

# Изучение фенольных соединений и антиоксидантной активности в соцветиях капусты брокколи (*Brassica oleracea* L. var. *Italica*)

Д.А. Потапова, Т.Д. Рендюк

ФГАОУ ВО Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова  
Министерства здравоохранения Российской Федерации (Сеченовский университет),  
Российская Федерация, 119991, Москва, ул. Трубецкая, д. 8, стр. 2

## СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

Потапова Дарья Алексеевна – ассистент кафедры фармацевтического естествознания Института фармации им. А.П. Нелюбина ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет). Тел.: +7 (916) 685-12-11. E-mail: 79166851211@ya.ru. ORCID: 0000-0002-8039-8615

Рендюк Тамара Даниловна – доцент кафедры фармацевтического естествознания Института фармации им. А.П. Нелюбина ФГАОУ ВО Первый МГМУ имени И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет), кандидат фармацевтических наук. Тел.: +7 (916) 517-16-13. E-mail: aramat\_17@mail.ru. ORCID: 0000-0002-0359-3847

## РЕЗЮМЕ

**Введение.** Овощи семейства капустных являются функциональными продуктами питания, способствующими укреплению здоровья благодаря уникальному химическому составу. В частности, брокколи (*Brassica oleracea* L. var. *Italica*) особенно ценится за высокое содержание биологически активных компонентов, таких как вторичные метаболиты – глюкозинолаты и фенольные соединения. Многочисленные исследования *in vitro* и *in vivo* показали, что брокколи обладает различными биологическими свойствами, включая антиоксидантную, противораковую, противомикробную, противовоспалительную и противодиабетическую активность.

**Цель исследования.** Изучение качественного состава и количественного содержания фенольных соединений и определение антиоксидантной активности в соцветиях капусты брокколи.

**Материал и методы.** Для исследования фенольного профиля использовали методы тонкослойной хроматографии, спектрофотометрии, ультраэффективной жидкостной хроматографии в сочетании с фотодиодной матрицей и тройным квадрупольным масс-спектрометрическим детектором. Антиоксидантную активность определяли методом кулонометрии с помощью электрогенерированного брома.

**Результаты.** Компонентный состав соцветий капусты брокколи представлен флавоноидами (рутин, кверцетин), производными феруловой и синапиновой кислот, глюкозинолатами (4-метоксиглюкобрассицин, неоглюкобрассицин). Содержание дубильных веществ в пересчете на танин – 0,73±0,06%, суммы гидроксикоричных кислот в пересчете на хлорогеновую кислоту – 2,810±0,053% в абсолютно сухом сырье. Антиоксидантная активность составила 2749,06±113,69 мг рутина/100 г сухого сырья.

**Заключение.** Соцветия капусты брокколи богаты биоактивными соединениями и является потенциальным источником природных антиоксидантов.

**Ключевые слова:** соцветия капусты брокколи, *Brassica oleracea* L. var. *Italica*, фенольные соединения, антиоксидантная активность, ультраэффективная жидкостная хроматография (УЭЖХ) с фотодиодной матрицей (УФ) и тройным квадрупольным масс-спектрометрическим (МС/МС) детектором.

**Для цитирования:** Потапова Д.А., Рендюк Т.Д. Изучение фенольных соединений и антиоксидантной активности в соцветиях капусты брокколи (*Brassica oleracea* L. var. *Italica*). Фармация, 2022; 71 (3): 24–28. <https://doi.org/10.29296/25419218-2022-03-04>

## STUDY OF INFLORESCENCES OF BROCCOLI (*BRASSICA OLERACEA* L. VAR. *ITALICA*) AT PHENOLIC COMPOUNDS AND ANTIOXIDANT ACTIVITY

D.A. Potapova, T.D. Rendyuk

Sechenov First Moscow State Medical University (Sechenov University), 8/2, Trubetskaya str., Moscow, 119991, Russian Federation

## INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

Potapova Daria Alekseevna – Assistant of the Department of the Pharmaceutical Natural Science of Sechenov University. Tel.: +7 (916) 685-12-11. E-mail: 79166851211@ya.ru. ORCID: 0000-0002-8039-8615

