

Análise química dos frutos de ora-pro-nóbis por UHPLC/ESI-(+)-MS/MS

Chemical analysis of ora-pro-nóbis fruits by UHPLC/ESI-(+)-MS/MS

André Nicolini de Souza¹, Rafaela Takako Ribeiro de Almeida², Eduardo Jorge Pilau³, Antonio Laverde Junior⁴

RESUMO

Ora-pro-nóbis (*Pereskia aculeata* Mill.), também conhecida como groselha-de-Barbados, é uma espécie foliar da Família Cactaceae usada como planta alimentícia não convencional (PANC) e na medicina popular. Apresenta frutos pomáceos e carnosos, os quais podem ser consumidos *in natura* ou na forma de sucos, geleias ou compotas. O extrato bruto dos frutos de ora-pro-nóbis foi analisado neste trabalho por UHPLC-ESI-(+)-HRMS/MS para a identificação de metabólitos secundários. Foram identificados alcaloides, compostos fenólicos, cumarinas, vitaminas e derivados de aminoácidos. Alguns destes compostos são bioativos reforçando o potencial nutricional e medicinal desta espécie, gerando perspectivas para o desenvolvimento de produtos funcionais.

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

ABSTRACT

Ora-pro-nóbis (*Pereskia aculeata* Mill.), also known as Barbados gooseberry, is a leaf species of the Cactaceae Family used as an unconventional food plant (PANC) and in folk medicine. It has pomaceous and fleshy fruits, which can be consumed fresh or as juices, jellies or compotes. The crude extract of ora-pro-nóbis fruits was analyzed in this work by UHPLC-ESI-(+)-HRMS/MS for identifying secondary metabolites. Alkaloids, phenolic compounds, coumarins, vitamins and amino acid derivatives were identified. Some of these compounds are bioactive, reinforcing this species' nutritional and medicinal potential, and generating prospects for the development of functional products.

KEYWORDS: alkaloids; functional food; *Pereskia aculeata*

INTRODUÇÃO

Ora-pro-nóbis (*Pereskia aculeata* Mill.), também conhecida como groselha-de-Barbados em outros países, é um cacto foliar pertencente à Família Cactaceae originário da América tropical (Caribe e América Latina) (EGEA; PIERCE, 2021).

As folhas de ora-pro-nobis são levemente suculentas e podem ser consumidas de diversas formas por serem de fácil digestão e ricas em proteínas. A farinha das folhas pode ser utilizada como suplemento nutracêutico para enriquecer pães, bolos, biscoitos, tortas e massas em geral e, também, no preparo da farinha múltipla como complemento nutricional no combate à fome. Os frutos são pomáceos e carnosos e podem ser

¹ Bolsista PIVICT/UTFPR. Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Londrina, PR, Brasil. E-mail: andre.nicolini27@gmail.com. ID Lattes: 8897955229488495.

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.

consumidos crus, em geleias, sucos ou como compota (ROSA; SOUZA, 2003). Eles também podem ser fermentados e conservados com açúcar para a elaboração de bebidas (SILVA JÚNIOR, 2008).

Os frutos apresentam propriedades medicinais e são utilizados popularmente como expectorantes e antissifilíticos (SILVA JÚNIOR, 2008). Estudos tem mostrado que os frutos apresentam propriedades antioxidantes (SILVA *et al.*, 2018) anti-inflamatórias, antiproliferativas e anticolinesterásicas (MASSOCATTO *et al.*, 2022). Estudos tem sugerido que compostos bioativos encontrados nos frutos de ora-pro-nóbis possam ajudar a reduzir o risco de desenvolvimento de doenças degenerativas como o câncer, melhorando o sistema imunológico (EGEA; PIERCE, 2021). Os principais compostos identificados nos frutos de ora-pro-nóbis pertencem às classes dos compostos fenólicos (HOFF *et al.*, 2022), carotenoides (AGOSTINI-COSTA *et al.*, 2014) e alcaloides (MORAES *et al.*, 2021).

Ainda há poucas informações a respeito da composição química dos frutos de ora-pro-nóbis. Neste sentido, o presente trabalho procurou investigar a composição química dos frutos desta espécie utilizando 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).

