桉烷母核是通过C-1、C-9上的羟基与乙醛片段形成了缩醛,继而新生成了一个六元环。在立体化学方面,观测到H-7与H-9、H-9与H-16、H-1与H-16的NOESY相关,表明它们都是 α 取向的直立键质子。鉴于六元三环稠合体系具有高度刚性的椅式(优势)构象,通过特征性的耦合常数与NOESY相关的详细分析,进一步复核与验证了所解析结构。最后,通过X-ray单晶衍射(图3)手段确定了它的绝对构型,化合物**1**的化学结构如图1所示,该结构被命名为:侧蒿缩醛(artemideversal),其关键性的二维相关与氢核磁信号全归属分别整理于图2与表1。

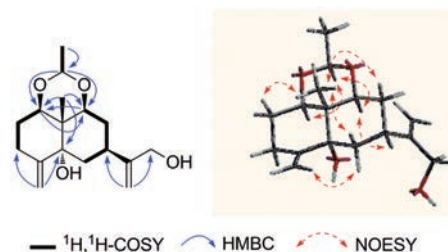


Figure 2 Key HMBC, ¹H-¹H COSY and NOESY correlations of compound 1

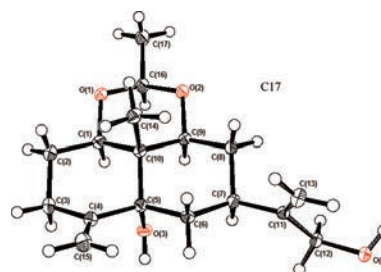


Figure 3 Crystal structure of compound 1

化合物**2**:黄色针晶, mp 201~203 $^{\circ}C$, ¹H NMR (CD_3OD , 400 MHz) δ : 3.91 (3H, s, OCH_3), 6.23 (1H, d, $J = 9.4$ Hz, H-3), 6.82 (1H, s, H-8), 7.14 (1H, s, H-5), 7.89 (1H, d, $J = 9.4$ Hz, H-4), 8.10 (1H, s, OH); ¹³C NMR (CD_3OD , 100 MHz) δ : 163.0 (CO), 150.0 (C-9), 149.0 (C-7), 146.1 (C-6), 144.9 (C-4), 111.2 (C-3), 110.0 (C-10), 108.6 (C-5), 102.6 (C-8), 55.5 (OCH_3)。以上NMR数据通过与文献^[10]对照一致,鉴定为7-羟基-6-甲氧基香豆素。

化合物**3**:白色针晶, mp 143~145 $^{\circ}C$, ¹H NMR (CD_3OD , 400 MHz) δ : 3.80 (3H, s, OCH_3), 3.85 (3H, s,

Table 1 ^1H NMR (400 MHz) and ^{13}C NMR (100 MHz) spectral data of compound **1** in CDCl_3

No.	1	
	δ_{H} (J in Hz)	δ_{C}
1	4.20 (1H, dd, 11.7, 5.0)	77.2 (d)
2	1.67 (1H _p , m)	26.7 (t)
	1.77 (1H _a , m)	
3	2.23 (1H _p , ddd, 14.2, 5.2, 2.0)	29.2 (t)
	2.67 (1H _a , dddt, 14.2, 13.5, 6.0, 2.0)	
4	—	149.0 (s)
5	—	76.1 (s)
6	1.61 (1H _a , br dd, 13.7, 4.2)	35.7 (t)
	1.82 (1H _p , dd, 13.7, 12.6)	
7	2.76 (1H, tt-like, 12.6, 4.2)	33.7 (d)
	1.68 (1H _p , m)	
8	1.80 (1H _a , m)	30.7 (t)
	4.16 (1H, dd, 11.4, 4.9)	
9	—	77.7 (d)
10	—	40.2 (s)
11	—	152.1 (s)
12	4.14, 4.18 (each 1H, br d, 14.8)	65.3 (t)
13	4.98, 5.11 (each 1H, br s)	109.6 (t)
14	0.91 (3H, s)	11.0 (q)
15	4.76, 4.87 (each 1H, br s)	109.4 (t)
16	4.90 (1H, q, 5.1)	99.8 (d)
17	1.35 (3H, d, 5.1)	21.0 (q)

