



PERFIL METABÓLICO DA CULTURA DE CALOS DE *Cereus peruvianus* USANDO ESPECTROMETRIA DE MASSAS

Arthur Antunes Ferrarezi¹ (PIBIC/CNPq/UEM), Dra. Carla Porto², Dr. Eduardo Jorge Pilau², Dra. Claudete Aparecida Mangolin³, Dr. Arildo José Braz de Oliveira¹, Dra. Regina Aparecida Correia Gonçalves¹ (Orientadora),
e-mail: racgoncalves@uem.br

¹Universidade Estadual de Maringá/Centro de Ciências da Saúde/Maringá, PR.

²Universidade Estadual de Maringá/Centro de Ciências Exatas/Maringá, PR.

³Universidade Estadual de Maringá/Centro de Ciências Biológicas/Maringá, PR.

Área: Ciências da Saúde; Subárea: Farmácia.

Palavras-chave: *Cereus peruvianus*, cultura de calos, espectrometria de massas

Resumo:

O cacto *Cereus peruvianus* apresenta uma série de compostos de interesse econômico, farmacológico e industrial. Dentre os compostos produzidos por essa planta estão os ésteres de cera com potencial aplicação como barreiras impermeáveis, gomas com aplicações industriais, aminoalcaloides, etc. A Cromatografia Líquida de Alta Eficiência acoplada à Espectrometria de Massas tem sido ferramenta importante na caracterização de biomoléculas e na investigação de rotas metabólicas ainda pouco exploradas em cultura de calos. No presente trabalho, testou-se uma metodologia de extração com diferentes solventes para verificar a influência dos mesmos na determinação do perfil metabólico. Dentre os solventes, o etanol foi o que apresentou melhor perfil de extração e dentre as substâncias identificadas por CLAE-EM está o alcaloide tiramina.

Introdução

Visando compreender o metabolismo de plantas fora de seu ambiente natural, a cultura de células tem sido uma ferramenta biotecnológica útil para a avaliação dos metabólitos produzidos durante o seu crescimento e a influência de reguladores na produção dos mesmos.¹

Os estudos envolvendo a cultura de células visam explorar sua capacidade de biossíntese *in vitro*, de modo a obter compostos medicinais e



insumos para a indústria. Além disso, a produção de metabólitos por essa metodologia apresenta muitas vantagens, dentre elas estão o desenvolvimento uniforme das culturas, ausência de micro-organismos e doenças, ciclo vegetativo reduzido, e o cultivo não depende da sazonalidade e de fatores ambientais externos.²

O *Cereus peruvianus* é uma espécie pertencente à família das cactáceas e é popularmente conhecida no Brasil como Mandacaru. Essa planta produz uma série de compostos de interesse farmacológico e industrial, dentre os quais pode-se destacar: ésteres de cera com potencial aplicação como barreiras impermeáveis, polissacarídeos com aplicações industriais, etc.³ Dentre os estudos envolvendo os calos de *C. peruvianus*, no Laboratório de Biotecnologia de Produtos Naturais e Sintéticos (LABIPROS), foi relatado a produção de aminoalcaloides⁴ e ácidos graxos incomuns com eficiente atividade antitumoral.³

A espectrometria de massas tem sido uma técnica amplamente utilizada nos estudos de detecção e análise de metabólitos intracelulares. Dessa forma, o emprego de tal técnica na avaliação do perfil metabólico de culturas celulares pode ampliar significativamente a caracterização de novas moléculas e ainda a investigação de rotas metabólicas ainda pouco exploradas.⁵ O objetivo do presente trabalho foi avaliar o perfil metabólico da cultura de calos do *C. peruvianus* usando métodos cromatográficos aliados à espectrometria de massas.

Materiais e métodos

Avaliação da metodologia de extração dos metabólitos:

Para a extração, cerca de 1 g de calos frescos foi adicionado em 3 balões de fundo redondo de 125 mL, cada um contendo 50 mL de um dos solventes a serem avaliados (metanol, etanol ou água deionizada). Em seguida os sistemas foram conectados a condensadores de refluxo e refluxados por 3 horas. Os extratos foram filtrados, concentrados em evaporador rotativo, acondicionados em *vials* e mantidos em *freezer* até o momento da análise cromatográfica.

Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE) acoplada à Espectrometria de Massas (EM):

As análises dos extratos foram efetuadas em um cromatógrafo Waters acoplado a um espectrômetro de massas Quattro-Micro (Micromass), operando com coluna C18. A separação cromatográfica foi realizada com uma mistura de dois solventes: **A** (99,5% H₂O e 0,5% de ácido fórmico v/v) e



B (99,5% acetonitrila e 0,5% de ácido fórmico v/v). A eluição foi realizada por meio de um gradiente químico.

Resultados e Discussão

Após as análises dos extratos por CLAE-EM, obteve-se os perfis cromatográficos, mostrados na Figura 1. Verifica-se nos cromatogramas que o etanol (cromatograma 2) foi capaz de extrair uma maior diversidade de compostos, o que pode ser observado nos picos cromatográficos, apresentando uma diversidade de sinais com m/z entre 100 e 300.

