

УСОВЕРШЕНСТВОВАНИЕ ПРОЦЕССА ЭКСТРАКЦИИ ЭКДИСТЕРОНА ИЗ НАДЗЕМНОЙ ЧАСТИ *Silene brahuica***Фозилова У.Ж***студент, Филиал Российского химико-технологического университета имени Д.И. Менделеева в городе Ташкент, Узбекистан***Маматханов А.У.***доктор технических наук, профессор
Институт химии растительных веществ, Узбекистан***Анисимов В.В.***кандидат технических наук,
Филиал Российского химико-технологического университета имени Д.И. Менделеева в городе Ташкент, Узбекистан***Маматханова М.А.***доктор технических наук,
Институт химии растительных веществ, Узбекистан***Халилов Р.М.***доктор технических наук,
Институт химии растительных веществ, Узбекистан***IMPROVEMENT OF THE EXTRACTION PROCESS OF ECDYSTERONE FROM THE ABOVEGROUND PART OF *Silene brahuica*****Fozilova U.***student, Branch of D. Mendeleev University of Chemical Technology of Russia in Tashkent, Uzbekistan***Mamatkhanov A.***Doctor of Technical Sciences, Professor,
Institute of Chemistry of Plant Substances, Uzbekistan***Anisimov V.***PhD, Branch of D. Mendeleev University of Chemical Technology of Russia in Tashkent, Uzbekistan***Mamatkhanova M.***Doctor of Technical Sciences,
Institute of Chemistry of Plant Substances, Uzbekistan***Khalilov R.***Doctor of Technical Sciences,
Institute of Chemistry of Plant Substances, Uzbekistan***АННОТАЦИЯ**

В данной работе исследовано влияние различных способов экстракции на выход экдистерона из надземной части *Serratula brahuica*. Несмотря на изменение условий экстракции установлено, что выход сухого экстракта и содержание экдистерона остаются практически неизменными, что свидетельствует об универсальности предложенной методики очистки. На основе сравнительного анализа расхода времени и экстрагента установлено, что наиболее оптимальным является способ трёхкратной экстракции с принудительной циркуляцией экстрагента. С помощью математического планирования экспериментов методом латинских квадратов (3×3) изучены факторы влияющие на процесс экстракции экдистерона методом принудительной циркуляции экстрагента и установлены следующие оптимальные условия: скорость циркуляции экстрагента – 60 л/ч; соотношение сырья и растворителя – 1:5. степень измельченности сырья – 4 мм. Результаты дали возможность извлечь экдистерона с выходом более 96% от содержания в сырье, при трёхкратной экстракции.

ABSTRACT

In this work, the influence of various extraction methods on the release of ecdysterone from the aboveground part of *Serratula brahuica* was investigated. Despite changes in extraction conditions, it was found that the yield of the dry extract and the content of ecdysteroid remained virtually unchanged, indicating the universality of the proposed purification method. Based on a comparative analysis of the time consumption and the extractant, it was found that the most optimal method is a triple extraction with forced circulation of the extractant. Using mathematical experimental design with the Latin square method (3×3), factors affecting the ecdysteroid extraction process through forced solvent circulation were studied: the circulation rate of the extractant is 60 l/h; the ratio of raw materials to solvent is 1:5. the degree of grinding of raw materials is 4 mm. The results made it possible to extract ecdysterone with a yield of more than 96% of the content in the raw material, with a triple extraction.

Ключевые слова: *Silene brahuica*, экдистерон, экстракция.

Keywords: *Silene brahuica*, ecdysterone, extraction.

Введение

Смолевка брагуйская (*Silene brahuica* Boiss.) — многолетнее или полукустарниковое растение семейства гвоздичных (*Caryophyllaceae*), встречается в таких странах, как Афганистан, Иран, Казахстан, Кыргызстан, Пакистан, Таджикистан, Туркменистан и Узбекистан. Этот вид привлекает внимание фармацевтов благодаря своему уникальному химическому составу. Одной из особенностей *Silene brahuica* является наличие фитоэкдистероидов, таких как экдистерон, интегристерон А, силе-неозиды (А, В, С, D, Е, F, G), которые проявляют антимикробную, антиоксидантную и противоопухолевую активность [1-10].

