

ОЦЕНКА ЗАВИСИМОСТИ ПОЛИФЕНОЛЬНОГО СОСТАВА И АКТИВНОСТИ ИНГИБИРОВАНИЯ АЦЕТИЛХОЛИНЭСТЕРАЗЫ ЭКСТРАКТОВ БУТОНОВ СОФОРЫ ЯПОНСКОЙ (*SOPHORA JAPONICA*) ОТ СПОСОБА ЭКСТРАКЦИИ

С.С. Хизриева — НИИ физической и органической химии Южного федерального университета, г. Ростов-на-Дону, Россия. ORCID: 0000-0001-7064-2402. Эл. почта: hizrieva@sfedu.ru

С.Н. Борисенко — НИИ физической и органической химии Южного федерального университета, г. Ростов-на-Дону, Россия. ORCID: 0000-0001-9966-9529. Эл. почта: nbo.borisenko@yandex.ru

Е.В. Максименко — НИИ физической и органической химии Южного федерального университета, г. Ростов-на-Дону, Россия. ORCID: 0000-0002-8715-4517. Эл. почта: maksimenko@sfedu.ru

Г.В. Жаркова — НИИ физической и органической химии Южного федерального университета, г. Ростов-на-Дону, Россия. Эл. почта: galya.zharkova.1999@mail.ru

Н.И. Борисенко — НИИ физической и органической химии Южного федерального университета, г. Ростов-на-Дону, Россия. ORCID: 0000-0003-4733-1985. Эл. почта: niborisenko@sfedu.ru (для переписки)

В.И. Минкин — НИИ физической и органической химии Южного федерального университета, г. Ростов-на-Дону, Россия. ORCID: ORCID 0000-0001-6096-503X. Эл. почта: viminkin@sfedu.ru

© 2023 г. Поступила в редакцию 20.03.2023 г. Прошла рецензирование 05.04.2023 г. Принята к публикации 05.04.2023 г.

Проведена экстракция бутонов софоры японской (*Sophora japonica*) (БСЯ) с использованием среды субкритической воды (СБВ) в пределах температуры 120–220 °С, а также традиционным водно-этанольным методом. Оценка полифенольного состава экстрактов и активности ингибирования ацетилхолинэстеразы (АХЭ) для продуктов, выделенных различными методами, показала, что СБВ-экстракт, полученный при температуре 220 °С, демонстрирует наибольшие величины по сумме полифенолов и по сумме флавоноидов, как в сравнении с экстрактом, полученным традиционным способом, так и с СБВ-экстрактами, выделенными при более низких температурах. Среди изученных продуктов СБВ-экстракт (температура 220 °С) проявляет самую высокую активность по ингибированию АХЭ, что указывает на определяющую роль суммы полифенолов в составе экстрактов БСЯ.

Ключевые слова: субкритическая вода, экстракция, бутоны софоры японской, полифенолы, анти-ацетилхолинэстеразная активность, ингибирование ацетилхолинэстеразы.

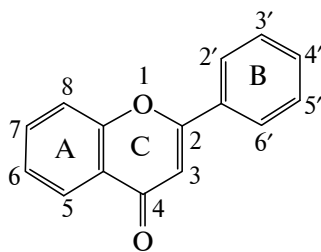
ВВЕДЕНИЕ

Биоактивные полифенольные фитоконпоненты, являющиеся продуктами вторичного метаболизма в растениях, хорошо известны своими терапевтическими эффектами при таких заболеваниях человека как рак, диабет, сердечно-сосудистые и нейродегенеративные патологии из-за их широкого спектра активности [1]. Так, например, известно, что флавоноиды являются

потенциальными природными соединениями для лечения деменции, в том числе болезни Альцгеймера (БА) — прогрессирующего нейродегенеративного заболевания, от которого страдают (по данным ВОЗ) до 50 млн человек [2, 3]. Полифенольные вторичные растительные метаболиты (ВРМ) проявляют ингибирующее действие по отношению к ферментам, играющим важную роль в патогенезе БА — холинэстеразам (ацетил- и/или бутирилхолинэстераза), как было показано в ряде работ [4— 6]. Считается, что увеличение числа гидроксильных групп в фенольных соединениях усиливают ингибирующее действие на АХЭ из-за более сильной связывающей способности. Некоторые ингибиторы АХЭ, такие как физостигмин, такрин, использовались для лечения симптомов БА. Тем не менее, эти препараты продемонстрировали ряд побочных реакций, включая диарею, тошноту, боль в животе, рвоту. Следовательно, существует необходимость в поиске других ингибиторов АХЭ с более сильными и селективными эффектами и с меньшими побочными реакциями для терапии БА [7].

С другой стороны, в терапии БА эффективность флавоноидных соединений объясняется снижением токсичности белка Аβ и уменьшением окислительного стресса [8]. Подобные свойства проявляются благодаря уникальной химической структуре флавоноидов, действующих как поглотители свободных радикалов с образованием резонансно-стабилизированных феноксильных радикалов [9]. Базовая химическая структура флавоноидов C₆—C₃—C₆ представляет собой конденсированную систему бензольного (А) и гетероциклического (С) колец, содержащую боковой фенильный заместитель (В).