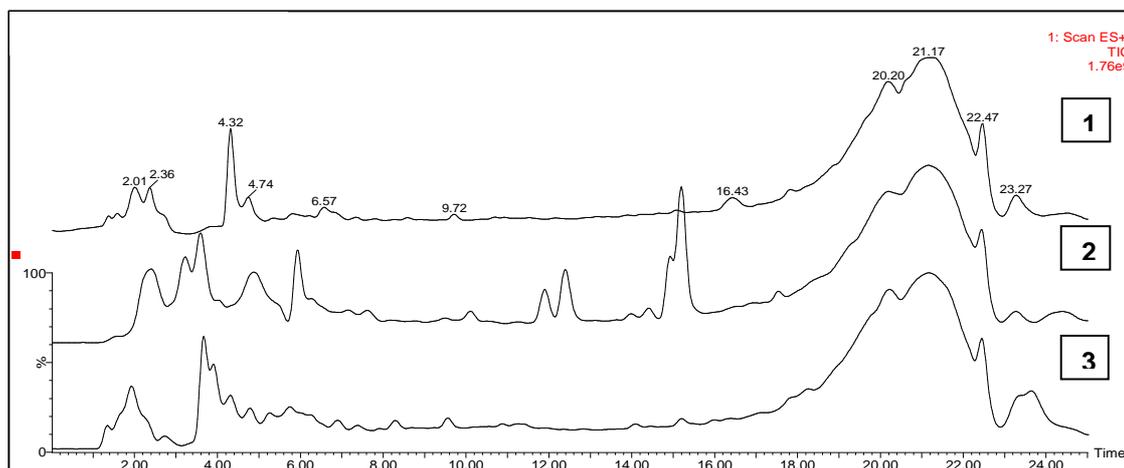


Figura 1 – Perfis cromatográficos dos extratos metanólico (1), etanólico (2) e aquoso (3).

Dentre as substâncias identificadas até o momento, o alcaloide feniletilamínico tiramina esteve presente nos três extratos. Essa substância foi identificada por meio do seu perfil de fragmentação no espectro de massas (Figura 2).

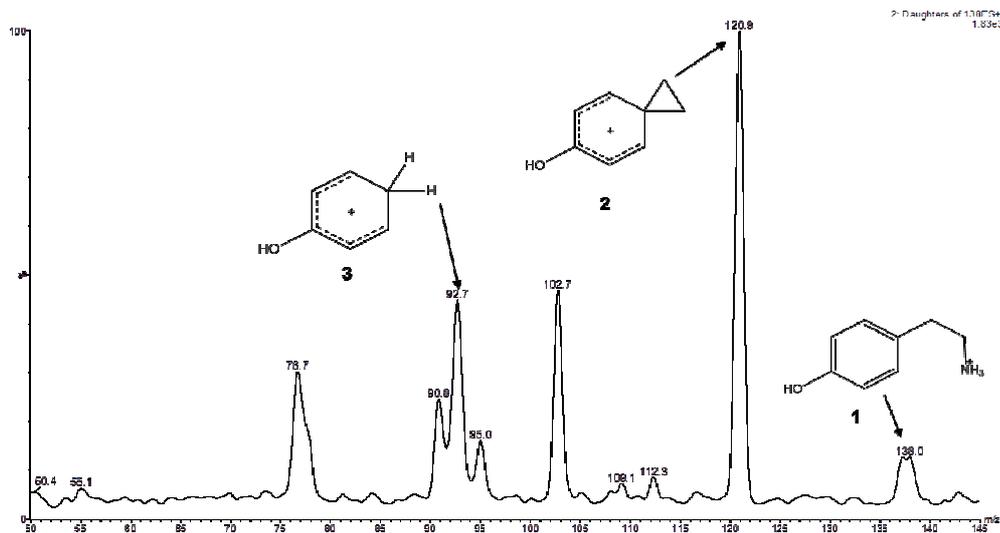




Figura 2 – Espectro de massas da tiramina.

No espectro de massas observa-se o pico com m/z de 138, que corresponde à massa da tiramina ligada a um próton. A perda característica da sua amina terminal leva à formação do íon **2** (m/z 121), uma estrutura bicíclica altamente estável. Em seguida, a perda da cadeia carbônica lateral leva à formação do íon fenônio **3** (m/z 93). Dessa forma, por meio da fragmentação fica comprovada a presença desse alcaloide nos calos de *Cereus peruvianus*.

Conclusões

Os testes de extração mostraram-se efetivos e a diversidade de compostos extraídos abre novas perspectivas de estudos acerca do metabolismo dessas células, principalmente quanto às rotas biossintéticas de alcaloides.

Agradecimentos

Os autores agradecem à UEM, CNPq, CAPES e COMCAP.

Referências

1. VERPOORTE, R.; CONTIN, A.; MEMELINK, J. Biotechnology for the production of plant secondary metabolites. *Phytochemistry Reviews* **2002**, v. 1 (1), p. 13-25.
2. FUMAGALI, E. *et al.* Production of plant secondary metabolites in plant cell and tissue culture: the example of *Tabernaemontana* and *Aspidosperma* genera. *Revista Brasileira de Farmacognosia* **2008**, v. 18 (4), p. 627-641.
3. JACOMINI, D. *et al.* Lipid profile and antiproliferative activity of callus cultures of *Cereus peruvianus* Mill. *Industrial Crops and Products* **2015**, v. 69, p. 408-414.
4. OLIVEIRA, A. J. B.; MACHADO, M. F. P. S.; Alkaloid Production by Callous Tissue Cultures of *Cereus peruvianus* (Cactaceae). *Applied Biochemistry and Biotechnology* **2003**, v. 104.
5. LEI, Z.; HUHMANN, D. V.; SUMNER, L. W. Mass spectrometry strategies in metabolomics. *Journal of Biological Chemistry* **2011**, v. 286 (29), p. 25435 – 25442.