На основе экдистероидов надземной части (н/ч) *S. brahuica* в Институте химии растительных веществ разработан препарат «Силекбин», который представляет собой порошок светло-коричневого цвета, со слабым своеобразным запахом и горьковатым вкусом. Субстанция силекбина содержит не менее 5,0% экдистерона (2 β ,3 β ,14 α ,20R,22R,25-гексагидрокси-5 β -холестен-7-он-6; C₂₇H₄₄O₇) [11]. Изучены иммуномодулирующее [12] и адаптогенное [13] действия силекбина. Предложены следующие условия пятикратной экстракции в статических условиях: экстрагент — 90%-ный этиловый спирт, размер частиц сырья — не более 5 мм и температура процесса — 20–30°C [11].

На сегодняшний день активно разрабатываются и внедряются новые методы экстракции, направленные на усиление всех видов диффузионных процессов — так называемые динамические методы. **Динамическая экстракция** позволяет существенно повысить эффективность извлечения биологически активных веществ за счёт улучшения массопереноса и более полного контакта между фазами. **Динамическая экстракция** представляет собой процесс, при котором растворитель непрерывно прокачивается через слой экстрагируемого материала, в отличие от традиционного статического настаивания. Этот метод позволяет существенно повысить эффективность извлечения биологически активных веществ за счёт улучшения массопереноса и более полного контакта между фазами. **Преимуществом динамической экстракции является ускорение массопереноса между сырьём и растворителем; снижение времени экстракции по сравнению со статическими методами; более полное извлечение целевых компонентов; повышение производительности при масштабировании** [14, 15].

Цель исследования. Интенсификация экстракции экдистерона из надземной части *Silene*

brahuica в динамических условиях и оптимизация параметров процесса с использованием математического планирования экспериментов по методу Бокса-Уилсона.

Экспериментальная часть

Для проведения экспериментов было заготовлено сырьё из н/ч *S. brahuica*, собранной в период 22-27 июня 2024 г. в верховьях Кизилчасай и Чадаксай (южные склоны Чаткальского хребта Ташкентской области). В воздушно сухом сырьё содержание экдистерона составило — 0,3 % (C₂₇H₄₄O₇, т. пл. 240-241 °C), содержание влаги — 6,7%, золы общей — 7,2%, золы, нерастворимой в 10% растворе хлористоводородной кислоты — 0,73%, частиц, органической примеси — 1,35%; минеральной примеси — 0,76%.

Количественное определение экдистерона проводили хроматоспектрофотометрическим методом, описанным ниже.

Стеклопластиковую пластинку размером 20х20 см с закреплённым слоем силикагеля марки L5/40 μ (Чехия) делили на 5 полос. На стартовые линии первой и второй полос наносили в виде полосы длиной 2 см по 0,15 мл раствора стандартного образца (СО) экдистерона, на третью и четвертую полосы — по 0,15 мл раствора препарата, пятая полоса служит фоном (контроль).

Пластинку с нанесёнными пробами сушили на воздухе в течение 1 ч и хроматографировали восходящим способом в камере со смесью растворителей хлороформ - метанол - ацетон (6:2:1). Когда фронт растворителей достиг края пластинки, ее вынимали из камеры, сушили на воздухе в течение 1 ч, затем первую и третью полосы опрыскивали раствором ванилина в серной кислоте. На необработанной части пластинки отмечали зоны с экдистероном на уровне проявленного пятна голубого цвета и количественно переносили их и зону с контрольной полосы в колбы вместимостью 100 мл с притертыми пробками, прибавляли по 10 мл метанола и элюировали экдистерон с сорбента при непрерывном встряхивании в течение 4 ч. Элюат отфильтровывали через стеклянный фильтр пор-16 при слабом вакууме (остаточное давление 13-16 кПа) и определяли оптическую плотность на спектрофотометре при длине волны 242 нм в кювете с толщиной слоя 10 мм на фоне контрольного опыта.

