

POTENCIAL BIOTECNOLÓGICO DE FRUTOS DE JATOBÁ (*HYMENAEA MARTIANA* HAYNE): UMA PLANTA MEDICINAL NATIVA DO VALE DO SÃO FRANCISCO

Fernanda Granja da Silva Oliveira¹; Beatriz Cavalcanti Amorim de Mélo²; Rebeca Almeida Silva³; Maria Aparecida Barboza dos Santos^{4*}; Jackson Roberto Guedes da Silva Almeida⁵; Wagner Pereira Félix⁶

Resumo - *Hymenaea martiana* é uma planta medicinal nativa da Caatinga, porém estudos bioquímicos dos frutos ainda não foram relatados. Dessa forma, o estudo teve por objetivo determinar açúcares, metabólitos secundários e avaliar o potencial fotoprotetor de frutos de *Hymenaea martiana*. Os frutos foram coletados em Petrolina-PE e separados em polpa e sementes. A análise de açúcar investigou presença de glicose, xilose, celobiose, xilitol e arabinose. A determinação de metabólitos secundários foi feita segundo Wagner & Bladt (1996) e a atividade fotoprotetora determinada pelo método de Mansur *et al.* (1986). Na polpa dos frutos foram identificados carboidratos que representam grande potencial biotecnológico. As substâncias encontradas na triagem fitoquímica demonstram grande potencial antioxidante, fotoprotetor e medicinal. Com o extrato da polpa, os valores de FPS obtidos não foram significativos e no extrato das sementes, o FPS foi de $4,54 \pm 0,11$. Apesar dos valores encontrados serem abaixo do recomendado, os extratos dos frutos de *H. martiana* poderiam ser utilizados em desenvolvimento futuro de fotoprotetores, proporcionando diversos benefícios para a formulação. Este estudo traz dados relevantes sobre a composição bioquímica dos frutos de *H. martiana*, e estudos mais aprofundados torna-se necessário para maior discussão desta espécie, uma árvore com grande potencial terapêutico.

PALAVRAS-CHAVE: Açúcares; Frutos; *Hymenaea martiana*.

¹Núcleo de Estudos e Pesquisas de Plantas Mediciniais, Universidade Federal do Vale do São Francisco. fernanda.gso@hotmail.com

²Laboratório de Engenharia Bioquímica, Universidade Federal de Campina Grande. bia_eq@yahoo.com.br

³Laboratório de Engenharia Bioquímica, Universidade Federal de Campina Grande. rebeccaalmeidasilva@gmail.com

⁴ Fundação Nacional de Saúde, Polo Juazeiro-BA. cidabz@gmail.com

⁵Núcleo de Estudos e Pesquisas de Plantas Mediciniais, Universidade Federal do Vale do São Francisco. jackson.guedes@univasf.edu.br

⁶Laboratório de Bioquímica – Centro de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Vale do São Francisco. wagner.felix@univasf.edu.br

INTRODUÇÃO

Dentre as plantas medicinais nativas encontradas no Vale do São Francisco, destaca-se *Hymenaea martiana* Hayne (Fabaceae), conhecida popularmente no Nordeste brasileiro como “jatobá”. Shanley e Medina (2005) caracterizam esta planta como árvore de porte grande, com 15 a 20 metros de altura, possuindo copa arredondada com folhagem densa e casca espessa, tronco reto, com cerca de 2 metros de diâmetro.

O uso tradicional do jatobá tem sido relatado, e o extrato alcoólico das cascas de *H. martiana* tem sido usado no tratamento de inflamações e de reumatismo, e ainda como antinociceptiva e analgésica (Neves *et al.*, 1993; Gazzaneo *et al.*, 2005). Algumas substâncias que têm sido relacionadas às atividades farmacológicas são flavonoides (Carneiro *et al.*, 1993; Almeida *et al.*, 2012).

Frutos de outras espécies do gênero foram analisados e vários metabólitos importantes foram encontrados (Peres *et al.*, 2013; Dias *et al.*, 2013). Estes dados da literatura demonstram o grande potencial químico e medicinal do gênero.

