

КОЛИЧЕСТВЕННОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ СЕСКВИТЕРПЕНОВЫХ ЛАКТОНОВ БРИТАНИНА И ИНУЧИНЕНОЛИДА С В ЦВЕТКАХ ДЕВЯСИЛА БРИТАНСКОГО *INULA BRITANNICA* L. МЕТОДОМ ВЭЖХ

Дусматова Дильноза Эргашбаевна

мл. научный сотрудник Института химии растительных веществ имени академика С.Ю. Юнусова АН РУз, 100170, Узбекистан, г. Ташкент, ул. Мирзо Улугбека, 77
E-mail: doctor.dusmatova@mail.ru

Узбеков Вячеслав Вадимович

канд. хим. наук, старший научный сотрудник лаборатории химии белков и пептидов Института биоорганической химии имени академика А. С. Садыкова АН РУз, 100125, Узбекистан, г. Ташкент, ул. Мирзо Улугбека, 83
E-mail: via74@yandex.ru

Мухаматханова Римма Фаильевна

PhD, старший научный сотрудник лаборатории химии кумаринов и терпеноидов Института химии растительных веществ имени академика С.Ю. Юнусова АН РУз, 100170, Узбекистан, г. Ташкент, ул. Мирзо Улугбека, 77
E-mail: rimmaraya@rambler.ru

Бешко Наталья Юрьевна

канд. биол. наук, старший научный сотрудник Центрального гербария Института ботаники АН РУз, 100170, Узбекистан, г. Ташкент, ул. Дурмон йули, 32
E-mail: natalia_beshko@mail.ru

Джураева Лола Турабаевна

канд. хим. наук, доцент кафедры математики, физики и химии Ташкентского Государственного Аграрного Университета, 100140, Узбекистан, г. Ташкент, ул. Университетская, 2а
E-mail: doctor.dusmatova@mail.ru

QUANTITATIVE DETERMINATION OF THE SESQUITERPENE LACTONES BRITANIN AND INUCHINENOLIDE C IN *INULA BRITANNICA* L. FLOWERS BY HPLC

Dilnoza Dusmatova

junior researcher of the laboratory of chemistry of coumarins and terpenoids of the Institute of Chemistry of Plant Substances named after academicians S. Yu. Yunusov, 100170, Uzbekistan, Tashkent, Mirzo Ulugbek st., 77

Vyacheslav Uzbekov

PhD, senior researcher of the laboratory of the chemistry of Proteins and Peptides Institute of the Bioorganic Chemistry named after academicians A. S. Sadykov, 100125, Uzbekistan, Tashkent, Mirzo Ulugbek st., 83

Rimma Mukhamatkhanova

PhD, senior researcher of the laboratory of chemistry of coumarins and terpenoids of the Institute of Chemistry of Plant Substances named after academicians S. Yu. Yunusov, 100170, Uzbekistan, Tashkent, Mirzo Ulugbek st., 77

Natalia Beshko

PhD, senior researcher of the Cenral Herbarium of the Institute of Botany, 100170, Uzbekistan, Tashkent, Durmon yuli st., 32

Lola Juraeva

PhD, docent of the Department of Mathematics, Physics and Chemistry of the Tashkent State Agrarian University, 100140, Uzbekistan, Tashkent, University st., 2a

АННОТАЦИЯ

Обладая широким спектром биологической активности, сесквитерпеновые лактоны являются перспективной основой для создания новых лекарственных препаратов. Одним из богатых источников данных соединений являются растения рода *Inula* L. (девясил), в которых они представлены, в основном, биологически активными моно- и сесквитерпеноидами.

Кроме биологического действия веществ, важное значение, как в смысле оценки перспектив растения в качестве сырьевого источника, так и для его стандартизации, имеет разработка быстрых и эффективных методов количественного анализа интересующих соединений на различных этапах выделения из растительного сырья.

Этанольный экстракт цветков одного из представителей рода *Inula* L. – девясила британского *Inula britannica* методом колоночной хроматографией на силикагеле был последовательно фракционирован на хлороформную и этилацетатную фракции. С целью количественного определения сесквитерпеновых лактонов британина и инучиненолида С в образовавшихся фракциях, нами разработана сравнительно простая и быстрая методика ВЭЖХ для их одновременного анализа, основанная на использовании колонки Supelco Discovery HS C18 (4,6x75 мм), 35% ацетонитрила в 0,05% ортофосфорной кислоте в качестве мобильной фазы при скорости потока 0,7 мл/мин и детекции элюатов при 220 нм. Калибровочные прямые линейны для обоих соединений ($r \geq 0,999$) в интервале концентраций 0,25-2 мг/мл, время анализа составляет 10 мин.

