PHARMACEUTICALS

OPTIMAL CONDITIONS FOR THE EXTRACTION OF THE SUM OF FLAVONOIDS FROM THE AERIAL PART OF *AMMOTHAMNUS LEHMANNII* AND PURIFICATION OF THE ALCOHOL EXTRACT FROM THE ACCOMPANYING SUBSTANCES THAT GIVE A GREEN COLOUR

Mamatkhanova M.,
Doctor of Philosophy in Technics,
Institute of the Chemistry of Plant Substances, Uzbekistan
Rakhimova K.,
Tashkent Pharmaceutical Institute, Uzbekistan
Azimova K.
Tashkent Pharmaceutical Institute, Uzbekistan
Ravshanjon Kh.,
Doctor of Technical Sciences,
Institute of the Chemistry of Plant Substances, Uzbekistan
Mamatkhanov A.,
Doctor of Technical Sciences, Professor
Institute of the Chemistry of Plant Substances, Uzbekistan
Khalilova N.
Doctor of Philosophy in Pharmacy,
The Republican Center for Hour Experertice

ОПТИМАЛЬНЫЕ УСЛОВИЯ ЭКСТРАКЦИИ СУММЫ ФЛАВОНОИДОВ ИЗ НАДЗЕМНОЙ ЧАСТИ *AMMOTHAMNUS LEHMANNII* И ОЧИСТКИ СПИРТОВОГО ЭКСТРАКТА ОТ СОПУТСТВУЮЩИХ ВЕЩЕСТВ, ПРИДАЮЩИХ ЗЕЛЕНУЮ ОКРАСКУ

Маматханова М.А.
кандидат технических наук,
Институт химии растительных веществ, Узбекистан
Рахимова К.А.
Ташкентский фармацевтический институт, Узбекистан
Азимова К.Б.
Ташкентский фармацевтический институт, Узбекистан
Халилов Р.М.
доктор технических наук,
Институт химии растительных веществ, Узбекистан
Маматханов А.У.
доктор технических наук, проф.
Институт химии растительных веществ, Узбекистан
Халилова Н.Ш.
кандидат фармацевтических наук,
Республиканский центр судебной экспертизы
https://doi.org/10.5281/zenodo.7997581

Abstract

The stages of extraction of the sum of flavonoids from the aerial parts of *Ammothamnus Lehmannii* and purification of the resulting extract were studied, which subsequently allow to obtain the final substance without green colouring. The optimal adsorbent is activated carbon and its amount for removing the green color of the water-alcohol extract from the raw materials used have been determined. For intensive extraction of the sum of flavonoids from the aerial parts of *Ammothamnus Lehmannii*, an extraction method with forced circulation of the extractant was used. Based on the research results, a fourfold extraction of the sum of flavonoids from the aerial part of *Ammothamnus Lehmannii* was proposed by infusion at the first contact of the phases – 4 hours, at the second and third - 3 hours each, at the fourth – 2 hours. At the same time, it is possible to extract at least 95% of the amount of flavonoids from the content in the raw material.

Аннотация

Изучены стадии экстракции суммы флавоноидов из надземной части *Ammothamnus Lehmannii* и очистки полученного экстракта, позволяющие в последующем получить конечную субстанцию без зеленой окраски. Определен оптимальный адсорбент – активированный уголь и его количество для удаления зеленой окраски водно-спиртового экстракта из используемого сырья. Для интенсивного экстрагирования

суммы флавоноидов из надземной части *Ammothamnus Lehmannii* применен метод экстракции с принудительной циркуляцией экстрагента. Исходя из результатов исследований, предложена четырехкратная экстракция суммы флавоноидов из надземной части *Ammothamnus Lehmannii* настаиванием при первом контакте фаз – 4 часа, при втором и третьем - по 3 часа, при четвертом – 2 часа. При этом можно извлечь не менее 95 % суммы флавоноидов от содержания в сырье.

Keywords: *Ammothamnus Lehmannii*, flavonoids, ammothamnidine, lemanine, extraction, purification, activated carbon.

Ключевые слова: *Ammothamnus Lehmannii*, флавоноиды, аммотамнидин, леманин, экстракция, очистка, активированный уголь.

