TECHNICAL SCIENCES

OPTIMAL CONDITIONS FOR EXTRACTION OF POLYSACCHARIDES FROM *F. kuhistanica* MEAL

Mamatkhanova Munirakhon
Doctor of Technical Sciences, Institute of Chemistry of Plant Substances
Khalilov Ravshanjon
Doctor of Technical Sciences, Professor, Institute of Chemistry of Plant Substances
Rakhmanberdyeva Rano
Doctor of Chemical Sciences, Professor, Institute of Chemistry of Plant Substances
Mamatkhanov Akhmatkhon
Doctor of Technical Sciences, Professor, Institute of Chemistry of Plant Substances
Botir Abduazimov
Doctor of Philosophy (PhD) in Technical Sciences, Institute of Chemistry of Plant Substances
Temur Khajibaev
Doctor of Philosophy (PhD) in Technical Sciences, Institute of Chemistry of Plant Substances
Sagdullaev Shomansur Shohsaidovich
Doctor of Technical Sciences, Academic, Institute of Chemistry of Plant Substances

ОПТИМАЛЬНЫЕ УСЛОВИЯ ЭКСТРАКЦИИ ПОЛИСАХАРИДОВ ИЗ ШРОТА *F. kuhistanica*

Маматханова Мунирахон Ахматхон кизи
доктор технических наук, Институт химии растительных веществ АН РУз
Халилов Равшанжон Муратджанович
доктор технических наук, профессор, Институт химии растительных веществ АН РУз
Рахманбердиева Рано Каримовна
доктор химических наук, профессор, Институт химии растительных веществ АН РУз
Маматханов Ахматхон Умарханович
доктор технических наук, профессор, Институт химии растительных веществ АН РУз **Абдуазимов Ботир Баходирович**
доктор философии (PhD) по техническим наукам, Институт химии растительных веществ АН РУз
Хажибаев Темур Атаханович
доктор философии (PhD) по техническим наукам, Институт химии растительных веществ АН РУз
Сагдуллаев Шамансур Шахсаидович
доктор технических наук, академик, Институт химии растительных веществ АН РУз

Abstract

This study presents the results of optimizing the extraction conditions for water-soluble polysaccharides (WSPS) from the marc of the aerial parts of *Ferula kuhistanica* Eug. Kor., a by-product generated during the production of the veterinary drug "Kufestrol" after extraction with 90% ethanol. It was established that aqueous extracts of the marc exhibit pronounced prebiotic activity, which justified the selection of water extraction at room temperature as the basis for obtaining the "Arbifilan" substance.

Three extraction methods were investigated: static infusion, extraction with mechanical stirring, and extraction with forced circulation of the extractant. The highest yield of WSPS (7.62%) and extractive substances (12.16%) was achieved using the forced circulation method with water (hydraulic module 1:18, circulation rate 80 L/h). Optimal time parameters were determined: 4 hours for the first extraction stage, and 3 hours each for the second and third stages.

These findings formed the basis for developing a technology to produce the prebiotic substance "Arbifilan" with high biological activity, suitable for applications in the pharmaceutical, food, and veterinary industries.

Аннотация

В данной работе представлены результаты оптимизации условий экстракции водорастворимых полисахаридов (ВРПС) из шрота надземной части *Ferula kuhistanica* Eug. Kor. отхода, образующегося при производстве ветеринарного препарата «Куфэстрол» после экстракции 90%-ным этиловым спиртом. Установлено, что водные экстракты шрота обладают выраженной пребиотической активностью, что определило выбор водной экстракции при комнатной температуре как основы для получения субстанции «Арбифилан».

Исследовано три метода экстракции: статическое настаивание, экстракция с механическим перемешиванием и экстракция с принудительной циркуляцией экстрагента. Наибольший выход ВРПС (7,62%) и экстрактивных веществ (12,16%) достигнут при использовании метода с принудительной циркуляцией воды (гидромодуль 1:18, скорость циркуляции 80 л/ч). Определены оптимальные временные параметры: 4 часа для первого слива, по 3 часа для второго и третьего.