В результате проведенных исследований установлено, что цветки девясила британского содержат 0,19% британина и 0,023% инучиненолида С в пересчете на сухую массу.

ABSTRACT

Since sesquiterpene lactones possess a variety of beneficial biological activities, we consider this class of compounds a promising source of novel medicinals. Among plants containing sesquiterpene lactones those belonging to the *Inula* genus may serve as an abundant source of these compounds since they are a rich source of biologically active mono- and sesquiterpenoids.

In addition to the identification and assessment of biologically active compounds constituting a plant's raw material, we want to develop efficient and reproducible methods to isolate the compounds and to determine their concentrations at various stages of plant development to maximize the isolation of desirable compounds.

To this end, we used an ethanol extract of flowers from a member of the *Inula* genus; specifically, an ethanol extract from the flowers of *Inula britannica* L. was sequentially separated by column chromatography on silica gel eluting first with chloroform and then with ethyl acetate. These fractions were found to contain the lactones - britanin and inuchinenolide C. A new rapid and reproducible HPLC method was developed for analysis of these two compounds in a single HPLC run. The method utilized an Agilent Technologies HPLC system (model 1100) using a Supelco Discovery HS C18 column (4.6x75 mm) which was developed with a mobile phase H₂O:acetonitrile (65/35 v/v) containing 0.05% H₃PO₄ at a flow rate of 0.7 ml/min. The eluates were detected with a variable wavelength detector G1314A at 220 nm. Linear regression analysis was performed using calibration standards for each compound (n=4). A calibration line was linear ($r \geq 0.999$) for both substances in concentration range from 0.25 to 2.0 mg/ml. Each analysis required less than 10 min.

Using this method we determined that the dry flowers of *Inula britannica* L. contain themselves 0.19% of britanin and 0.023% of inuchinenolide C.

Ключевые слова: *Inula britannica* L., девясил британский, высокоэффективная жидкостная хроматография, сесквитерпеновые лактоны, британин, инучиненолид С.

Keywords: *Inula britannica* L., British elecampane, high performance liquid chromatography, sesquiterpene lactones, britanin, inuchinenolide C.

Девясил – род растений семейства *Астровые* (*Asteraceae*) порядка *Астроцветные* (*Asterales*), имеет около двадцати видов, девять из которых произрастают в Узбекистане. Девясил британский *Inula britannica* L. – многолетнее растение высотой около 65 см, произрастающее во всех районах Средней Азии, кроме пустынных мест (Каракумы, Кызылкумы) на сырых лугах и среди кустарниковых зарослей на берегах рек, саев и озер, по опушкам и понижениям островных лесов от предгорий до среднего пояса гор [1, с. 456-457].

Девясил британский широко используется в народной медицине: отвар применяют как антигельминтное, тонизирующее, общеукрепляющее, стимулирующее обмен веществ, при алкоголизме, желтухе, заболеваниях печени, желудка и т.д. [2, с. 129-130].

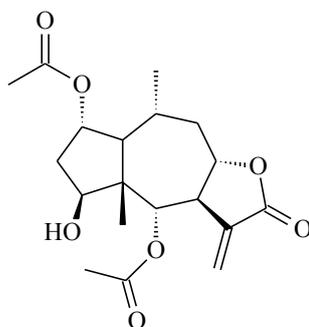
С точки зрения традиционной медицины интерес представляют содержащиеся в нем сесквитерпеновые лактоны. Обладая широким спектром биологической активности, они находят применение в фармакологии в качестве антигельминтных, противоязвенных и противоопухолевых препаратов.

Ранние фитохимические исследования листьев и соцветий девясила британского показали наличие сесквитерпеновых лактонов британина [3, с. 251-252; 4, с. 165], 3β-гидроксиэупатолида, изотелекина и его производных, 15-дезоксис-*цис,цис*-артемизиифолина, 3β-гидрокси-2α-сенециоилокси-изоаланто-лактона [5, с. 1244-1245], гайллардина [6, с. 1277-1279] и пульхеллина С [7, с. 879-880].

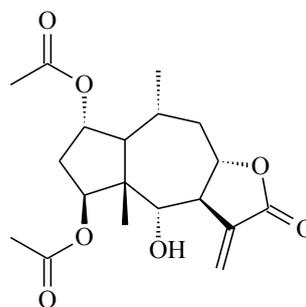
Интенсивное накопление сесквитерпенового лактона британина в тканях является видовой особенностью некоторых растений рода *Inula* L.