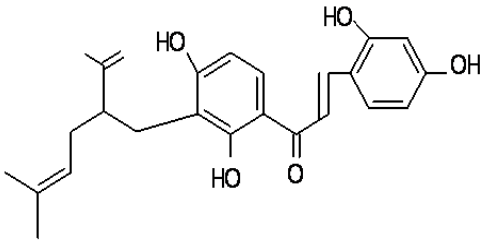
Введение

Ammothamnus Lehmannii Bunge – аммотамнус Лемана из семейства *Fabaceae* (бобовые) – невысокий кустарник 50-100 см высоты с сильно разветвленным от основания стеблем. Молодые ветви серебристо-белые от густого опушения из прижатых волосков. Листья непарноперистые, серебристо-белые. Венчик белый. Боб шелковистый. *Ammothamnus Lehmannii* произрастает на песках и по гравельно-галечниковым субстратам. Растение цветет в апреле-мае, плодоносит в мае-июне. Распространен в Узбекистане в Бухарской и Сурхандарьинской областях [1].

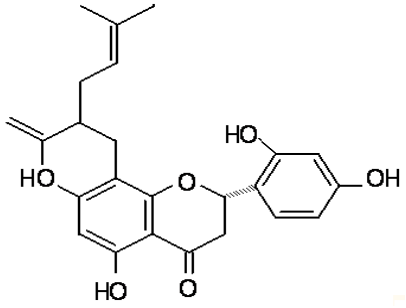
Корни аммотамнуса Лемана содержат 4,7-5,1 % органических кислот, такие как лимонная, яблочная, винная, щавелевая, молочная, янтарная, малиновая, а также фенолкарбоновые кислоты и их производные: n-гидрооксибензойная, протокатеховая, фуруловая [2]. Алкалоиды составляют 0,12-0,72%: N–окись матрина, софокарпидин, матрин, софокарпин, цитизин, леманин, N–окись леманина [3, 4]. В корнях этого растения из флавоноидов изолированы аммотамнидин, кверцетин, лютеолин, леманин [5-8].

Надземная часть (н/ч) *Ammothamnus Lehmannii* содержит 0,6-4,4 % алкалоидов (пахикарпин, софокарпин, аммотамнин, N–окись матрина, матрин, софокарпидин, цитизин) [3, 4, 9, 10], 4,79-6,43 % органических кислот (яблочная, лимонная) [2], 4% красителей [11] и 0,5-1% флавоноидов (лютеолин, кверцетин, рутин, изокверцетин, цинарозид) [8, 12].

В лаборатории химии кумаринов и терпеноидов Института химии растительных веществ (ИХРВ) АН РУз из корней *Ammothamnus Lehmannii* выделены флавоноиды леманин (1) и аммотамнидин (2) [7, 8].



1



2

Отвар, полученный из *Ammothamnus Lehmannii*, в народной медицине используется при лечении ревматизма [13]. Выделенный алкалоид сафокарпин имеет ганглиоблокаторные свойства [14].

На основании проведенных исследований показано выраженное антигельминтное действие суммы флавоноидов из корней *Ammothamnus Lehmannii* [15, 16].

Флавоноиды (леманин, аммотамнидин), выделенные из *Ammothamnus Lehmannii*, показали высокую лечебную активность при лечении гепатита и язвы кишечника [17].

Цель исследования

Изучение стадии экстракции суммы флавоноидов из надземной части *Ammothamnus Lehmannii* и удаление примесей, придающих зеленый оттенок.

Экспериментальная часть

Для проведения экспериментов было заготовлено сырье – надземная часть (н/ч) *Ammothamnus Lehmannii*, собранная в период 20 апреля – 10 мая 2021 года в Бухарской области Республики Узбекистан, на северном склоне горы Кульджуктау, в окрестности Жаманжар сая. Высушенные корни 2-5 см длиной, 4-7 мм в диаметре, на поперечном срезе округлые. Поверхность корней продольно-морщинистая. Кора темно- или красновато-бурого цвета. От основного корня отходят во все стороны многочисленные тонкие придаточные корни. Поверхность неочищенных корней красновато-бурого цвета, продольно-морщинистая. Запах слабый своеобразный, вкус горьковатый.