Rendyuk Tamara Danilovna – Associate Professor of the Department of the Pharmaceutical Natural Science of Sechenov University, PhD. Tel.: +7 (916) 517-16-13. E-mail: aramat\_17@mail.ru. ORCID: 0000-0002-0359-3847

## SUMMARY

**Introduction.** Brassicaceae vegetables are considering as functional foods owing to their unique chemical composition health-promoting properties. In particular, broccoli (*Brassica oleracea* L. var. *italica*) has been particularly prizing for their highly amount of bioactive constituents, as such secondary metabolites: glucosinolates, phenolic compounds. Numerous *in vitro* and *in vivo* studies demonstrated that broccoli possess various biological properties, including antioxidant, anticancer, antimicrobial, anti-inflammatory, antidiabetic activities.

**Objective:** to study the qualitative composition and quantitative content of phenolic compounds and determination of the antioxidant activity in broccoli.

**Material and methods.** The phenolic profile was determined by methods: chromatography in a thin sorbent layer, spectrophotometry, ultra-performance liquid chromatography coupled with photodiode array and triple-quadrupole mass spectrometry detector (MS/MS). Antioxidant activity determined by coulometry using electrically generated bromine.

**Results and discussion.** The component composition of broccoli is represented by flavonoids (rutin, quercetin), derivatives of ferulic and sinapic acids, glucosinolates (4-methoxyglucobrassicin, neoglucobrassicin). The content of tannins was  $0.73 \pm 0.06\%$ , the total quantity of hydroxycinnamic acids converted to chlorogenic acid was  $2.81 \pm 0.053\%$  in absolutely dry raw materials of broccoli cabbage. Antioxidant activity was  $2749.06 \pm 113.69$  mg of rutin/100 g of dry raw material.

**Conclusion.** Broccoli is rich in bioactive compounds and are a potential source of natural antioxidants.

**Key words:** inflorescences of broccoli, *Brassica oleracea* L. var. *italica*, phenolic compounds, antioxidant activity, UHPLC/UV-MS/MS.

**For reference:** Potapova D.A., Rendyuk T.D. Study of inflorescences of broccoli (*Brassica oleracea* L. var. *italica*) at phenolic compounds and antioxidant activity. *Farmatsiya*, 2022; 71 (3): 24–28. <https://doi.org/10.29296/25419218-2022-03-04>

## Введение

Растительные продукты содержат питательные вещества (клетчатка, сахара, минеральные вещества) и значительное количество биологически активных соединений – фитонутриентов, которые участвуют в обмене веществ и положительно влияют на организм [1, 2]. Результаты эпидемиологических исследований подтверждают, что разнообразный рацион, включающий овощи и фрукты, является необходимым для профилактики заболеваний и укрепления здоровья человека [3]. В последние десятилетия обращается внимание на овощные культуры, в особенности богатые вторичными метаболитами, также следует отметить растущий интерес к антиоксидантной активности таких фитохимических соединений [4]. Последние изыскания подтверждают, что овощи семейства капустных являются источником природных антиоксидантов благодаря высоким концентрациям фенольных соединений различных классов – флавоноиды, гидроксикоричные кислоты, каротиноиды, аскорбиновая кислота [5, 6]. Многочисленными исследованиями доказано, что эти соединения помогают защитить организм от повреждений активными формами кислорода, также они являются идеальными акцепторами перекисных радикалов, что делает их эффективными ингибиторами перекисного окисления липидов, в результате уменьшается риск хронических заболеваний, включая сердечно-сосудистые, и сахарный диабет 2 типа,

снижается вероятность возникновения нескольких форм рака [7–10].

Семейство капустные (*Brassicaceae*) состоит из 350 родов и более 4000 видов. Род «капуста» является наиболее важным из них, ведь входящие в него культуры имеют большое экономическое значение во всем мире – масличные, кормовые, овощные и медоносные культуры. Овощи семейства *Brassicaceae* составляют важную часть рациона человека, одна из таких культур – капуста брокколи (*Brassica oleracea* L. var. *italica* Plenck) – берет свое начало от дикорастущей формы капусты огородной (*Brassica oleracea* L.) с итальянского побережья. Брокколи сейчас возделывают на всех континентах, она имеет множество сортов, только в Госреестре селекционных достижений, допущенных к использованию на территории РФ, – 53 сорта.