MATERIAIS E MÉTODOS

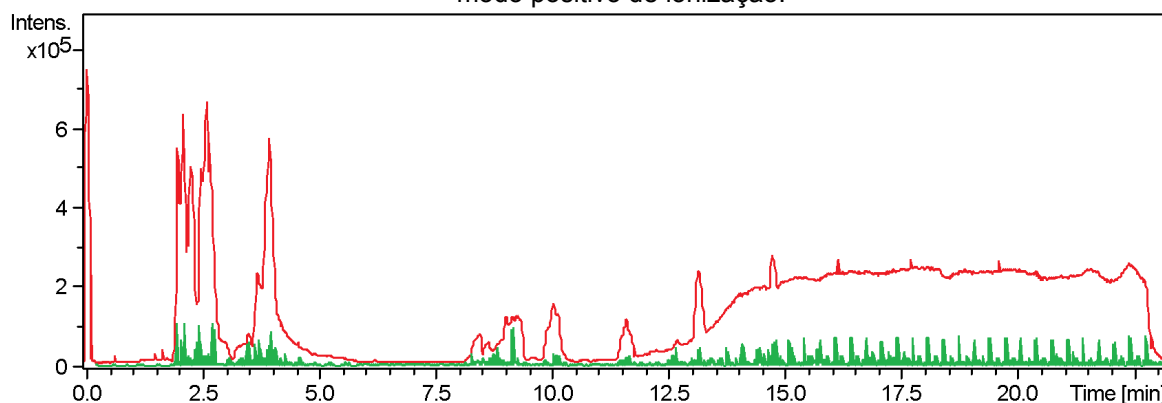
O extrato dos frutos maduros de ora-pro-nóbis foi obtido após maceração com etanol 80% e concentração em evaporador rotativo, seguido de liofilização. Uma alíquota do extrato bruto foi solubilizada em metanol e analisada por UHPLC-ESI-(+)-HRMS/MS no Complexo Central de Apoio à Pesquisa (COMCAP) da Universidade Estadual de Maringá. 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 positivo $[M + H]^+$ (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. Os espectros de massa de alta resolução obtidos foram comparados com dados da literatura e de bancos de dados espectrais internacionais de acesso livre (MassBank, Human Metabolome Database – HMDB etc.) e analisados paralelamente.

RESULTADOS E DISCUSSÕES

A composição química do extrato bruto dos frutos de ora-pro-nóbis foi analisada pela técnica de espectrometria de massa de alta resolução. Inicialmente, os componentes foram separados por cromatografia líquida de ultra alta performance (Figura 1) e sequencialmente ionizados em um espectrômetro de massa gerando espectros de massa monoisotópica. A partir dos espectros foi possível determinar a fórmula molecular de alguns componentes do extrato. Esta informação foi crucial para iniciar a fase de identificação, primeiramente pela comparação dos dados de metabólitos de Cactaceae,

seguida pela análise do perfil de fragmentação dos espectros e comparação com dados da literatura e bancos de dados espectrais internacionais. Desta forma, foram identificados alguns compostos presentes nos frutos de ora-pro-nóbis, os quais foram apresentados na Tabela 1.

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



Fonte: Elaborado pelos autores (2023)

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

nome	Fórmula molecular	Massa monoisotópica*	m/z* [M + H] ⁺	Erro (ppm)	t _R (min)
1 pirogalol	C ₆ H ₆ O ₃	126,0311	127,0390	3,9	2,31
2 ácido piroglutâmico	C ₅ H ₇ NO ₃	129,0420	130,0499	2,3	3,77
3 ácido pipercolico	C ₆ H ₁₁ N	129,0784	130,0855	3,8	2,87
4 trigonelina	C ₇ H ₇ NO ₂ ⁺	138,0549 ⁺	138,0549	2,9	2,52
5 ácido guanidinobutírico	C ₅ H ₁₁ NO ₂	145,0846	146,0924	4,8	2,19
6 Hidroxi-cumarina	C ₉ H ₆ O ₃	162,0311	163,0390	3,7	9,37
7 piridoxina	C ₈ H ₁₁ NO ₃	169,0733	170,0812	2,9	2,68
8 di-hidroxi-cumarina	C ₉ H ₆ O ₄	178,0261	179,0339	2,8	9,49

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

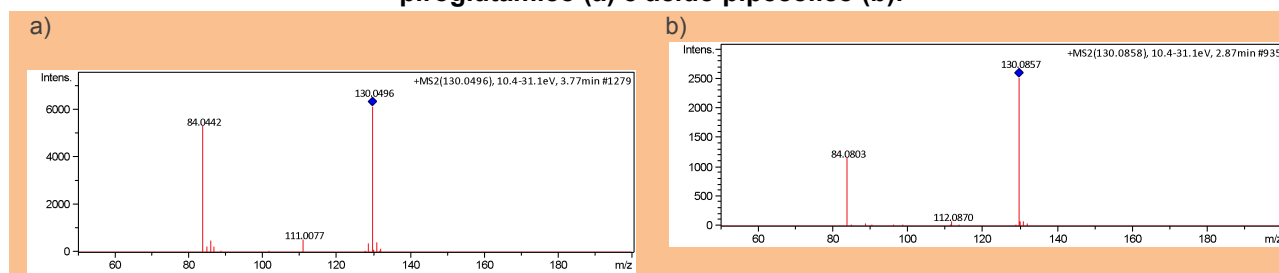
Fonte: Elaborado pelos autores (2023).