В используемом при экспериментах нами сырье содержание суммы флавоноидов составило – 0,5 % по отношению к стандартному образцу леманина (определение проводили по методике, описанной в [18]), влажность – 9,6% (ГФ XI, вып. 1, с. 285); содержание золы общей – 6,8% (ГФ XI, вып. 2, с. 24); золы, нерастворимой в 10% растворе хлористоводородной кислоты – 1,8% (ГФ XI, вып. 2, с. 25); других частей растения (листьев, черешков, в том числе отделенных при анализе) – 2,8% (ГФ XI, вып. 1, с. 275); частиц, не проходящих сквозь сито с отверстиями диаметром 7 мм, - 10% (ГФ XI, вып. 1, с.

275); частиц, проходящих сквозь сито с отверстиями диаметром 0,5 мм, - 5% (ГФ XI, вып. 1, с. 275)); органической примеси – 1,5% (ГФ XI, вып. 1, с. 276); минеральной примеси – 1,6% (ГФ XI, вып. 1, с. 276).

Количественное определение суммы флавоноидов в образцах осуществляли по следующей методике: Около 0,050 г растертого в ступке и предварительно высушенного до постоянной массы препарата (точная навеска) растворяют в 30 мл 95% этилового спирта в мерной колбе вместимостью 50 мл, доводят объем раствора тем же растворителем до метки и перемешивают (раствор А). 1,0 мл раствора А переносят в мерную колбу вместимостью 25 мл, доводят объем раствора тем же растворителем до метки и перемешивают (раствор Б).

Измеряют оптическую плотность полученного раствора Б на спектрофотометре при длине волны 288 нм±2 нм (lg E 4,09) в кювете с толщиной слоя 10 мм.

В качестве раствора сравнения используют 95% этиловый спирт.

Содержание суммы флавоноидов в пересчете на леманин-стандарт в сухом препарате в процентах (X) вычисляют по формуле:

$$X = \frac{a_0 \cdot 0{,}25 \cdot 50 \cdot 25 \cdot D \cdot 100}{100 \cdot 25 \cdot a \cdot 025 \cdot D_0} = \frac{a_0 \cdot D \cdot 50}{a \cdot D_0};$$

где: *a_o – масса СО леманина в граммах; а – масса препарата в граммах; D_o – оптическая плотность раствора СО леманина; D – оптическая плотность раствора препарата.*

Приготовление раствора СО леманина. Около 0,050 г леманина (точная навеска), предварительно высушенного при температуре 100 – 105 °С в течение 3 часов, растворяют в мерной колбе вместимостью 100 мл в 95% спирте, доводят тем же растворителем до метки и перемешивают. Раствор годен в течение 1 месяца.

0,25 мл полученного раствора переносят в мерную колбу вместимостью 25 мл, доводят до метки тем же растворителем и перемешивают (раствор используют свежеприготовленным).

Изучение стадии экстракции суммы флавоноидов из н/ч *Ammothamnus Lehmannii* и очистки полученного экстракта, позволяющие в последующем получить продукт без зеленой окраски проводили на основе методики приведенные в [19]

Эксперименты по изучению экстракции суммы флавоноидов из н/ч *Ammothamnus Lehmannii* в различных условиях проводили следующим образом. По 1 кг растительного сырья семикратно экстрагировали, настаивая по 8 часов при комнатной температуре. Выход действующих веществ определяли в каждом сливе экстракта. В следующих экспериментах сырьё экстрагировали в динамических условиях. Экстракты объединяли и анализировали.

Экстракция в динамических условиях (Экстракция с перемешиванием). В экстрактор с установленным насосом для циркулирования экстрагента загружали 10,0 кг сырья, заливали 60,0 л 70%-ного этилового спирта и 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 70%-ного этилового спирта (40,0 л) и проводили экстракцию аналогично первой экстракции. Таким же образом проводили третью и четвертую экстракции. Полученные экстракты отфильтровывали, объединяли и анализировали.

Экстракция в динамических условиях (Экстракция с принудительной циркуляцией экстрагента). В экстрактор, оборудованный мешалкой, загружали 10,0 кг сырья, для обеспечения свободного вращения мешалки заливали 100,0 л 70%-ного этилового спирта. Затем включали мешалку, вращающуюся со скоростью 70 об/мин, и экстракцию проводили в течение 5 часов. После истечения времени мешалку отключали, затем экстракт сливали в количестве 80,0 л. В экстрактор заливали новую порцию 70%-ного этилового спирта (80,0 л) и проводили экстракцию аналогично первой. Таким же образом проводили третью и четвертую экстракции. Полученные экстракты отфильтровывали, объединяли и анализировали.

