



UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
LABORATÓRIO DE TECNOLOGIA FARMACÊUTICA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM PRODUTOS NATURAIS E SINTÉTICOS
BIOATIVOS

**FEOFITINAS E ESTERÓIDES GLICOSILADOS DE *Turnera subulata* Sm.
(TURNERACEAE)**

SEVERINO GONÇALVES DE BRITO FILHO

JOÃO PESSOA – PB
2011

SEVERINO GONÇALVES DE BRITO FILHO

**FEOFITINAS E ESTERÓIDES GLICOSILADOS DE *Turnera subulata* Sm.
(TURNERACEAE)**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em
Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos do Laboratório de
Tecnologia Farmacêutica da Universidade Federal da
Paraíba, como requisito para a obtenção do título de Mestre
em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos.

Área de concentração: Farmacoquímica

ORIENTADORA: Prof^a. Dr^a. Maria de Fátima Vanderlei de Souza

**JOÃO PESSOA – PB
2011**

SEVERINO GONÇALVES DE BRITO FILHO

Feofitinas e Esteróides Glicosilados de *Turnera subulata* Sm. (Turneraceae)

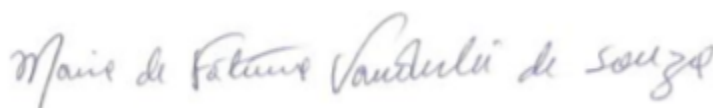
BANCA EXAMINADORA



Prof^a. Dr^a. Maria Raquel de Figueiredo
PhD Química Orgânica FIOCRUZ/RJ
Examinadora Externa



Prof^a. Dr^a. Maria Célia de O. Chaves/PGPNSB/UFPB
PhD em Química Orgânica
Examinadora Interna/UFPB



Prof. Dr Prof^a. Dr^a. Maria de Fátima Vanderlei de Souza/UFPB
PhD em Química Orgânica/UFPB
(Orientadora)

AO SENHOR JESUS por ter me dado força, sabedoria e coragem para enfrentar as dificuldades e vencer os desafios.

À VIRGEM SOBERANA por ter sido intercessora e mãe nos momentos de tribulação.

À MINHA MÃE coluna firme da minha edificação intelectual desde o Jardim da Infância, companheira, confidente, conselheira e acima de tudo mãe.

AO MEU PAI por ter me ensinado o caminho da humildade e da simplicidade, a sua ausência física me entristece e incomoda, mas a sua presença espiritual é certa, é firme, é sólida nesse momento de alegria.

AO TIO ZÉ figura lendária dos campos de batalha da segunda grande guerra. Os anos pesam, mas são aliviados pelo amor e pela consideração de familiares que o amam.

DEDICO

AGRADECIMENTOS

A Deus, fonte inesgotável de fortaleza e alento, que me ilumina e guia rumo ao plano que Ele tem para mim, pois tudo pertence a Ele, toda honra, toda glória, e a vitória alcançada em minha vida.

À minha mãe Eurídece e à minha madrinha Nadir, pelo amor, carinho, paciência, conselho, auxílio, apoio e incentivo que vêm me proporcionando em todos os momentos da minha vida.

À minha prima Izileide Mouzinho, pelo acolhimento em sua casa, pela paciência, pelo exemplo de vigor, de luta, de doação, de coragem, de empreendedorismo, de honestidade, enfim, exemplo de fibra e dignidade qualidades estas que faltam, infelizmente, a muitas pessoas nos dias atuais.

A todos os meus familiares que, mesmo ausentes ou distantes, desejaram o meu êxito.

À Prof^a. Dr^a. Maria de Fátima Vanderlei de Souza, pela disponibilidade com que aceitou me orientar, pelos ensinamentos valiosos transmitidos, pela confiança em mim depositada, pela compreensão, paciência, incentivo e amizade nesta caminhada acadêmica, pelo apoio e compreensão quase que maternal com que lida com sua equipe. Um modelo de profissional, de mãe, de mulher e de ser humano.

Aos Professores da Pós-graduação, cujos preciosos ensinamentos profissionais e para a vida não serão esquecidos.

À Prof^a. Dr^a. Ivana Maria Fachine Sette, por ter me apresentado à professora Fátima Vanderlei e pelo apoio e incentivo quando da minha decisão em tentar fazer o mestrado.

À Prof^a. Dr^a. Maria de Fátima Agra pela identificação botânica da espécie estudada.

À banca examinadora pela disponibilidade em contribuir com este trabalho.

A todos os funcionários do Laboratório de Tecnologia Farmacêutica pelos diversos serviços prestados, especialmente Ataíde Matias, Glória, Raimundo Nonato, Sócrates Golzio, Tânia Alves e Vicente Carlos pela amizade e por não medirem esforços para proporcionar o bom andamento de nossos trabalhos.

A todos que fizeram e fazem parte da equipe da Prof^a. Fátima Vanderlei pelo acolhimento e enriquecedora convivência científica e de amizade: Davi, Eugênia, Jéssica, Otemberg, Rafael, Roosevelt, Raquel, Tiago, Wemerson, Yanna e em especial Marianne por ter me acompanhado no início dos meus trabalhos laboratoriais.

A todos os meus amigos que, mesmo na distância, acompanharam minha trajetória e sabem o quanto significam para mim.

A todos os alunos da turma do mestrado 2009.

Aos demais colegas pelo companheirismo e agradável convívio.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela bolsa concedida.

A todos os cidadãos brasileiros que, mediante o pagamento dos seus impostos, financiaram o desenvolvimento desta pesquisa.

Enfim, ***aos que me amam*** o agradecimento pelas vibrações e energias positivas emanadas de sentimentos sinceros e verdadeiros.

E ***aos que me odeiam*** agradeço ao estímulo proporcionado para que eu superasse as minhas dificuldades para que vissem a minha vitória e a minha glória.

“Por mais crítica que seja a situação e as circunstâncias em que te encontrares, não te desesperes. Nas ocasiões em que tudo inspira temor, nada deves temer. Quando estiveres cercado de todos os perigos, não deves temer nenhum. Quando estiveres sem nenhum recurso, deves contar com todos. Quando fores surpreendido, surpreende o inimigo.”