Полученные результаты легли в основу технологии получения пребиотической субстанции «Арбифилан» с высокой биологической активностью, для применения в фармацевтической, пищевой и ветеринарной промышленностях.

Ключевые слова: *Ferula kuhistanica*, шрот, водорастворимые полисахариды, оптимизация экстракции, принудительная циркуляция.

Keywords: *Ferula kuhistanica*, meal, water-soluble polysaccharides, extraction optimization, forced circulation.

Введение

Ferula kuhistanica Eug. Kor. – ферула кухистанская – многолетнее растение, высота которого достигает до 170 см. Ферула кухистанская распространена в Средней Азии в горах Памир-Алая и Тянь-Шаня. Это растение произрастает на щебнистых склонах, осыпях, в зарослях кустарников, на высоте 900-3500 м над уровнем моря [1].

В Узбекистане ферула кухистанская произрастает на Алайском, Зарафшанском и Гиссарском хребтах Самаркандской и Ферганской областей. На этих площадях ежегодно можно проводить промышленную заготовку этого растения в количестве – 133,3 т сухой массы в год, не нанося ущерба естественным запасам.

Комплексное исследование корней и надземной части растения ферулы кухистанской выявило, что растение содержит сложные эфиры терпеноидных спиртов (СЭТС), основными из которых являются ферутинин, ферутин, теферин, акиченин, ферутидин, тенуферидин [2-4]. Корни также содержат эфирное масло (0,42-0,71%) [5].

Помимо СЭТС надземная часть (н/ч) ферулы кухистанской содержит эфирные масла (0,6-0,7%), такие как α-пинен, β-пинен, камфен, Δ^3-карен, лимонен, кариофиллен, каламенен, кумарины умбеллиферон, скополетин. Авторами [6] впервые изучены эфирное масло и липиды листьев *Ferula kuhistanica,* произрастающей в Узбекистане. Содержание эфирного масла и липидов в листьях (от сухой массы) составило 0,56% и 4,20% соответственно. ГХ/МС анализом установлен состав эфирного масла, состоящий из 51 компонента, при этом доминирующими являются монотерпеновые углеводороды с наибольшим содержанием α-пинена (72,9%), β-пинен, лимонен, метил карвакрол, *n*-цимен и мирцен содержатся в эфирном масле в количестве более 1%. Компонентами нейтральных липидов являются свободные жирные кислоты, фитостеролы, каротиноиды, хлорофилловые пигменты. Содержание нейтральных липидов, гликолипидов и фосфолипидов в листьях *F. kuhistanica* от воздушно-сухой массы составило 2,36%, 1,63% и 0,21% соответственно. В состав жирных кислот входят 12 насыщенных и 9 ненасыщенных компонентов, домининрующим компонентом среди насыщенных кислот является пальмитиновая (19%).

Из н/ч *F. kuhistanica* выделены водорастворимые полисахариды (ВРПС), пектиновые вещества (ПВ) и гемицеллюлозы (ГМЦ), в частности, высокоэтерифицированные пектиновые вещества. Содержание углеводов в н/ч *F. kuhistanica* от 0,79 до 9,12% и распределение их в листьях и стеблях неодинаковое. Наибольшее накопление ВРПС, ПВ и ГМЦ наблюдается в листьях *F. kuhistanica.* Моносахаридный состав выделенных полисахаридов представлен кислыми сахарами, такими как галактуроновая, глюкуроновая и нейтральными сахарами. ВРПС-Г листьев *F. kuhistanica* по моносахаридному составу это глюкогалактоарабаны. Они, в основном, содержат арабинозу и галактозу, в стеблях преобладают глюкоза, галактоза, манноза, арабиноза [7, 8].