Изучение динамики экстракции суммы флавоноидов из надземной части *Ammothamnus Lehmannii*, проводили по следующей методике. Процесс экстракции проводили аналогично по методу экстракции с принудительной циркуляцией экстрагента. Во время экстракции каждые 30 мин отбирали пробу и анализировали выход сухих веществ. Процесс экстракции остановили по достижении фазового равновесия.

Результаты и их обсуждение

Действующим веществом субстанции препарата «Лемарин» является сумма флавоноидов (леманин, аммотамнидин и др.).

По органолептическим и физико-химическим показателям субстанция препарата «Лемарин» должна отвечать следующим требованиям: порошок красновато-коричневого цвета со специфическим слабым запахом, растворима в спирте 96% (ГОСТ 5962-2013) и метаноле (ГОСТ 6995-77), практически нерастворима в воде (ФС.2.2.0020.15) (ГФ XI, вып. 1, с. 175). Потеря в массе при высушивании должна быть не более 1,0% (ГФ XI, вып.1, с.176). Сульфатная зола из 1 г препарата (точная навеска) не должна превышать 1,0% (ГФ XI, вып. 2, с. 25). Тяжелые металлы не более 0,001% (ГФ XI, вып. 1, с. 165).

При промышленной заготовке растительного сырья корней растений надземные части выбрасываются. Однако н/ч *Ammothamnus Lehmannii* содержит те же флавоноиды, которые имеются в корнях. Кроме того, надземная часть растения, будучи ежегодно возобновляемым источником сырья, имеет значительные преимущества перед подземными органами. Поэтому для полноценного использования растения мы исследовали н/ч *Ammothamnus Lehmannii*, являющуюся отходом при заготовке корней, планируя ее в качестве дополнительного

сырьевого источника получения субстанции препарата «Лемарин». Известно, что надземные части и подземные органы растения различаются по химическому составу, что влияет на изменения в технологии получения целевого продукта. Кроме того, н/ч растений содержат пигментные вещества, которые в последующем придают зеленую окраску получаемым продуктам.

В химико-фармацевтической промышленности при производстве продуктов, которые хорошо растворяются в органических растворителях (хлороформ, этилацетат и. др.) часто возникают проблемы очистки экстракта от сопутствующих веществ, придающих им зеленую окраску.

С этой проблемой столкнулись при разработке технологии получения субстанции препарата «Лемарин», действующим веществом, которого является сумма флавоноидов (леманин, аммотамнидин и др.). Эти флавоноиды хорошо растворимы в органических растворителях, таких как этиловый спирт, метиловый спирт, хлороформ, этилацетат, бутанол, не растворимы в гексане, экстракционном бензине и петролейном эфире. Экстракционная способность бензина и гексана недостаточна для удаления хлорофиллов и других пигментных веществ.

Для удаления сопутствующих веществ из экстракта методом осаждения снижают концентрацию спирта. Для этого спиртовый экстракт сгущают, затем к кубовому остатку добавляют равный объем воды либо суспензию различных адсорбентов и тщательно перемешивают.

Для интенсификации процесса в качестве адсорбента или осветлителя в основном используют фильтровальную бумагу, размоченную в воде, суспензию талька, каолина, бентонита, порошка целлюлозы и др., которые адсорбируют на своей поверхности взвешенные частицы, пигменты, смолы. При этом большинство балластных веществ коагулируются и быстрее оседают на дно. Жидкость затем отстаивают, балластные вещества фильтруют или центрифугируют. Использовать этот метод очистки можно при получении веществ, которые хорошо растворяются в воде и спирте, а также их смесях (сапонины, танины, гликозиды и др.).

Для удаления сопутствующих веществ, придающих зеленую окраску, методом жидкостно-жидкостной экстракции сгущенный экстракт обрабатывают органическими растворителями, которые не смешиваются с водой. В качестве растворителя часто используют хлороформ, этилацетат, дихлорметан и др. Данный метод можно использовать при получении веществ, которые не растворяются в выше указанных органических растворителях.

Использование вышеуказанных методов удаления зеленой окраски в экстракте из н/ч *Ammothamnus Lehmannii* невозможно, так как по первому методу аммотамнидин и леманин выпадают в осадок вместе с сопутствующими веществами. При обработке густого экстракта органическими растворителями по второму методу, наряду с сопутствующими веществами, в растворитель переходят и аммотамнидин, и леманин.