Содержание экдистерона в пересчете на абсолютно-сухой препарат и на экдистерон стандарт рассчитывали по формуле 1:

$$X = \frac{D_1 \cdot m_0 \cdot 0,115 \cdot 20 \cdot 10 \cdot 100 \cdot 100}{D_0 \cdot m_1 \cdot 50 \cdot 10 \cdot 0,15 \cdot (100 - W)} = \frac{D_1 \cdot m_0 \cdot 100 \cdot 100}{D_0 \cdot m_1 \cdot (100 - W)}; \quad (1)$$

где: D_0 — оптическая плотность раствора (СО) экдистерона-стандарта; D_1 — оптическая плотность испытуемого раствора; m_0 — масса (СО) экдистерона-стандарта, в граммах; m_1 —

масса препарата, в граммах; W — потеря в массе при высушивании, в процентах.

Примечание. Приготовление раствора стандартного образца экдистерона. Около 0,05 г

(точная навеска) СО экидистерона (химически чистый) растворяют в 20 мл метанола в мерной колбе вместимостью 50 мл. Затем доводят раствор до метки тем же растворителем и перемешивают. Раствор годен в течение месяца.

Выход экстрактивных веществ определяли следующим образом: точную навеску (100 мл) спиртового экстракта помещали в предварительно высушенный и взвешенный бюкс. Бюкс с экстрактом помещали в сушильный шкаф и сушили при температуре 60 °С. При высушивании открытый бюкс вместе с крышкой помещали в эксикатор для охлаждения на 50 мин, затем закрывали и взвешивали. Первое взвешивание проводили после сушки в течение 2 ч. Последующие взвешивали после каждого часа дальнейшего высушивания. Процесс сушки проводили до постоянной массы. Массовую долю сухого остатка (в %) вычисляли по формуле 2:

$$W = \frac{m_2 - m_1}{m} \cdot 100; \quad (2)$$

где: m – навеска, г; m_1 – масса чашки, г; m_2 – масса чашки с остатком после высушивания, г.

С целью изучения влияния способа экстракции на выход сухого экстракта из н/ч *S. brahuica* и содержание экидистерона в целевом продукте образцы экстракта получили следующими способами экстракции [14, 15]:

Ремацерация (способ 1). 1 кг воздушно-сухой н/ч *S. brahuica*, измельченной до частиц размером не более 5 мм, загружали в экстрактор ёмкостью 10 л, заливали 4 л 90% этилового спирта и экстракцию вели при комнатной температуре (20 °С) в течение 6 часов. Извлечение сливали, повторяли экстракцию еще 4 раза по 3 л аналогично первой экстракции. Объединенный спиртовый экстракт в количестве 16,0 л отфильтровали и концентрировали до 0,5 л. Кубовый остаток разбавляли 0,5 л воды. Из водного раствора экидистероидов гидрофобные примеси удаляли обработкой экстракционным бензином 3 раза по 1,0 л. Затем из очищенного раствора экидистерон экстрагировали бутанолом шестикратно по 1,0 л, бутанольное извлечение упаривали при температуре не более 60 °С и вакууме 0,06-0,08 МПа. Густую массу сушили в сушильном шкафу при температуре не более 60 °С и вакууме 0,06-0,08 МПа, измельчали, просеивали и анализировали.

Экстракция в аппарате Сокслета (способ 2). В аппарат Сокслета загружали 0,1 кг сырья. В экстракционную колбу заливали 500 мл, а в сборник экстракта – 100 мл 90% этилового спирта. Оставляли на 2 часа для набухания сырья. Экстракцию вели до истощения экстрактивных веществ. Полученные экстракты объединяли, сгущали, очищали от сопутствующих веществ и сушили аналогично предыдущей методике. Полученную сухую массу измельчали, просеивали и анализировали.