Наиболее характерной функциональной группой флавоноидных соединений является гидроксильная (—ОН), сочетание которой с бензольным кольцом (рис. 1) позволяет отнести их к классу растительных полифенолов, который включает несколько подгрупп — флавонолы, флавоны, флаванолы, флаваноны и изофлавоны. Многочисленность флавоноидов обусловлена тем, что в растениях они, в основном, находятся в виде гликозидов, в образовании



Заместитель	Положение заместителя					
	3	5	7	3'	4'	5'
R						
R ₁ = OH	OH	OH	OH	OH	OH	OH
R ₂ = OCH ₃	—	—	OCH ₃	OCH ₃	OCH ₃	—
R ₃ = O-glu*	O-glu*	—	O-glu*	—	O-glu*	—

*O-glu—гликозидоксильная группа (остаток глюкозы)

Рис. 1. Структура флавоноидов и наиболее характерные заместители

которых участвуют разнообразные углеводные остатки (глюкозы, галактозы, рамнозы и др.) [10].

Многочисленные экспериментальные исследования в водных системах позволили выявить следующие наиболее важные для антирадикальной активности структурные элементы молекул флавоноидов, так называемые критерии Борса (W. Bors et al., 1990 г.) [11]: 1) две ОН-группы в положениях В3' и В4'; 2) двойная связь между 2 и 3 атомами углерода, желательна совместно с карбонильной группой в положении С4; 3) ОН-группы в положениях С3 и С5 совместно с карбонильной группой. Таким образом, общая концентрация фенольных соединений вносит существенный вклад в биоактивность растительных экстрактов и может быть использована в качестве основы для быстрого скрининга антиоксидантной активности.

Одним из важных растительных источников флавоноидов является растение из семейства бобовых — софора японская (*Sophora japonica* L.), которое культивируется в ряде южных регионов России. Так, например, из растительных составляющих софоры японской было выделено более 30 флавоноидов [12], основным из которых является рутин, представляющий собой глюкорамногликозид кверцетина. Он обнаружен во всех частях растения: в бутонах (до 35 %), цветках, листьях, молодых ветках и плодах. Исследования *in vitro* показали, что кверцетин является конкурентным ингибитором АХЭ и бутирилхолинэстеразы (БХЭ). Он ингибирует оба фермента в зависимости от концентрации. Более того, кверцетин обладает большей эффективностью в отношении ингибирования АХЭ и БХЭ, чем его гликозидная форма — рутин. Известно, что гликозилирование кверцетина в положении 3 приводит к снижению активности нейтрализации свободных радикалов и противовоспалительной активности, а также снижает активность кверцетина по ингибированию АХЭ [13].

В представленной работе исходным растительным сырьем для получения экстрактов ВРМ с анти-ацетилхолинэстеразными (анти-АХЭ) свойствами служили БСЯ. Согласно подробному обзору [14], в бутонах софоры были обнаружены такие соединения как кемпферол, кверцетин, 3'-метилкверцетин, изокверцитрин (кверцетин 3-О-β-глюкопиранозид), рутин, рутин-7-О-рамнозид, изорамнетин, генистеин, софорариол и изофлавоноидный гликозид — софорикиозид (C₂₁H₂₀O₁₀, генистеин-4'-О-глюкопиранозид), которые проявляют многообещающие биологические свойства, в том числе противовоспалительную, эстрогенную и антиоксидантную активность.

Как уже отмечалось ранее в [15], полифенольные ВРМ из БСЯ, как правило, извлекают экстракцией 70–95 %-ным этанолом. Это может быть экстракция этанолом в течение 4 ч с выходом рутина до 18 %, либо кипячение с метанолом с обратным холодильником и мацерацией в течение 48 ч [16]. Таким образом, обычные способы получения рутина из БСЯ предполагают использование дорогих, а зачастую токсичных и пожароопасных растворителей, а также требуют значительных временных затрат (рис. 2).

Альтернативой традиционным методам является экстракция в среде субкритической воды (СБВ) [17–19]. Процессы в СБВ привлекают внимание благодаря уникальным физическим и химическим характеристикам воды между температурой кипения 100 °С и критической точкой 374,2 °С. В этом диапазоне температур вода имеет низкую диэлектрическую проницаемость, что делает ее эффективным растворителем для гидрофобных веществ. Также у

Оценка зависимости полифенольного состава и активности ингибирования ацетилхолинэстеразы экстрактов бутонов софоры японской от способа экстракции