OCH_3), 6.29 (1H, d, $J = 9.4$ Hz, H-3), 6.82 (1H, s, H-8), 7.13 (1H, s, H-5), 7.83 (1H, d, $J = 9.5$ Hz, H-4); ^{13}C NMR (CD_3OD , 100 MHz) δ : 161.0 (CO), 150.0 (C-9), 152.1 (C-7), 148.9 (C-6), 144.5 (C-4), 112.9 (C-3), 113.9 (C-10), 110.5 (C-5), 100.7 (C-8), 56.8 (OCH_3), 55.3 (OCH_3)。以上NMR数据通过与文献^[11]对照一致, 鉴定为6,7-二甲氧基香豆素。

化合物**4**: 黄色粉末, mp 202~204 °C, ^1H NMR (CD_3OD , 400 MHz) δ : 6.21 (1H, d, $J = 16.1$ Hz, H-8), 6.80 (1H, d, $J = 8.1$ Hz, H-5), 6.94 (1H, dd, $J = 8.1, 1.9$ Hz, H-6), 7.06 (1H, d, $J = 1.9$ Hz, H-2), 7.50 (1H, d, $J = 16.1$ Hz, H-7); ^{13}C NMR (CD_3OD , 100 MHz) δ : 127.8 (C-1), 115.3 (C-2), 146.8 (C-3), 148.2 (C-4), 114.9 (C-5), 123.1 (C-6), 147.1 (C-7), 116.6 (C-8), 170.9 (C-9)。以上NMR数据通过与文献^[12]对照一致, 鉴定为咖啡酸。

化合物**5**: 黄色针晶, mp 346~348 °C, ^1H NMR ($\text{DMSO}-d_6$, 400 MHz) δ : 6.21 (1H, d, $J = 2.0$ Hz, H-6), 6.47 (1H, d, $J = 1.9$ Hz, H-8), 6.77 (1H, s, H-3), 6.91 (2H, d, $J = 8.8$ Hz, H-3', H-5'), 7.93 (2H, d, $J = 8.8$ Hz, H-2', H-6'), 10.35 (1H, s, 4'-OH), 10.80 (1H, s, 7-OH), 12.95 (1H, s, 5-OH); ^{13}C NMR ($\text{DMSO}-d_6$, 100 MHz) δ : 164.7 (C-2), 103.3 (C-3), 182.2 (C-4), 163.0 (C-5), 99.5 (C-6), 164.3 (C-7), 93.9 (C-8), 157.8 (C-9), 104.1 (C-10), 121.4 (C-1'), 128.9 (C-2'), 116.5 (C-3'), 161.7 (C-4'), 116.5 (C-5'), 128.2 (C-6')。以上NMR数据通过与文献^[13]

对照一致, 鉴定为4',5,7-三羟基黄酮。

2 化合物**1**~**5**的肿瘤细胞毒活性

MTT法肿瘤细胞毒活性测试结果见表2。结果表明, 化合物**1**、**2**、**3**和**5**对4种肿瘤细胞HepG2、A549、HeLa、MRC-5具有不同程度的生长抑制活性, 其中化合物**1**对A549和化合物**5**对HepG2的抑制作用较强, 半数抑制浓度分别为 $8.36 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 和 $7.95 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$, 接近阳性对照品顺铂, 化合物**1**和**5**对其他3种肿瘤细胞的活性均很弱, 化合物**4**则未表现出明显的抑制活性。

Table 2 IC_{50} values of compounds **1**–**5** against different cancer cells. –: No active

Compd.	IC_{50} values against cancer cells/ $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$			
	HepG2	A549	HeLa	MRC-5
1	16.51	8.36	22.71	19.60
2	46.51	68.53	78.14	78.46
3	50.82	48.05	65.92	50.63
4	–	–	–	–
5	7.95	17.06	13.55	26.19
Cisplatin	8.17	3.14	5.37	14.92

实验部分

侧蒿于2017年7月采自于湖北省英山县天堂寨大别山主峰(海拔1700 m), 由湖北第二师范学院化学与生命科学学院戴月副教授鉴定为菊科蒿属植物侧蒿(*Artemisia deversa* Diels), 原植物标本现存于湖北第二师范学院化学与生命科学学院植物标本室(标本编号: 20170728)。