Entretanto, de acordo com um levantamento bibliográfico, ainda não foi relatado nenhum estudo bioquímico com os frutos de *Hymenaea martiana*. Diante deste contexto, estudo teve objetivo de determinar açúcares, metabólitos secundários e avaliar o potencial fotoprotetor de frutos de *Hymenaea martiana*.

MATERIAIS E MÉTODOS

Coleta do Material Vegetal

Os frutos de *Hymenaea martiana* foram coletados na cidade de Petrolina, Pernambuco, Brasil, em julho de 2015, e foram identificados pelo Herbário da Universidade Federal do Vale do São Francisco (HVASF), com exsicata n° 6444, coordenadas 09°11'04.30" S, 040°18'05.40" W, 357 m de altura. Os frutos foram separados em dois materiais vegetais (polpa e sementes), que foram pulverizados em moinho de facas Quimis®.

Análise de açúcares em Cromatografia Líquida de Alta Eficiência

A determinação e quantificação dos açúcares (glicose, xilose e arabinose) foram realizadas por meio de cromatografia líquida de alta eficiência, utilizando-se um cromatógrafo líquido equipado com uma bomba modelo ProStar 210 (Varian®), injetor manual modelo 7725 (Rheodyne®) com loop de 20 µL. As condições cromatográficas são apresentadas na Tabela 1.

Tabela 1 – Condições cromatográficas da análise de açúcares em frutos de *H. martiana*.

Parâmetros	Condições
Detector	Índice de refração modelo ProStar 355 (Varian®)
Coluna	Hi-Plex® H 8 µm (300 x 7,7 mm)
Temperatura da coluna	60 °C
Fase móvel	Solução de ácido sulfúrico à 0,005 mol/L
Fluxo	0,6 mL/min
Tempo de análise	15 minutos

A preparação das amostras foi realizada com diluição de 1 g de cada amostra (polpa e semente) em água destilada, na diluição 1:20 (polpa/sememente : solução) (Fator de diluição = 20). A solução foi agitada, deixada em repouso por alguns minutos, e filtrada, injetando 20 µL no cromatógrafo.

Triagem fitoquímica dos frutos de *H. martiana*

Inicialmente, adicionou-se 100 g de polpa e sementes em 500 mL de etanol 95% em recipientes âmbar, e foram mantidos na ausência de luz por três dias consecutivos, em temperatura ambiente (± 25 °C) e com agitação diária. Após o tempo de maceração, o resíduo foi filtrado. O procedimento foi repetido três vezes. Após o processo, a solução extrativa foi concentrada em evaporador rotativo Fisatom[®] a 50 °C (Almeida *et al.*, 2012).

Uma alíquota dos extratos de cada material vegetal foi solubilizada em clorofórmio, e submetida às análises em cromatografia em camada delgada (CCD) com sílica gel 60 F254, com suporte de alumínio, aplicados com micropipeta e eluídos com diferentes sistemas de solventes, conforme descrito por Wagner & Bladt (1996), procurando destacar os principais grupos de metabólitos secundários (Tabela 2).

Tabela 2 - Sistemas de eluição e reveladores utilizados na triagem fitoquímica.

Metabólitos Secundários	Sistemas de eluição	Reveladores
Alcalóides	Tolueno: acetato de etila: dietilamina (70:20:10, v/v)	Reagente de Dragendorff
Derivados antracênicos	Acetato de etila: metanol: água (100:13.5:10, v/v)	Reagente KOH etanólico 10%
Cumarinas	Tolueno: etil éter (1:1 saturado com ácido acético 10%, v/v)	Reagente KOH etanólico 10%
Flavonóides e taninos	Acetato de etila: ácido fórmico: ácido acético glacial: água (100:11:11:26, v/v)	Reagente NP + PEG
Lignanais	Clorofórmio: metanol: água (70:30:4, v/v)	Reagente Vanilina Fosfórico
Mono e diterpenos	Tolueno: acetato de etila (93:7, v/v)	Reagente Vanilina Sulfúrico
Naftoquinonas	Tolueno: ácido fórmico (99:1, v/v)	Reagente KOH etanólico 10%
Triterpenos e esteróides	Tolueno: clorofórmio : etanol (40:40:10, v/v)	Reagente de Lieberman-Burchard

