



Investigação da composição química das folhas de ora-pro-nóbis

Investigation of the chemical composition of ora-pro-nóbis leaf

Felipe Andrade Biu de Farias¹, Rafaela Takako Ribeiro de Almeida², Eduardo Jorge Pilau³,
Antonio Laverde Junior⁴

RESUMO

A espécie *Pereskia aculeata* Mill. (Cactaceae), conhecida popularmente como ora-pro-nóbis, é considerada uma planta alimentícia não convencional. O extrato bruto das folhas de ora-pro-nóbis foi avaliado neste trabalho utilizando a técnica de UHPLC-ESI(+)-HRMS/MS, com o objetivo de identificar novos metabólitos secundários. A análise dos íons precursores monoisotópicos e de seus fragmentos gerados, seguida da comparação dos espectros de alta resolução com a literatura e bancos de dados, levaram à identificação de 10 compostos. Estes metabólitos pertencem à diferentes classes: base nitrogenada, vitaminas, alcaloides e apocarotenoides. Os compostos identificados são considerados bioativos reforçando o potencial nutricional e medicinal desta espécie e ampliando as perspectivas para o desenvolvimento de novos produtos funcionais.

PALAVRAS-CHAVE: alcaloides; alimento funcional; *Pereskia aculeata*

ABSTRACT

The species *Pereskia aculeata* Mill. (Cactaceae), popularly known as ora-pro-nóbis, it is considered an unconventional food plant. The crude extract of ora-pro-nóbis leaves was evaluated in this work by UHPLC-ESI(+)-HRMS/MS to identify new secondary metabolites. The analysis of monoisotopic precursor ions and their generated fragments, followed by comparing high-resolution spectra with literature and databases, led to the identification of 10 compounds. These metabolites belong to different classes: nitrogenous bases, vitamins, alkaloids, and apocarotenoids. The identified compounds are considered bioactive, reinforcing this species' nutritional and medicinal potential and expanding the perspectives for developing new functional products.

KEYWORDS: alkaloids; functional food; *Pereskia aculeata*

INTRODUÇÃO

A espécie *Pereskia aculeata* Mill. (Cactaceae) é conhecida no Brasil como ora-pro-nóbis e em outros países como groselha-de-Barbados. Este cacto folear é originário da América tropical (Caribe e América Latina), porém é cultivado em outros continentes em função de suas características ornamentais, medicinais e alimentares (EGEA; PIERCE, 2022).

Ora-pro-nóbis é considerada uma planta alimentícia não convencional (PANC) e tem despertado grande interesse em função do alto teor de proteínas e aminoácidos essenciais, fibras e minerais (SILVEIRA et al., 2020).

As folhas de ora-pro-nobis são utilizadas na culinária em várias preparações como saladas, omeletes, refogados etc. A farinha das folhas pode ser utilizada como suplemento

¹ Bolsista PIVICT/UTFPR. Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Londrina, PR, Brasil. E-mail: felipe_abfarias@hotmail.com. ID Lattes: 4003325842215197.

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.



nutricional para enriquecer pães, bolos, biscoitos, tortas e massas em geral e, também, no preparo da farinha múltipla como complemento nutricional no combate à fome (SILVA JÚNIOR, 2008).

As folhas de ora-pro-nobis têm sido empregadas na medicina tradicional para tratar doenças renais, curar feridas cutâneas, em processos inflamatórios e como emolientes (PINTO; SCIO, 2014). Segundo estudos farmacológicos, as folhas apresentam propriedades anti-inflamatórias (PINTO *et al.*, 2015a), cicatrizantes (PINTO *et al.*, 2016), atividade antinociceptiva (PINTO *et al.*, 2015b), antioxidantes (GARCIA *et al.*, 2019; CRUZ *et al.*, 2021), antiproliferativas e anticolinesterásicas (MASSOCATTO *et al.*, 2022), entre outras.

Quanto à composição química, estudos relataram principalmente a presença de compostos fenólicos (GARCIA *et al.*, 2019; CRUZ *et al.*, 2021), alcaloides (GARCIA *et al.*, 2019) e carotenoides (AGOSTINI-COSTA *et al.*, 2014).

Embora seja uma planta pouco explorada economicamente, o cultivo sistemático e o processamento industrial de ora-pro-nóbis poderiam representar uma revolução nos recursos alimentícios da sociedade, podendo integrar planos de governo na recuperação de áreas degradadas e no combate à fome (SILVA JÚNIOR, 2008).

Diante da complexidade metabólica desta espécie, o presente trabalho procurou investigar a composição química do extrato bruto das folhas de *P. aculeata* 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) para a identificação de novos metabólitos secundários.