Известно, что сесквитерпеновый лактон британин обладает противоопухолевой активностью и ингибирует рост лимфосаркомы Плисса на 54-60% [8, с. 28].

Недавними исследованиями показано, что британин проявляет противовоспалительную и противоастматическую активности [9, с. 296], может выступать потенциальным препаратом при лечении аллергически-воспалительных болезней [10, с. 935; 11, с.



Британин



Инуниченолид С

В работе [13, с. 233-236] авторами высказана идентичность сесквитерпенового лактона инуниченолида С и эригеролида.

В связи с тем, что британин и инуниченолид С являются близкими по структуре соединениями, нами были проведены исследования по количественному определению сесквитерпеновых лактонов британина и инуниченолида С в цветках девясила британского, что является актуальным для поиска новых источников и стандартизации растительного сырья.

В последние десятилетия, благодаря совершенствованию техники, метод высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) стал одним из наиболее распространенных в области химии природных соединений и активно применяется для анализа сесквитерпеновых лактонов [14, с. 382-407].

К преимуществам ВЭЖХ (и особенно ее наиболее часто применяющегося обращено-фазного варианта – ОФ-ВЭЖХ), можно отнести высокую чувствительность, точность и воспроизводимость анализов. В отличие от своей нормально-фазовой разновидности, в которой взаимодействие веществ с высокополярным сорбентом при длительном разделении может приводить к нежелательным изменениям в их структуре или газовой хроматографии, во время проведения которой возможна термодеструкция веществ, ОФ-ВЭЖХ является достаточно быстрым и недеструктивным методом с высокой разрешающей способностью. Это имеет немаловажное значение в анализе сесквитерпеновых лактонов, предполагающем наличие лабильных и в определенном виде растения структурно близких соединений.

Целью данной работы является выделение биологически активных сесквитерпеноидных лактонов британина и инуниченолида С из цветков *Inula britannica* L., разработка метода ВЭЖХ и их анализ в

193], а также улучшает состояние при церебральном ишемическо-реперфузивном повреждении, включая Nrf2-защитный путь [12, с. 3].

Британин и эригеролид являются структурными изомерами, отличающимися местоположением ацетильной группы: у британина она находится при С6, а у эригеролида – при С4.

хлороформной и этилацетатной фракциях спиртового экстракта с целью количественного определения в исходном растительном сырье.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Идентичность сесквитерпеновых лактонов определяли сопоставлением температур плавления и ИК спектров выделенных соединений с непосредственными образцами лактонов. ИК-спектр снимали на Фурье-спектрометре фирмы Perkin-Elmer модель 2000 (KBr). Качественную идентификацию веществ на хроматограммах в процессе ВЭЖХ анализа проводили сопоставлением времен удерживания стандартных образцов и содержащих их проб в аналогичных условиях.

Видовая принадлежность определена сопоставлением собранных гербарных образцов с гербарным материалом *Inula britannica* L., хранящихся в Центральном гербарии Узбекистана (объединенные гербарии Ташкентского Государственного Университета и Института ботаники АН РУз).

Британин. Бесцветные кристаллы с т.пл. 193-194 °С. ИК спектр (ν , см^{-1}): 3529 (ОН), 3018, 2982, 2952, 2875, 1763 (C=O γ -лактона), 1726 (C=O сложного эфира), 1713 (C=O сложного эфира), 1664, 1461 (C=C), 1433, 1409, 1376, 1314, 1255 (C=C), 1161, 1098 (C-O-C), 1055 (C-O-C), 1026, 999, 980, 944, 865, 812, 682, 652, 631, 611, 548, 474.

Инуниченолид С. Порошок с кремовым оттенком с т.пл. 151-153 °С. ИК-спектр (ν , см^{-1}): 3443 (ОН), 3099, 2973, 2944, 1764 (C=O γ -лактона), 1729 (C=O сложного эфира), 1714 (C=O сложного эфира), 1662, 1466 (C=C), 1380, 1363, 1256 (C=C), 1161, 1115 (C-O-C), 1088 (C-O-C), 1063, 1037, 1023, 1009, 982, 942, 854, 825, 718, 647, 593, 539, 497, 466, 434.