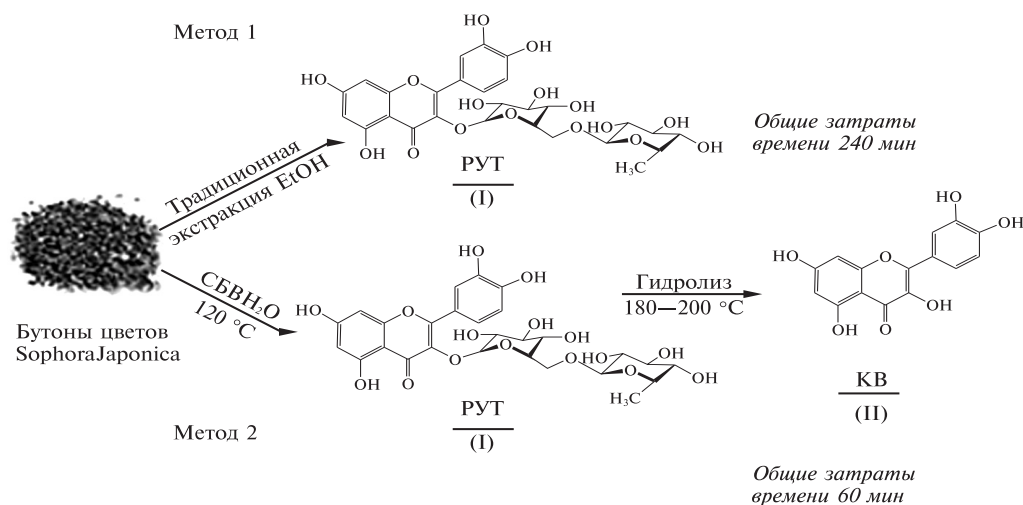


Рис. 2. Схемы получения экстрактов с полифенольными ВРМ из бутонов софоры японской

воды в субкритическом состоянии наблюдается увеличение на три порядка (интервал температуры 220–250 °С) значения ионного произведения, чем при комнатной температуре. Благодаря этому она ведет себя подобно органическому растворителю и/или кислотно-основному катализатору (в зависимости от условий процесса).

Цель работы — получение обогащенных полифенольными ВРМ экстрактов из БСЯ в среде СБВ для изучения зависимости их полифенольного состава и активности ингибирования АХЭ от используемого метода экстракции, а также сравнение с экстрактами, полученными традиционным методом.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

В качестве объекта исследования использовали БСЯ ООО «Азбука трав» (Россия). Сумму полифенолов в экстрактах определяли с использованием реактива Фолина—Чокальтеу (Folin—Ciocalteu, производство фирмы Sigma, 2 М), галловой кислоты (безводный, не менее 98 %, фирма ДИА-М, Россия), бикарбоната натрия (безводный, ГОСТ 83–79, ч., фирма ВЕКТОН, Россия), рутина (C₂₇H₃₀O₁₆, фирма SichuanXieliPharmaceutical Co. Ltd., Китай).

Для определения анти-АХЭ активности использовали фермент ацетилхолинэстеразу из электрического угря *Electrophorus electricus* (АХЭ, лиофилизированный порошок, содержащий трис-буферные соли, тип VI-S, 3.1.1.7, 200–1000 единиц/мг белка), субстрат ацетилтиохолин иодид (АТХИ, ≥ 98 %), реагент Элмана — 5,5'-дителиобис-(2-нитробензойная кислота) (ДТНБ, 99 %), которые были приобретены у Sigma-Aldrich, США.

Для проведения исследований использовали: весы аналитические лабораторные 2 класса с точностью до 2 мг; сушильный шкаф СНОЛ с точностью определения температуры 2 °С; лабораторную мельницу ЛМ20. Основные результаты были получены на спектрофотометре СПЕКС ССП 705 (UV-VIS-, 190–1100 нм) (производитель ЗАО «Спектроскопические системы», РФ) с программным обеспечением (UV-VIS analyst) с кварцевыми кюветами (l = 10 мм).

Получение экстрактов

Традиционную экстракцию полифенольных ВРМ из БСЯ проводили с первоначальным обезжириванием 2 г бутонов софоры (измельчение 0,5—1 мм) в 40 мл *n*-гексана при кипячении в течение 60 мин. После этого проводили экстракцию 70 %-ным водным раствором этанола (40 мл) в течение 60 мин. Процедуру повторяли трижды. Этанольные вытяжки объединяли, фильтровали, анализировали методами спектрофотометрии и высушивали под вентилятором при температуре не выше 50 °С.

Обработку бутонов софоры в СБВ проводили согласно методике, описанной в статье [15], с использованием реактора (автоклава) из нержавеющей стали объемом 10 мл: 0,1 г сырья, измельченного до 0,5—1 мм помещали в реактор и добавляли 7 мл дистиллированной воды. Реактор герметично закрывали и выдерживали в сушильном шкафу при заданной температуре в течение 60 мин. Далее реактор охлаждали, а его содержимое фильтровали через бумажный фильтр «белая лента» и промывали дистиллированной водой до рН ≈ 7 для удаления сахарной части разложившихся гликозидов. Остаток на фильтре промывали 70 %-ным этанолом для растворения экстрагированных в среде СБВ нерастворимых в воде соединений. Полученные этанольные фракции анализировали на суммарное содержание полифенолов и флавоноидов и сушили при комнатной температуре. Сухие экстракты растворяли в 70 %-ном этаноле ($C = 1$ мг/мл). Для изучения анти-АХЭ активности готовили серию растворов экстрактов с различной концентрацией.

Для определения содержания фенольных соединений в растительном сырье обычно применяется спектрофотометрический метод [20] с использованием реактива Фолина—Чокольтеу, в составе которого, как правило, присутствуют фосфовольфрамовые и фосфомолибденовые гетерополикислоты. Последние восстанавливаются фенольными соединениями в щелочной среде. Это приводит к образованию комплекса синего цвета (вольфрамовая синь или гетерополисини), интенсивность окраски которого пропорциональна количеству фенольных соединений [21].