Фенольные соединения представляют собой группу, к которой относится более 8000 биоактивных молекул. Фенольные соединения производятся в растениях как вторичные метаболиты через пути биосинтеза шикимовой кислоты (шикиматный путь). Фенилаланин аммиаклиаза является ключевым ферментом, катализирующий биосинтез фенольных соединений из ароматической аминокислоты фенилаланин. Фенольные соединения варьируются от простых соединений с низким молекулярным весом и одним ароматическим кольцом до больших и сложных танинов и производных полифенолов (флавоноиды и фенольные кислоты) в виде гликозидов и конъю-

гатов с органическими кислотами. Группа полифенолов в капусте брокколи представлена флавоноидами, гидроксикоричными кислотами и дубильными веществами [11–13].

Кроме того, капустные, как известно, содержат глюкозинолаты – это большая группа серосодержащих соединений, обладающих противоопухолевой активностью и отвечающая за резкий вкус и запах растений, однако свободные сахара брокколи ответственны за маскировку горького вкуса глюкозинолатов [14, 15].

Целью исследования явилось качественное и количественное изучение фенольных соединений, а также антиоксидантной активности соцветий капусты брокколи.

### Материал и методы

Объект исследования – высушенные соцветия капусты брокколи, собранные с поля ВНИИ овощеводства (Московская область, сентябрь 2016 г).

Из сырья готовили спиртовое извлечение с использованием 40 и 70% спирта этилового (размер частиц сырья 1 мм, соотношение сырье : экстрагент 1:25, экстракция в течение 1 ч).

Для обнаружения фенольных соединений методом тонкослойной жидкостной хроматографии (ТСХ) готовили исследуемый раствор (ИР): извлечение из сырья получали с использованием 70% этилового спирта, а также растворы стандартных образцов и детекторов.

Приготовление растворов стандартных образцов (СО). Около 0,005 г СО кверцетина, рутина тригидрата, гиперозида, лютеолина, лютеолин-7-глюкозида, хлорогеновой кислоты и галловой кислоты растворяли в 5 мл спирта 96% и перемешивали.

1% раствор алюминия хлорида готовили в соответствии с требованиями ГФ РФ XIV изд. ОФС.1.3.0001.15 «Реактивы. Индикаторы», железа (III) хлорида раствор 1% – в соответствии с требованиями ГФ РФ XIV изд. ОФС.1.3.0001.15 «Реактивы. Индикаторы».

Условия хроматографического определения фенольных соединений методом ТСХ: неподвижная фаза – хроматографическая пластинка Sorbfil (10×15); подвижная фаза – этилацетат : уксусная кислота : вода (5:2:1); способ хроматографирования – восходящий; объем наносимой пробы – 10 мкл ИР, 20 мкл ИР, 5 мкл РСО; детектор – алюминия хлорида спиртовой раствор 1%, УФ-свет (365 нм) и железа (III) хлорида спиртовой раствор 1%, дневной свет.

Для обнаружения гидроксикоричных кислот методом СФМ готовили ИР: в мерную колбу объемом 25 мл приливали 1 мл извлечения из сырья на 70% этиловом спирте, доводили до метки спиртом той же концентрации и перемешивали.

Приготовление раствора СО. Около 0,02 г СО хлорогеновой кислоты растворяют в спирте 70% в мерной колбе вместимостью 25 мл, доводят объем раствора спиртом 70% до метки и перемешивают.

В качестве раствора сравнения использовали спирт этиловый 70%.

Оптическую плотность растворов измеряли на спектрофотометре Helios (Spectronic Unicam, Великобритания) в кювете с толщиной слоя 10 мм при длине волны 327 нм.

Содержание суммы гидроксикоричных кислот в пересчете на хлорогеновую кислоту в абсолютно сухом сырье вычисляли с использованием удельного показателя поглощения раствора СО хлорогеновой кислоты при 328 нм ( $E_{1\text{ см}}^{1\%} = 504$ ).