Получение хлороформной и этилацетатной фракций этанольного экстракта цветков девясила британского. 250 г сухих и измельченных цветков, собранных в июне в Ташкентской области

Республики Узбекистан, заливали 95%-ным этанолом до «зеркала». Экстракцию проводили пять раз по 8 часов. Объединенные экстракты сгущали на ротаторном испарителе до малого объема. Смешивали густой экстракт с силикагелем КСК в соотношении 1:1 (вес:вес) и помещали на хроматографическую колонку с силикагелем КСК. Соотношение силикагель: сумма составляли 2:1 (вес-вес). Сначала из колонки вымывали экстракционным бензином липидоподобные соединения и эфирные масла, затем элюирование проводили последовательно хлороформом и этилацетатом. Полноту выделения фракций определяли визуально и при помощи ТСХ. Фракции сгущали и высушивали. В результате получено хлороформной фракции 3.17 г, этилацетатной фракции – 6,6 г.

ВЭЖХ анализ проводили на хроматографе **Agilent 1100** (Agilent Technologies Inc., США), оснащенном 4-х градиентным насосом **G1311A**, дегазатором **G1322A** серии **1260**, градиентным смесителем, детектором с переменной длиной волны (VWD) **G1314A** и ручным петлевым инжектором **Rheodyne 7725i** (Rheodyne, США) на колонке **Supelco Discovery HS C18** (4,6x75 мм/3 мкм), укомплектованной предколонкой **Zorbax Eclipse XDB C8** (4,6x12,5 мм/5 мкм) в следующих условиях: изократический режим, состав мобильной фазы: - 35% ацетонитрил (Chromasolv R, Sigma, Германия, содержание ацетонитрила по ГХ не менее 99,8%, пропускание при 220 нм не менее 90%) в 0,05 % водном растворе ортофосфорной кислоты pH 2,5, скорость потока 0,7 мл/мин, детектирование – спектрофотометрически при 220 нм. Объем образца 10 мкл.

Приготовление рабочих стандартных образцов (PCO) и растворов проб. Стандарты. Навески по 20 мг PCO сесквитерпеновых лактонов британина и инучиненолида С, выделенных по известным методикам [3, с. 251-252, 15, с. 757-758], количественно отвесили на аналитических весах, поместили в мерную колбу объемом 10 мл и растворили в метаноле для ЖХ (исходный стандартный раствор). Дальнейшим разведением этой смеси получили производные растворы, с концентрациями лактонов 0,25, 0,5 и 1 мг/мл, каждый из которых вместе с исходным раствором трижды анализировали методом ВЭЖХ. Полученные результаты усредняли и использовали для получения калибровочных прямых (рис. 3 а-б). Калибровочная кривая имела в указанном интервале концентраций линейный вид (коэффициенты корреляции между концентрациями и площадями пиков обоих веществ составляли не менее 0,999). Коэффициенты корреляции получали в программном пакете ChemStation for LC (ревизия А.09.03(1417) 2002 © Agilent Technologies, США)

Образцы. Навеску 20-50 мг сухого остатка, оставшегося после упаривания жидкой хлороформной или этилацетатной фракции до постоянной массы, взвешенную на аналитических весах, растворяли в метаноле для ЖХ при легком нагревании на водяной бане в таком объеме, чтобы конечная концентрация вещества была 10 мг/мл (т.е., например, 20 мг разбавляли

в 2 мл, 50 мг в 5 мл и т.д.) и анализировали методом ВЭЖХ в условиях, аналогичных анализу стандартных растворов. Концентрации лактонов рассчитывали по ранее полученным калибровочным прямым.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Сесквитерпеновые лактоны, будучи по большей части соединениями со средней полярностью, хорошо экстрагируются из растительного сырья этанолом. Выбранный для дальнейшего фракционирования растительного экстракта метод колоночной хроматографии на силикагеле позволяет разделить биологически активные соединения по полярности более тонко, получив обогащенные ими суммы. В данном случае фракционирование производили последовательно хлороформом и этилацетатом, предварительно удалив липофильные соединения бензином.

В процессе разработки количественного метода ВЭЖХ использовали 3 колонки от разных производителей, характеризующиеся одинаковым поперечным сечением, но различными длинами, зернением и природой упакованного в них сорбента: Supelco Ascentis C18 (4,6x250/5 мкм), Zorbax Eclipse XDB C8 (4,6x150/5 мкм) и Supelco Discovery HS C18 (4,6x75 мм/3 мкм). Исходя из многочисленных экспериментальных данных, фазы на основе октил- (C8) и октадецил (C18)-силикагелей не имеют различий по селективности разделения, фазы на основе C18 характеризуются лишь немного более сильным удерживанием. Эффективность разделения, как и ожидалось, была наилучшей у колонки с самым большим числом теоретических тарелок - Supelco Ascentis C18 (около 30 тыс. теоретических тарелок (ТТ)), упакованной фазой на основе C18-силикагеля; Zorbax Eclipse XDB C8 на основе октилсиликагеля (ок. 14,5 тыс. ТТ), занимала промежуточное положение. За счет вдвое меньшей длины, но более мелкого зернения сорбента (3 против 5 мкм) ей лишь незначительно уступала колонка Supelco Discovery HS C18 (ок. 11,5 тыс. ТТ, фаза C18). Однако из-за меньшей длины, время анализа, а значит и расход растворителей при ее использовании были значительно меньшими, чем на первых двух колонках. Принимая во внимания эти обстоятельства, а также тот факт, что эффективность разделения изучаемых соединений на Supelco Discovery HS C18 достаточна, мы использовали ее в качестве основы количественного метода. Время удерживания в приведенных условиях составляет для британина 5,8 мин, а для инучиненолида С – 7,1 мин. Объем вводимого образца – 10 мкл. Время анализа – до 10 мин.

