



Análise química das folhas de *Pereskia grandifolia* (Cactaceae) por UHPLC/ESI(-)-MS/MS

Chemical analysis of *Pereskia grandifolia* (Cactaceae) leaves by UHPLC/ESI(-)-MS/MS

José Guilherme Morais Cagnon¹, Rafaela Takako Ribeiro de Almeida², Eduardo Jorge Pilau³, Antonio Laverde Junior⁴

RESUMO

Pereskia grandifolia Haw. (Cactaceae), conhecida popularmente como ora-pro-nobis, cacto rosa e lobrobó, é uma espécie nativa com características ornamentais, alimentares e propriedades medicinais. Esta espécie apresenta potencial nutricional superior à maioria das espécies alimentares convencionais, despertando o interesse da indústria alimentícia. Propomos neste trabalho a investigação do extrato bruto das folhas de *P. grandifolia* por UHPLC-ESI(-)-MS/MS com o objetivo de ampliar o conhecimento a respeito da composição química desta espécie. A análise dos íons precursores monoisotópicos e de seus fragmentos e comparação com espectros de alta resolução de bancos de dados internacionais, levaram à identificação de dez metabólitos: ácidos mevalônico, glucopiranosídeo cafeico, azelaico, tri-hidroxi-octadecadienoico, tiánchico, corchorifatty F, pinélico e tri-hidroxi-octadecadecenoico; e dos ésteres cafeato e cumarato de etila. Todos estes compostos estão sendo relatados pela primeira vez em *P. grandifolia*.

PALAVRAS-CHAVE: alimento funcional; ora-pro-nobis; *Pereskia*.

ABSTRACT

Pereskia grandifolia Haw. (Cactaceae), popularly known as ora-pro-nobis, rose cactus and lobrobó, is a native species with ornamental, dietary and medicinal properties. This species has superior nutritional potential than most conventional food species, arousing the interest of the food industry. In this work, we propose the research of the crude extract of *P. grandifolia* leaves by UHPLC-ESI(-)-MS/MS to expand knowledge regarding the chemical composition of this species. The analysis of monoisotopic precursor ions and their fragmentation and comparison with high-resolution spectra from international databases led to the identification of ten metabolites: mevalonic acid, caffeic glucopyranoside acid, azelaic acid, trihydroxy-octadecadienoic acid, tianshich acid, corchorifatty F acid, pinellic acid and trihydroxy-octadecadecenoic acid; and caffeate and ethyl coumarate esters. All of these compounds are being reported for the first time in *P. grandifolia*.

KEYWORDS: functional food; ora-pro-nobis; *Pereskia*.

INTRODUÇÃO

A planta *Pereskia grandifolia* Haw. (Cactaceae) é conhecida popularmente como ora-pro-nobis, lobrobó ou cacto rosa. Esta espécie nativa da mata atlântica apresenta características ornamentais, alimentares e propriedades medicinais (LAVERDE JUNIOR *et al.*, 2022).

¹ Bolsista PIVICT/UTFPR. Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Londrina, PR, Brasil. E-mail: jgcagnon@gmail.com. ID Lattes: 3915650907522897.

² Pesquisadora na MS Bioscience, Maringá, PR, Brasil. E-mail: rafaela.takako@gmail.com. ID Lattes: 3810887141882340.

³ Docente do Departamento de Química. Universidade Estadual de Maringá, Maringá, PR, Brasil. E-mail: ejpilau@uem.br. ID Lattes: 0859421816184957.

⁴ Docente do Departamento de Química. Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Londrina, PR, Brasil. E-mail: aljunior@utfpr.edu.br. ID Lattes: 5239457623897596.



Esta planta, considerada uma planta alimentícia não convencional (PANC), é rica em nutrientes essenciais como proteínas, mucilagens, fibras e minerais. Muitos destes foram detectados em proporções superiores às observadas em outras hortaliças folhosas convencionais como couve, repolho e espinafre (SILVEIRA *et al.*, 2020). Suas folhas suculentas são amplamente utilizadas na culinária regional em várias preparações como saladas, omeletes, refogados. Além disso, a farinha derivada dessas folhas é empregada para enriquecer outras farinhas tradicionais, a fim de preparar massas, tortas, biscoitos, entre outros pratos (ALMEIDA e CORRÊA, 2012).

No Brasil, o consumo desta espécie está associado principalmente à prevenção da anemia ferropriva, osteoporose, câncer e constipação (ALMEIDA, CORREA, 2012).