O composto **1** apresentou íon precursor [M + H]⁺ m/z 127,0381, o qual corresponde à fórmula molecular C₆H₆O₃. O íon fragmento m/z 109,0281 (C₆H₅O₂⁺) foi gerado em função da perda de água, enquanto o íon fragmento m/z 81,0334 (C₅H₅O⁺) resultou das perdas de H₂O e CO. A comparação deste espectro com a literatura e bancos de dados sugere que este composto seja o pirogalol (1).

A análise dos íons precursores [M + H]⁺ m/z 130,0496 e m/z 130,0857 levou à atribuição das fórmulas moleculares C₅H₈NO₃⁺ e C₆H₁₂NO₂⁺, respectivamente (Figuras 2a e 2b). Numa análise convencional por espectrometria de massas por impacto de elétrons, o íon molecular [M⁺] seria simplesmente m/z 129 para ambos os compostos. No entanto, a espectrometria de massas de alta resolução permite calcular a massa exata (monoisotópica) a partir do íon precursor com altíssima precisão (erro < 5 ppm) restringindo à fórmula molecular correta de cada componente. Neste caso específico, a análise da fragmentação de ambos os espectros mostrou a mesma perda (46,0050

unidades de massa atômica - u.m.a.; H₂O e CO), porém levando à fragmentos distintos (m/z 84,0442 → C₄H₆NO⁺ e m/z 84,0803 → C₅H₁₀N⁺). Desta forma, a análise criteriosa da fragmentação, bem como a comparação destes espectros com a literatura e bancos de dados (MassBank), levou a sugerir que estes compostos sejam os ácidos piroglutâmico (**2**) e pipecólico (**3**), respectivamente.

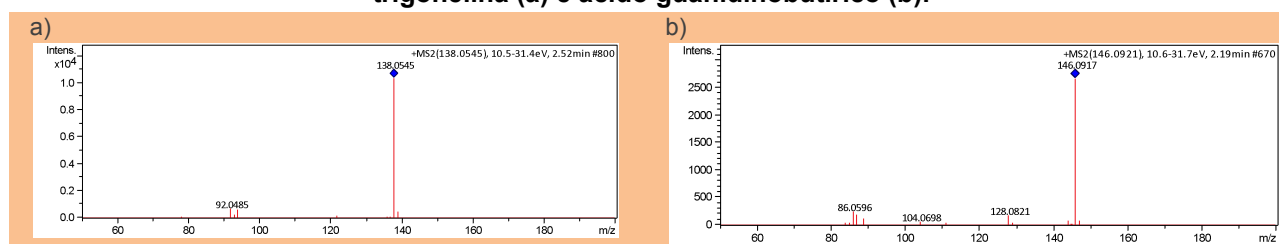
Figura 2 - Espectros de fragmentação UHPLC-ESI(+)-HRMS/MS atribuídos aos compostos ácido piroglutâmico (a) e ácido pipecólico (b).



Fonte: Elaborado pelos autores (2023)

Ao espectro de íon precursor [M + H]⁺ m/z 138,0545 foi atribuída a fórmula molecular C₇H₇NO₂⁺ (Figura 3a). Os fragmentos m/z 94,0650 e 92,0485 correspondem aos cátions C₆H₈N⁺ e C₆H₄N⁺, respectivamente, resultantes das perdas de CO₂ (43,9893 u.m.a.) e H₂O + CO (46,0049 u.m.a.) do íon precursor. A comparação deste espectro com bancos de dados (MassBank) levou a sugerir que este composto seja a trigonelina (**4**), um alcaloide derivado biossinteticamente do ácido nicotínico (vitamina B3). A trigonelina tem importantes funções fisiológicas na planta, bem como propriedades biológicas relevantes, como hipoglicêmica, hipolipidêmica, neuroprotetiva, sedativa, antitumoral e antimicrobiana (MOHAMADI *et al.* 2018).

Figura 3 - Espectros de fragmentação UHPLC-ESI(+)-HRMS/MS atribuídos aos compostos trigonelina (a) e ácido guanidinobutírico (b).