Преобладающее количество ПВ также наблюдалось в листьях и стеблях, моносахаридный состав которых представлен арабинозой, рамнозой, галактозой. Также установлено, что главной углеводной цепью пектиновых веществ *F. kuhistanica* являются фрагменты галактуронанов, состоящие из α-1,4 связанных остатков D-галактуроновой кислоты, отдельные участки имеют ответвления в виде сахаров. ГМЦ, выделенные из листьев и стеблей *F. kuhistanica,* представляют собой коричневые порошки, не растворимые в воде, полностью растворимые в разбавленных щелочах. Выход их находится в пределах 5,7-8,7%. ГМЦ листьев *F. kuhistanica* отличаются повышенным содержанием арабинозы, ксилозы и галактозы, тогда как ГМЦ стеблей – рамнозы и галактозы [9, 10].

Смола этого лекарственного растения в народной медицине применяется при сахарном диабете, различных видах проктологических проблем, как противовоспалительное, противоопухолевое средство. В ветеринарии смолу используют как ранозаживляющее, при опухолях, а также в качестве слабительного. Плоды ферулы кухистанской обладают трихомоностатическими свойствами. Выявлена антибактериальная активность сесквитерпеновых производных, выделенных из плодов *F. kuhisutanica* [11, 12].

Производное сесквитерпенов кухистаферон, выделенное из плодов ферулы кухистанской, произрастающей в Узбекистане, показал умеренную цитотоксическую активность против человеческих раковых клеток кишечника типа HCT116 [13].

Показано, что экстракт *F. kuhistanica* проявляет избирательную противовирусную активность и, в основном, действует на вирус гриппа штамма A/Vlad/2/09(H1N1) [14].

Выявлены и охарактеризованы пребиотические свойства ВРПС и пектинов, выделенных из н/ч ферулы кухистанской, дана характеристика их иммунологических свойств. ВРПС позволяют повысить качество профилактики и терапии нарушений микрофлоры кишечника среди различных слоев населения. Предложен новый метод повышения эффективности технологии производства пробиотиков, сущность которого заключается во внесении пектиновых полисахаридов из *F. kuhistanica* в качестве субстрата (пребиотика) на этапе приготовления питательных сред для селекции местных пробиотических штаммов бифидобактерий и лактобацилл [15]

На основе смеси СЭТС из н/ч ферулы кухистанской создан препарат куфэстрол для нужд птицеводства, который рекомендован для увеличения яйценоскости птиц [16-18].

После извлечения СЭТС из шрота н/ч ферулы кухистанской выделены ВРПС, обладающие пребиотической активностью, на основе которых разработана новая субстанция «Арбифилан», обладающая пребиотической активностью [10, 19, 20].

Изучение пребиотической активности Арбифилана проведено на ассоциации из местных штаммов бифидобактерий: *Bifidobacterium longum* 17х и *Propionibacterium avidum* 1, которые составляют основу препарата "Бифидумбактерин PL", а также штаммах *Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus* 906, *Lactobacillus rhamnosus* 925ak. Питательная среда для бифидобактерий была основана на стандартной среде *Blaurock* (Hi-Media, Индия), для лактобацилл - на бульоне MRS (HiMedia, Индия). В стерильную питательную среду был добавлен Арбифилан, а также яблочный пектин для сравнения. Конечная концентрация составляла 0,25%. Инокулят, полученный путем выращивания бифидо- и лактобактерий в бульоне MRS в течение 24 ч при 38°С, добавлен в количестве 1 мл на 9,0 мл питательной среды. Штаммы бифидобактерий и *L. rhamnosus* выращены при (38±1)°С, *Lactobacillus delbrueckii subsp.* штамм *bulgaricus* 906 выдержан при 43°С в анаэростате в атмосфере азота в течение 24 ч. При этом учитывалось количество живых клеток в 1 мл культивируемой среды (lg КОЕ/мл). Эксперименты проводились в пяти повторах. Результаты были обработаны статистически с использованием t-критерия Стьюдента. Установлено, что арбифилан влияет на рост ассоциативной культуры бифидобактерий и некоторых моноштаммов лактобацилл и показано, что он проявляет более эффективную пребиотическую активность [10, 20].

Цель работы – подбор условий экстракции водорастворимых полисахаридов из шрота надземной части *Ferula kuhistanica,* после экстракции 90%-ным этиловым спиртом, для создания технологии получения пребиотической субстанции «Арбифилан».