Estudos *in vitro* e *in vivo* revelaram que *P. grandifolia* apresenta diversas atividades biológicas importantes incluindo propriedades anticancerígenas (SRI NURESTRI *et al.*, 2009), hipotensoras, diuréticas (KAZAMA *et al.*, 2012), antiproliferativas, anticolinesterásicas (MASSOCATTO *et al.*, 2022), antioxidantes (TORRES *et al.*, 2022), entre outras.

Apesar disso, ainda existem lacunas na compreensão da composição química das folhas de *P. grandifolia*. Até o presente momento, os principais metabólitos secundários relatados pertencem às classes dos alcaloides (DOETSCH *et al.*, 1980; CAGNON *et al.*, 2022), compostos fenólicos (TORRES *et al.*, 2022), carotenoides (AGOSTINI-COSTA *et al.*, 2014).

O consumo de *P. grandifolia* em comunidades carentes, desempenha um papel significativo na redução da insegurança alimentar, melhoria do estado de saúde e bem-estar dessas populações, bem como na preservação de suas tradições culturais e identidade.

Dando continuidade ao estudo metabolômico desta espécie (CAGNON *et al.*, 2022), o presente trabalho investigou a composição química do extrato bruto das folhas empregando a técnica de cromatografia líquida de ultra alta eficiência associada à espectrometria de massas de alta resolução (UHPLC-HRMS/MS - Ultra-high Performance Liquid Chromatography at tandem High Resolution Mass Spectrometry). O objetivo foi identificar novos compostos que possam contribuir com o conhecimento desta espécie versátil, potencializando sua exploração como espécie funcional.

MATERIAIS E MÉTODOS

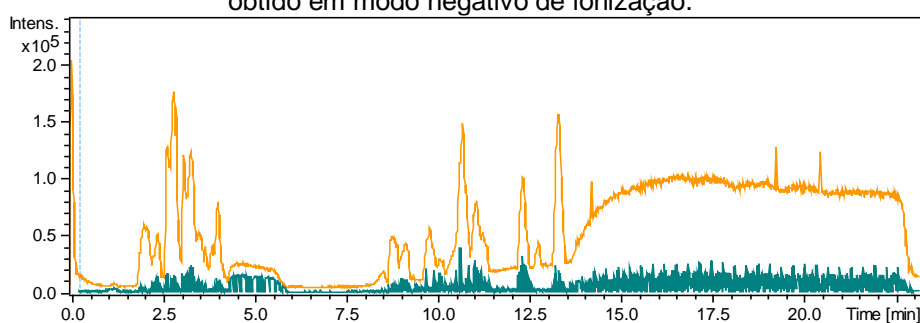
O extrato bruto liofilizado das folhas de *P. grandifolia* foi analisado por UHPLC-HRMS/MS no Complexo Central de Apoio à Pesquisa (COMCAP) da Universidade Estadual de Maringá (UEM). A separação cromatográfica foi realizada com coluna Acquity UPLC® CHS™ C18 (2,1 x 100 mm x 1,7µm) e gradiente linear de eluição utilizando água (0,1% ác. fórmico) e acetonitrila (0,1% ác. fórmico). O espectrômetro de massas com sistema de ionização por eletrospray (ESI) foi operado em modo negativo [M - H]⁻ (4.50 kV) na faixa de m/z 50 - 1300; temperatura da fonte 180°C; e fluxo do gás de dessolvatação de 8 L min⁻¹. Os experimentos de varredura de íons-produto (*daughter scan*) foram realizados utilizando dissociação induzida por colisão (CID) obtidas utilizando uma rampa de energia de colisão na faixa de 5 – 50 eV.



RESULTADOS E DISCUSSÕES

O perfil cromatográfico do extrato bruto das folhas de *P. grandifolia* mostrou que essa espécie apresenta composição química ampla e complexa (Figura 1). Cada banda apresentou dezenas de componentes, os quais foram ionizados e analisados por espectrometria de massa de alta resolução, gerando espectros de massa monoisotópica. A partir do íon molecular destes espectros foi possível determinar a fórmula molecular de vários componentes do extrato considerando um erro inferior a 5 ppm. Com os dados de fórmula molecular foi realizada uma pesquisa na literatura para verificar quais metabólitos já haviam sido identificados em alguma espécie de Cactaceae. Em seguida, o perfil de fragmentação dos espectros foi analisado e comparado com dados da literatura e bancos de dados espectrais internacionais (MassBank, Human Metabolome Database – HMDB, FooDB). Na ausência de dados, algumas moléculas foram propostas a partir da análise da fragmentação levando em consideração possíveis rotas biossintéticas. Desta forma, foram identificados alguns compostos presentes nas folhas de *P. grandifolia*, os quais foram apresentados na Tabela 1.