Общее содержание полифенолов в полученных экстрактах определяли как описано ранее [22]. Для построения градуировочных кривых готовили серию растворов, содержащих от 0,25 до 2,5 мл стандартного раствора галловой кислоты, или рутина, 0,25 мл реактива Фолина—Чокальтеу, 2,5 мл раствора карбоната натрия и доводили дистиллированной водой до общего объема 8 мл. Аналогично, для определения суммы полифенолов вместо растворов полифенольных стандартов использовали растворы полученных экстрактов БСЯ.

Сумму флавоноидов в экстрактах БСЯ определяли по стандартному раствору рутина ($C = 0,12$ мг/мл) методом прямой спектрофотометрии [23] с некоторой модификацией, как описано в работах [22, 24].

Расчеты суммарного содержания полифенолов и флавоноидов проводили с использованием уравнения соответствующих градуировочных кривых. Сумму полифенолов в пробе (x , мг/мл) по галловой кислоте (ЭКГ) рассчитывали, используя уравнение $y = 107,3x + 0,003$ ($R^2 = 0,997$), а по рутину (ЭР) — уравнение $y = 40,913x + 0,031$ ($R^2 = 0,997$). Сумму флавоноидов по рутину рассчитывали, используя уравнение $y = 29,6x$ ($R^2 = 0,999$). Затем рассчитывали сумму полифенолов или флавоноидов в мг в 1 г сырья по формуле (1):

$$\sum \text{ПФ или ФВ} = \left(x - \frac{V}{V_a} \right) \cdot n \cdot \frac{m}{M}, \quad (1)$$

где x — содержание полифенолов в пробе (мг/мл), V — общий объем реакционной смеси, V_a — объем аликвоты (мл), n — разбавление жидкой пробы экстракта, m — масса экстракта (мг), M — масса загрузки сырья (г).

Активность ингибирования АХЭ (*in vitro*) измеряли методом Элмана [25] по ранее описанной методике [24]. Вкратце: рабочие растворы фермента (2 ед/мл) готовили в фосфатном буфере с рН 7,0, а реагента ДТНБ ($C = 0,25$ мМ) и субстрата АТХИ ($C = 1,88$ мМ) — в фосфатном буфере с рН 7,4. Основные растворы экстрактов БСЯ готовили в 50 %-ном этаноле и затем разбавляли до рабочих концентраций (от 0,1 до 3 мг/мл) фосфатным буфером (рН 7,4). Реакционную смесь готовили при комнатной температуре в кварцевой кювете как описано ранее в [22, 24]. Оптическую плотность смеси измеряли спектрофотометром при 412 нм для трех параллельных анализов.

Активность ингибитора характеризовали величиной степени ингибирования (%), которую рассчитывали по формуле (2):

$$\% \text{ ингибирования} = \left[1 - A_{412}/A_{412}^0 \right] \cdot 100, \quad (2)$$

где A_{412} и A_{412}^0 — поглощение опытной пробы и контрольного раствора, соответственно, при длине волны 412 нм. Значения IC_{50} — концентрация полумаксимального ингибирования — определяли по кривым «доза—ответ» (см. ниже).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

В работе была проведена корреляция количественного содержания суммы полифенолов и флавоноидов, а также с анти-АХЭ активности для экстрактов БСЯ, полученных разными способами.

В таблице представлены результаты по суммарному содержанию полифенолов и флавоноидов в экстрактах БСЯ. Показано, что их наибольшее содержание обнаружено для СБВ-экстракта, полученного при 220 °С: $\Sigma_{\text{полифенолов}} = 94,4$ мг ЭГК и 236,6 мг ЭР/г сырья, соответственно и $\Sigma_{\text{флавоноидов}} = 152$ мг ЭР/г сырья. Ранее в работах [15, 22, 24, 26] найдено преимущественное содержание

Таблица

Сравнение полифенольного профиля и анти-АХЭ активности экстрактов бутонов софоры японской (БСЯ), полученных различными методами

Метод получения; температура, °С	Сумма полифенолов по галловой кислоте, мг/г сырья	Сумма полифенолов по рутину, мг/г сырья	Сумма флавоноидов по рутину, мг/г сырья	Анти-АХЭ активность, IC_{50} , мг/мл
Традиционный	76,4	207,4	131,1	1,37
СБВ; 120	32,9	70,5	56,1	1,66
СБВ; 180	62,7	138,2	75,9	1,43
СБВ; 200	65,8	159,4	120,7	—
СБВ; 220	94,4	236,6	152,0	0,72

гликозидов в традиционных экстрактах и СБВ-экстрактах, полученных при 100–130 °С. В высокотемпературных (180–220 °С) СБВ-экстрактах преобладают агликоны и продукты разложения гликозидов. В частности, в ранее проведенной работе [27] было установлено, что максимальный выход кверцетина в СБВ-экстрактах наблюдался при температурах 210–220 °С.