Avaliação da atividade fotoprotetora

A atividade fotoprotetora foi avaliada utilizando a leitura espectrofotométrica de soluções diluídas, de acordo com o Método de Mansur *et al.* (1986). Os extratos foram previamente secos em estufa a 40 °C por 60 min. Foram preparadas diluições com as concentrações de 5, 25, 50 e 100 mg.L⁻¹. Varreduras de 260 a 400 nm, com intervalos de 5 nm foram realizadas em espectrofotômetro (Quimis[®]), com cubetas de quartzo de 1 cm de caminho óptico.

Os cálculos foram realizados considerando os intervalos de λ determinados (Equação 1).

$$FPS = FC \cdot \sum_{290}^{320} EE(\lambda) \cdot abs(\lambda)$$

Equação 1

Os valores de EE (λ) e I(λ) utilizados para o cálculo do FPS (Fator de Proteção Solar) foram os mesmos usados da literatura. Aplicou-se o fator de diluição (Fd) para correção de equivalência dos FPS dos extratos com os valores de referência, onde FC = fator de correção (10), EE(λ) = efeito eritemogênico da radiação; I(λ) = intensidade do sol; abs (λ) = leitura espectrofotométrica da absorbância da solução do filtro solar.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Análise de açúcares em Cromatografia Líquida de Alta Eficiência

Os valores das concentrações dos açúcares encontrados na polpa e nas sementes de *Hymenaea martiana* estão explicitados nas Tabelas 3.

Tabela 3 – Açúcares encontrados em frutos de *H. martiana*

Açúcares	Polpa (mg.L ⁻¹)	Sementes (mg.L ⁻¹)
Polpa		
Glicose	82.464,8	9.961,8
Xilose	61.472,8	13,6
Xilitol	27,4	1969,2
Celobiose	N.D.	666
Arabinose	N.D.	5,4

Legenda: N.D.: Não Detectado.

A glicose e xilose já foi identificada em *Hymenaea courbaril* nas sementes (Omaira *et al.*, 2007; Lima *et al.*, 1993). Uma análise realizada no pericarpo de *Hymenaea oblongifolia* identificou frutose, glicose, ácido glicurônico, sorbose e sacarose (Chung *et al.*, 1997).

Um polissacarídeo de *Hymenaea courbaril* tem sido estudado, a xiloglucana, que tem sido extraída dos cotilédones (Buckeridge *et al.*, 1997) e sementes (Lima *et al.*, 1993). Galactose, glicose, xilose e arabinose foram identificadas nesta espécie oriundas da quebra deste polissacarídeo presente nas sementes desta espécie (Omaira *et al.*, 2007).

Em relação às quantificações, a polpa apresentou uma quantidade maior de glicose, xilose e xilitol, conforme encontrado em outros frutos (Roesler *et al.*, 2007). Já as sementes apresentaram outros tipos de açúcares, como arabinose, que já foi descrito em *H. courbaril* (Omaira *et al.*, 2007) e celobiose, não identificado ainda em *Hymenaea*. Este é também o primeiro relato da presença de xilitol em espécies do gênero em estudo.

Segundo Mussatto e Roberto (2002) xilitol é um poliálcool atóxico, classificado pelo FDA como um aditivo seguro, que pode ser utilizado como substituto do açúcar (sacarose) que apresenta propriedades nutritivas e benéficas para a saúde humana, podendo atuar na cura ou prevenção de doenças, apresentando várias aplicações clínicas, com aplicações na área odontológica e médica, com relatos de eficácia na prevenção e combate às cáries dentárias. Sendo um adoçante natural bem tolerado por diabéticos, pode ser utilizado como coadjuvante no tratamento de desordem no metabolismo de lipídeos e lesões renais e parenterais. Além disso, o xilitol pode prevenir infecções pulmonares, otite e osteoporose. Além destas ações, ainda apresenta vantagens como elevada

estabilidade química e microbiológica, sendo um potencial conservante em alimentos. Desta forma, fica evidente o potencial biotecnológico dos frutos de *H. martiana*, por apresentar importantes carboidratos na sua composição química.