Sun Tzu (A Arte da Guerra)

SUMÁRIO

LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E FÓRMULAS

LISTA DE FIGURAS

LISTA DE QUADROS

LISTA DE ESQUEMAS

LISTA DE TABELAS

RESUMO

ABSTRACT

1 INTRODUÇÃO.....	21
2 OBJETIVOS.....	24
2.1 Objetivo Geral.....	24
2.2 Objetivos Específicos.....	24
3 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA.....	26
3.1 Aspectos gerais da família Turneraceae	26
3.2 Espécies da Família <i>Turneraceae</i> em seus aspectos etnobotânicos e etnofarmacológicos.....	27
3.3 Aspectos quimiotaxonômicos da família <i>Turneraceae</i>	29
3.4 Descrição botânica do gênero <i>Turnera</i>	30
3.5 Descrição botânica da espécie <i>Turnera subulata</i> Sm.....	30
3.6 Classes de constituintes químicos isolados de <i>Turnera subulata</i> Sm. e seus aspectos biossintéticos.....	34
3.6.1 Esteróides.....	34
3.6.1.1 Considerações gerais.....	34
3.6.1.2 Aspectos biossintéticos dos Esteróides.....	34
3.6.2 Feofitinas.....	39
3.6.2.1 Aspectos Biossintéticos das Feofitinas.....	40
4. EXPERIMENTAL.....	45
4.1 Levantamento bibliográfico.....	45
4.2 Coleta do material botânico.....	45
4.3 Processamento do material botânico.....	45
4.4 Obtenção do extrato etanólico das partes aéreas de <i>Turnera subulata</i> Sm.....	45

4.4.1 Particionamento do extrato etanólico bruto das partes aéreas de <i>Turnera subulata</i> Sm.	46
4.4.2 Cristalização do extrato etanólico bruto das partes aéreas de <i>Turnera subulata</i> Sm.....	46
4.5 Isolamento e purificação dos constituintes químicos das fases hexânica e clorofórmica do extrato etanólico bruto das partes aéreas de <i>Turnera subulata</i> Sm.....	46
4.5.1 Procedimentos cromatográficos e definição do grau de pureza.....	47
4.5.1.1 Processamento cromatográfico dos resíduos clorofórmico e metanólico do extrato etanólico bruto das partes aéreas de <i>Turnera subulata</i> Sm.....	48
4.5.1.2 Processamento cromatográfico da fase hexânica do extrato etanólico bruto das partes aéreas de <i>Turnera subulata</i> Sm.....	49
4.6 Caracterização estrutural dos constituintes químicos isolados de <i>Turnera subulata</i> Sm.....	50
4.6.1 Infravermelho.....	50
4.6.2 Ressonância Magnética Nuclear.....	50
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	61
5.1 Substâncias isoladas do extrato etanólico bruto das partes aéreas de <i>Turnera subulata</i> Sm.....	61
5.2 Caracterização estrutural de Ts-1	62
5.3 Caracterização estrutural de Ts-2	91
5.4 Caracterização estrutural de Ts-3	104
5.5 Caracterização estrutural de Ts-4	114
5.6 Caracterização estrutural de Ts-5	125
6 CONCLUSÕES.....	149
REFERÊNCIAS.....	151

LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E FÓRMULAS

AcOEt: Acetato de etila

APT: Attached Proton Test

CCDA: Cromatografia em Camada Delgada Analítica

CCDP: Cromatografia em Camada Delgada Preparativa

CHCl₃: Clorofórmio

CH₂Cl₂: Diclorometano

CDCl₃: Clorofórmio deuterado

CD₃OD: Metanol deuterado

C₅D₅N: Piridina Deuterada

cm: Centímetro

COSY: Correlation Spectroscopy

d: Dubleto

dd: Duplo dubleto

ddd: Duplo duplo dubleto

dl: Dubleto largo

dq: Duplo quarteto

dt: Duplo tripleto

EEB: Extrato Etanólico Bruto

EtOH: Etanol

g: Grama

HMBC: Heteronuclear Multiple Bond Correlation

HMQC: Heteronuclear Multiple Quantum Correlation

HSQC: Heteronuclear Single Quantum Correlation

Hz: Hertz

IV: Infravermelho

J: Constante de acoplamento

LTF: Laboratório de Tecnologia Farmacêutica

m: Meta

m: Multiplete

MeOH: Metanol

MHz: Megahertz

mg: Miligrama

mL: Mililitro

mm: Milímetro

nm: Nanômetro

NOESY: Nuclear Overhauser Enhancement Spectroscopy

p.: Página

q: Quarteto

R_f: Fator de Retenção

RMN ¹H: Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio

RMN ¹³C: Ressonância Magnética Nuclear de Carbono 13

s: Singleto

t: Tripleto

tl: Tripleto largo

UFPB: Universidade Federal da Paraíba

UV: Ultravioleta

δ: Deslocamento químico em ppm

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Distribuição geográfica da família Turneraceae.....	26
Figura 2 – Espécie <i>Turnera subulata</i>	32
Figura 3 – Espécie <i>Turnera subulata</i> – Características botânicas.....	32
Figura 4 – Representação esquemática da biossíntese dos esteróides (1 ^a etapa) (DEWICK, 2002).....	36
Figura 4 (cont.) – Representação esquemática da biossíntese dos esteróides (2 ^a etapa) (DEWICK, 2002).....	37
Figura 5 – Representação esquemática da biossíntese dos esteróides (3 ^a etapa) (DEWICK,2002).....	38
Figura 6 – Estruturas da porfirina, clorina e bacterioclorina.....	39
Figura 7 – Estrutura e obtenção da feofitina <i>a</i> , a partir da clorofila <i>a</i>	40
Figura 8 – Representação esquemática da biossíntese da Clorofila <i>a</i>	42
Figura 9 – Diferenças estruturais entre as Feofitinas <i>a</i> e <i>b</i>	43
Figura 10 – Substâncias isoladas de <i>Turnera subulata</i> Sm.....	61
Figura 11 – Estrutura do composto <i>Ts-1</i> e correlações observadas no espectro de HMBC.....	65
Figura 12 – Espectro de IV (KBr, cm ⁻¹) de <i>Ts-1</i>	70
Figura 13 – Espectro de RMN ¹ H (δ, CDCl ₃ , 500MHz) de <i>Ts-1</i>	71
Figura 14 – Expansão 1 do espectro de RMN ¹ H (δ, CDCl ₃ , 500MHz) de <i>Ts-1</i>	72
Figura 15 – Expansão 2 do espectro de RMN ¹ H (δ, CDCl ₃ , 500MHz) de <i>Ts-1</i>	73
Figura 16 – Expansão 3 do espectro de RMN ¹ H (δ, CDCl ₃ , 500MHz) de <i>Ts-1</i>	74
Figura 17 – Expansão 4 do espectro de RMN ¹ H (δ, CDCl ₃ , 500MHz) de <i>Ts-1</i>	75
Figura 18 – Expansão 5 do espectro de RMN ¹ H (δ, CDCl ₃ , 500MHz) de <i>Ts-1</i>	76
Figura 19 – Espectro de RMN ¹³ C-APT (δ, CDCl ₃ , 125MHz) de <i>Ts-1</i>	77
Figura 20 – Expansão 1 do espectro de RMN ¹³ C-APT (δ, CDCl ₃ , 125MHz) de <i>Ts-1</i>	78
Figura 21 – Expansão 2 do espectro de RMN ¹³ C-APT (δ, CDCl ₃ , 125MHz) de <i>Ts-1</i>	79
Figura 22 – Espectro de RMN ¹ H x ¹ H COSY (δ, CDCl ₃ , 500 MHz) de <i>Ts-1</i>	80
Figura 23 – Expansão 1 do espectro de RMN ¹ H x ¹ H COSY (δ, CDCl ₃ , 500 MHz) de <i>Ts-1</i>	81