СБВ (при 180–250 °С) является отличным растворителем для извлечения неполярных флавоноидов БСЯ благодаря изменению диэлектрической проницаемости СБВ, зависящей от температуры (уменьшение при возрастании в этом диапазоне температур). При этом время и температура для извлечения тех или иных флавоноидов из модельной растительной матрицы зависели от химической структуры извлекаемых флавоноидов. Последнее согласуется с работой [28], где найдена корреляция условий СБВ со строением флавоноидов. Эти данные показывают селективность извлечения различных структур флавоноидов при разных температурах СБВ.

В нашей работе повышение суммарного количества полифенолов и флавоноидов при температуре СБВ 220 °С объясняется гидролизом рутина и других гликозидов до более активных агликонов (в основном, кверцетина, кемпферола, генистеина и др.). Соответствие структуры биофлавоноида кверцетина критериям Борса, а также увеличение его содержания в экстрактах БСЯ в результате гидролиза рутина может усилить нейропротекторный эффект высокотемпературного СБВ-экстракта. Безусловно, не следует исключать возможный вклад и других компонентов БСЯ (в частности, фенолкарбоновых кислот, органических кислот и др.) в анти-АХЭ активность.

Содержание экстрактивных веществ, извлекаемых водой в субкритических условиях, составляет от 40 до 56 %, в то время как те же показатели при экстракции 70 %-ным этанолом в традиционных условиях составляют 22 %.

На следующем этапе был проведен анализ на анти-АХЭ активность полученных экстрактов БСЯ. Для определения максимального эффекта ингибирования АХЭ определяли степень ингибирования (%) экстрактами БСЯ в течение первых 5 мин реакции. При более длительном выдерживании реакционной смеси наблюдалось уменьшение активности экстрактов. Результаты по ингибированию АХЭ растворами экстрактов БСЯ представлены на рис. 3а, 3б, из которых следует, что активность СБВ-экстракта (220 °С, $C = 1$ мг/мл) при

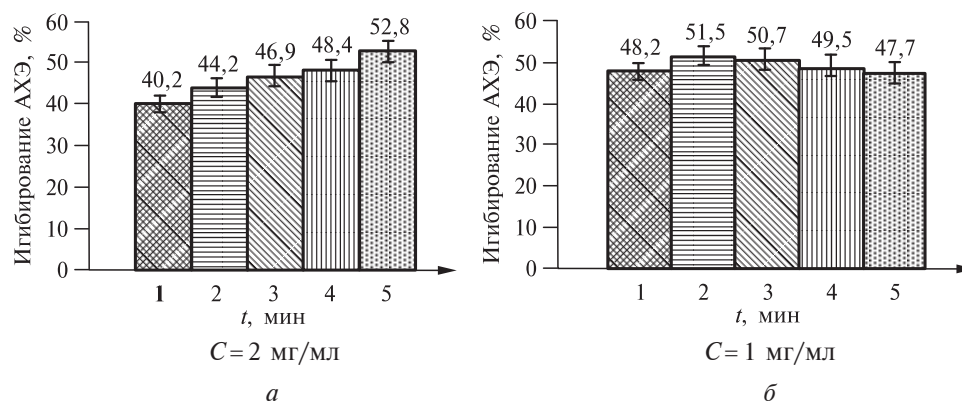


Рис. 3. Значения величины ингибирования АХЭ (%) для растворов экстрактов БСЯ, полученных при различных условиях:

а — традиционная экстракция; б — СБВ-экстракция при 220 °С

Оценка зависимости полифенольного состава и активности ингибирования ацетилхолинэстеразы экстрактов бутонов софоры японской от способа экстракции

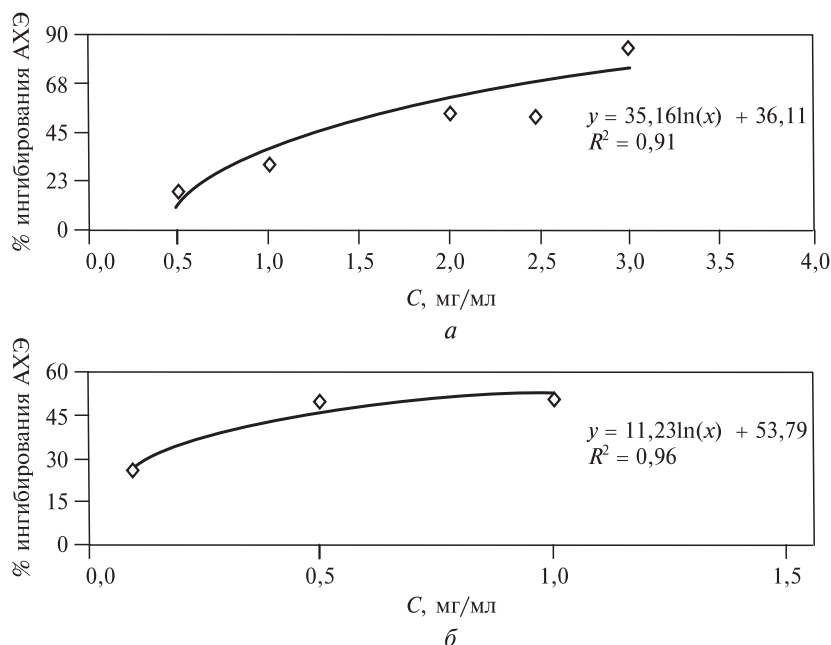


Рис. 4. Кривые «доза—ответ» для растворов экстракта бутонов софоры японской, полученных разными методами:

a — традиционная экстракция; *б* — СБВ-экстракция при 220 °С

концентрации в два раза меньшей, чем традиционного экстракта (220 °С, $C = 2$ мг/мл), сильнее с первой минуты и достигает максимума уже на второй минуте процесса.