Triagem fitoquímica dos frutos de *H. martiana*

Foi realizada a triagem fitoquímica com os extratos obtidos, e as placas de cromatografia em camada delgada foram analisadas. A maceração dos frutos indicou presença de antracenos, flavonoides, monoterpenos, diterpenos e naftoquinonas, saponinas, e a maceração das sementes indicou presença de antracenos e flavonoides (Tabela 5).

Tabela 5 - Triagem fitoquímica qualitativa dos frutos de *Hymenaea martiana* submetidos à extração por maceração.

Metabólitos secundários	Extrato Polpa	Extrato Sementes
Alcaloides	-	-
Derivados antracênicos	+	+
Cumarinas	-	-
Flavonoides	+++	+
Lignanas	-	-
Monoterpenos e Diterpenos	+++	-
Naftoquinonas	+	-
Saponinas	+	-
Triterpenos e esteroides	-	-

A análise dos extratos da polpa indicou presença de derivados antracênicos, flavonoides, monoterpenos, diterpenos, naftoquinonas, saponinas, triterpenos e esteroides. Apesar de não haver estudos com os frutos de *H. martiana*, em estudos anteriores em frutos de outras espécies do gênero identificaram substâncias com importantes ações farmacológicas, como o flavonoide rutina (Peres *et al.*, 2013); os carotenoides α e β -tocoferol (Dias *et al.*, 2013) e diterpenos espatulenol e estigmasterol, β -sitosterol, dentre outros terpenos (Aguiar *et al.*, 2010; Dias *et al.*, 2013). A análise dos extratos das sementes indicou presença de derivados antracênicos, flavonoides, saponinas, porém foram encontrados estudos em outras espécies do gênero que indicaram apenas a presença de cumarinas (ipomopsina e himenaína) (Simões *et al.*, 2009), e xiloglucanas (Lima *et al.*, 1993; Buckeridge *et al.*, 1997).

Avaliação da atividade fotoprotetora

Os valores de FPS foram calculados de acordo com Mansur *et al.* (1986) (Tabela 4).

Tabela 6 – Valores de FPS na faixa de UVA (290-320 nm) dos extratos os frutos de *Hymenaea martiana*, na concentração de 100 mg.L⁻¹.

Materiais vegetais	FPS
Polpa	0,66 ± 0,41
Sementes	4,54 ± 0,11

Com o extrato obtido a partir a polpa, os valores de FPS obtidos não foram significativos, com $0,66 \pm 0,41$. Já para o extrato obtidos com as sementes de *H. martiana* obtiveram valores de FPS de $4,54 \pm 0,11$. Segundo a ANVISA (Brasil, 2012), o valor mínimo para FPS é de 6,0. Apesar dos valores encontrados serem abaixo do recomendado, os extratos obtidos com os frutos de *H. martiana* poderiam ser utilizados em desenvolvimento futuro de fotoprotetores, como por exemplo acrescidos de filtros químicos, o que traria uma fotoproteção dentro dos valores mínimos indicados, além de proporcionar diversos benefícios para a formulação, com o fornecimento de diversos metabólitos secundários com importantes propriedades medicinais. Atualmente, a inclusão de produtos naturais em formulações fotoprotetoras é uma tendência (Oliveira-Júnior; Almeida, 2012, e as pesquisas têm focado na análise de constituintes químicos contendo cromóforos e compostos com atividade antioxidante (Polonini *et al.*, 2011) como os compostos fenólicos, principalmente os flavonoides (Oliveira-Júnior *et al.*, 2012), substâncias encontradas na triagem fitoquímica dos frutos e sementes da espécie em estudo.