Figura 24 – Expansão 2 do espectro de RMN $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ COSY (δ , CDCl_3 , 500 MHz) de Ts-1	82
Figura 25 – Espectro de RMN $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ HMBC (δ , CDCl_3 , 500 MHz) de Ts-1	83
Figura 26 – Expansão 1 do espectro de RMN $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ HMBC (δ , CDCl_3 , 500 MHz) de Ts-1	84
Figura 27 – Expansão 2 do espectro de RMN $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ HMBC (δ , CDCl_3 , 500 MHz) de Ts-1	85
Figura 28 – Expansão 3 do espectro de RMN $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ HMBC (δ , CDCl_3 , 500 MHz) de Ts-1	86
Figura 29 – Espectro de RMN $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ HSQC (δ , CDCl_3 , 500 MHz) de Ts-1	87
Figura 30 – Expansão 1 do espectro de RMN $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ HSQC (δ , CDCl_3 , 500 MHz) de Ts-1	88
Figura 31 – Expansão 2 do espectro de RMN $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ HSQC (δ , CDCl_3 , 500 MHz) de Ts-1	89
Figura 32 – Espectro de RMN $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ -NOESY (δ , CDCl_3 , 500 MHz) de Ts-1	90
Figura 33 – Espectro de IV (KBr , cm^{-1}) de Ts-2	96
Figura 34 – Espectro de RMN ^1H (δ , CDCl_3 , 200 MHz) de Ts-2	97
Figura 35 – Expansão 1 do espectro de RMN ^1H (δ , CDCl_3 , 200 MHz) de Ts-2	98
Figura 36 – Expansão 2 do espectro de RMN ^1H (δ , CDCl_3 , 200 MHz) de Ts-2	99
Figura 37 – Expansão 3 do espectro de RMN ^1H (δ , CDCl_3 , 200 MHz) de Ts-2	100
Figura 38 – Espectro de RMN ^{13}C (δ , CDCl_3 , 50 MHz) de Ts-2	101
Figura 39 – Expansão 1 do espectro de RMN ^{13}C (δ , CDCl_3 , 50 MHz) de Ts-2	102
Figura 40 – Expansão 2 do espectro de RMN ^{13}C (δ , CDCl_3 , 50 MHz) de Ts-2	103
Figura 41 – Espectro de IV (KBr , cm^{-1}) de Ts-3	107
Figura 42 – Espectro de RMN ^1H (δ , $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$, 200 MHz) de Ts-3	108
Figura 43 – Expansão 1 do espectro de RMN ^1H (δ , $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$, 200 MHz) de Ts-3	109
Figura 44 – Expansão 2 do espectro de RMN ^1H (δ , $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$, 200 MHz) de Ts-3	110
Figura 45 – Espectro de RMN ^{13}C (δ , $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$, 50 MHz) de Ts-3	111
Figura 46 – Expansão 1 do espectro de RMN ^{13}C (δ , $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$, 50 MHz) de Ts-3	112
Figura 47 – Expansão 2 do espectro de RMN ^{13}C (δ , $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$, 50 MHz) de Ts-3	113
Figura 48 – Espectro de IV (KBr , cm^{-1}) de Ts-4	118
Figura 49 – Espectro de RMN ^1H (δ , CDCl_3 , 200 MHz) de Ts-4	119

Figura 50 – Expansão 1 do espectro de RMN ^1H (δ , CDCl_3 , 200 MHz) de Ts-4	120
Figura 51 – Expansão 2 do espectro de RMN ^1H (δ , CDCl_3 , 200 MHz) de Ts-4	121
Figura 52 – Espectro de RMN ^{13}C (δ , CDCl_3 , 50 MHz) de Ts-4	122
Figura 53 – Expansão 1 do espectro de RMN ^{13}C (δ , CDCl_3 , 50 MHz) de Ts-4	123
Figura 54 – Expansão 2 do espectro de RMN ^{13}C (δ , CDCl_3 , 50 MHz) de Ts-4	124
Figura 55 – Estrutura do composto Ts-5 e principais correlações observadas no espectro de HMBC.....	127
Figura 56 – Espectro de IV (KBr , cm^{-1}) de Ts-5	133
Figura 57 – Espectro de RMN ^1H (δ , CDCl_3 , 200 MHz) de Ts-5	134
Figura 58 – Expansão 1 do espectro de RMN ^1H (δ , CDCl_3 , 200 MHz) de Ts-5	135
Figura 59 – Expansão 2 do espectro de RMN ^1H (δ , CDCl_3 , 200 MHz) de Ts-5	136
Figura 60 – Expansão 3 do espectro de RMN ^1H (δ , CDCl_3 , 200 MHz) de Ts-5	137
Figura 61 – Espectro de RMN ^{13}C (δ , CDCl_3 , 50 MHz) de Ts-5	138
Figura 62 – Expansão 1 do espectro de RMN ^{13}C (δ , CDCl_3 , 50 MHz) de Ts-5	139
Figura 63 – Expansão 2 do espectro de RMN ^{13}C (δ , CDCl_3 , 50 MHz) de Ts-5	140
Figura 64 – Espectro de RMN $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ COSY (δ , CDCl_3 , 200 MHz) de Ts-5	141
Figura 65 – Expansão 1 do espectro de RMN $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ COSY (δ , CDCl_3 , 200 MHz) de Ts-5	142
Figura 66 – Espectro de RMN $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ HMBC (δ , CDCl_3 , 200 MHz) de Ts-5	143
Figura 67 – Expansão 1 do espectro de RMN $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ HMBC (δ , CDCl_3 , 200 MHz) de Ts-5	144
Figura 68 – Expansão 2 do espectro de RMN $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ HMBC (δ , CDCl_3 , 200 MHz) de Ts-5	145
Figura 69 – Espectro de RMN $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ -NOESY (δ , CDCl_3 , 200 MHz) de Ts-5	146
Figura 70 – Expansão 1 do espectro de RMN $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ -NOESY (δ , CDCl_3 , 200 MHz) de Ts-5	147