Зеленая окраска спиртовых экстрактов из надземных частей растения в основном обусловлена присутствием хлорофиллов и других пигментных веществ. Зеленая окраска в экстрактах появляется при экстракции этанолом с концентрацией выше 50%. Учитывая это, предложен способ очистки от сопутствующих веществ, придающих зеленую окраску [19], заключающийся в следующем: экстракция н/ч лекарственного растения проводится этиловым спиртом с концентрацией 60-75% с последующим удалением зеленой окраски водно-спиртового экстракта обработкой активированным углем.

При очистке от примесей, придающих зеленый оттенок экстракта из н/ч *Ammothamnus Lehmannii,* применяли этот метод очистки. С этой целью изучены стадия экстракции суммы флавоноидов из н/ч *Ammothamnus Lehmannii* и очистки полученного экстракта, позволяющие в последующем получить продукт без зеленой окраски.

Изучение влияния концентрации спирта при обработке экстрактов активированным углем на зеленую окраску показало, что зеленая окраска экстрактов после обработки активированным углем удаляется при использовании в качестве экстрагента этилового спирта с концентрацией 70-75%.

На втором этапе изучали количество активированного угля, необходимого для удаления зеленой окраски экстрактов. Установили, что для удаления зеленой окраски в экстракте из н/ч *Ammothamnus Lehmannii* активированный уголь необходимо добавлять в количестве 2 % к сухому остатку экстракта.

Эксперименты по изучению влияния продолжительности обработки водно-спиртовых экстрактов активированным углем на удаление зеленой окраски показали, что для полного удаления зеленой окраски экстракта из н/ч *Ammothamnus Lehmannii* необходимо обрабатывать активированным углем не менее 6 часов.

При применении вышеописанной методики экстракцию нужно проводить этиловым спиртом с концентрацией 70-75 %. Однако, это может привести к уменьшению выхода действующих веществ, так как эти соединения плохо растворяются в водно-спиртовых смесях. Этот недостаток можно устранить интенсификацией процесса экстракции.

На основании результатов изучении стадии экстракции суммы флавоноидов из н/ч *Ammothamnus Lehmannii* в различных условиях установили, что при экстракции исследуемых растений 70%-ным этиловым спиртом, можно достичь выделения действующих веществ более 90%, экстрагируя сырье семикратно или интенсифицируя процесс экстракции (табл. 1).

Как известно, большинство настоек, выпускаемых в фармацевтической промышленности, имеют зеленую окраску, удаление которой приводит к улучшению товарного вида продукта. Для решения этой задачи предлагается использовать разработанную методику очистки экстрактов активированным углем.

Таблица 1

Экстракция н/ч *Ammothamnus Lehmannii* 70%-ным этиловым спиртом

Способ экстракции	Выход суммы флавоноидов, % от содержания в сырье
Пятикратная экстракция	72,1
Шестикратная экстракция	83,8
Семикратная экстракция	94,8
Экстракция с перемешиванием	95,2
Экстракция в системе подвижного экстрагента	96,4

Изучение динамики экстракции суммы флавоноидов из н/ч *Ammothamnus Lehmannii* показало, что при первом контакте фазовое равновесие фактически достигается через 5 часов, однако выход флавоноидов после 4 часов меняется несущественно (рис. 1).