氘代试剂: CDCl_3 、 CD_3OD 、 $\text{DMSO}-d_6$ (美国CIL公司); 色谱纯乙腈 (美国TEDIA公司); Sephadex LH-20葡聚糖凝胶 (瑞典GE公司); Diaion HP-20型大孔吸附树脂 (日本三菱公司); CHP20/P120 MCI树脂 (日本三菱公司); 200~300目硅胶 (青岛海洋化工厂); 二氯甲烷、乙酸乙酯、乙醇和甲醇等均为国产分析纯试剂 (湖北欣申试化工科技有限公司); 人肝癌细胞HepG2、人非小细胞肺癌细胞A549、人宫颈癌细胞HeLa、人胚肺细胞MRC-5, 购自中国科学院上海细胞库; 甲基噻唑蓝 (MTT)、顺铂 (cisplatin) 和D5796 DMEM培养基均为美国Sigma-Aldrich公司产品; 胰蛋白酶购自美国Thermo Fisher Scientific公司。

Solarix7.0T高分辨傅里叶变换质谱仪、AV-400 MHz超导核磁共振仪 (德国Bruker公司); XtaLAB PRO MM007HF (Cu) 双微焦斑X射线单晶衍射仪 (日本Rigaku公司); Autopol IV旋光仪 (美国Rudolph公司); Nicolet iS50R傅里叶变换红外光谱仪 (美国Thermo Scientific公司); UV-5200PC紫外可见分光光度计 (上

海元析仪器有限公司); X-6精密显微熔点测定仪(北京亚力恩机电技术研究所); 2535制备型高效液相色谱仪、制备高效液相色谱柱 SunFire™ Prep C18 OBD™ 柱(250 mm × 19 mm, 5 μm)、半制备高效液相色谱柱 SunFire™ Prep C18 OBD™ 柱(150 mm × 10 mm, 5 μm)、分析型高效液相色谱柱 SunFire™ Prep C18 OBD™ 柱(250 mm × 4.6 mm, 5 μm)(美国 Waters 公司); 1260分析兼半制备型高效液相色谱仪、分析型高效液相色谱柱 ZORBAX™ SB-C18 柱(150 mm × 4.6 mm, 5 μm)(美国 Agilent 公司); Milli-Q Integral 5型纯水仪(德国 Merck Millipore 公司); R-210型旋转蒸发仪(瑞士 Büchi 公司生产); miVac Quattro 真空离心浓缩仪(英国 GeneVac 公司) Spectramax® plus384型多功能酶标仪(美国 Molecular Devices 公司); 3111型 CO₂培养箱(美国 Thermo Fisher Scientific 公司); IX51型倒置荧光显微镜(日本 Olympus 公司)。