Исходя из полученных результатов по проценту ингибирования, были построены концентрационные зависимости в виде кривых «доза—ответ» (рис. 4), по которым и определяли значения IC_{50} для экстрактов БСЯ.

Как видно из таблицы, среди полученных экстрактов софоры, СБВ-экстракт 220 °С показал наибольшую анти-АХЭ активность с самыми низкими значениями $IC_{50} = 0,72$ мг/мл. Показано, что увеличение температуры СБВ при экстракции ВРМ из БСЯ приводит к увеличению суммарного содержания полифенолов и к более высокой анти-АХЭ активности экстрактов, в частности, за счет увеличения в продукте, в основном, доли кверцетина — агликона, образующегося в результате гидролиза нативного гликозида софоры рутина.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, результаты исследования суммарного содержания полифенолов и флавоноидов и их корреляция с анти-АХЭ активностью экстрактов БСЯ продемонстрировали потенциал использования СБВ как среды для получения экстрактов, обогащенных полифенольными ВРМ с более высокой анти-АХЭ активностью в сравнении с экстрактами, полученными традиционным способом (водно-этанольной экстракцией). Эти наборы композиций с полифенольными ВРМ (экстракты БСЯ) могут быть успешно использованы в будущем для профилактики и терапии различных неврологических расстройств, включая болезнь Альцгеймера.

БЛАГОДАРНОСТИ

Работа выполнена при поддержке Министерства науки и высшего образования Российской Федерации (государственное задание в сфере научной деятельности, проект № FENW-2023-0017). Исследования проводились на оборудовании Центра коллективного пользования «Молекулярная спектроскопия» Южного федерального университета.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Paniwnyk L., Beaufoy E., Lorimer J.P., Mason T.J. // *Ultrasonics sonochemistry*. 2001. Vol. 8. No 3. P. 299.
2. Zhou P., Hua F. // *Neurochemical J*. 2020. Vol. 14. No 3. P. 251.
3. Iraj A., Khoshneviszadeh M., Firuzi O., Khoshneviszadeh M., Edraki N. // *Bioorganic Chemistry*. 2020. Vol. 97. P. 103649.
4. Zhao N., Liu D., Wang Y., Zhang X., Zhang L. // *J. Ethnopharmacology*. 2022. Vol. 298. P. 115641.
5. Mansinhos I., Goncalves S., Rodriguez-Solana R., Ordóñez-Díaz J.L., Moreno-Rojas J.M., Romano A. // *Antioxidants*. 2021. Vol. 10. No 4. P. 582.
6. Jabir N.R., Khan F.R., Tabrez S. // *CNS neuroscience & therapeutics*. 2018. Vol. 24. No 9. P. 753.
7. Bui T.T., Nguyen H.T. // *Oriental Pharmacy and Experimental Medicine*. 2017. Vol. 17. P. 337.
8. Xu D., Hu M.J., Wang Y.Q., Cui Y.L. // *Molecules*. 2019. Vol. 24. No 6. P. 1123.
9. Запроматов М.Н. Фенольные соединения: распространение, метаболизм и функции в растениях. Москва: Мир, 1993. 272 с.
10. Корулькин Д.Ю., Абилов Ж.А., Музычкина Р.А., Толстиков Г.А. Природные флавоноиды. Новосибирск: Академическое издательство «ГЕО», 2007. 232 с.
11. Bors W., Heller W., Michel C., Saran M. // *Methods Enzymol*. 1990. Vol. 186. P. 343.
12. Zhu Y., Wang W., Ruan R., Chen J. // *Intern. J. Analytical Chemistry*. 2022. Vol. 2022. Article ID 460350. 7 p.
13. Khan H., Ullah H., Aschner M., Cheang W.S., Akkol E.K. *Biomolecules*. 2019. Vol. 10. No 1. P. 59.
14. He X., Bai Y., Zhao Z., Wang X., Fang J., Huang L., Zeng M., Zhang Q., Zhang Y., Zheng X. // *J. Ethnopharmacology*. 2016. Vol. 187. P. 160.
15. Максименко Е.В., Лекарь А.В., Борисенко С.Н., Хизриева С.С., Ветрова Е.В., Борисенко Н.И., Минкин В.И. // *Сверхкритические Флюиды: Теория и Практика*. 2018. Т. 13. № 2. С. 15.
16. Paniwnyk L., Beaufoy E., Lorimer J.P., Mason T.J. *Ultrasonics sonochemistry*. 2001. Vol. 8. No 3. P. 299.
17. Лекарь А.В., Филонова О.В., Борисенко С.Н., Максименко Е.В., Ветрова Е.В., Борисенко Н.И., Минкин В.И. // *Сверхкритические Флюиды: Теория и Практика*. 2012. Т. 7. № 4. С. 4.
18. Ветрова Е.В., Максименко Е.В., Борисенко С.Н., Лекарь А.В., Борисенко Н.И., Минкин В.И. // *Сверхкритические Флюиды: Теория и Практика*. 2016. Т. 11. № 4. С. 73.
19. Галкин А.А., Лукин В.В. // *Успехи химии*. 2005. Т. 74. № 1. С. 24.
20. Тутельян В.А., Эллер К.И., Алешко-Ожневский Ю.П. Руководство по методам контроля качества и безопасности биологически активных добавок к пище. Федеральный центр госсанэпиднадзора Минздрава России. Москва, 2004. 124 с.
21. Николаева Т.Н., Лапшин П.В., Загоскина Н.В. *Химия растительного сырья*. 2021. № 2. С. 291.
22. Хизриева С.С., Борисенко С.Н., Максименко Е.В., Борисенко Н.И., Минкин В.И. *Сверхкритические Флюиды: Теория и Практика*. 2021. Т. 16. № 2. С. 33.
23. Марченко М.А., Зилфикаров И.Н., Ибрагимов Т.А., Малеев А.Г. // *Фармация и фармакология*. 2017. Т. 5. № 3. С. 222.
24. Хизриева С.С., Борисенко С.Н., Максименко Е.В., Жаркова Г.В., Борисенко Н.И., Минкин В.И. *Сверхкритические Флюиды: Теория и Практика*. 2021. Т. 16. № 4. С. 70.
25. Ellman G.L., Courtney K.D., Andres Jr. V., Featherstone R.M. // *Biochemical pharmacology*. 1961. Vol. 7. No 2. P. 88.