Для обнаружения фенольных соединений методом ультраэффективной жидкостной хроматографии (УЭЖХ) с фотодиодной матрицей (УФ) и тройным квадрупольным масс-спектрометрическим (МС/МС) детектором готовили ИР: извлечение из сырья получали с использованием 40% этилового спирта.

Анализ проводили на жидкостном хроматографе ACQUITY UPLC TQD (Waters, США) с фотодиодной матрицей, тройным квадрупольным масс-спектрометрическим детектором. Ионизацию осуществляли методом электрораспыления, регистрировали как положительные, так и отрицательные ионы, обработку данных выполняли в ПО MassLynx 4.1.

Условия хроматографического определения фенольных соединений методом УЭЖХ/УФ-МС/МС: колонка – Acquity UPLC BEH C18, 2,1×150 мм, с размером частиц 1,7 мкм, (35°C); режим элюирования – градиентный; подвижная фаза – ПФ А: смесь вода :ацетонитрил : муравьиная кислота (95:5:0,1), ПФ В: ацетонитрил : муравьиная кислота (100:0,1); скорость потока – 0,3 мл/мин; детектор – спектрофотометрический (220–500 нм), масс-спектрометрический; объем вводимой пробы – 5 мкл.

Градиентный режим элюирования формировали путем смешивания подвижных фаз А и В по схеме: 0–3 мин – 5% В, 3–32 мин – 50% В, 32–33 мин – 100% В, 33–36 мин – 5% В).

ESI-МС-детектирование заключалось в регистрации положительных и отрицательных ионов в

**Производные гидроксикоричной кислоты и глюкозинолатов идентифицированные в соцветиях капусты брокколи**
**Derivatives of hydroxycinnamic acid and glucosinolates identified in inflorescences of broccoli**

№ п/п	Соединение	Rt, мин	Положительная ионизация, m/z фрагменты	Отрицательная ионизация, m/z фрагменты
1	1,2-дисинапилгентиобиозид	10,8	777	753
2	1-синапил-2-ферулилгентиобиозид	11,4	747	723
3	1,2,2'-трисинапилгентиобиозид	12,7	983	959
4	1,2'-дисинапил-2-ферулилгентиобиозид	13,2	953	929
5	4-метоксиглюкобрассицин	4,9	398	477
6	неоглюкобрассицин	6,9	398	477

диапазоне 100–1500 ед, напряжение на капилляре источника ионизации 3 кВ, температура капилляра 450°C, поток газа осушителя в конусе 50 л/мин.

Результаты интерпретировали по данным библиотек масс-спектров и литературы.

Определение содержания дубильных веществ в пересчете на танин в сырье проводили титриметрическим методом согласно методике ГФ РФ XIV изд. ОФС.1.5.3.0008.18.

Для определения суммарной антиоксидантной активности (CAO) методом кулонометрии с помощью электрогенерированного брома готовили извлечение из сырья с использованием 70% этилового спирта.

Параметры определения: прибор – кулонометр «Эксперт-006» (ООО «Эконикс-Эксперт», Россия), брома генерировали из 0,2 М раствора бромида калия в 0,1 М водном растворе серной кислоты, сила тока – 5,0 мА, величина разности потенциалов, накладываемая на индикаторные