Материалы и методы исследований

Шрот н/ч ферулы кухистанской, в качестве отхода производства субстанции ветеринарного препарата «Куфэстрол» в «Научно-технологическом центре по требованиям GMP» Института химии растительных веществ, выбрасывается как отход производства после экстракции 90%-ным этиловым спиртом при комнатной температуре и после регенерации спирта [18, 21].

Первичные анализы шрота показали, что после регенерации этилового спирта в шроте остается до 20% влаги в том числе этиловый спирт. В связи с этим, шрот н/ч ферулы кухистанской сушили на установке с принудительной вентиляцией воздуха при следующих условиях: толщина слоя растительного сырья на противне сушилки – 10 см; скорость подаваемого воздуха – 8 м/с; температура процесса – не более 60 ºС; продолжительность процесса – не менее 6 ч [22].

После сушки содержание влаги в шроте н/ч ферулы кухистанской составило 6,7%.

Биологические исследования показали, что водные экстракты, полученные при комнатной температуре, показали высокую пребиотическую активность. Исходя из этого, выбрана технология производства субстанции Арбифилана, которая заключается в экстракции шрота ферулы кухистанской водой при комнатной температуре и сушке водного экстракта.

С целью выбора оптимального способа экстракции ВРПС из шрота ферулы кухистанской, сырье экстрагировали следующими различными способами [23, 24]:

Способ-1. 10,0 кг шрота ферулы кухистанской загружали в экстрактор и заливали 60,0 л очищенной воды, настаивали в течение 6 часов при комнатной температуре. Экстракт сливали в количестве 40,0 л и в экстрактор заливали 40,0 л новой порции очищенной воды, проводили экстракцию аналогично первой экстракции. Таким же образом проводили третью и четвертую экстракции. Соотношение растительного сырья и экстрагента (гидромодуль) при трехкратной экстракции составило 1:18. Экстракты отфильтровывали, объединяли, концентрировали и сушили при температуре 60°С и вакууме -0,8…-0,6 кгс/см^2.

Способ-2. В экстрактор с установленным насосом для циркулирования экстрагента загружали 10,0 кг шрота ферулы кухистанской, заливали 60,0 л воды, экстракцию проводили, циркулируя экстрагент со скоростью 100 л/час. Экстрагент циркулировали вытягиванием экстракта из днища экстрактора, подавая сверху в виде душа. Первую экстракцию проводили в течение 5 часов, затем экстракт сливали в количестве 40,0 л. В экстрактор заливали новую порцию очищенной воды (40,0 л) и проводили экстракцию аналогично первой экстракции. Таким же образом проводили третью и четвертую экстракции (общий гидромодуль 1:18). Полученные экстракты объединяли, отфильтровывали, концентрировали и сушили по методу, описанному в способе 1.

Способ-3. В экстрактор, оборудованный мешалкой, загружали 10,0 кг шрота ферулы кухистанской, для обеспечения свободного вращения мешалки заливали 100,0 л воды. Затем включали мешалку, вращающуюся со скоростью 50 об/мин, и экстракцию проводили при комнатной температуре в течение 5 часов. После истечения времени мешалку отключили, экстракт сливали в количестве 80,0 л. В экстрактор заливали новую порцию очищенной воды (80,0 л) и проводили вторую экстракцию аналогично первой экстракции. Аналогично второй экстракции проводили третью и четвертую экстракции (общий гидромодуль 1:34). Полученные экстракты сушили, как описано в способе 1.

Изучение влияние скорости циркуляции экстрагента на процесс экстракции ВРПС из шрота ферулы кухистанской проводили по следующей методике: по 10, кг шрота ферулы кухистанской четырехкратно экстрагировали водой при комнатной температуре, циркулируя экстрагент с различной скоростью. Экстракцию при каждом контакте фаз проводили в течение 5 часов. Полученные экстракты объединяли, отфильтровывали и анализировали.