Для получения калибровочных данных 4 раствора с концентрациями лактонов в пределах 0,25-2,0 мг/мл анализировали методом ВЭЖХ в описанных выше условиях (Рис. 1). Последующий анализ фракций спиртового экстракта проводили в тех же условиях, что и анализ стандартов. Расчет содержания сесквитерпеновых лактонов во фракциях спиртового экстракта вели по предварительно построенной калибровочной линии, полученной анализом известных концентраций веществ. Калибровочная таблица и прямые представлены на рисунках 2-4.

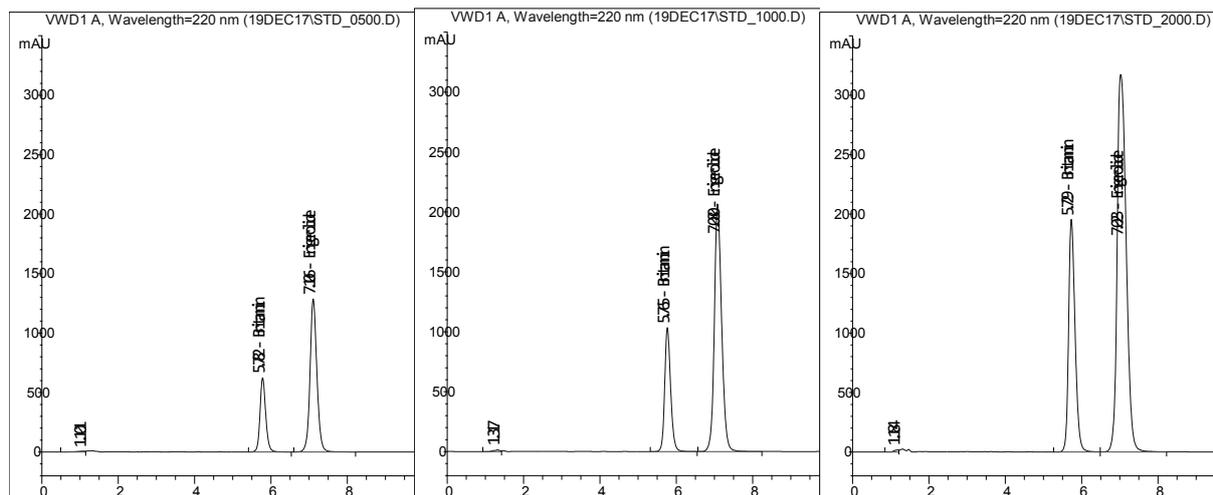


Рисунок 1. Хроматограммы PCO растворов 0,5, 1 и 2 мг/мл британина и инучиненолида С, слева направо соответственно

Calibration Table										
#	RT	Signal	Compound	Lvl	Amt[mg/ml]	Area	Rsp.Factor	Ref	ISTD	#
1	5.780	VWD1 A	Britanin	1	0.250	2882.500	8.6730e-5	No	No	
				2	0.500	6261.100	7.9858e-5			
				3	1.000	11225.000	8.9086e-5			
				4	2.000	23060.000	8.6731e-5			
2	7.107	VWD1 A	Inuchinenolide C	1	0.250	7506.100	3.3306e-5	No	No	
				2	0.500	15216.000	3.2860e-5			
				3	1.000	27588.000	3.6248e-5			
				4	2.000	52463.000	3.8122e-5			

Рисунок 2. Калибровочная таблица (скриншот)