LISTA DE QUADROS

Quadro 1. – Taxonomia da espécie <i>Turnera subulata</i> Sm.....	33
Quadro 2 – Fracionamento cromatográfico sob média pressão da fração Hexano: AcOEt (8:2) do resíduo clorofórmico do extrato etanólico bruto das partes aéreas de <i>Turnera subulata</i> Sm.....	56
Quadro 3 – Fracionamento cromatográfico da reunião das frações Hex:AcOEt (7:3), Hex:AcOEt (1:1), Hex:AcOEt (3:7) do resíduo clorofórmico do extrato etanólico bruto das partes aéreas de <i>Turnera subulata</i> Sm.....	56
Quadro 4 – Fracionamento cromatográfico do resíduo metanólico do extrato etanólico bruto das partes aéreas de <i>Turnera subulata</i> Sm.....	57
Quadro 5 – Fracionamento cromatográfico da sub-fração (15/18) do resíduo metanólico do extrato etanólico bruto das partes aéreas de <i>Turnera subulata</i> Sm.....	57
Quadro 6 – Fracionamento cromatográfico da fração Hexano:AcOEt (7:3) da fase hexânica do extrato etanólico bruto das partes aéreas de <i>Turnera subulata</i> Sm.....	58
Quadro 7 – Fracionamento cromatográfico da sub-fração (132/250) da fração Hexano:AcOEt (7:3) da fase hexânica do extrato etanólico bruto das partes aéreas de <i>Turnera subulata</i> Sm.....	58
Quadro 8 – Fracionamento cromatográfico da sub-fração (186/262) oriunda da sub-fração (132/250) da fase hexânica do extrato etanólico bruto das partes aéreas de <i>Turnera subulata</i> Sm.....	59

LISTA DE ESQUEMAS

Esquema 1 – Obtenção e Partição Líquido-Líquido do Extrato Etanólico Bruto das Partes Aéreas de <i>Turnera subulata</i> Sm.....	51
Esquema 2 – Processamento cromatográfico do extrato etanólico bruto das partes aéreas de <i>Turnera subulata</i> Sm e do resíduo clorofórmico.....	52
Esquema 3 – Fracionamento cromatográfico do resíduo Metanólico do extrato etanólico bruto das partes aéreas de <i>Turnera subulata</i> Sm.....	53
Esquema 4 – Fracionamento cromatográfico da fase Hexânica do extrato etanólico bruto das partes aéreas de <i>Turnera subulata</i> Sm.....	54
Esquema 5 – Fracionamento cromatográfico da fração Hexano:Acetato (7:3) da fase hexânica do extrato etanólico bruto das partes aéreas de <i>Turnera subulata</i> Sm.....	55

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Dados comparativos de RMN ^1H e ^{13}C de Ts-1 (δ , CDCl_3 , 500 e 125 MHz, respectivamente) com os modelos Mo-1 (δ , CDCl_3 , 500 e 125 MHz; TOMAZ et al., 2008) e Mo-2 (δ , CDCl_3 , 200 e 50 MHz; SILVA et al., 2006).....	67
Tabela 2 – Dados comparativos de RMN ^{13}C da cadeia fitila de Ts-1 (δ , CDCl_3 , 50 MHz) com os modelos Mo-3 (δ , CDCl_3 , 125 MHz; TOMAZ, 2008) e Mo-4 (δ , CDCl_3 , 75 MHz; MELOS et al., 2007).....	68
Tabela 3: Dados espectrais de RMN ^1H e ^{13}C (δ , CDCl_3 , 500 e 125 MHz, respectivamente) do núcleo porfirínico de Ts-1	69
Tabela 4: Dados comparativos de RMN ^1H e ^{13}C de Ts-2 (δ , CDCl_3 , 200 e 50 MHz, respectivamente) com os modelos Mo-5 (δ , CDCl_3 , 300 e 75 MHz; JERZ et al., 2007) e Ts-1	94
Tabela 5: Dados comparativos de RMN ^{13}C da cadeia de fitila de Ts-2 (δ , CDCl_3 , 50 MHz) com os modelos Mo-3 (δ , CDCl_3 , 125 MHz; TOMAZ, 2008) e Mo-4 (δ , CDCl_3 , 75 MHz; MELOS et al., 2007).....	95
Tabela 6: Dados comparativos da mistura Ts -3a/Ts-3b (δ $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$, 200 e 50 MHz) com dados da literatura (δ $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$, 400 e 100 MHz), Mo-6 (KOJIMA et al., 1990).....	106
Tabela 7: Dados comparativos de RMN ^1H e ^{13}C de Ts-4 (δ , CDCl_3 , 200 e 50 MHz, respectivamente) com os modelos Ts-1 (δ CDCl_3 , 500 e 125 MHz) e Mo-7 (δ , CDCl_3 , 300 e 75 MHz; SCHWIKKARD et al., 1998).....	116
Tabela 8: Dados comparativos de RMN ^{13}C da cadeia de fitila de Ts-4 (δ , CDCl_3 , 50 MHz) com os modelos Mo-3 (δ CDCl_3 , 125 MHz; TOMAZ, 2008) e Mo-4 (δ CDCl_3 , 75 MHz; MELOS et al., 2007).....	117
Tabela 9: Dados comparativos de RMN ^1H de Ts-5 (δ CDCl_3 , 200 MHz) com os modelos Ts-1 (δ CDCl_3 , 500 MHz); Mo-8 (δ $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$, 500 MHz, SAKDARAT et al., 2008) e Mo-9 (δ CDCl_3 , 500 MHz; SARMENTO SILVA et al., 2010).....	129
Tabela 10: Dados comparativos de RMN ^{13}C de Ts-5 (δ CDCl_3 , 50 MHz) com os modelos Ts-1 (δ CDCl_3 , 125 MHz); Mo-8 (δ $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$, 125 MHz, SAKDARAT et al., 2008) e Mo-9 (δ CDCl_3 , 125 MHz; SARMENTO SILVA et al., 2010).....	130
Tabela 11: Dados comparativos de RMN ^{13}C da cadeia de fitila de Ts-5 (δ , CDCl_3 , 50 MHz) com os modelos Mo-3 (δ , CDCl_3 , 125 MHz; TOMAZ, 2008) e Mo-4 (δ , CDCl_3 , 75 MHz; MELOS et al., 2007).....	131
Tabela 12: Dados espectrais de RMN ^1H e ^{13}C (δ , CDCl_3 , 200 e 50 MHz, respectivamente) do núcleo porfirínico de Ts-5	132

RESUMO

BRITO FILHO, Severino G. de. **FEOFITINAS E ESTERÓIDES GLICOSILADOS DE *Turnera subulata* Sm. (TURNERACEAE)**. 2011. Dissertação de mestrado. Pós-Graduação em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos, UFPB. João Pessoa.