Продолжая исследования по установлению оптимальных условий экстракции, нами изучена динамика экстракции ВРПС из шрота ферулы кухистанской способом экстракции с принудительной циркуляцией экстрагента. Для этого в экстрактор (объемом 50,0 л) с установленным насосом для циркулирования экстрагента загружали 10,0 кг сырья, заливали 50,0 л воды (гидромодуль 1:5) и экстракцию проводили при комнатной температуре, циркулируя экстрагент со скоростью 80 л/час. Во время экстракции каждые 30 мин отбирали образец и анализировали выход экстрактивных веществ. Процесс экстракции остановили при достижении фазового равновесия. Далее проводили вторую, третью и четвертую экстракции аналогично первой.

Результаты и обсуждение

Результаты экспериментов выбора оптимального способа экстракции ВРПС из шрота ферулы кухистанской показали, что в способе 1 (экстракция в статистических условиях) выход экстрактивных веществ и ВРПС меньше, чем при остальных рассмотренных способах. Удовлетворяющие результаты получили при экстракции способом 2 (экстракция с принудительной циркуляцией экстрагента) и способом 3 (экстракция с перемешиванием). Однако расход экстрагента при экстракции с перемешиванием больше почти в 2 раза. Кроме того, при экстракции с перемешиванием наблюдали следующие недостатки: работа мешалок способствовала повышению температуры процесса, затрудняя регулирование температуры процесса; при интенсивном перемешивании степень измельченности сырья выросла, что привело к затруднению отделения экстракта от шрота. Исходя из вышеизложенного, для извлечения ВРПС из шрота ферулы кухистанской выбрали экстракцию с принудительной циркуляцией экстрагента (табл. 1).

Таблица 1

Влияние способа экстракции на выход экстрактивных веществ и ВРПС из шрота ферулы кухистанской

Способы экстракции	Выход, % к массе сырья		Гидромодуль экстракции
	экстрактивные вещества	ВРПС	
1	10,35	5,90	1:18
2	12,16	7,62	1:18
3	12,05	7,48	1:34

Исследования по изучению влияния скорости циркуляции экстрагента на процесс экстракции ВРПС из шрота ферулы кухистанской показали, что после циркуляции экстрагента со скоростью 80л/ч выход экстрактивных веществ снижется. Такое, снижение объясняется тем, что циркуляция экстрагента со скоростью более 80 л/ч приводит к уплотнению растительного сырья, что в свою очередь ведет к неравномерной циркуляции экстрагента. Этот недостаток можно устранить увеличением размера измельченности сырья. Однако в наших исследованиях это невозможно, так как сырьё измельчается до экстракции СЭТС. В связи с этим, для извлечения ВРПС из шрота ферулы кухистанской выбрали экстракцию с принудительной циркуляцией экстрагента со скоростью 80 л/ч (рис.1).