CONCLUSÕES

Evidencia-se o grande potencial bioquímico e medicinal dos frutos de *Hymenaea martiana*. A análise de açúcares demonstrou que vários carboidratos importantes são encontrados na polpa e sementes. A triagem fitoquímica identificou importantes metabólitos secundários bioativos e a atividade fotoprotetora apresentou um grande potencial para o futuro desenvolvimento de formulações cosméticas.

Desta forma, trazendo dados inéditos sobre os frutos de *Hymenaea martiana*, o presente estudo enfatiza o potencial biotecnológico da espécie, agregando valor químico e medicinal a uma espécie nativa da Caatinga do Vale do São Francisco, importante passo para a conservação da sua biodiversidade.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem a colaboração das agências brasileiras CAPES e FACEPE pelo suporte financeiro, e a colaboração do Laboratório de Engenharia Bioquímica da Universidade Federal de Campina Grande.

REFERÊNCIAS

- AGUIAR, J.C.; SANTIAGO, G.M.; LAVOR, P.L.; VERAS, H.N.; FERREIRA, Y.S.; LIMA, M.A.; ARRIAGA, A.M.; LEMOS, T.L.; LIMA, J.Q.; DE JESUS, H.C.; ALVES, P.B.; BRAZ-FILHO, R. (2010). Chemical constituents and larvicidal activity of *Hymenaea courbaril* fruit peel. *Natural Product Communications* 5-12, pp. 1977-1980.
- ALMEIDA, J.R.G.S.; SILVA, M.E.G.C.; GUIMARÃES, A.L.; OLIVEIRA, A.P.; ARAÚJO, C.S.; SIQUEIRA-FILHO, J.A.; FONTANA, A.P.; DAMASCENO, P.K.F.; BRANCO C.R.C.;