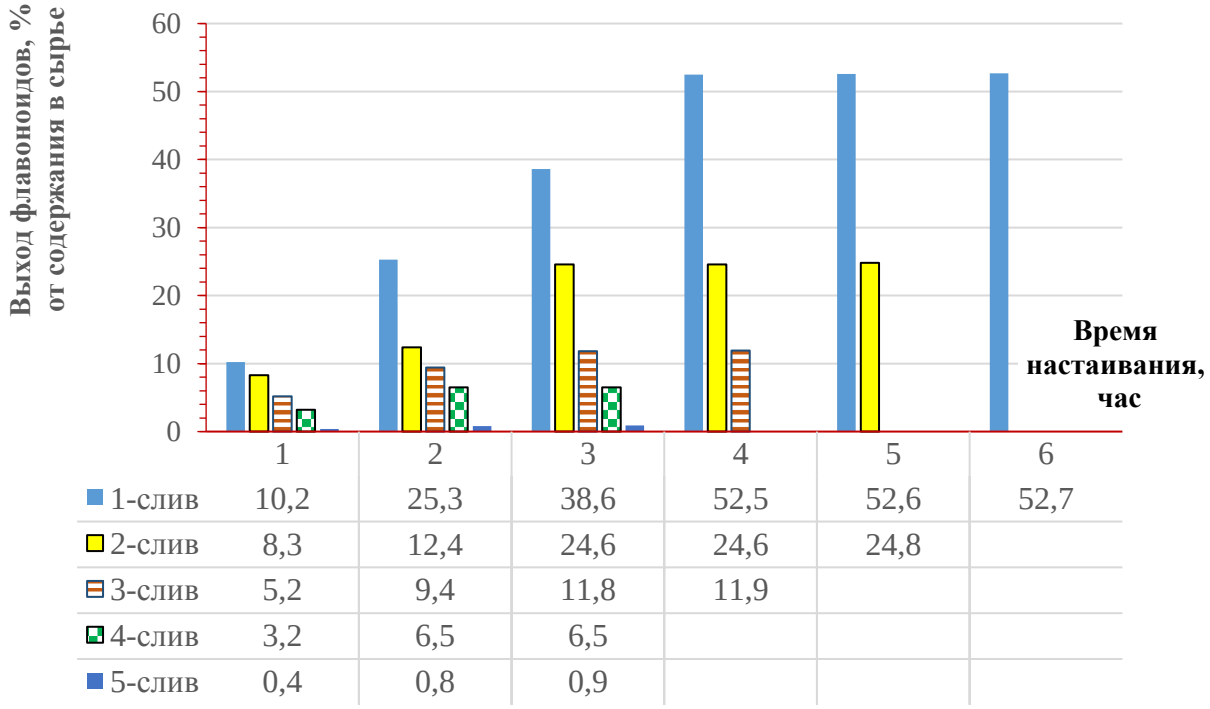


Рис.1. Динамика экстракции флавоноидов 70%-ным этиловым спиртом из н/ч Ammothamnus Lehmannii

Кроме того, по истечении первого часа при первом контакте фаз выход флавоноидов был низким. Это объясняется тем, что в период первого часа протекает процесс набухания сырья. Необходимое время настаивания при втором и третьем контактах фаз составило 3 часа, при четвертом – 2 часа (рис. 1).

Из рис. 1 также видно, что основная часть флавоноидов извлекается за четыре слива экстракта и выход составляет 96,5% от содержания в сырье. Таким образом установили, что экстракцию флавоноидов 70%-ным этиловым спиртом методом экстракции с принудительной циркуляцией экстрагента необходимо проводить четырехкратно. При этом время первой экстракции должно составлять не менее 4х часов, второй и третьей экстракций - по 3 часа, четвертой – 2 часа.

Водно-спиртовые экстракты после удаления зеленой окраски сгущают, разбавляют водой в объемном соотношении 1:1 и сумму флавоноидов пятикратно извлекают *н*-бутанолом методом жидкостно-жидкостной экстракции. Бутанольный экстракт сгущают, растворяют 3% водным раствором КОН. Полученный раствор нейтрализуют 5%-ным водным раствором HCl до значения pH 5-7. При этом флавоноиды выпадают в осадок. Осадок фильтруют, промывают дистиллированной водой, затем сушат на воздухе в течение суток, измельчают, повторно сушат при температуре 40-50 °С. При этом выход лемарина составляет 0,3% от массы сырья.

Список литературы:

1. Растительные ресурсы / Абдукадиров И.К. и др.; – Ташкент: Наука, 1987. –С. 192-193.

2. Саттикулов А., Абдуллаев Ш.В., Батиров Э.Х., Курбатов Ю.В. Органические кислоты Ammothamnus Lehmannii Bge // Химия природ. соед. – Ташкент, 1982, –№5. –С. 648.

3. Кушмурадов Ю.К., Асланов Х.А., Кучкаров С. Исследование алкалоидов Ammothamnus Lehmannii // Химия природ. соед. – Ташкент, 1975. –№13. –С. 377-380.

4. Садыков А., Лазурьевский Г.Б. Об алкалоидах Ammothamnus Lehmannii Bge // Журн. общ. химии. 1943, –Т.13, –вып. 4-5. –С. 314-318.