Экстракция с принудительной циркуляцией экстрагента (способ 3). Эксперименты проводили в специально собранном нами экстракторе объемом 50,0 л с рубашкой для подачи пара и установленным взрывозащищенным насосом для циркулирования экстрагента. В экстрактор загружали 10,0 кг воздушно-сухой н/ч *S. brahuica*, заливали 40,0 л 90%

этилового спирта и экстракцию проводили при комнатной температуре, циркулируя экстрагент со скоростью 60 л/час. Экстрагент циркулировали вытягиванием экстракта из днища экстрактора, подавая сверху в виде душа. Каждые 20 минут отбирали образцы из экстракта и анализировали на содержание сухой массы. Первую экстракцию проводили до достижения фазового равновесия экстрактивных веществ в экстракте, затем экстракт сливали. В экстрактор заливали новую порцию очищенного 90% этилового спирта (30,0 л) и проводили экстракцию аналогично первой экстракции. Таким же образом проводили третью экстракцию. Экстракты объединяли, отфильтровывали, сгущали, очищали от сопутствующих веществ и сушили аналогично методике способа 1. Полученную сухую массу измельчали, просеивали и анализировали.

Экстракция с перемешиванием (способ 4). Для проведения экспериментов также собирали установку, которая состоит из экстрактора объемом 50,0 л, оснащенного лопастной мешалкой, вращающейся со скоростью 30 об/мин. В экстрактор загружали 10,0 кг воздушно-сухой н/ч *S. brahuica*. Затем, чтобы процесс перемешивания протекал без усилия, заливали растворитель в большем объеме, чем при выше описанных экспериментах. Таким образом, в экстрактор заливали 80,0 л очищенного 90% этилового спирта, оставляли на 1 час для набухания сырья и затем проводили экстракцию при перемешивании при комнатной температуре до достижения фазового равновесия экстрактивных веществ в экстракте, которое определяли по содержанию сухого остатка каждые 20 минут. Экстракт в количестве 65,0 л сливали. В экстрактор заливали новую порцию 90% этилового спирта (65,0 л) и проводили вторую экстракцию аналогично первой. Аналогично второй экстракции провели третью экстракцию. Далее сухой экстракт, содержащий экидестероиды, получали аналогично описанной предыдущей методике. Полученную сухую массу измельчали, просеивали и анализировали.

Результаты и их обсуждение

С изменением способа экстракции может меняться химический состав получаемого экстракта, что в какой-то степени положительно или негативно влияет на технологию получения готового продукта. Например, с изменением условий экстракции в составе экстракта может наблюдаться присутствие или отсутствие сопутствующих веществ, требующих дополнительной стадии очистки экстракта или же исключения данной стадии из технологического цикла. В связи с этим, экстракцию проводили до полного истощения экидистерона в различных условиях экстракции и очищали экидестероиды по одной методике. Результаты исследований по изучению влияния способа экстракции на выход сухого экстракта из н/ч *S. brahuica* и содержание экидистерона в целевом продукте показали, что во всех рассмотренных способах выход сухого экстракта и содержание экидестероидов в сухом экстракте почти одинаковы. Это указывает на то, что все рассмотренные способы экстракции не влияют негативно на процесс очистки экидестероидов, предложенный в [11]. Эффективность рассмотренных

способов экстракции оценили по расходу экстрагента и времени на процесс экстракции. По расходу времени удовлетворяющие результаты получили при экстракции с принудительной циркуляцией экстрагента и экстракция при перемешивании. Однако расход экстрагента при экстракции с перемешиванием в 2,1 раза больше, чем при экстракции с принудительной циркуляцией экстрагента. Кроме того, при экстракции с перемешиванием наблюдались следующие недостатки: работа мешалок способствовала повышению температуры процесса, что привело к затруднению регулирования температуры процесса. Кроме того, при интенсивном перемешивании степень измельченности сырья вы-

росла, что привело к затруднению отделения экстракта от шрота. По расходу экстрагента экстракция в аппарате Сокслета превосходит остальные рассмотренные способы, однако по расходу времени уступает способам экстракции с принудительной циркуляцией экстрагента и экстракции с перемешиванием. Необходимо отметить, что применение аппарата Сокслета в промышленных условиях имеет недостатки, такие как сложность конструкции, большие габаритные размеры и сложность загрузки и отгрузки сырья. Учитывая вышеизложенное, нами выбран способ трехкратной экстракции сырья с принудительной циркуляцией экстрагента (табл. 1).