Turnera subulata Sm, conhecida popularmente como “chanana” ou “flor-do-Guarujá”, é uma espécie da família Turneraceae. No Brasil esta família é representada pelos gêneros, *Piriqueta* e *Turnera*, sendo *Turnera* o mais representativo, com cerca de 80 espécies. Este Gênero é caracterizado pela presença de terpenóides, flavonóides, esteróides, benzenóides, alcalóides e lipídios. Visando contribuir com o perfil químico da família Turneraceae e tendo em vista a ausência de dados na literatura acerca da constituição química da espécie *Turnera subulata* Sm, esta foi submetida a um estudo fitoquímico para o isolamento de seus constituintes químicos, através dos métodos cromatográficos usuais, e posterior caracterização estrutural dos mesmos, utilizando-se os métodos espectroscópicos de IV e RMN ^1H e ^{13}C uni e bidimensionais. Deste estudo pioneiro com *Turnera subulata* foram isolados e identificados seis constituintes: Feofitina Purpurina 18 fitil éster (*Ts-5*); Feofitina (a) (*Ts-1*); 13²-hidroxi-(13²-S)-feofitina (a) (*Ts-2*); Feofitina (b) (*Ts-4*) e uma mistura dos esteróides glicosilados sitosterol-3-O-D-glicopiranosídeo e stigmasterol-3-O- β -D-glicopiranosídeo (*Ts-3*).

PALAVRAS-CHAVE: Turneraceae, *Turnera subulata*, Métodos espectroscópicos, Feofitinas.

ABSTRACT

BRITO FILHO, Severino G. de. **PHAEOPHYTINS AND GLYCOSYLATED STEROIDS FROM *Turnera subulata* Sm. (TURNERACEAE)**. 2011. Dissertation. Graduate Bioactive Natural Products and Synthetic, UFPB. João Pessoa.

Turnera subulata Sm., popularly known as “Chanana” or “flor-do-Guaruja”, is a Brazilian medicinal plant belonging to the family *Turneraceae*. In Brazil this family is represented by two genera, *Piriqueta* and *Turnera*, being *Turnera* the most representative. The Genus *Turnera* is characterized by the presence of terpenoids, flavonoids, steroids, benzenoids, alkaloids and lipids. Aiming at contributing to the chemical profile of the family *Turneraceae* and considering the absence of data in literature about the chemical constitution of the species *Turnera subulata*, the latter was submitted to a phytochemical study to isolate its chemical constituents, through usual chromatographic methods, and after identifying them by means of spectroscopic methods such as IR and ^1H and ^{13}C NMR, with the add of two-dimensional techniques. Six constituents were isolated through this phytochemical study with *Turnera subulata*: Phaeophytin purpurin 18 phytol ester (*Ts-5*); Phaeophytin (*a*) (*Ts-1*); 13^2 - hydroxy - (13^2 -*S*)- Phaeophytin (*a*) (*Ts-2*); Phaeophytin (*b*) (*Ts-4*) and mixture of steroids sitosterol-3-O-D-glucopyranoside and Stigmasterol-3-O- β -D-glucopyranoside (*Ts-3*).

KEY WORDS: *Turneraceae*, *Turnera subulata*, Spectroscopic methods, Phaeophytins

1. INTRODUÇÃO

O uso de espécies vegetais, com fins de tratamento e cura de doenças e sintomas, remonta ao início da civilização, desde o momento em que o homem despertou para a consciência da importância dos recursos naturais para seu próprio benefício (STASI, 1995). Ao longo do processo evolutivo, o homem aprendeu a selecionar plantas para a sua alimentação e alívio dos seus males e doenças. Como resultado desse processo muitos povos passaram a dominar o conhecimento do uso de plantas e ervas medicinais (FERREIRA et al., 2010).

Nas referências históricas sobre plantas medicinais, podemos verificar que existem relatos de seu uso em praticamente todas as antigas civilizações. A primeira referência escrita sobre o uso de plantas como remédios é encontrada na obra chinesa Pen Ts'ao, de Shen Nung, que remonta a 2800 a.C (TOMAZZONI et al., 2006).

No Egito, antigos papiros mostram que, a partir de 2000 a.C., grande número de médicos utilizavam as plantas como remédio e consideravam a doença como resultado de causas naturais e não como consequência dos poderes de espíritos maléficos, sendo que no Papiro Ebers, que data de cerca de 1500 a.C., foram mencionadas cerca de 700 drogas diferentes, incluindo extratos de plantas, metais como chumbo e cobre, e venenos de animais de várias procedências (ALMEIDA, 1993). Neste mesmo papiro, mencionam-se ainda fórmulas específicas para doenças conhecidas e, dentre as espécies que aparecem na lista, estão incluídas algumas utilizadas por fitoterapeutas até hoje (ELDIN et al., 2001).

Outros relatos demonstram também que, desde 2300 a.C., os egípcios, assírios e hebreus cultivavam diversas ervas e traziam de suas expedições tantas outras, e com estas plantas criavam classes de medicamentos. Na antiga Grécia, as plantas e o seu valor terapêutico ou tóxico eram muito conhecidos, onde Hipócrates (460-377 a.C.), denominado o “Pai da Medicina”, reuniu em sua obra Corpus Hipocratium a síntese dos conhecimentos médicos de seu tempo e indicou para cada enfermidade o remédio vegetal e o tratamento adequado (MARTINS, 2000).

O Brasil tem uma das mais ricas biodiversidades do planeta, com milhares de espécies em sua flora e fauna. Possivelmente, a utilização das plantas não só como alimento, mas também como fonte terapêutica começou desde que os primeiros habitantes chegaram ao nosso país, há cerca de 12 mil anos, dando origem aos paleoíndios amazônicos, dos quais

derivaram as principais tribos indígenas do país. Pouco, no entanto, se conhece sobre esse período, além das pinturas rupestres (YAMADA, 1998).