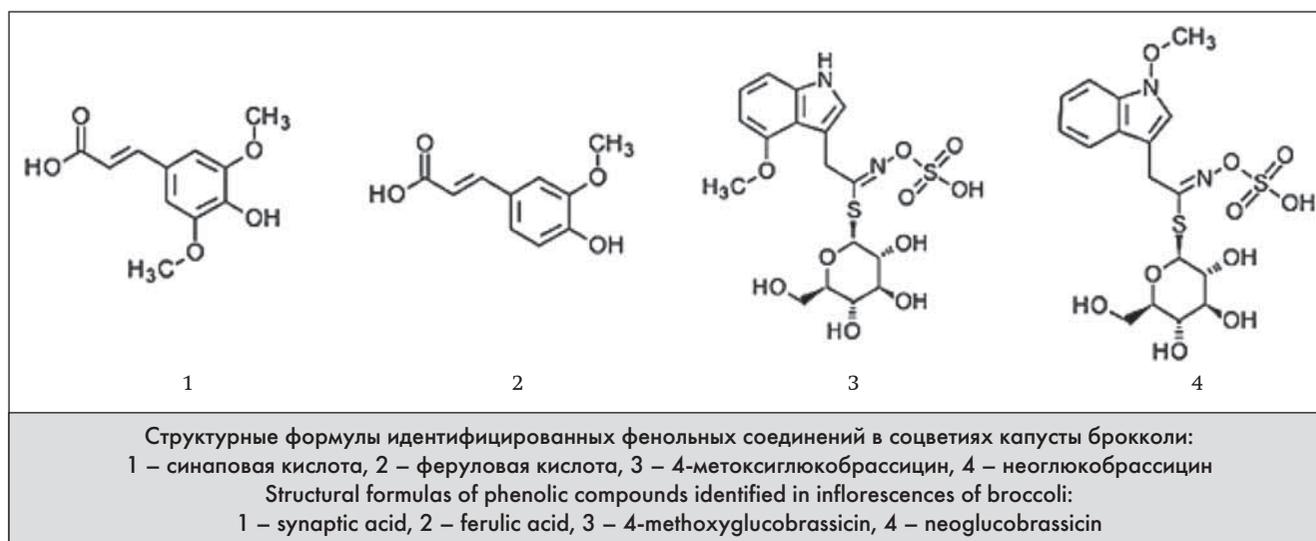
электроды – 300 мВ. Для калибровки прибора использовался стандартный раствор рутина.

**Результаты и обсуждения**

Методом ТСХ в соцветиях капусты брокколи установлено наличие соединений с темной флуоресценцией в УФ свете: Rf 0,23 – рутин, Rf 0,43 – гиперозид.

На УФ-спектрах растворов ИР и СО хлорогеновой кислоты наблюдались максимумы поглощения при длине волны 328 нм. Сумма гидроксикоричных кислот в пересчете на хлорогеновую кислоту в абсолютно сухом сырье составила 2,81±0,053%.

При изучении методом УЭЖХ-УФ-МС/МС выявлены гликозиды гидроксикоричных кислот и соединения класса глюкозинолаты, имеющие максимум поглощения при 330 нм, их характеристики указаны в таблице, а структурные формулы представлены на рисунке.



Титриметрическим методом установлено содержание дубильных веществ в пересчете на танин в соцветиях капусты брокколи в сумме  $0,73 \pm 0,06\%$ .

Спиртовое извлечение из капусты брокколи имеет существенную САО –  $2749,06 \pm 113,69$  мг рутина/100 г сухого сырья.

### Заключение

В соцветиях капусты брокколи установлено наличие рутина и гиперозида методом ТСХ; идентифицированы 4 соединения – производные синаповой и феруловой кислот, 2 соединения класса глюкозинолаты методом УЭЖХ-УФ-МС/МС; рассчитана сумма гидроксикоричных кислот в пересчете на хлорогеновую кислоту в абсолютно сухом сырье ( $2,81 \pm 0,053\%$ ) методом СФМ; проведен анализ на содержание дубильных веществ в пересчете на танин ( $0,73 \pm 0,06\%$ ) методом титриметрии, определена САО –  $2749,06 \pm 113,69$  мг рутина/100 г сухого сырья методом кулонометрии.

Исследование фенольного профиля соцветий капусты брокколи показало, что данный вид сырья может использоваться в качестве потенциального источника антиоксидантов. Результаты, полученные в этой работе, служат основой для разработки проекта фармакопейной статьи на растительное сырье «Капусты брокколи соцветия».

### Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов

### Conflict of interest

The authors declare no conflict of interest

### Литература/Reference

1. Moreno D.A., Carvajal M., López-Berenguer C., García-Viguera C. Chemical and biological characterisation of nutraceutical compounds of broccoli. *J. Pharm. Biomed. Anal.* 2006; 41: 1508–22. DOI: 10.1016/j.jpba.2006.04.003.
2. Vasanthi H.R., Mukherjee S., Das D.K. Potential Health Benefits of Broccoli – A Chemico-Biological Overview. *Med. Chem.* 2009; 9: 749–59. DOI: 10.2174/138955709788452685.
3. Le TN, Luong HQ, Li H-P, Chiu C-H, Hsieh P-C. Broccoli (*Brassica oleracea* L. var. *italica*) Sprouts as the Potential Food Source for Bioactive Properties: A Comprehensive Study on *In Vitro* Disease Models. *Foods*. 2019; 8 (11): 532. DOI: 10.3390/foods8110532

4. Podsedek A. Natural antioxidants and antioxidant capacity of Brassica vegetables: A review. *LWT*. 2007; 40: 1–11. DOI: 10.1016/j.lwt.2005.07.023.