1 提取和分离

侧蒿干燥全草 1.4 kg, 粉碎, 80% 乙醇(8 L) 室温下渗漉提取, 合并提取液, 减压浓缩得总浸膏约 120 g, 加水混悬, 依次用石油醚、二氯甲烷、乙酸乙酯和正丁醇萃取, 得石油醚部位 55 g、二氯甲烷部位 15.3 g、乙酸乙酯部位 9.45 g、正丁醇部位 7.4 g。乙酸乙酯部位上 Diaion HP-20 大孔树脂柱, 依次用 0%、20%、40%、60%、80%、90%、100% 乙醇-水体系洗脱, 将以上各洗脱液置于旋转蒸发仪上浓缩。Diaion HP-20 80% 乙醇洗脱部分(2.93 g) 上正相硅胶柱色谱, 用石油醚-乙酸乙酯(体积比 100:0, 10:1, 5:1, 3:1, 2:1, 1:1, 1:3, 0:1) 梯度洗脱, 薄层色谱(TLC) 检测合并, 得到 12 个组分(记作 Fr. 1~Fr. 12)。将 Fr. 7(53.8 mg) 上 Sephadex LH-20 葡聚糖凝胶柱色谱, 用石油醚-二氯甲烷-甲醇(体积比 4:5:1) 洗脱, 得到 4 个组分(记作 Fr. a-1~Fr. a-4); Fr. a-2(29.1 mg) 经半制备高效液相(乙腈-水体积比为 20:80, 流速 17.0 mL·min⁻¹) 得到化合物 1(23.5 mg, $t_R = 18.0$ min)。将 Fr. 9(18.2 mg) 上 Sephadex LH-20 葡聚糖凝胶柱色谱, 用石油醚-二氯甲烷-甲醇(体积比 2:3:1) 洗脱, 得到化合物 5(10.3 mg)。将 Fr. 11(13.9 mg) 经半制备高效液相(乙腈-水体积比为 20:80, 流速 4.7 mL·min⁻¹) 得到化合物 4(8.6 mg, $t_R = 35.0$ min)。取二氯甲烷部位上 CHP20/P120 MCI 柱, 依次用 0%、20%、40%、60%、80%、90%、100% 甲醇-水体系洗脱, 将以上各洗脱液置于旋转蒸发仪上浓缩。CHP20/P120 MCI 60% 甲醇洗脱部分(5.7 g) 上正相硅胶柱色谱, 用石油醚-乙酸乙酯(体积比 100:0, 150:1, 100:1, 80:1, 50:1, 30:1, 20:1, 15:1, 10:1, 5:1, 3:1, 2:1, 1:1) 梯度洗脱, 薄层色谱(TLC) 检测合并, 得到 21 个组分(记作 Fr. 1~Fr. 21);

将 Fr. 15(46.8 mg) 经 LH-20 葡聚糖凝胶柱, 用二氯甲烷-甲醇(体积比 1:2) 洗脱, 得到 3 个组分(记作 Fr. a-1~Fr. a-3); Fr. a-1(14.7 mg) 经半制备高效液相(乙腈-水体积比为 10:90, 流速 4.7 mL·min⁻¹) 得到化合物 3(6.9 mg, $t_R = 40.5$ min); Fr. a-3(19.2 mg) 经半制备高效液相(乙腈-水体积比为 5:95, 流速 1.0 mL·min⁻¹) 得到化合物 2(15.2 mg, $t_R = 87.2$ min)。

2 晶体结构的测定与解析

化合物 1 选取 0.50 mm × 0.20 mm × 0.12 mm 大小的单晶, 在 100 K 的温度下, 采用日本 XtaLAB AFC12 (RINC): Kappa single 衍射仪(Cu K α 射线, $\lambda = 1.54184 \text{ \AA}$) 在 $3.217^\circ \leq \theta \leq 73.595^\circ$ 范围内进行扫描, 共收集 78 765 个衍射点, 其中独立衍射点为 12 445 个 [$R_{int} = 0.0333$, $R_{\sigma} = 0.0185$]。晶体结构采用 Olex2^[14] 软件, SHELXT 程序包^[15,16] 解析, 用最小二乘法结合对结构参数进行校正。化合物 1 的分子式为 C₁₇H₂₆O₄, 相对分子质量 (M_r) 为 294.38; mp 161~163 °C; 晶体属斜方晶系, 空间群为 P2₁; 晶胞参数: a = 0.907333(3) nm, b = 2.74593(8) nm, c = 1.268088(4) nm, $\alpha = \gamma = 90^\circ$, $\beta = 92.9796(3)^\circ$, 晶体体积 $V = 3.155136(18) \text{ nm}^3$; 计算密度 $D_{calc} = 1.239 \text{ g}\cdot\text{cm}^{-3}$, 晶胞内分子数 $Z = 8$, $F(000) = 1280.0$, Flack 系数 0.03(5)。化合物 1 的晶体学数据已上传剑桥晶体学数据中心晶体数据库, CCDC 号 2079081。