26. Лекарь А.В., Борисенко С.Н., Максименко Е.В., Ветрова Е.В., Борисенко Н.И., Минкин В.И. Сверхкритические Флюиды: Теория и Практика. 2008. Т. 3. № 2. С. 33.
27. Mihaylova D., Schalow S. Brazilian Archives of Biology and Technology. 2013. Vol. 56. P. 431.
28. Ko M.J., Cheigh C.I., Chung M.S. // Food chemistry. 2014. Vol. 143. P. 147.
-
-

**EVALUATION OF THE DEPENDENCE OF THE POLYPHENOLIC
COMPOSITION AND THE ACTIVITY OF ACETYLCHOLINESTERASE
INHIBITION OF EXTRACTS OF JAPANESE SOPHORA BUDS
(*SOPHORA JAPONICA*) ON THE EXTRACTION METHOD**

S.S. Khizrieva — Research Institute of Physical and Organic Chemistry of the Southern Federal University, Rostov-on-Don, Russia. ORCID: 0000-0001-7064-2402. E-mail: hizrieva@sfedu.ru

S.N. Borisenko — Research Institute of Physical and Organic Chemistry of the Southern Federal University, Rostov-on-Don, Russia. ORCID: 0000-0001-9966-9529. E-mail: nbo.borisenko@yandex.ru

E.V. Maksimenko — Research Institute of Physical and Organic Chemistry of the Southern Federal University, Rostov-on-Don, Russia. ORCID: 0000-0002-8715-4517. E-mail: maksimenko@sfedu.ru

G.V. Zharkova — Research Institute of Physical and Organic Chemistry of the Southern Federal University, Rostov-on-Don, Russia. E-mail: galya.zharkova.1999@mail.ru

N.I. Borisenko — Research Institute of Physical and Organic Chemistry of the Southern Federal University, Rostov-on-Don, Russia. ORCID: 0000-0003-4733-1985. E-mail: niborisenko@sfedu.ru (*for correspondence*)

V.I. Minkin — Research Institute of Physical and Organic Chemistry of the Southern Federal University, Rostov-on-Don, Russia. ORCID 0000-0001-6096-503X. E-mail: viminkin@sfedu.ru

The extraction of Japanese sophora buds (*Sophora japonica*) (BS) was carried out using a subcritical water medium (SBW) within a temperature of 120–220 °C, as well as by the traditional water-ethanol method. Evaluation of the polyphenolic composition of extracts and the activity of acetylcholinesterase (AChE) inhibition for products isolated by various methods showed that the SBW extract obtained at a temperature of 220 °C demonstrates the highest values in terms of the sum of polyphenols and the sum of flavonoids, both in comparison with the extract obtained by the traditional method and with SBW extracts, isolated at lower temperatures. At the same time, among the studied products, SBW extract (temperature 220 °C) shows the highest activity in inhibiting AChE, which indicates the determining role of the sum of polyphenols in the composition of BS extracts.

Key words: subcritical water, extraction, Japanese sophora buds, polyphenols, inhibition of acetylcholinesterase.

ACKNOWLEDGMENT

This research was financially supported by the Ministry of Science and Higher Education of the Russian Federation (State assignment in the field of scientific activity, project No FENW-2023-0017). The studies were carried out on the equipment of the Center for Collective Usage «Molecular Spectroscopy» of the Southern Federal University.