Figura 1 – Cromatograma de UHPLC-ESI(-)-HRMS/MS do extrato bruto das folhas de *Pereskia grandifolia* obtido em modo negativo de ionização.



Fonte: Elaborado pelos autores (2023)

Tabela 1- Metabólitos secundários identificados no extrato bruto das folhas de *P. grandifolia* por UHPLC-ESI(-)-HRMS/MS

nome	Fórmula molecular	Massa monoisotópica*	m/z* [M - H] ⁻	Erro (ppm)	t _R (min)	
1	Ácido mevalônico	C ₆ H ₁₂ O ₄	148,073	147,0652	0,0	8,48
2	Ácido glucopiranosídeo cafeico	C ₁₅ H ₁₈ O ₉	342,0945	341,0867	4,7	8,76
3	Ácido azelaico	C ₉ H ₁₆ O ₄	188,1043	187,0965	4,3	9,86
4	Ácido tri-hidroxi-octadecadienoico	C ₁₈ H ₃₂ O ₅	328,2244	327,2166	-1,2	10,45
5	Ácido tiánchico	C ₁₈ H ₃₄ O ₅	330,2401	329,2322	-1,5	10,86
6	Ácido corchorifatty F	C ₁₈ H ₃₂ O ₅	328,2244	327,2166	-2,1	11,04
7	Cafeato de etila	C ₁₁ H ₁₂ O ₄	208,0730	207,0652	-2,9	11,07
8	Ácido pinélico	C ₁₈ H ₃₄ O ₅	330,2401	329,2322	-1,8	11,31
9	Ácido tri-hidroxi-octadecadecenoico	C ₁₈ H ₃₄ O ₅	330,2401	329,2322	-2,4	11,46
10	Cumarato de etila	C ₁₁ H ₁₂ O ₃	192,0781	191,0702	-4,2	11,56

*valor teórico; t_R: tempo de retenção; Erro = [(massa teórica – massa experimental)/massa teórica] x 1.10⁶.

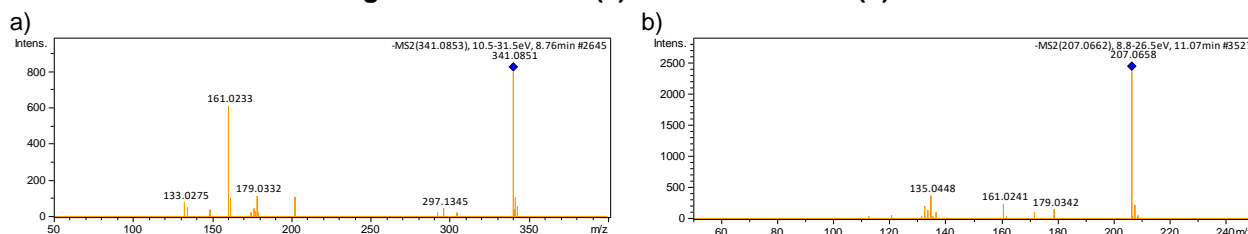
Fonte: Elaborado pelos autores (2023).



O primeiro composto identificado apresentou íon precursor $[M - H]^-$ m/z 147,0652, ao qual foi atribuída a fórmula molecular $C_6H_{12}O_4$. Os dois íons fragmentos m/z 103,0390 ($C_4H_7O_3$) e m/z 85,0284 ($C_4H_5O_2$) observados corresponderam às perdas de C_2H_4O e $C_2H_4O + H_2O$, respectivamente. Considerando a análise da fragmentação e dados da literatura, foi sugerido que este composto seja o ácido mevalônico (**1**). Este ácido é um precursor da via biossintética conhecida por via do mevalonato, que produz terpenos e esteroides, os quais são vitais para diversas funções fisiológicas das plantas.

Em t_R 8,76 min e t_R 11,07 min foram observados dois componentes com perfis de fragmentação idênticos (Figura 2). O primeiro apresentou íon precursor $[M - H]^-$ m/z 341,0851 ao qual foi atribuída a fórmula molecular $C_{15}H_{18}O_9$, enquanto que o segundo apresentou íon precursor $[M - H]^-$ m/z 207,0658 ($C_{11}H_{11}O_4$). Na literatura, há vários isômeros apresentando estas fórmulas moleculares. No entanto, analisando a fragmentação, foi possível observar um íon fragmento importante (m/z 179,0332; $C_9H_7O_4$), comum aos dois compostos, o qual corresponde à unidade de ácido cafeico. No primeiro composto este íon fragmento foi gerado mediante a perda de uma unidade de glicose ($-C_6H_{10}O_5$) e no segundo, mediante a perda de metileno (C_2H_4) via rearranjo de McLafferty. Desta forma, foi sugerido que o composto **2** se trata do ácido glucopiranosídeo cafeico. Apesar da comparação com dados da literatura, até o momento não foi possível definir o isômero correto devido à incerteza de atribuição do posicionamento de ligação da unidade glicosídica no esqueleto da unidade cafeica. O outro derivado foi definido como sendo o etil éster do ácido cafeico (**7**).