Таблица 1

Влияние способа экстракции экидистерона из н/ч *S. brahuica* на качественные параметры готового продукта и технологические показатели процесса

Способы экстракции	Выход сухого экстракта, % к массе сырья	Содержание экидистероидов в сухом экстракте, %	Гидромодуль экстракции	Расход времени, ч
1	1,45	15,2	1:16	30,0
2	1,48	15,4	1:6	14,0
3	1,51	15,5	1:10	10,0
4	1,50	15,4	1:21	10,0

Исследование технологических процессов представляет собой трудоемкий и продолжительный экспериментальный процесс. В связи с этим важно получать как можно больше информации при минимальном числе опытов. Оптимизация экспериментальных исследований на всех этапах технологического процесса позволяет значительно повысить эффективность научной работы. В последние годы для повышения результативности в задачах оптимизации и прогнозирования химико-технологических процессов всё чаще применяются методы математического планирования эксперимента, такие как методы Бокса-Уилсона, Бокса-Бенкена, а также схемы латинских квадратов размером 3×3, 4×4 и другие [16-20]. В связи с этим для

оптимизации процесса экстракции экидистерона из н/ч *S. brahuica* способом принудительной циркуляции экстрагента эксперименты проводили согласно плану латинских квадратов по схеме 3×3.

В качестве факторов изучали следующие факторы:

A – скорость циркуляции экстрагента: $A_1=50$ л/ч; $A_2=60$ л/ч; $A_3=70$ л/ч.

B – соотношение сырья и растворителя: $B_1=1:3$; $B_2=1:4$; $B_3=1:5$.

C – степень измельченности сырья: $C_1=4$ мм; $C_2=8$ мм; $C_3=12$ мм.

Опыты проводили по плану, приведенному в табл. 2.

Таблица 2

План эксперимента			
	A_1	A_2	A_3
B_1	C_1	C_3	C_2
B_2	C_3	C_2	C_1
B_3	C_2	C_1	C_3

Во всех опытах количество сырья и метод выделения были идентичными. В опытах использовали по 0,5 кг воздушно-сухого сырья. Параметром оптимизации служил выход экидистерона от содержания в сырье при первом контакте фаз.

Результаты опытов и суммы показателей каждого фактора (T_{ij}), а также исходные данные для дисперсионного анализа представлены в табл. 3.

Таблица 3

Результаты эксперимента (среднее из двух значений) и их первичный анализ

Выход экидистерона от содержания в сырье, кг			Суммы показателей каждого фактора (T_{ij})			Средний показатель каждого фактора			Число опытов (N)	Число повторных опытов (f)
			A	B	C	A	B	C		
55,3	56,9	56,1	173,9	168,3	190,5	57,9	56,1	63,5	9	2
53,2	58,8	60,3	190,6	172,3	180,3	63,5	57,4	60,1		
65,4	74,9	71,5	187,9	221,8	181,6	62,6	70,6	60,5		

Для установления значимости влияния факторов провели дисперсионный анализ результатов экспериментов (табл. 4).

Таблица 4

Дисперсионный анализ латинского квадрата

Наименование значений при статистических анализах	Формулы	Номер формулы	Вычисленные значения
Суммы показателей каждого фактора	$T = \sum T_{ij}$	3	552,4
Средние значения суммы квадратов	T/N	4	33905,08
Дисперсия квадратов показателей всех наблюдений:	$S^2 = \sum \sum Y_{ij}$	5	34366,1
Суммы квадратов каждого фактора	$S_{a,b,c}^2 = \frac{1}{n} \sum T_{ij}^2$	6	$S_a^2 = 33958,6$ $S_b^2 = 34290,4$ $S_c^2 = 33925,6$
Общие значения суммы квадратов	$SS_{общ} = S^2 - \frac{T^2}{N}$	7	461,02
Суммы квадратов группы факторов	$SS_{a,b,c} = S_{a,b,c}^2 - \frac{T^2}{N}$	8	$SS_a = 53,5$ $SS_b = 385,3$ $SS_c = 20,5$
Остаточная дисперсия	$SS_{ост} = SS_{общ} - SS_a - SS_b - SS_c$	9	1,5
Средний квадрат каждого фактора	$S_{a,b,c} = \frac{SS_{a,b,c}}{f}$	10	$S_a = 26,79$ $S_b = 192,69$ $S_c = 10,27$
Остаточная дисперсия среднего квадрата каждого фактора	$S_{ост} = \frac{SS_{ост}}{f}$	11	0,75
Дисперсия каждого фактора	$F_{a,b,c} = \frac{S_{a,b,c}}{S_{ост}}$	12	$F_a = 35,6$ $F_b = 256,5$ $F_c = 13,6$