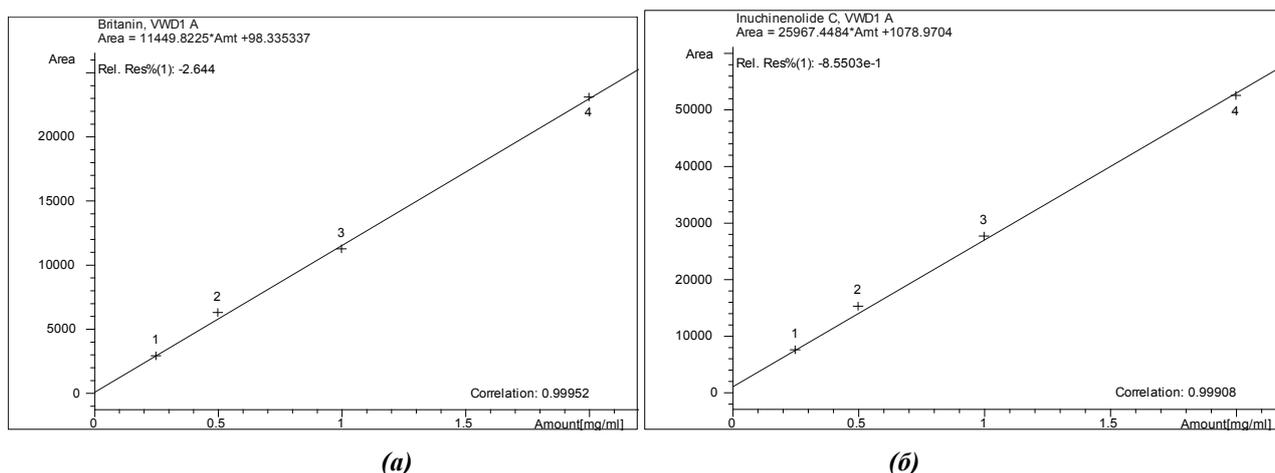


Рисунок 3. Калибровочные прямые по британину (а) и инучиненолиду С (б) при 220 нм

Как видно из рис. 3, коэффициенты корреляции между концентрациями исследуемых соединений и соответствующими им площадями пиков составляли

не менее 0,999, что свидетельствует о высокой линейности полученной калибровочной линии.

На рис. 5 и 6 представлены хроматограммы анализируемых фракций.

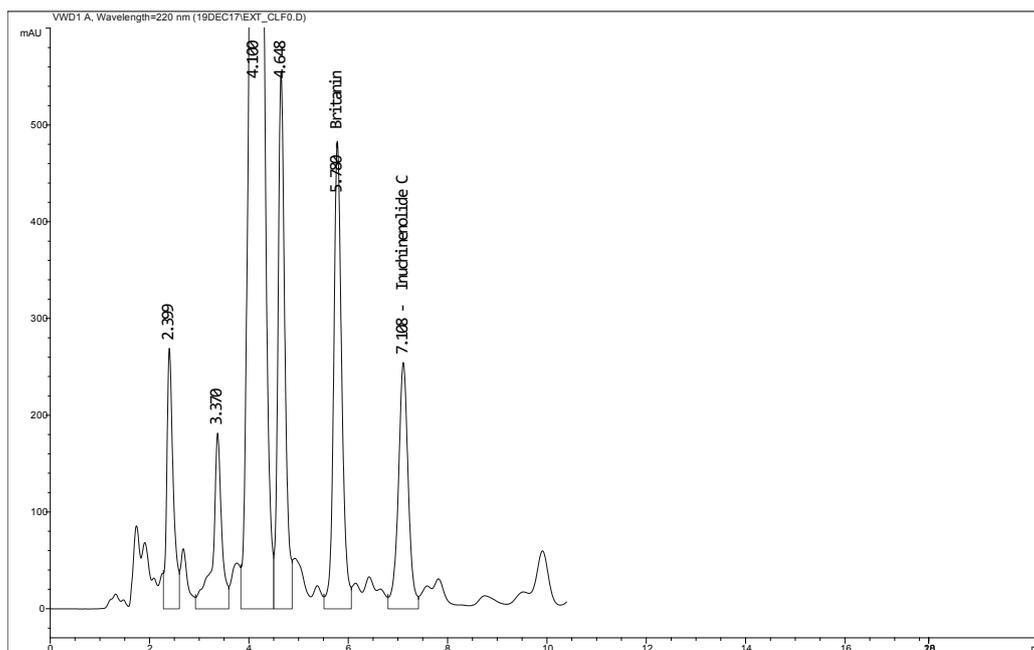


Рисунок 5. ВЭЖХ хроматограмма хлороформной фракции этанольного экстракта цветков девясила британского