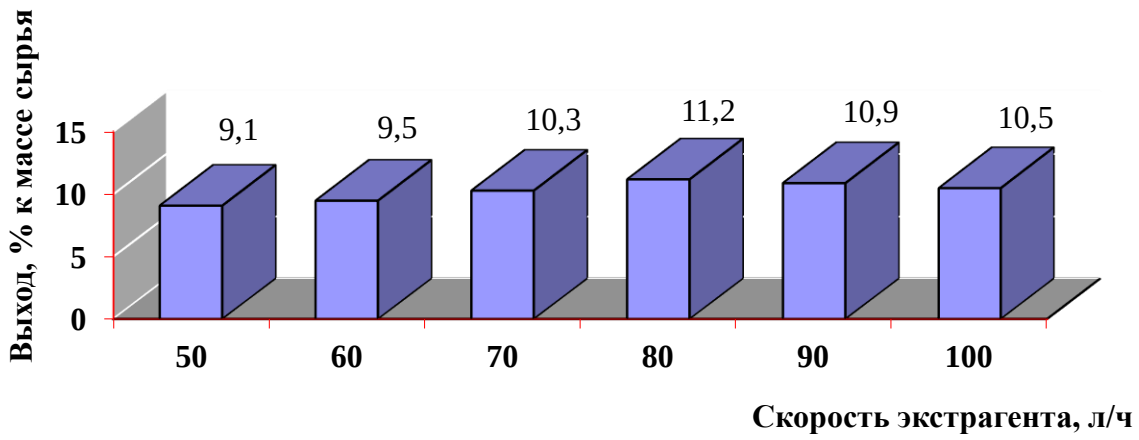
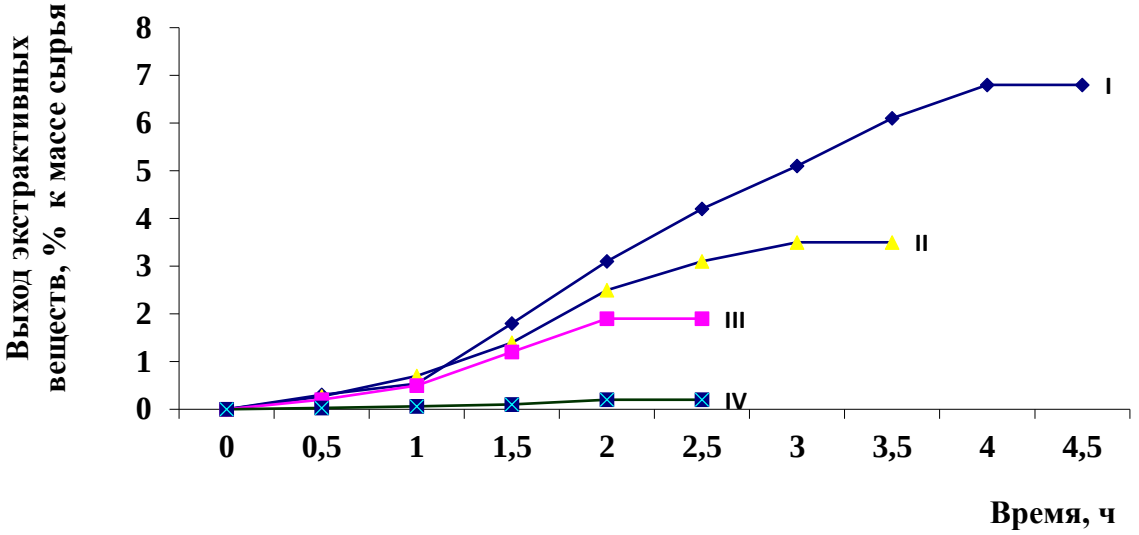


Рис. 1. Влияние скорости циркуляции экстрагента на выход экстрактивных веществ из шрота ферулы кухистанской

Результаты исследований по установлению оптимальных условий экстракции отображены в виде диаграммы (рис. 2).



I – первый контакт фаз; II - второй контакт фаз;
III - третий контакт фаз; IV - четвертый контакт фаз

Рис. 2. Выход экстрактивных веществ во времени из шрота ферулы кухистанской при экстракции с принудительной циркуляцией экстрагента

Из рис. 2 видно, что кривые экстракции представляют собой типичные изотермы, стремящиеся к равновесию. Причем, необходимое время настаивания при первом контакте фаз составило 4 часа, при втором контакте фаз достигается через 3 часа, при третьем и четвертом – 2 часа. Из рис. 2 также видно, что при первом контакте фаз выход экстрактивных веществ в течение первого часа низкий. Это объясняется тем, что первый час расходуется для набухания сырья. При четвертом контакте фаз выход экстрактивных веществ незначительный, основная их часть извлекается за три слива. При этом выход составляет 96,7% от содержания в сырье. Таким образом, установили, что экстракцию ВРПС водой из шрота ферулы кухистанской способом экстракции с принудительной циркуляцией экстрагента необходимо проводить трехкратно. При этом первую экстракцию необходимо проводить в течение не менее 4х часов, вторую и третью – по 3 часа.

Вывод

Экстракция ВРПС из шрота *Ferula kuhistanica* с принудительной циркуляцией экстрагента (гидромодуль 1:18, скорость 80 л/ч) обеспечивает наибольший выход (7,62% ВРПС, 12,16% экстрактивных веществ) при трехкратной экстракции: 4 часа для первого слива, по 3 часа для второго и третьего, что превосходит статическую экстракцию и экстракцию с перемешиванием.