3 细胞毒活性测试

以顺铂作为阳性对照。在 10 cm 培养皿中, 培养细胞至对数生长期, 用 1 mL 胰蛋白酶消化并离心收集细胞, 细胞计数板计数后将细胞稀释成每毫升 5×10^4 个细胞, 接种至 96 孔板, 每孔 100 μL, 用 5% CO₂ 培养箱 37 °C 培养过夜后, 每孔加入经培养基稀释至 2 倍终浓度的待测样品, 使药物的终浓度分别为 6.25、12.5、25、50 和 100 μg·mL⁻¹, 每个浓度设置 4 个复孔, 继续培养 24 h 后, 每孔加入 20 μL MTT 溶液(0.5% MTT), 继续培养 4 h。培养结束后, 吸去上清, 每孔加入 100 μL 二甲基亚砜, 置摇床上低速振荡至结晶物完全溶解, 使用酶标仪在 490 nm 处检测吸光值。通过以下公式计算各组细胞的存活率:

细胞抑制率 (%) = (1 - 空白组吸光度值) / 实验组吸光度值 × 100%

作者贡献: 张彬负责完成实验的设计、实验的实施、数据的分析和文章的撰写; 曾国平为实验提供指导并对文章进行了审阅; 熊校勤和周巧巧参与实施实验和数据分析。

利益冲突: 所有作者声明无任何利益冲突。

References

[1] Lin YR. The Chinese Artemisia Linn (中国蒿属志) [M].

- Beijing: Science Press, 1988, 8: 41.
- [2] Chen SL, Lin YL. Quintessence of Materia Medica (中草药大典) [M]. Beijing: Military Medical Science Press, 2006: 426-430.
- [3] Guo ZR. Development of artemisinin antimalarial drugs [J]. Acta Pharm Sin (药学报), 2016, 51: 157-164.
- [4] Lan XY, Zhang Y, Zhu LB, et al. Research progress on chemical constituents from *Artemisiae Argyi Folium* and their pharmacological activities and quality control [J]. China J Chin Mater Med (中国中药杂志), 2020, 45: 4017-4030.
- [5] Sy LK, Brown GD. Three sesquiterpenes from *Artemisia annua* [J]. Phytochemistry 1998, 48: 1207-1211.
- [6] Liu C, Li Z, Lü GJ, et al. The effects of scoparone on the content of IL-4 and IFN- γ in asthmatic guinea pigs [J]. Chin Pharmacol Bull (中国药理学通报), 2003, 19: 653-655.
- [7] Wu TS, Tsang ZJ, Wu PL, et al. New constituents and antiplatelet aggregation and anti-HIV principles of *Artemisia capillaris* [J]. Bioorgan Med Chem, 2001, 9: 77-83.
- [8] Zhang B, Deng YH, Su MW, et al. Chemical composition and antioxidant, antibacterial activity of volatile oil from *Artemisia deversa* Diels [J]. Cent China Norm Univ Nat Sci (华中师范大学学报. 自然科学版), 2017, 51: 777-782.
- [9] Triana J, Eiroa JL, Ortega JJ, et al. Chemotaxonomy of *Gonospermum* and related genera [J]. Phytochemistry, 2010, 71: 627-634.
- [10] Prachayasittikul S, Suphamong S, Worachartcheewa A, et al. Bioactive metabolites from *Spilanthes acmella* Murr [J]. Molecules, 2009, 14: 850-867.
- [11] Afek U, Szejnberg A, Carmely S. 6,7-Dimethoxycoumarin, a citrus phytoalexin conferring resistance against phytophthora gummosis [J]. Phytochemistry, 1986, 25: 1855-1856.
- [12] Swislocka R. Spectroscopic (FT-IR, FT-Raman, UV absorption, ^1H and ^{13}C NMR) and theoretical (in B3LYP/6-311++ G** level) studies on alkali metal salts of caffeic acid [J]. Spectrochim Acta A, 2013, 100: 21-30.
- [13] Zhang BB, Dai Y, Liao ZX. Chemical constituents of *Saussurea eopygmaea* [J]. Chin J Nat Med, 2011, 9: 33-37.
- [14] Wang YM, Wang ZB, Sun YP, et al. Research progress on chemical structure and biological activity of sesquiterpenes [J]. Chin Tradit Herb Drugs (中草药), 2021, 52: 299-308.
- [15] Sheldrick GM. SHELXT - integrated space-group and crystal-structure determination [J]. Acta Crystallogr A, 2015, 71: 3-8.
- [16] Sheldrick GM. Crystal structure refinement with SHELX [J]. Acta Crystallogr C, 2015, 71: 3-8.