Tomando este fato como condição precípua, o Brasil precisa avançar no campo da fitoterapia, e para tanto torna-se de grande importância os estudos fitoquímicos de nossa flora, com o intuito de promover o levantamento e o conhecimento de componentes químicos das espécies vegetais como: princípios ativos, odores, pigmentos e moléculas oriundas das diversas espécies encontradas em nosso bioma. As aplicações destes estudos podem se ramificar para a área médica e farmacêutica através da pesquisa pelos químicos de produtos naturais de substâncias a serem usadas na produção de medicamentos fitoterápicos ou como protótipos para produção de medicamento. A complexidade na composição química dos extratos dos fitoterápicos é uma das principais razões para a reprodução dos seus efeitos farmacológicos desejados, sendo: a padronização do extrato e a informação ao usuário de qual (ais) princípio (s) ativo(s) e a (s) sua (s) concentração (ões), o grande desafio que o químico de produtos naturais precisa vencer (FERREIRA & PINTO, 2010).

Foi seguindo essa inspiração que desde 1978, o Laboratório de Tecnologia Farmacêutica (LTF) “Prof. Delby Fernandes de Medeiros” da Universidade Federal da Paraíba (UFPB), através de sua Pós Graduação em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos, vem realizando estudos químicos e farmacológicos de espécies da flora brasileira visando o conhecimento científico das mesmas. Portanto, a continuidade, por nossa equipe, do estudo fitoquímico da espécie *Turnera subulata* Sm, pertencente a família Turneraceae, objetivou através do isolamento e caracterização estrutural dos seus constituintes químicos, aprofundar conhecimento científico sobre esta espécie ainda pouco estudada, contribuindo desse modo para a busca futura de um medicamento fitoterápico.

OBJETIVOS

2. OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

- Contribuir com o perfil químico da família Turneraceae, por meio do estudo fitoquímico da espécie *Turnera subulata* Sm.

2.2 Objetivos específicos

- Extração, purificação e isolamento dos constituintes químicos de *Turnera subulata* através de métodos cromatográficos.
- Caracterização estrutural dos constituintes químicos isolados utilizando-se técnicas espectroscópicas convencionais, tais como IV e RMN de ^1H e ^{13}C Uni e Bidimensionais.
- Disponibilizar extratos, frações, substâncias isoladas e caracterizadas estruturalmente para estudos com fins farmacológicos.

3. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

3.1 Aspectos Gerais da Família *Turneraceae*.

A família *Turneraceae* ocorre na América e na África tropicais, incluindo 10 gêneros e cerca de 100 espécies. As espécies desta família têm ampla distribuição em regiões tropicais e subtropicais do mundo. No Brasil, estas ocorrem principalmente em cerrados e campos rupestres, onde são encontrados dois gêneros: *Piriqueta* e *Turnera*, com cerca de 80 espécies (SOUZA et al., 2008).

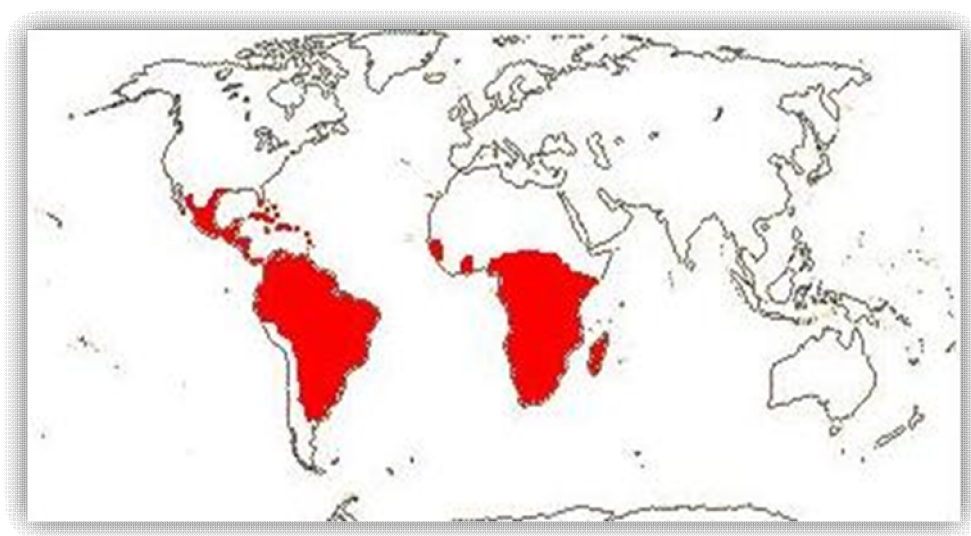


Figura 1: Distribuição geográfica da família *Turneraceae*.

Disponível em: <http://www.mobot.org/mobot/research>. Acessado em: 23/10/2010.

As espécies da família *Turneraceae* são arbustos, ervas ou raramente árvores pequenas. Possuem folhas alternadas, simples, inteiras ou lobadas, às vezes pinatilobadas, frequentemente providas de glândulas no pecíolo ou na base da lâmina; com estípulas pequenas ou ausentes. Suas flores são andrógenas, díperiantadas, regulares e actinomorfas, frequentemente bibracteoladas, muitas vezes heteróstilas, se caracterizam por possuir cinco sépalas, imbricadas, decíduas e em geral unidas parcialmente, formando um tubo campanulado ou cilíndrico; suas pétalas são em número de cinco, unguiculadas, inseridas no cálice, livres e às vezes providas de corona na base, contorcidas no botão. Os cinco estames

de suas flores são livres, opostos às sépalas e inseridos no receptáculo; suas anteras são biloculares, introrsas, com deiscência longitudinal. Estas flores apresentam ovário súpero, unilocular, tri-carpelar e podem ter três ou mais óvulos, raramente um; possuem três estiletos, livres, terminais, o estigma é franjado ou plumoso. Os frutos das espécies de *Turneraceae* são capsulares, globosos, tri-valvares e loculicidas (VICENTE et al., 1999).

Os recentes estudos filogenéticos sustentam a inclusão de algumas plantas de *Turneraceae* em *Passifloraceae*, mas a existência de caracteres morfológicos que permitem a distinção entre estas duas famílias levou os classificadores a reconhecê-la não como *Passifloraceae* e sim como *Turneraceae* (SOUZA et al., 2008).

3.2 Espécies da Família *Turneraceae* em seus aspectos etnobotânicos e etnofarmacológicos.

Espécies da família *Turneraceae* têm sido usadas pela população para a cura de diversas enfermidades, despertando a curiosidade de pesquisadores na área de produtos naturais.