REFERENCES

1. Paniwnyk L., Beaufoy E., Lorimer J. P., Mason T. J. // *Ultrasonics sonochemistry*, 2001. Vol. 8. No 3. P. 299.
 2. Zhou P., Hua F. // *Neurochemical J.* 2020. Vol. 14. No 3. P. 251.
 3. Iraj A., Khoshneviszadeh M., Firuzi O., Khoshneviszadeh M., Edraki N. // *Bioorganic Chemistry*. 2020. Vol. 97. P. 103649.
 4. Zhao N., Liu D., Wang Y., Zhang X., Zhang L. // *J. Ethnopharmacology*. 2022. Vol. 298. P. 115641.
 5. Mansinhos I., Goncalves S., Rodriguez-Solana R., Ordóñez-Díaz J.L., Moreno-Rojas J.M., Romano A. // *Antioxidants*. 2021. Vol. 10. No 4. P. 582.
 6. Jabir N.R., Khan F.R., Tabrez S. // *CNS neuroscience & therapeutics*. 2018. Vol. 24, No 9. P. 753.
 7. Bui T.T., Nguyen H.T. // *Oriental Pharmacy and Experimental Medicine*. 2017. Vol. 17. P. 337.
 8. Xu D., Hu M.J., Wang Y.Q., Cui Y.L. // *Molecules*. 2019. Vol. 24. No 6. P. 1123.
 9. Zaprometov M. Fenol'nye soedineniya: rasprostranenie, metabolizm i funkcii v rasteniyah / Moskva: Nauka, 1993. 272 p. (in Russ.).
 10. Korulkin D.Yu., Abilov J.A., Muzychkina R.A., Tolstikov G.A. Flavonoids. Novosibirsk: Academic publishing house «GEO», 2007. 232 p. (in Russ.).
 11. Bors W., Heller W., Michel C., Saran M. // *Methods Enzymol.* 1990. Vol. 186. P. 343.
 12. Zhu Y., Wang W., Ruan R., Chen J. // *Intern. J. Analytical Chemistry*. 2022. Vol. 2022. Article ID 460350. 7 p.
 13. Khan H., Ullah H., Aschner M., Cheang W.S., Akkol E.K. // *Biomolecules*. 2019. Vol. 10. No 1. P. 59.
 14. He X., Bai Y., Zhao Z., Wang X., Fang J., Huang L., Zeng M., Zhang Q., Zhang Y., Zheng X. // *J. Ethnopharmacology*. 2016. Vol. 187. P. 160.
 15. Maksimenko E.V., Lekar A.V., Borisenko S.N., Khizrieva S.S., Vetrova E.V., Borisenko N.I., Minkin V.I. // *Russ. J. Phys. Chem. B*. 2018. Vol. 12. P. 1269.
 16. Paniwnyk L., Beaufoy E., Lorimer J.P., Mason T.J. // *Ultrasonics sonochemistry*, 2001. Vol. 8. No 3. P. 299.
 17. Lekar A.V., Filonova O.V., Borisenko S.N., Maksimenko E.V., Vetrova E.V., Borisenko N.I., Minkin V.I. // *Russ. J. Phys. Chem. B*. 2013. Vol. 7. P. 829.
 18. Vetrova E.V., Maksimenko E.V., Borisenko S.N., Lekar A.V., Borisenko N.I., Minkin V.I. // *Russ. J. Phys. Chem. B*. 2017. Vol. 11. No 7. P. 1202.
 19. Galkin A.A., Lunin V.V. // *Russ. Chem. Reviews*. 2005. Vol. 74. No 1. P. 24.
 20. Tutel'yan V.A., Eller K.I., Aleshko-Ozhnevskij Yu.P. Rukovodstvo po metodam kontrolya kachestva i bezopasnosti biologicheskii aktivnykh dobavok k pishche. Federal'nyj centr gossanepidnadzora Minzdrava Rossii. Moskva, 2004. 124 s. (in Russ.).
 21. Nikolaeva T.N., Lapshin P.V., Zagoskina N.V. // *Chemistry of plant raw material*. 2021. No 2. P. 291 (in Russ.).
 22. Khizrieva S.S., Borisenko S.N., Maksimenko E.V., Borisenko N.I., Minkin V.I. // *Russ. J. Phys. Chem. B*. 2021. Vol. 15. No 8. P. 1286.
 23. Marchenko M.A., Zilfkarov I.N., Ibragimov T.A., Maleev A.G. // *Pharmacy & Pharmacology*. 2017. Vol. 5. No 3. P. 222 (in Russ.).
 24. Khizrieva S.S., Borisenko S.N., Maksimenko E.V., Zharkova G.V., Borisenko N.I., Minkin V.I. // *Russ. J. Phys. Chem. B*. 2022. Vol. 16. No 7. P. 1294.
 25. Ellman G.L., Courtney K.D., Andres Jr. V., Featherstone R.M. // *Biochemical pharmacology*. 1961. Vol. 7. No 2. P. 88.
 26. Lekar A.V., Borisenko S.N., Maksimenko E.V., Vetrova E.V., Borisenko N.I., Minkin V.I. // *Sverhkriticheskie Flyuidy: Teoriya i Praktika*. 2008. Vol. 3. No 2. P. 33 (in Russ.).
 27. Mihaylova D., Schalow S. // *Brazilian Archives of Biology and Technology*. 2013. Vol. 56. P. 431.
 28. Ko M.J., Cheigh C.I., Chung M.S. // *Food chemistry*. 2014. Vol. 143. P. 147.
-
-