MATERIAIS E MÉTODOS

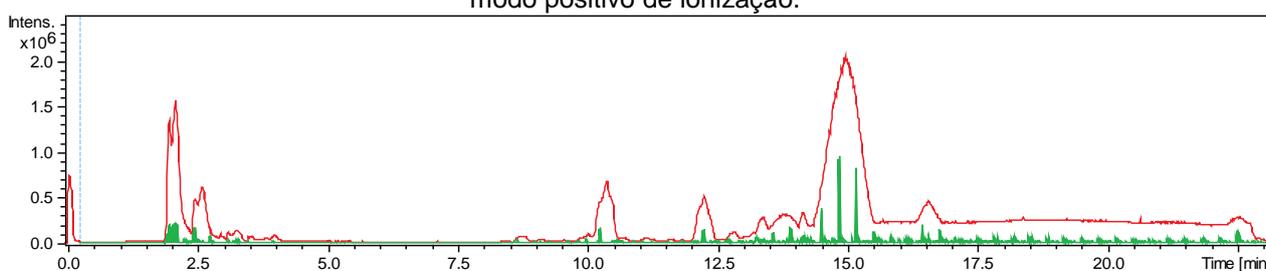
Cerca de 100 mg do extrato bruto das folhas de ora-pro-nóbis foi solubilizado em acetonitrila, ultrassonicado e centrifugado. Uma alíquota do sobrenadante foi analisada em um cromatógrafo líquido de ultra performance (UHPLC) acoplado a um espectrômetro de massa de alta resolução do tipo Q-TOF (sistema híbrido quadrupolo com tempo de voo) equipado com fonte de ionização tipo eletrospray (ESI-HRMS/MS). 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 como solvente (A) água (0,1% de ácido fórmico) e solvente (B) acetonitrila (0,1% ácido fórmico). A separação cromatográfica foi efetuada em 25 min. O espectrômetro de massa foi operado com modo de aquisição AutoMS/MS, onde os 4 íons mais intensos de cada pico cromatográfico são selecionados, com taxa de aquisição de 5 Hz (EM/EM) e tune do equipamento na faixa de m/z 50 - 1300. As análises foram realizadas em modo positivo $[M + H]^+$ de ionização, com voltagem do capilar de 4.50 kV; temperatura da fonte 180°C; e fluxo do gás de dessolvatação 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

A fração do extrato bruto foi avaliada por UHPLC-ESI-(+)-HRMS/MS gerando o cromatograma apresentado na Figura 1. Cada banda é formada por um conjunto de substâncias. O acesso a cada um dos picos, leva ao espectro de massa de alta resolução

com os seus principais fragmentos. Pela imagem do cromatograma dá para sugerir que este extrato apresenta uma enorme diversidade de componentes. Portanto, é um grande desafio interpretar todos os espectros. Para agilizar a análise, normalmente, faz-se uma comparação inicial dos íons moleculares monoisotópicos com dados da literatura. Nossa estratégia foi pesquisar a literatura para levantar quais são os compostos da Família Cactaceae que já foram identificados. A partir da fórmula molecular destas substâncias, calculou-se a massa monoisotópica de cada uma. Com estes dados, foi possível fazer a primeira triagem através da comparação dos dados calculados com os experimentais. Havendo completa coincidência de massas monoisotópicas, dentro de uma faixa de erro inferior a 5 ppm, seguiu-se a análise da fragmentação e comparação dos espectros de alta resolução com bancos de dados internacionais, como Massbank, Metlin e Human Metabolome Database (HMDB). Desta forma, foram identificados alguns compostos presentes nas folhas de ora-pro-nóbis, os quais foram apresentados na Tabela 1 em ordem de eluição durante a separação cromatográfica.

Figura 1 – Cromatograma de UHPLC-ESI(+)-HRMS/MS do extrato bruto das folhas de ora-pro-nóbis em modo positivo de ionização.



Fonte: Elaborado pelos autores (2023)

Tabela 1- Metabólitos identificados no extrato bruto das folhas de ora-pro-nóbis por UHPLC-ESI(+)-HRMS/MS.

	nome	Fórmula molecular	Massa monoisotópica	m/z [M + H] ⁺	Erro (ppm)	t _R (min)
1	Adenina	C ₅ H ₅ N ₅	135,0539	136,0616	2,9	2,38
2	Trigonelina	C ₇ H ₆ NO ₂	137,0471	138,0549	- 0,7	2,57
3	Ácido piperólico	C ₆ H ₁₁ N	129,0784	130,0855	3,1	2,83
4	Nicotinamida	C ₆ H ₆ N ₂ O	122,0475	123,0553	3,2	3,16
5	Ácido nicotínico	C ₆ H ₅ NO ₂	123,0315	124,0393	5,6	3,46
6	Ácido piroglutâmico	C ₅ H ₇ NO ₃	129,0420	130,0499	-1,5	3,79
7	Piroglutamina	C ₅ H ₈ N ₂ O ₂	128,0580	129,0658	4,6	4,56
8	Actinidiolídeo	C ₁₁ H ₁₄ O ₂	178,0989	179,1067	2,8	10,32
9	Di-hidroactinidiolídeo	C ₁₁ H ₁₆ O ₂	180,1144	181,1223	2,2	12,06
10	Loliolídeo	C ₁₁ H ₁₆ O ₃	196,1094	197,1172	2,5	12,39