Fonte: Elaborado pelos autores (2023)

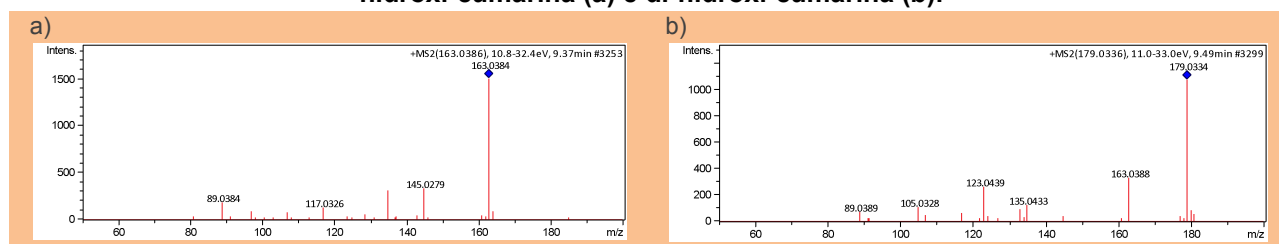
Outro componente avaliado (**5**) mostrou íon precursor [M + H]⁺ m/z 146,0917, ao qual foi atribuída a fórmula molecular C₅H₁₁N₃O₂ (Figura 3b). Analisando a fragmentação, foram constatadas as perdas de H₂O (m/z 128,0821; C₅H₁₀N₃O⁺), CH₂N₂ (m/z 104,0698; C₄H₁₀NO₂⁺) e H₂O + CH₂N₂ (m/z 86,0596; C₄H₈NO⁺). A partir do perfil de fragmentação e da comparação dos espectros com bancos de dados, sugeriu-se que este componente se trata do ácido guanidinobutírico (**5**), um metabólico resultante da biossíntese do aminoácido arginina.

Os compostos **6** e **8** apresentaram íons precursores [M + H]⁺ m/z 163,0384 (C₉H₇O₃⁺) e m/z 179,0385 (C₉H₇O₄⁺), respectivamente, além de certa similaridade no perfil de fragmentação (Figura 4), diferindo entre si por 16 u.m.a. (O). Após análise deste perfil

e consulta à literatura, estes metabólitos foram identificados como duas cumarinas: hidróxi-cumarina (**6**) e di-hidróxi-cumarina (**8**). Não foi possível definir a posição de substituição correta das hidróxilas nas estruturas das cumarinas.

Por fim, o composto **7**, com íon precursor $[M + H]^+$ m/z 170,0807 foi identificado por similaridade espectral com dados da literatura (NIKOLIĆ *et al.*, 2012), como sendo a piridoxina (vitamina B6).

Figura 4 - Espectros de fragmentação UHPLC-ESI-(+)-HRMS/MS atribuídos aos compostos hidróxi-cumarina (a) e di-hidróxi-cumarina (b).



Fonte: Elaborado pelos autores (2023)

Todos os compostos identificados aqui já foram relatados em plantas da família Cactaceae, porém, todos estão sendo relatados pela primeira vez nos frutos de ora-pro-nóbis. Outros componentes ainda estão sob análise, sugerindo que este extrato apresente uma composição bastante diversificada.

CONCLUSÃO

Neste trabalho foram identificados 8 metabólitos no extrato hidroetanólico dos frutos de ora-pro-nóbis, os quais são pertencentes às classes dos alcalóides (**3-4**), cumarinas (**6-8**), compostos fenólicos (**1**), vitaminas (**7**) e derivados de aminoácidos (**2, 5**). Todos estão sendo relatados pela primeira vez nos frutos desta espécie. A presença destes compostos bioativos reforça o potencial funcional destes frutos para a promoção da saúde humana além de suas características nutricionais, 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 e 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.



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.

HOFF, R. *et al.* Phenolic compounds profile and main nutrients parameters of two underestimated non-conventional edible plants: *Pereskia aculeata* Mill. (ora-pro-nóbis) and *Vitex megapotamica* (Spreng.) Moldenke (tarumã) fruits. **Food Research International**, v. 162, 112042, 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.

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.

MORAES, T.V. *et al.*, Perfil fitoquímico e atividade antioxidante de flores e frutos de *Pereskia aculeata* Miller. **Scientia Plena**, v. 17, p. 051503, 2021.

NIKOLIĆ, D. *et al.* Mass spectrometric dereplication of nitrogen-containing constituents of black cohosh (*Cimicifuga racemosa* L.). **Fitoterapia**, v. 83, p. 441-460, 2012

ROSA, S.M.; SOUZA, L.A. Morfo-anatomia do fruto (hipanto, pericarpo e semente) em desenvolvimento de *Pereskia aculeata* Miller (Cactaceae). **Acta Scientiarum Biological Sciences**, Maringá, v.25, n.2, p.415-428, 2003.

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

SILVA, A. P. G. *et al.* Ripe Ora-pro-nobis (*Pereskia aculeata* Miller) fruits express high contents of bioactive compounds and antioxidant capacity. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 40, n. 3, p. e-749, 2018.