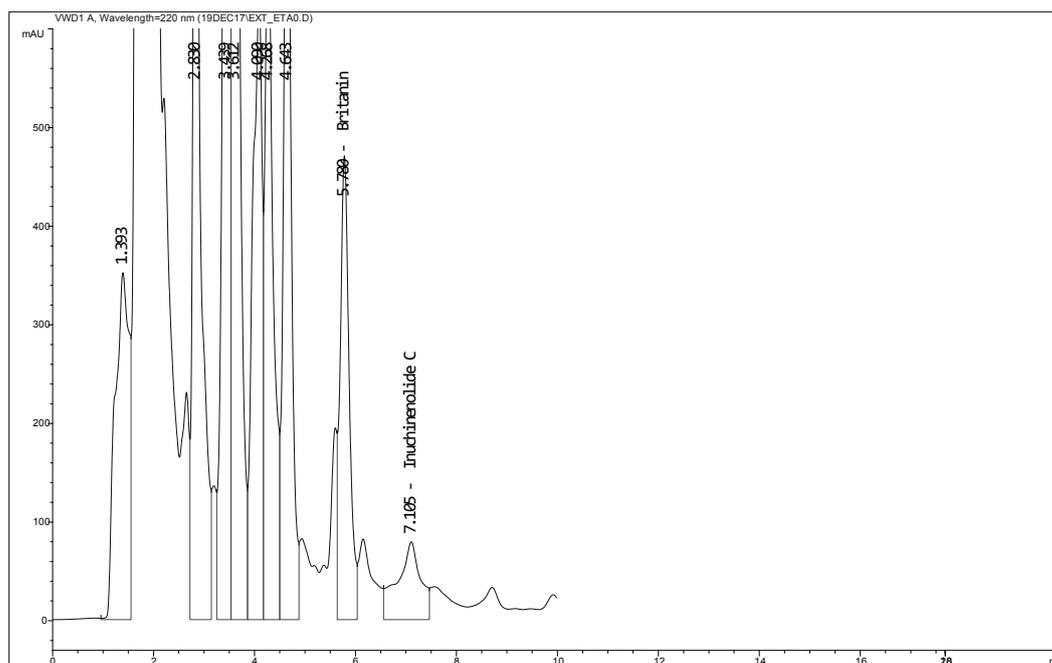


Рисунок 6. ВЭЖХ хроматограмма этилацетатной фракции этанольного экстракта цветков девясила британского

Результаты количественного анализа британина и инучиненолида С во фракциях этанольного экстракта девясила британского *Inula britannica* L., проведенного методом ВЭЖХ представлены в таблице 1.

Таблица 1.

Результаты количественного анализа британина и инучиненолида С во фракциях этанольного экстракта девясила британского *Inula britannica* L., проведенного методом ВЭЖХ*

Соединение Элюент	Содержание британина*		Содержание инучиненолида С*	
	мг/мл жидкого экстракта	% от веса высушенного экстракта	мг/мл жидкого экстракта	% от веса высушенного экстракта
Хлороформная фракция	0,48±0,03	4,8	0,12±0,01	1,2
Этилацетатная фракция	0,44±0,03	4,4	0,024±0,002	0,24
Итого в пересчете на сухое сырье (цветки)	***	0,19	***	0,023

* $P=0,95$

Сравнительный анализ хроматограмм показал, что предложенный метод фракционирования готового экстракта, позволяет получить очищенные суммы биологически активных соединений для биологических, фармакологических и медицинских задач. Причем, для практически полного извлечения инучиненолида С из спиртового экстракта, достаточно ограничиться элюированием хлороформом.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Сочетанием методов экстракции и колоночной хроматографии на силикагеле, из цветков девясила британского выделены суммы, содержащие биологически активные сесквитерпеноидные лактоны британин и инучиненолид С.

Для их одновременного количественного определения в хлороформной и этилацетатной фракциях спиртового экстракта разработана сравнительно простая, быстрая и хорошо воспроизводимая методика ВЭЖХ анализа. Калибровочные прямые для обоих соединений, полученные в результате анализа 4 стан-

дартных растворов, линейны в интервале концентраций 0,25-2,0 мг/мл (коэффициенты корреляции $r \geq 0,999$). Время анализа составляет не более 10 мин. Разработанный ВЭЖХ метод позволяет с высокой точностью определять биологически активные сесквитерпеновые лактоны британин и инучиненолид С в цветках девясила британского.

В результате проведенных исследований установлено, что в хлороформной фракции этанольного экстракта цветков девясила британского содержится британина - 4,8%, инучиненолида С - 1,2%, тогда как в этилацетатной фракции - 4,4 и 0,24%, соответственно.

В пересчете на сухое сырье (цветки) количественное содержание британина соответствует 0,19%, а инучиненолида С - 0,023%.