As folhas de *Turnera aphrodisiaca* popularmente conhecida como ‘Damiana’, são utilizadas pela medicina popular como estimulante, afrodisíaca, diurética, tônica dos nervos, laxativa além de atuarem contra a amenorréia e desordens da gravidez. A Farmacopéia Britânica indica a ‘Damiana’ para combater a ansiedade, constipação e disfunções eréteis. No tratamento da disfunção erétil, a espécie deve ser usada juntamente com a esticnina ou algum estimulante. A infusão das suas folhas tem sido usada contra os problemas dos sistemas gastrointestinal, respiratório, reprodutivo e também contra a gonorréia. A homeopatia adota a tintura mãe (85% extrato etanólico) de *Turnera aphrodisiaca* para o tratamento de debilidade sexual e prostração nervosa (KUMAR et al., 2006).

Kumar et al. (2006) ainda relata que o extrato aquoso de *Turnera aphrodisiaca* apresentou atividade hiperglicêmica significativa em camundongos machos diabéticos, verificando também que uma dose de 1,0 mL/kg desse extrato teve atividade afrodisíaca em ratos machos impotentes. Pesquisas realizadas com a administração oral do decocto das folhas dessa mesma planta comprovaram atividade hiperglicêmica significativa em coelhos.

Turnera aphrodisiaca apresentou atividade ansiolítica. A investigação foi realizada com o intuito de isolar o seu componente bioativo responsável pela atividade ansiolítica desta

espécie, adotando para tanto o fracionamento monitorado. O fracionamento do extrato metanólico da planta levou ao isolamento da flavona apigenina que teve sua estrutura elucidada por dados de UV e RMN. A apigenina exibe significativa atividade ansiolítica com uma dose de 2mg/kg, via oral, em ratos utilizando o modelo de labirinto elevado de ansiedade. Baseado nesses dados Sharma et al., (2006) concluiu que a apigenina é responsável pelo efeito ansiolítico da planta tradicionalmente utilizada na medicina popular.

No México e em Cuba, os índios utilizam o extrato aquoso de *Turnera diffusa*: como expectorante, diurético, afrodisíaco, e no tratamento de espermatorréia, otites e nefrites, cita-se também que o decocto de suas folhas é usado para distúrbios digestivos. Na Bolívia, o extrato aquoso obtido das folhas da referida espécie é usado no tratamento de gonorréia (ANTONIO, 1996).

O extrato aquoso de *Turnera diffusa* apresentou atividade afrodisíaca em ratos machos, fato que foi comprovado pelo melhor desempenho sexual de cópula de ratos machos impotentes. Todavia esta atividade não foi significativa no caso de animais sexualmente potentes (ARLETTI et al., 1999).

O extrato metanólico e 24 substâncias isoladas das folhas de *Turnera diffusa* foram avaliados quanto a atividade da enzima aromatase. Zhao et al., (2008) observou que o extrato metanólico de *Turnera diffusa* e duas substâncias dela isoladas, acacetina e pinocembrina poderiam suprimir significativamente a atividade da aromatase. Além disso, viram que apigenina 7-glicosídeo, echinacina-Z e a pinocembrina apresentaram atividade estrogênica.

O chá de *Turnera ulmifolia* é preparado na Índia com a planta inteira sendo indicado para mulheres no período pós-parto e para aquelas que têm amenorréia. Em Cuba, o extrato aquoso a quente de suas flores é utilizado para o alívio de cólicas menstruais; na Jamaica, o extrato aquoso das folhas desta espécie tem atividade antipirética; e na Colômbia, o decocto das folhas atua como abortivo (ANTONIO, 1996; GRACIOSO et al., 2002).

A atividade anti-inflamatória de *Turnera ulmifolia* foi testada em ratos e camundongos, usando o extrato hidroalcoólico bruto das suas partes aéreas e também as frações acetato de etila e diclometânica. Observou-se que tanto o extrato quanto as frações inibiram o edema induzido por carragenina (ANTONIO et al., 1998). Gracioso et al. (2002), também evidenciou a atividade anti-inflamatória do chá de *Turnera ulmifolia* na mucosa gástrica de ratos e camundongos. A atividade antiulcerogênica do chá foi ensaiada em modelos distintos de lesões ulcerativas gástricas e duodenais, respectivamente. O resultado mostrou que 25 % das ulcerações foram reduzidas após a administração de sucessivas doses do chá em diferentes concentrações.

O extrato diclorometano, obtido a partir de folhas secas de *Turnera acuta*, apresentou atividade antimutagênica, enquanto o extrato etanólico, obtido a partir de raízes secas de *T. blanchetiana*, desenvolveu uma atividade citotóxica em cultura celular (ANTONIO, 1996).

3.3 Aspectos quimiotaxonômicos da família *Turneraceae*.

A quimiotaxonomia da família *Turneraceae* destaca-se por apresentar algumas classes de constituintes químicos, como: ácidos graxos, terpenóides, flavonóides e alcalóides (BARBOSA et al., 2007).

Em estudos fitoquímicos das folhas e caules de *Turnera sp.* foi detectada a presença de deidaciclina alicíclica e ciclopentanil glicina; no óleo extraído das suas sementes, verificou-se grande quantidade de ácidos graxos, tais como: láurico, oléico, linoléico, malvático, mirístico, palmítico, palmitoléico, esteárico, esterculínico e vernólico (ANTONIO, 1996).

O estudo fitoquímico das folhas de *Turnera diffusa*. detectou a presença de arbutina benzenóide. No óleo essencial extraído das folhas desta espécie foi constatada a presença dos monoterpenos 1,8-cineol, p-cimeno, (-) α -pineno, (-) β -pineno e das suas partes aéreas foram isolados gonzalitosina, hexacosano-1-ol, sitosterol e triacontano. No entanto, o estudo realizado com a planta inteira resultou no isolamento do tricosano-1,2 (ANTONIO, 1996).

Nas sementes de *Turnera ulmifolia*, variedades *angustifolia* e *elegans* foi isolada e identificada a cafeína, enquanto das variedades *angustifolia* e *velutina* foi isolado o ácido hidrociânico. A presença dessa substância não foi detectada nas folhas de *Turnera grandidentata*, *Turnera Krapovickasii*, *Turnera orientalis* e *Turnera ulmifolia* variedade *elegans* (ANTONIO, 1996).