Для установления значимости влияния факторов провели дисперсионный анализ результатов эксперимента по Фишеру. Коэффициент значим, если его абсолютная величина (F_a, F_b, F_c) больше доверительного интервала ($F_{таб}$).

Табличное значение критерия Фишера $F_{табл.}(2,9) = 4,3$ [21].

Из табл. 4 видно, что значимыми являются все выбранные факторы.

Наибольший выход экидистерона получен при условиях $A_2B_3C_1$ (74,9%) и, соответственно, влияющие факторы были выбраны следующим образом: скорость циркуляции экстрагента – 60 л/ч; соотношение сырья и растворителя – 1:5; степень измельченности сырья – 4 мм.

Вывод

Проведённый сравнительный анализ различных методов экстракции и оптимизации процесса показал, что оптимальными условиями извлечения

экидистерона из надземной части *S. brahuica* в динамических условиях являются измельчение растительного сырья до размера частиц 4 мм и трёхкратная экстракция 90% этиловым спиртом при циркуляции экстрагента со скоростью 60 л/ч в соотношении сырья и растворителя 1:5.

Литература

1. Dzhukharova M.K., Saatov, Z., Gorovits M.B., Abubakirov N.K. Phytoecdysteroids of plants of the genus *Silene*. XVIII. 2-Deoxyecdysterone 20,22-monoacetone from *Silene brahuica* // Chemistry of Natural Compounds. 1991. Vol. 27. Pp. 207–209. DOI: 10.1007/BF00629760.
2. Sadikov Z.T., Saatov Z. Phytoecdysteroids of plants of the genus *Silene* XX. Integristerone A 25-acetate from *Silene brahuica* // Chemistry of Natural Compounds. 1999. Vol. 35. Pp. 440–441. DOI: 10.1007/BF02282513.
3. Sadikov Z.T., Saatov Z., Girault J.P., Lafont R.