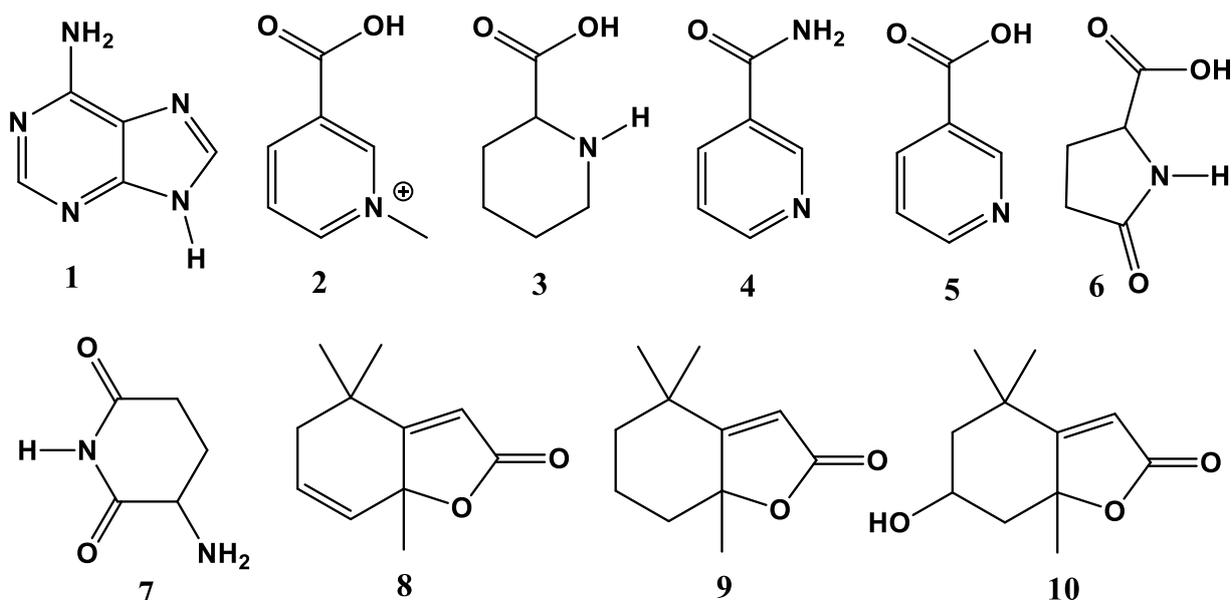
*valor teórico; t_R: tempo de retenção; Erro = [(massa teórica – massa experimental)/massa teórica] x 1.10⁶.
Fonte: Elaborado pelos autores (2023).

O primeiro composto identificado foi a adenina (1), uma base nitrogenada purínica que exerce importantes funções bioquímicas, inclusive faz parte da constituição do DNA e RNA. Antigamente era conhecida como vitamina B4, porém não é mais classificada como uma vitamina do complexo B.

Os compostos nicotinamida (4) e ácido nicotínico (5), também conhecido como niacina, foram identificados na porção mais polar do extrato. Estes dois componentes são designados como vitaminas B3. Estes compostos e seus derivados, como a trigonelina (2)

são responsáveis por importantes funções fisiológicas e bioquímicas. A trigonelina (**2**) também tem propriedades biológicas relevantes, como hipoglicêmica, hipolipidêmica, neuroprotetiva, sedativa, antitumoral e antimicrobiana (MOHAMADI *et al.* 2018).

Figura 2 – Estruturas dos compostos identificados na fração aquosa do extrato das folhas de *P. grandifolia* por UHPLC-ESI(-) HRMS/MS.



Fonte: Elaborado pelos autores (2023).

Os compostos ácido piperólico (**3**), ácido piroglutâmico (**6**) e piroglutamina (**7**) são metabólitos derivados de aminoácidos. O ácido piperólico é catabolizado pelo aminoácido lisina e exerce um papel muito importante como um regulador crítico da imunidade induzível das plantas (NÁVAROVÁ *et al.*, 2012). Ele também é considerado um precursor da biossíntese de alcaloides piperidínicos.

Também foram identificados três metabólitos resultantes da biossíntese de carotenoides, denominados de apocarotenoides: actinidiolídeo (**8**), di-hidroactinidiolídeo (**9**) e loliolídeo (**10**). Estudos recentes têm sugerido que o loliolídeo apresente capacidades anti-inflamatórias, neuroprotetoras, antioxidantes, anticolinesterásicas, herbívoras, entre outras (MALARZ *et al.*, 2021; SILVA *et al.*, 2021; XU *et al.*, 2022).