Figura 2 - Espectros de fragmentação UHPLC-ESI(-)-HRMS/MS atribuídos aos compostos ácido glicosídeocafeico (a) e cafeato de etila (b).



Fonte: Elaborado pelos autores (2022)

A análise do íon precursor $[M - H]^-$ m/z 187,0975 levou a atribuição da fórmula molecular $C_9H_{15}O_4$. Os principais íons fragmentos observados corresponderam clivagens oriundas de desidratação ou descarboxilação. A comparação com a literatura (SOUZA *et al.* 2022) e bancos espectrais sugerem que este componente corresponda ao ácido azelaico (**3**).

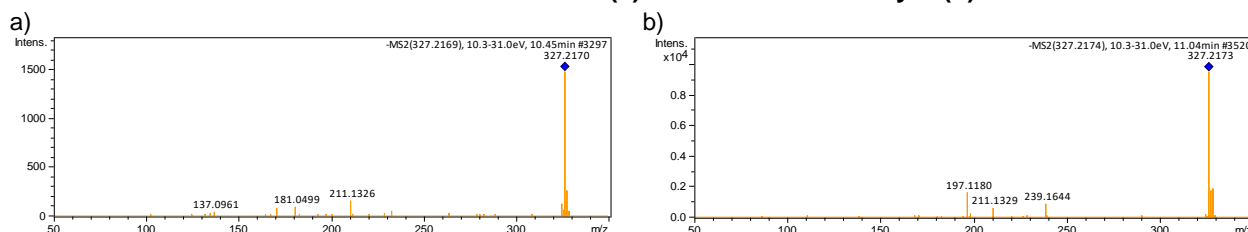
Em t_R 10,45 min e t_R 11,04 min foram observados dois componentes com íons precursores (m/z 327,2170 e m/z 327,2173, respectivamente) que levaram à atribuição da mesma fórmula molecular, porém apresentaram perfis de fragmentação diferentes (Figura 3). Após triagem da literatura e comparação de dados espectrais, foi sugerido que estes compostos sejam um isômero do ácido tri-hidroxi-octadecadienoico (**4**) e o ácido corchorifatty F (**5**).

Outros três compostos identificados (**5**, **8**, **9**) apresentaram os mesmos íons precursores m/z 329,233, os quais correspondem à fórmula molecular $C_{18}H_{34}O_5$. Eles diferem por 2 unidades de massa atômica em relação aos compostos **4** e **6**, sugerindo se tratar de compostos contendo uma insaturação a menos em suas estruturas. Após consulta



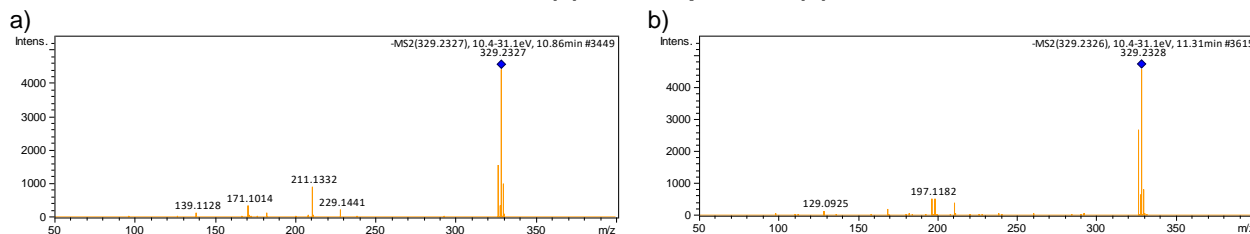
à literatura de metabólitos de Cactaceae e bancos de dados, esses isômeros foram identificados como ácidos tiánchico (5), pinélico (8) e tri-hidroxi-octadecenoico (9).

Figura 3 - Espectros de fragmentação UHPLC-ESI(-)-HRMS/MS atribuídos aos compostos ácido tri-hidroxi-octadecadienoico (a) e ácido corchorifatty F (b).