- BRANCO, A. (2012). HPLC-DAD analysis and antioxidant activity of *Hymenaea martiana* Hayne (Fabaceae). *Journal of Chemical and Pharmaceutical Research* (4-2), pp. 1160-1166.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC nº 30 de 1 de junho de 2012. Aprova o Regulamento Técnico Mercosul sobre Protetores Solares em Cosméticos e dá outras providências. *Diário Oficial da República Federativa do Brasil*, Brasília, 2012.
- BUCKERIDGE, M.S.; CROMBIE, H.J.; MENDES, C.J.M.; REID, J.S.G.; GIDLEY, M.J.; VIEIRA, C.C.J. (1997). A new family of oligosaccharides from the xyloglucan of *Hymenaea courbaril* L. (Leguminosae) cotyledons. *Carbohydrate Research* (303-2), pp. 233-237.
- CARNEIRO, E.; CALIXTO, J.B.; DELLE MONACHE, F.; YUNES, R.A. Isolation chemical identification and pharmacological evaluation of eucryphin, astilbin and engelitin obtained from the bark of *Hymenaea martiana*. (1993). *International Journal of Pharmacognosy* (31-1), pp. 38-46.
- CHUNG, M.S.; KIM, N.C.; LONG, L.; SHAMON, L.; AHMAD, W.Y.; NIEVES, L.S.; KARDONO, L.B.S.; KENELLY, E.J.; PEZZUTO, J.M.; SOEJARTO, D.D.; KINGHORN, D. (1997). Dereplication of saccharide and polyol constituents of candidate sweet-tasting plants: isolations of the sesquiterpene glycoside mukurozioside iib as a sweet principle of *Sapindus rarak*. *Phytochemical Analysis* (8), pp. 49-54.
- DIAS, L.S.; LUZIA, D.M.M.; JORGE, N. (2013). Physicochemical and bioactive properties of *Hymenaea courbaril* L. pulp and seed lipid fraction. *Industrial Crops and Products* (49), pp. 610-618.
- GAZZANEO, L.R.S.; LUCENA, R.F.P.; ALBUQUERQUE, U.P. (2005). Knowledge and use of medicinal plants by local specialists in a region of Atlantic Forest in the state of Pernambuco (Northeastern Brazil). *Journal of Ethnobiology and Ethnomedicine* (1-9), pp. 1-9.
- KAI, K.C.; PETKOWICZ, C.L.O. (2010). Influence of extraction conditions on properties of seed xyloglucan. *International Journal of Biological Macromolecules* (46), pp. 223-228.
- LIMA, N.N.; REICHER, F.; CORRÊA, J.B.C.; GANTER, J.L.M.S.; SIERAKOWSKI, M.R. (1993). Partial structure of a xyloglucan from the seed of *Hymenaea courbaril* var. *stilbocarpa* (jatobá). *Ciência e Cultura* (45-1), pp. 22-26.
- MANSUR, J.S.; BREDER, M.V.R.; MANSUR, M.C.A.; AZULAY, R.D. (1986). Determinação do fator de proteção solar por espectrofotometria. *Anais Brasileiros de Dermatologia* (61), pp.121-124.
- MUSSATTO, S.I.; ROBERTO, I.C. (2002). Xilitol: Edulcorante com efeitos benéficos para a saúde humana. *Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas* (38-4), pp.401-413.
- NEVES, M.C.A.; NEVES, P.C.A.; ZANINI, J.C.; MEDEIROS, Y.S.; YUNES, R.A.; CALIXTO, J.B. (1993). Analgesic and anti-inflammatory activities of the crude hydroalcoholic extract obtained from the bark of *Hymenaea martiana*. *Phytotherapy Research* (7-5), pp. 356-362.
- OLIVEIRA-JÚNIOR, R. G.; ARAUJO, C. S.; SANTANA, C. R. R.; SOUZA, G. R.; LIMASARAIVA, S. R. G.; GUIMARÃES, A. L.; OLIVEIRA, A. P.; SIQUEIRA-FILHO, J. A.; PACHECO, A. G. M.; ALMEIDA, J. R. G. S. (2012). Phytochemical screening, antioxidant and antibacterial activity of extracts from the flowers of *Neoglaziovia variegata* (Bromeliaceae). *Journal of Chemical and Pharmaceutical Research* (4-10), pp. 4489-4494.
- OLIVEIRA-JÚNIOR, R. G.; ALMEIDA, J. R. G. S. (2012). Prospecção tecnológica de fotoprotetores derivados de produtos naturais. *Revista GEINTEC* (3-1), pp.32-40.

OMAIRA, A.; GLADYS, L.P.; MARITZA, M.; OMAIRA, G.; LILIAN, S. (2007). Structural features of a xyloglucan isolated from *Hymenaea courbaril* gum. *Food Hydrocolloids* (21), pp. 1302-1309.

PERES, M.T.L.P.; LOPES, J.R.R.; SILVA, C.B.; CÂNDIDO, A.C.S.; SIMIONATTO, E.; CABRAL, M.R.P.; OLIVEIRA, R.M.; FACCO, J.T.; CARDOSO, C.A.L.; SIMAS, P.H. (2013). Phytotoxic and antioxidant activity of seven native fruits of Brazil. *Acta Botanica Brasilica*, (27-4), pp. 836-846.

POLONINI, H. C.; RAPOSO, N. R. B.; BRANDÃO, M. A. F. (2011). Fotoprotetores naturais como instrumento de ação primária na prevenção de câncer de pele. *Revista APS* (14-2), pp. 216-223.

SHANLEY, P.; MEDINA, G. (2005). *Frutíferas e plantas úteis na vida amazônica*. CIFOR Imazon, Belém-PA, 296 p.

SIMÕES, K.; DU, J.; PESSONI, R.A.B.; CARDOSO-LOPES, E.M.; VIVANCO, J.M.; STERMITZ, F.R.; BRAGA, M.R. (2009). Ipomopsin and hymenain, two biscoumarins from seeds of *Hymenaea courbaril*. *Phytochemistry Letters* (2), pp. 59–62.

WAGNER, H.; BLADT, S. (1996). *Plant drug analysis: a thin layer chromatography atlas*. Heidelberg: Springer Verlag, Berlin, pp. 384, 1996.