Enfim, todos os compostos identificados aqui já foram relatados em plantas da família Cactaceae. Os compostos **9** e **10** já foram identificados em *P. bleo* (MOHD-SALLEH *et al.*, 2020), porém, os demais (**1-8**) estão sendo relatados pela primeira vez em espécies do gênero *Pereskia*. Outros componentes ainda estão sob análise, sugerindo que este extrato apresente uma composição bastante diversificada.

CONCLUSÃO

Nosso trabalho com o extrato das folhas de ora-pro-nóbis contribuiu para a identificação de metabólitos secundários ampliando o conhecimento sobre a composição química desta espécie. Foram identificados sete compostos nitrogenados (base nitrogenada, vitaminas, alcaloides, derivados de aminoácidos) e três apocarotenoides.

Apesar destes metabólitos já serem relatados em plantas da Família Cactaceae, todos estão sendo relatados pela primeira vez em *P. aculeata* (ora-pro-nóbis) e **1-8** em plantas do gênero *Pereskia*. Todos são considerados compostos bioativos, alguns com importantes funções ecológicas e propriedades farmacológicas. A presença destes compostos bioativos reforça o potencial funcional de ora-pro-nobis devido às suas características nutricionais e propriedades terapêuticas, abrindo espaço para o desenvolvimento de produtos nutracêuticos.

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. F. A. B. F. 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.

CRUZ, T. M. *et al.* Extraction optimization of bioactive compounds from ora-pro-nobis (*Pereskia aculeata* Miller) leaves and their in vitro antioxidant and antihemolytic activities. **Food Chemistry**, p. 361, p. 130078, 2021.

EGEA, M.B.; PIERCE, G. Bioactive Compounds of Barbados Gooseberry (*Pereskia aculeata* Mill.). In: Murthy, H.N., Paek, K.Y. (eds) **Bioactive Compounds in Underutilized Vegetables and Legumes. Reference Series in Phytochemistry**. Springer, Cham. 2021.

GARCIA, J. A. A. *et al.* Phytochemical profile and biological activities of ‘Ora-pro-nobis’ leaves (*Pereskia aculeata* Miller), an underexploited superfood from the Brazilian Atlantic Forest. **Food Chemistry**, v. 294, p. 302-308, 2019.

MALARZ, J. *et al.* Stem Lettuce and Its Metabolites: Does the Variety Make Any Difference?. **Foods**, v. 10, p. 59, 2021.

MOHAMADI, N. *et al.* A Review on Biosynthesis, Analytical Techniques, and Pharmacological Activities of Trigonelline as a Plant Alkaloid. **Journal of Dietary Supplements**, v. 15, n. 2, p. 207-222, 2018.

MOHD-SALLEH, S. F. Phytochemical Screening and Cytotoxic Effects of Crude Extracts of *Pereskia bleo* Leaves. **Journal of Herbs, Spices & Medicinal Plants**, v. 26, n. 3, p. 291-302, 2020.



NÁVAROVÁ, H. *et al.* Pipecolic Acid, an Endogenous Mediator of Defense Amplification and Priming, Is a Critical Regulator of Inducible Plant Immunity. **The Plant Cell**, v. 24, p. 5123–5141, 2012

PINTO N. C. C. *et al.* *Pereskia aculeata*: a plant food with antinociceptive activity. **Pharmaceutical Biology**, v. 53, n. 12, p. 1780-1785, 2015b.

PINTO, N. C. C. *et al.* *Pereskia aculeata* Miller leaves accelerate excisional wound healing in mice. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 194, p. 131-136, 2016.

PINTO, N. C. C. *et al.* *Pereskia aculeata* Miller leaves present in vivo topical anti-inflammatory activity in models of acute and chronic dermatitis. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 173, p. 330-337, 2015a.

PINTO, N. C. C.; SCIO, E. The Biological activities and chemical composition of *Pereskia* Species (Cactaceae) - a review. **Plant Foods for Human Nutrition**, v. 69, n. 3, p. 189-95, 2014.

SILVA JÚNIOR, A. A. Ora-pro-nóbis: nutracêutico, protetor e construtor. **Agropecuária Catarinense**, v.21, n.1, p. 35-39, 2008.

SILVA, J. *et al.* Loliolide, a New Therapeutic Option for Neurological Diseases? In Vitro Neuroprotective and Anti-Inflammatory Activities of a Monoterpenoid Lactone Isolated from *Codium tomentosum*. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 22, p. 1888, 2021.

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

XU, W. *et al.* Seven compounds from *Portulaca oleracea* L. and their anticholinesterase activities, **Natural Product Research**, v. 36, n. 10, p. 2547-2553, 2022.