Fonte: Elaborado pelos autores (2022)

Figura 4 - Espectros de fragmentação UHPLC-ESI(-)-HRMS/MS atribuídos aos compostos ácido tiánchico (a) e ácido pinélico (b).



Fonte: Elaborado pelos autores (2022)

O último composto identificado neste extrato apresentou íon precursor $[M - H]^-$ m/z 191,0710, correspondendo à fórmula molecular $C_{11}H_{12}O_3$. Os principais íons fragmentos foram gerados em função de clivagens resultantes de desesterificação (m/z 145,0278; $C_9H_5O_2$) e descarboxilação (m/z 119,0496; C_8H_7O) do íon precursor, respectivamente. Após conferir a literatura e bancos espectrais, foi sugerido que este composto se trata de um éster derivado do ácido cumárico, o cumarato de etila (10).

Com exceção dos ácidos azelaico e tiánshico, todos os outros compostos identificados estão sendo propostos pela primeira vez para espécies do gênero *Pereskia*. Outros espectros ainda estão sob análise, sugerindo que esta fração apresente uma composição bastante diversificada.

CONCLUSÃO

A análise do extrato bruto das folhas de *P. grandifolia* por UHPLC-HRMS/MS via ionização em modo negativo levou à identificação de dez metabólitos, sendo sete ácidos orgânicos (1, 3-6, 8-9) e três derivados de ácidos fenilpropanoides (2, 7, 10). Alguns deles são considerados bioativos. Todos eles já foram relatados em alguma espécie da Família Cactaceae, porém, estão sendo relatados pela primeira vez em *P. grandifolia*.

Agradecimentos

Nossos agradecimentos ao Laboratório de Espectrometria de Massa do Complexo Central de Apoio à Pesquisa (COMCAP) da UEM pelas análises espectrométricas e à



DIRPPG pelo auxílio financeiro recebido. J.G.M.C. agradece ao programa PIVICT/UTFPR pela oportunidade.

Conflito de interesse

“Não há conflito de interesse”.

REFERÊNCIAS

AGOSTINI-COSTA, T. S. *et al.* Carotenoid composition of berries and leaves from a Cactaceae - *Pereskia* sp. **Journal of Functional Foods**, v. 11, p. 178-184, 2014.

ALMEIDA, M. E. F.; CORRÊA Angelita Duarte. Utilização de cactáceas do gênero *Pereskia* na alimentação humana em um município de Minas Gerais. **Ciência Rural**, v. 42, n. 4, p. 751-756, 2012.

KAZAMA, C. C. *et al.* Involvement of arginine-vasopressin in the diuretic and hypotensive effects of *Pereskia grandifolia* Haw. (Cactaceae). **Journal of Ethnopharmacology**, v. 144, p. 86-93, 2012.

LAVERDE JUNIOR, A. *et al.* O Potencial Nutracêutico de *Pereskia grandifolia* Haw. (Cactaceae). In: **Fitoquímica e as potencialidades biológicas dos biomas brasileiros**. Vol. 2. Guarujá-SP: Científica Digital, p. 08-25, 2022.

MASSOCATTO, A. M. *et al.* Biological Activity Survey of *Pereskia aculeata* Mill. and *Pereskia grandifolia* Haw. (Cactaceae). **Pharmaceutical Sciences**, v. 28, n. 1, p. 156-165, 2022.

CAGNON, J. G. M. *et al.* Compostos nitrogenados da fração diclorometânica do extrato das folhas de *Pereskia grandifolia* Haw. (Cactaceae). **Anais da XII Seminário de Extensão e Inovação. XXVII Seminário de Iniciação Científica e Tecnológica da UTFPR**, Santa Helena – PR, 2022.

SILVEIRA, M. G. *et al.* Nutritional assay *Pereskia* spp.: unconventional vegetable. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 92, e20180757, 2020.

SRI NURESTRI, A. M. *et al.* Phytochemical and Cytotoxic Investigations of *Pereskia grandifolia* Haw. (Cactaceae) leaves. **Journal of Biological Sciences**, v. 9, n. 5, p. 488-493, 2009.

TORRES, T. M. S. *et al.* Phenolic compounds recovered from ora-pro-nobis leaves by microwave assisted extraction. **Biocatalysis and Agricultural Biotechnology**, v. 39, p. e102238, 2022.

SOUZA, A. H. *et al.* Influence of Harvest Time on the Chemical Profile of *Pereskia aculeate* Mill. Using Paper Spray Mass Spectrometry. **Molecules**, v. 27, p. 4276, 2022