Финансовая поддержка. Данная работа финансировалась за счет средств базового финансирования Института химии растительных веществ.

Литература

1. Мукумов И.У., Нормухаммедова Ф.Ш. *Ferula kuhistanica* Korov. в Самаркандской области

(химический состав и запасы) // Вестник науки. 2019. № 6 (15). Т.1. С. 73-77.

2. Маматханова М.А., Ахмедова Х., Котенко Л.Д., Жауынбаева К.С., Маликова М.Х., Рахманбердыева Р.К., Халилов Р.М., Маматханов А.У. Стандартизация надземной части *Ferula Kuhistanica* // Фармацевтический вестник Узбекистана. 2017. №4. С. 18-23.

3. Бабеков А.У., Саидходжаев А.И., Кенешов Б.М. Сложные эфиры *Ferula kuhistanica* // Химия природных соединений. 2000. № 2. С. 174.

4. Eshbakova K.A. Complex Esters of Ferula Kuhistanica // 1st Inter. Symp. on Edible Plant Resources and the Bioactive Ingredients: Proceed. of the symp. 2008. Urumqi, P. 225.

5. Хакимжонов Л.С., Мукумов И.У., Расулова З.А. Род Ferula L. во флоре Зарафшанского хребта // Вестник науки. 2020. №3 (24). Т.1. С. 111 - 116.

6. Asilbekova D. T., Ozek G., Ozek T., Bobakulov Kh. M., Baser K. H. C., Sagdullaev Sh. Sh. Essential Oil and Lipids from Leaves of *Ferula kuhistanica* // Chemistry of Natural Compounds. 2019. V 55 (6). P. 993–998.

7. Ёркулов З.Э., Маликова М.Х., Рахманбердиева Р.К. Углеводы *Ferula kuhistanica* // Тез. докл. конф. «Актуальные проблемы химии, физики и технологии полимеров». 9-10 ноября 2009. Ташкент. С. 164.

8. Erkulov Z.E., Malikova M.K. Rakhmanberdyeva R.K. Carbohydrates from the aerial part of *Ferula kuhistanica* and *F. tenuisecta* // Chemistry of Natural Compounds. 2011. V 47, P. 182–184.

9. Azizov D.Z., Rakhmanberdyeva R. K., Malikova M. Kh. Influence of seasonal dynamics on the content of polysaccharides in the aerial part of *Ferula kuhistanica //* 14th International Symposium « The Chemistry of Plant Substances». 2021. Tashkent. P.78.

10. Rakhmanberdyeva R.K., Shashkov A.S., Bobakulov Kh.M., Azizov D.Z., Malikova M.Kh., Ogay D.K. The structure and prebiotic activity of arabinogalaktan from *Ferula Kuhistanica* // Carbohydrate research. 2021. V 505; 108342. P. 1-10.

11. Халифаев П.Д. Перспективы изучения растения *Ferula kuhistanica* как местного сырья для фармации (сообщение 1) // Наука и инновация, серия естественных наук. 2017. №1. С. 19 – 23.

12. Khojimatov O.K., Bussmann R.W. *Ferula assa-foetida* L., *Ferula foetida* (Bunge) Regel, *Ferula foetidissima* Regel & Schmalh., *Ferula karelinii* Bunge, *Ferula kuhistanica* Korovin, *Ferula moschata* (H. Reinsch) Koso-Pol., *Ferula tadshikorum* Pimenov, *Ferula tenuisecta* Korovin, *Ferula varia* (Schrenk) Trautv. – Apiaceae. Ethnobiology of Uzbekistan. Ethnobiology. Springer, Cham. 2023. P. 359-371.

13. Tamemoto K., Takaishi Y., Kawazoe K., Honda G., Ito M., Kiuchi F., Takeda Y., Kodzhimatov O.K., Ashurmetov O., Shimizu K., Nagasawa H., Uto Y., Hori H. An unusual sesquiterpene derivative from *Ferula kuhistanica* // Journal of Natural Products. 2002. V. 65(9). P. 1323-1324.