5. Granado F., Olmedilla B., Herrero C., Pérez-Sacristán B., Blanco I., Blázquez S. Bioavailability of carotenoids and tocopherols from broccoli: *In vivo* and *in vitro* assessment. *Exp. Biol. Med.* 2006; 231: 1733–8. DOI: 10.1177/153537020623101110.

6. Verkerk R., Schreiner M., Krumbain A., Ciska E., Holst B., Rowland I., De Schrijver R., Hansen M., Gerhäuser C., Mithen R., Dekker M. Glucosinolates in Brassica vegetables: the influence of the food supply chain on intake, bioavailability and human health. *Mol Nutr Food Res*. 2009; 53 (2): 219. DOI: 10.1002/mnfr.200800065.

7. Abbaoui B., Lucas C.R., Riedl K.M., Clinton S.K., Mortazavi A. Cruciferous vegetables, isothiocyanates, and bladder cancer prevention. *Mol Nutr Food Res*. 2018; 62 (18): e1800079. DOI: 10.1002/mnfr.201800079.

8. Armah C.N., Derdemezis C., Traka M.H., Dainty J.R., Doleman J.F., Saha S., Leung W., Potter J.F., Lovegrove J.A., Mithen R.F. Diet rich in high glucoraphanin broccoli reduces plasma LDL cholesterol: Evidence from randomised controlled trials. *Mol. Nutr. Food Res*. 2015; 59: 918–26. DOI: 10.1002/mnfr.201400863.

9. Favela-González K.M., Hernández-Almanza A.Y., De la Fuente-Salcido N.M. The value of bioactive compounds of cruciferous vegetables (*Brassica*) as antimicrobials and antioxidants: A review. *J. Food Biochem.* 2020; 44: e13414. DOI: 10.1111/jfbc.13414.

10. Herr I., Büchler M.W. Dietary constituents of broccoli and other cruciferous vegetables: Implications for prevention and therapy of cancer. *Cancer Treat. Rev.* 2010; 36: 377–83. DOI: 10.1016/j.ctrv.2010.01.002.

11. Le T.N., Sakulsataporn N., Chiu C.-H. Polyphenolic Profile and Varied Bioactivities of Processed Taiwanese Grown Broccoli: A Comparative Study of Edible and Non-Edible Parts. *Pharmaceuticals*. 2020; 13: 82. DOI: 10.3390/ph13050082

12. Lin L.Z., Harnly J.M. Identification of the phenolic components of collard greens, kale, and chinese Broccoli. *J. Agric. Food Chem.* 2009; 57: 7401–8. DOI: 10.1021/jf901121v.

13. Moreira-Rodriguez M., Nair V., Benavides J., Cisneros-Zevallos L., Jacobo-Velazquez D.A. UVA, UVB Light Doses and Harvesting Time Differentially Tailor Glucosinolate and Phenolic Profiles in Broccoli Sprouts. *Molecules*. 2017; 22: 1065. DOI: 10.3390/molecules22071065.

14. Cieślak E., Leszczyńska T., Filipiak-Florkiewicz A., Sikora E., Pisulewski P.M. Effects of some technological processes on glucosinolate contents in cruciferous vegetables. *Food Chem.* 2007; 105 (3): 976–81. DOI: 10.1016/j.foodchem.2007.04.047.

15. Maldini M., Baima S., Morelli G., Scaccini C., Natella F. A liquid chromatography-mass spectrometry approach to study "glucosinoloma" in broccoli sprouts. *J. Mass Spectrom.* 2012; 47: 1198–206. DOI: 10.1002/jms.3028.

Поступила 8 апреля 2022 г.

Received 8 апреля 2022

Принята к публикации 18 апреля 2022 г.

Accepted 18 April 2022