- Silenoside H, a new phytoecdysteroid from *Silene brahuica* // Journal of Natural Products. 2000. Vol. 63. Pp. 987–988. DOI: 10.1021/np990609h.
4. Saatov Z., Gorovits M.B., Abdullaev N.D., Usmanov B., Abubakirov N.K. Phytoecdysteroids of plants of the genus *Silene*. IV. Sileneoside C - A galactoside of intergristerone A from *Silene brahuica* // Chemistry of Natural Compounds. 1982. Vol. 18. Pp. 193–196. DOI: 10.1007/BF00577192.
5. Saatov Z., Gorovits M.B., Abdullaev N.D., Usmanov B., Abubakirov N.K. Phytoecdysteroids of plants of the genus *Silene*. V. Sileneoside B - An ecdysterone digalactoside from *Silene brahuica* // Chemistry of Natural Compounds. 1982. Vol. 18. Pp. 578–582. DOI: 10.1007/BF00575041.
6. Saatov Z., Abdullaev N.D., Gorovits M.B., Abubakirov N.K. Phytoecdysteroids of plants of the genus *Silene*. VII. Sileneoside D – ecdysterone 3-O- α -D-galactopyranoside from *Silene brahuica* // Chemistry of Natural Compounds. 1984. Vol. 20. Pp. 700–703. DOI: 10.1007/BF00580027.
7. Dzhukarova M.K., Saatov Z., Abdullaev N.D. Phytoecdysteroids of plants of the genus *Silene* XVI. 5 α -sileneoside E From *Silene brahuica* // Chemistry of Natural Compounds. 1995. Vol. 31. Pp. 207–210. DOI: 10.1007/BF01170207.
8. Dzhukharova M.K., Saatov Z., Abdullaev N.D., Abubakirov N.K. Phytoecdysteroids of the plants of the genus *Silene* XV. Silenoside F - Brahuisterone 3-O- β -D-glucopyranoside from *Silene brahuica* // Chemistry of Natural Compounds. 1994. Vol. 30. Pp. 680–683. DOI: 10.1007/BF00630602.
9. Sadykov Z.T., Saatov Z. Phytoecdysteroids of plants of the *Silene* genus. XIX. The structure of sileneoside G. // Chemistry of Natural Compounds. 1998. Vol. 34. Pp. 602–604. DOI: 10.1007/BF02319284.
10. Dzhukharova M.K., Tashkhodzhaev B., Saatov Z., Abdullaev N.D. Phytoecdysteroids of plants of the genus *Silene* XIV. Brahuisterone from *Silene brahuica* // Chemistry of Natural Compounds. 1993. Vol. 29. Pp. 484–489. DOI: 10.1007/BF00630575.
11. Халилов Р.М., Якубова М.Р. Разработка технологии производства субстанции силекбина на основе экидистероидов надземной части *Silene brahuica* // Химия растительного сырья. 2021. №3. С. 319–327. DOI: 10.14258/jcprm.2021039119.
12. Шахмурова Г.А., Батырбеков А.А., Эгамова Ф.Р., Хушбакова З.А., Сыров В.Н. Экспериментальная оценка иммуотропного действия суммарных экидистероидсодержащих препаратов из *Silene brahuica* и *Ajuga turkestanica* // Иммунология. 2013. №1. С. 24–26.
13. Джахангирова М.А. Фармакологическое исследование суммарных экидистероидсодержащих препаратов из *Silene brahuica*, *Silene viridiflora* и *Ajuga turkestanica* в качестве актопротекторных средств: автореф. дис. ... канд. мед. наук. Ташкент, 2007. 25 с.
14. Ergasheva S.A., Mamatkhanova M.A., Nabiev A., Karimov A.M., Khalilov R.M., Mamatkhanov A.U. Development of the Flow Chart for Obtaining and Studying the Antihypoxic Activity of Dry Extracts from the Aerial Part of *Scutellaria Adenostegia* Herbs // Pharmaceutical Chemistry Journal. 2021. Vol. 55. Pp.580–584. <https://doi.org/10.1007/s11094-021-02462-5>.
15. Акбаров Н.А., Маматкулов З.У., Саноев А.И., Халилов Р.М., Сагдуллаев Ш.Ш. Интенсификация процесса экстракции глицирризиновой кислоты из подземной части *Glycyrrhiza glabra* // Фармацевтический журнал. 2024. №06. С. 41–48.
16. Бабин А.В., Ракипов Д.Ф. Организация и математическое планирование эксперимента. Екатеринбург, 2014. С. 85–94.
17. Hajibaev T.A., Khalilov R.M. The Process Optimization of Furostanol Saponins Extraction from the Aerial Part of *Tribulus Terrestris* // International Journal of Scientific Research in Chemical Sciences. 2023. Vol.10 (6). P.1–7.
18. Анисимов П.Н. Об использовании методики планирования эксперимента в соответствие с трехуровневыми планами Бокса-Бенкена // Вестник магистратуры. 2017. №2–2 (65). С. 32–36.
19. Маматханов А.У., Хажобаев Т.А., Халилов Р.М. Технология получения суммы иридоидов из отходов переработки надземной части *Ajuga turkestanica* // Химия растительного сырья. 2023. №3. С. 293–302. DOI: 10.14258/jcprm.20230311829.
20. Кариева Ё.С., Садикова Р.К., Каримов О.У., Нуридуллаева К.Н. Изучение процесса экстракции изосалипурпозидов из цветков бессмертника самаркандского // Химия растительного сырья. - 2024. - №1. - С.354–361. DOI: 10.14258/jcprm.20240112033.
21. Ахназарова С.Л., Кафаров В.В. Оптимизация эксперимента в химии и химической технологии. Москва. 1978. 319 с.