14. Саторов С., Мавлоназарова С.Н., Юсуфи С.Д. Вирусингибирующий эффект растения вида Ferula Kuhistanica Korovin, произрастающего в высокогорных условиях Республики Таджикистан // Здравоохранение Таджикистана. 2023. №2. С. 100-105.

15. Исламова Ж.И. Фармакологическая оценка антипаразитарной и пребиотической активности растительных веществ терпеноидной, полифенольной и углеводной природы // Автореф. дис. … докт. мед. наук. Ташкент: Ташкентская медицинская академия, 2020. 62с.

16. Халилов Р.М., Маматханова М.А., Маматханов А.У., Назруллаев С.С., Ахмедходжаева Х.Г. Получение средства, обладающего эстрогенным действием, из надземной части *Ferula kuhistanica* // Матер. конф. «Создание сырьевых лекарственных ресурсов, субстанций, диагностических, лечебно-профилактических средств и их применение в медицине и ветеринарии». 2008. Самарканд, С. 131-132.

17. Маматханова М.А., Халилов Р.М., Маматханов А.У., Сотимов Г.Б. Очистка сложных эфиров из ферулы кухистанской от нейтральных органических примесей // Тез. докл. конф. «Актуальные проблемы химии природных соединений». 18-19 марта 2009. Ташкент. С. 81.

18. Маматханова М.А., Халилов Р.М., Котенко Л.Д., Маматханов А.У. Технология получения куфэстрола из надземной части *Ferula kuhistanica //* Химия и химическая технология. 2017. №3. С.66-69.

19. Akhmedova Kh.Kh., Mamatkhanova M.A., Islamova J., Malikova M.Kh., Shevchenko L.I., Ogay D.K., Rakhmanberdyeva R.K., Khushbaktova Z.A., Syrov V.N. Polysaccharides *Ferula kuhistanica* and their biological activity //11th Inter. Symp. on the Chemistry of Natural Compounds. 1-4 October 2015. Antalya, P. 164.

20. Ахмедова Х., Исламова Ж.И., Саидходжаева Д.М., Маликова М.Х., Огай Д.К., Элова Н.А., Рахманбердыева Р.К., Сыров В.Н., Хушбактова З.А., Халилов Р.М., Маматханова М.А., Сагдуллаев Ш.Ш. Способ получения арабиногалактана, обладающего пребиотической активностью // Патент РУз № IAP 05620. Бюллетень № 7. 2018.

21. Халилов Р.М., Маматханов А.У., Маматханова М.А., Котенко Л.Д., Ахмедходжаева Х.С., Саидходжаев А.И., Сагдуллаев Ш.Ш., Нигматуллаев А.М., Абдуллаев Н.Д., Сыров В.Н., Назруллаев С.С., Хушбактова З.А. Способ получения средства, обладающего эстрогенной активностью// Патент РУз № IAP 04422. Бюллетень №10. 2011.

22. Эгамова Ф.Р., Хажибаев Т.А., Юсупова С.М., Абдурахманова Т.Д., Халилов, Р.М. Создание нового лекарственного средства для лечения заболеваний почек на основе *Tribulus terrestris* // Eurasian Journal of Medical and Natural Sciences. 2024. Vol. 4. Issue 2 (special issue). P. 131–133.

23. Fozilova U., Mamatkhanov A., Anisimov V., Mamatkhanova M., Khalilov R. Improvement of the extraction process of ecdysterone from the above-ground part of Silene brahuica // Sciences of Europe.

2025, № 165. P. 13–18.

24. Akbarov N.A., Mamatqulov Z.U., Sanoyev A.I., Xalilov R.M., Sagdullayev Sh. Sh. *Glycyrrhiza glabra* yer osti qismidan glitsirrizin kislotasini ekstraksiya qilishni jadallashtirish // farmatsevtika jurnali. 2024. №6. B. 41-48.