5. Саттикулов А., Абдуллаев Ш.В., Курбатов Ю.В., Козырева Г.Ф., Садиков А.С. Химический состав красильных растений Ammothamnus Lehmannii Bge. и Sophora pachycarpa C.A. May. // Узб. хим. журн. –Ташкент, 1983, –№5. –С. 11-15

6. Хушбактова З.А., Сыров В.Н., Юлдашев М.П., Турсунова Н.В. Выделение, структурные исследования и противоязвенная активность леманина и аммотамнидина, выделенных из Ammothamnus Lehmannii // Хим. фарм. журн. – Москва, 2010. –№2. – С.16-18.

7. Саттикулов А., Абдуллаев Ш.В., Батиров Э.Х., Курбетов Ю.В., Маликов В.М., Вдовин А.Д., Ягудаев М.Р. Строение нового халкона аммотамнидина из Ammothamnus Lehmannii // Химия природ. соед. –Ташкент, 1983. –№4. –С. 445-449.

8. Батиров Э.Х., Юсупова С.С., Саттикулов А., Вдовин А.Д., Маликов В.М., Ягудаев М.Р. Флавоноиды Ammothamnus Lehmannii. Строение леманина и аммотмнидина // Химия природ. соед. –Ташкент, 1987. –№5. –С. 516-523.

9. Лазурьевский Г.В., Садыков А.С. Химический анализ Ammothamnus Lehmannii Bge. // Бюллетень Средн. Азии, 1938. –№ 22. –С. 171-175.

10. Акрамов С.Т., Киямитдинова Ф., Юнусов С.Ю. Исследование алкалоидов Ammothamnus Lehmannii Bge. // Докл. АН УзССР. –Ташкент, 1961. –№3. –С. 32-33

11. Саттикулов А. Химическое изучение красильных растений Ammothamnus Lehmannii Bge и Vexibia pachycarpa Jakovl. // Автореф. дис. … канд. хим. наук, – Ташкент, 1984. –С. 8-19

12. Абдуллаев Ш.В., Саттикулов А., Батиров Э.Х., Курбетов Ю.В., Маликов В.М. Флавоноиды из Ammothamnus Lehmannii // Химия природ. соед. – Ташкент, 1983. –№1. –С 104.

13. Сахобиддинов С.С. Дикорастущие лекарственные растения Средней Азии. – Ташкент, 1948. –С.142-144.

14. Кругликова–Львова Р.Н. К фармакологии Софокарпина // Фармакол. и токсикол. 1952. –Т.15. –№6. –С. 51-55.

15. Mamatkhanova M.A., Islamova Z.I., Khalilov R.M., Mamatkhanov A.U. Production Technology of an Anthelmintic Drug from Ammothamnus Lehmannii Roots // Pharm. Chem. J. –Springer, 2020. –V.54. – P. 932–937.

16. Исламова Ж.И., Халилов Р.М., Маматханова М.А., Муталова Д.К., Котенко Л.Д., Маматханов А.У., Саидходжаева Д.М., Сыров В.Н., Хушбактова З.А., Сагдуллаев Ш.Ш. Способ получения антигельминтного средства // Патент РУз № IAP 05484, бюллетен № 11, 2017.

17. Халилов Р.М., Маматханов А.У., Сагдуллаев Ш.Ш., Маматханова М.А., Котенко Л.Д., Муталова Д.К., Юсупова С.М., Турсунова Н.В., Юлдашева Н.Х., Эгамова Ф.Р., Нигматуллаев Б.М. Способ получения гепатозащитного средства из надземной части Ammothamnus Lehmannii // Патент РУз № IAP 05553, бюллетен № 3, 2018.

18. Котенко Л.Д., Халилов Р.М., Маматханов А.У., Сагдуллаев Ш.Ш. Стандартизация корней Ammothamnus Lehmannii // Фармацевтический вестник Узбекистана, –Ташкент, 2015. –№2. –С. 80-83.

19. Маматханова М.А., Халилов Р.М., Котенко Л.Д., Маматханов А.У. Разработка технологии получения субстанции тенэстрола эстрогенного действия из надземной части Ferula tenuisecta // Химия растительного сырья. –Барнаул, –2019. –№1. –С. 269–276.