Таким образом, установлено, что цветки девясила британского являются перспективным источником не только британина, но и инучиненолида С.

Список литературы:

1. Определитель растений Средней Азии. Под ред. Т.А. Адылова, Т.И. Цукерванника. – Ташкент: «ФАН», 1993. – Т10. – С. 456-457.
2. Растительные ресурсы СССР. Цветковые растения, их химический состав, использование. Под ред. Соколова П.Д. – Санкт-Петербург: Наука, 1993. – Т. 7. – С. 129-130.
3. Рыбалко К.С., Шейченко В.И., Маслова Г.А., Киселева Е.Я., Губанов И.А. Британин – лактон из *Inula britannica* // Химия природ. соедин., 1968. - №4. – С. 251-252.
4. Коновалова О.А., Рыбалко К.С., Шретер А.И., Пакалн Д.А. Перспективы выявления растений на содержание сесквитерпеновых лактонов: Подтриба *Inulinae* O. Hoffm. сем. *Asteraceae* Dum. // Растит. ресурсы, 1975. – Т. 11, вып. 2. – С. 161-171.
5. Bohlmann F., Zdero C. Naturally occurring terpene derivatives: New sesquiterpene lactones and thymol derivatives from *Inula* species // *Phytochemistry*, 1977. – Vol. 16, N 8. – P. 1243-1245.
6. Pyrek J.S. Wydzielenie gailardyny z kwiatów *Inula britannica* L. // *Rocz. chem.*, 1977. – Vol. 51, fasc. 6. – P. 1277-1279.
7. Серкеров С.В., Мир-Бабаев Н.Ф. Пульхеллин С из *Inula britannica* Химия природ. соедин., 1988. - №6. – С. 879-880.
8. Адекенов С.М., Мухаметжанов М.Н., Кагарлицкий А.Д. Биологически активные сесквитерпеновые лактоны из растений Центрального Казахстана. // 7-й Сов.- инд. симпоз. по химии природ. соедин. Тбилиси, 1983. – С. 28.
9. H.-H. Park, M. J. Kim, Y. Li, Y. N. Park, J. Lee, Y.J. Lee, S.-G. Kim, H.-J. Park, J. K. Son, H.W. Chang, E. Lee. Britanin suppresses LPS-induced nitric oxide, PGE2 and cytokine production via NF- κ B and MARK inactivation in RAW 264.7 cells. // *Internat. Immunopharm.*, 2013. – V. 15. – P. 296-302
10. H.-H. Park, S.-G. Kim, Y. N. Park, J. Lee, Y.J. Lee, N.-Y. Park, K.-T. Jeong, E. Lee. Suppressive effects of britanin, a sesquiterpene compound isolated from *Inulae* flos, on mast cell-mediated inflammatory responses // *The American J. Chin. Med.*, 2014. – V. 42, N 4. – P. 935-947.

11. Y. Lu, X. Li, Y. N. Park, O.Kwon., D. Piao, Y.-Ch. Chang, Ch.-H. Kim, E. Lee, J. K. Son, H.W. Chang. Britanin suppresses IgE/Ag-induced mast cell activation by inhibiting the syk pathway. // *Biomol. Ther.*, 2014. – V. 22, N 3. – P. 193-199.
12. G. Wu, L. Zhu, X. Yuan, H. Chen, R. Xiong, Sh. Zhang, H. Cheng, Y. Shen, H. An, T. Li, W. Zhang. Britanin ameliorates cerebral ischemia-reperfusion injury by inducing the Nrf2 protective pathway // *Antioxidants and Redox Signaling*, 2016. – DOI: 10.1089/ars.2016.6885. – 66 с.
13. Махмудов М.К., Ташходжаев Б., Жонходжаева Ф.Б., Шамьянов И.Д. Псевдогвайанолиды *Inula aspera*. Пространственное строение эригеронида. // *Химия природ. соедин.*, 1993. - №2. - С. 232-237.
14. Ивасенко С.А. Высокоэффективная жидкостная хроматография природных соединений. // «Развитие фитохимии и перспективы создания новых лекарственных препаратов. – Книга 2. Биологически активные вещества из растений, их химическая модификация и биоскрининг. – Алматы: Гылым, 2004. – С. 382-407.
15. Adekenov S.M., Abdykalykov M.A., Kagarlitskii A.D., Mukhametzhanov M.N., Kupriyanov A.N., Turdybekov K.M. Sesquiterpene lactones of *Inula caspica* // *Chem. Nat. Comp.*, 1984. - №6. – С. 757-758.