Uma investigação fitoquímica de *Turnera diffusa* feita por Zhao et al. (2007), levou ao isolamento de 35 compostos, entre flavonóides, terpenóides, sacarídeos, fenóis e derivados cianogênicos, incluindo cinco novos compostos (1-5) e um novo produto natural(6). Estes compostos foram caracterizados como luteolina ácido 8-C-E-propenóico (1), luteolina 8-C- β - [6-desoxi-2-O-(α -L-ramnopiranosídeo)-xylo-hexopiranos]-3-ulosídeo (2), apigenina 7-O-(6 “-O-p-Z-cumaroyl- β -D-glicopiranosídeo) (3), apigenina 7-O-(4 “-O-p-Z-coumaroylglucosídeo) (4), siringetina 3-O-[β -D-glicopiranosil-(1-6)- β -D-glicopiranosídeo] (5), e laricitina 3-O-[β -D-glicopiranosil-(1-6)- β -D-glicopiranosídeo] (6). Suas estruturas foram determinadas por técnicas espectroscópicas e métodos químicos (ZHAO et al., 2007).

O óleo essencial de *Turnera diffusa* foi estudado por cromatografia gasosa e cromatografia gasosa acoplada a espectro de massas. Cinquenta e quatro componentes foram caracterizados e identificados, sendo os mais abundantes 1,8-cineol (11,4%), opoplenone (10,3%) cadaleno (5,1%) e epi-cubenol (4,1%) (BICCHI et al., 2003).

Kumar et al. (2006) relataram ter encontrado em toda a planta de *Turnera aphrodisiaca* o glicosídeo cianogênico tetrafilina B, os flavonóides gonzalitosina I, Arbutina, Damianina, Tricosan-2-ona e o álcool hexacosanol, enquanto no seu óleo essencial foi constatada a presença de α -pineno, β -pineno, p-cimeno, 1,8-cineol e sitosterol.

Em um estudo anterior com *Turnera subulata* Sm realizado por nossa equipe, através de CGMS foram detectados no seu óleo essencial a presença de *trans*-cariofileno (6,68%), citronelol (5,60%), espatulenol (5,19%), cadin-4-en-10-ol (4,30%), geraniol (4,15%), *trans*-geranilacetona (3,66%), globulol (3,35%), óxido de cariofileno (3,20%). Através dessa mesma técnica foi possível definir a composição química dos ácidos graxos e lipídeos saponificáveis da espécie estudada. Das suas partes aéreas ainda foram isolados e identificados dois glicosídeos flavonoídicos e uma mistura de esteróides não glicosilados (FERNANDES, 2009).

3.4 Descrição botânica do gênero *Turnera*

As espécies de *Turnera* são reconhecidas pelo hábito herbáceo a arbustivo, folhas simples, se caracterizam por possuir ou não estípulas, com margem serrada e raro inteira, freqüentemente providas de glândulas nectaríferas e tricomas. As inflorescências se apresentam em racemos, cimeiras ou com flores solitárias, tendo o pedicelo unido total ou parcialmente ao pecíolo. As flores possuem corola com pétalas brancas, amarelas ou alaranjadas, maculadas na base ou não, com filetes estaminais presos à base do cálice. O fruto é uma cápsula loculicida, esférica, com sementes curvas e arilo persistente (ARBO, 2005; BARBOSA et al., 2007).

3.5 Descrição botânica da espécie *Turnera subulata* Sm

Turnera subulata Sm, popularmente conhecida como chanana ou flor-do-guarujá, é uma erva ou subarbusto, que pode variar de 0,3 a 1,0 m de altura (Figura 2, p.32) sendo classificada taxonomicamente de acordo com o quadro 1 (p.33). Apresenta-se como uma planta pubescente com tricomas simples, unicelulares e glandulares, microcapitados. Seus ramos são eretos, cilíndricos, castanho-esverdeados com estrias longitudinais (Figura 3, p.32). As estípulas variam de 2,0 a 4,0 mm de comprimento e são filiformes. As folhas desta espécie são simples, alternas, com lâmina discolor, oval a oval-elíptica, membranácea, com dimensões variando entre 3,2 - 4,8 x 1,8 - 2,1 cm, se apresenta como cuneada a atenuada na base, e aguda a obtusa no ápice. As margens são serreadas, apresentam de 4,0 a 5,0 pares de nervuras laterais, com pecíolo canaletado, variando de 0,4 - 1,9 cm de comprimento; os néctarios extraflorais são em número de dois, opostos, cupuliformes, medindo de 3,0 a 5,0 mm de diâmetro e estão situados na base da lâmina com a inserção do pecíolo; suas duas brácteas são linear-lanceoladas, com 1,0 - 1,3 x 0,2 - 0,5 cm e margem inteira; o pedicelo tem um comprimento de 3,0 a 4,0 mm, é anguloso e adjacente ao pecíolo (BARBOSA et al., 2007).

As flores de *Turnera subulata* são axilares, solitárias e monoclinas. O seu cálice se apresenta campanulado, com o tubo medindo de 17 a 20 mm comprimento, penta-lobado, sendo estes lobos triangulares, agudos e medindo de 10 a 13 mm de comprimento; as flores possuem uma corola composta por cinco pétalas branco-amareladas com máculas púrpuras, livres, com 22 a 25 mm de comprimento, obovadas e rotundas no ápice. Os seus estames em número de cinco são inclusos e seus filetes são glabros, soldados ao tubo floral e medem de 5,0 a 7,0 mm de comprimento; as anteras 2,0 - 4,5 x 0,4 - 1,0 mm são rimosas, angustovadas, recurvadas no ápice, dosifixas (BARBOSA et al., 2007).

Outra característica botânica de *Turnera subulata* é o seu ovário súpero, medindo entre 2,0 a 2,7 mm de comprimento, se apresenta na forma ovóide a elipsóide, pubescente, com tricomas glandulares unicelulares, unilocular, pluriovular, seu óvulo possui placentação parietal; três estiletes com 4,0 a 6,3 mm de comprimento, de estrutura filiformes estando inseridos no ápice do ovário, persistentes após antese, pilosos e estigma penicilado. Suas cápsulas são loculicidas, ovóide com 2,0 a 6,5 mm diâmetro, o epicarpo é esverdeado, apresentando-se externamente piloso e verrucoso, enquanto internamente é glabro e lustroso. Esta espécie possui inúmeras sementes com 2,0 a 3,0 mm de diâmetro, com aspecto obovóides, glabras e arilo fimbriado frontal (Figura 3, p.32) (BARBOSA et al., 2007).



Figura 2: Foto da espécie *Turnera subulata* Sm – *Turneraceae*.

Disponível em: http://plantes-izieres-guyane.cirad.fr/dicotyledones/turneraceae/turnera_subulata.
Acessado em: 24/10/2010.

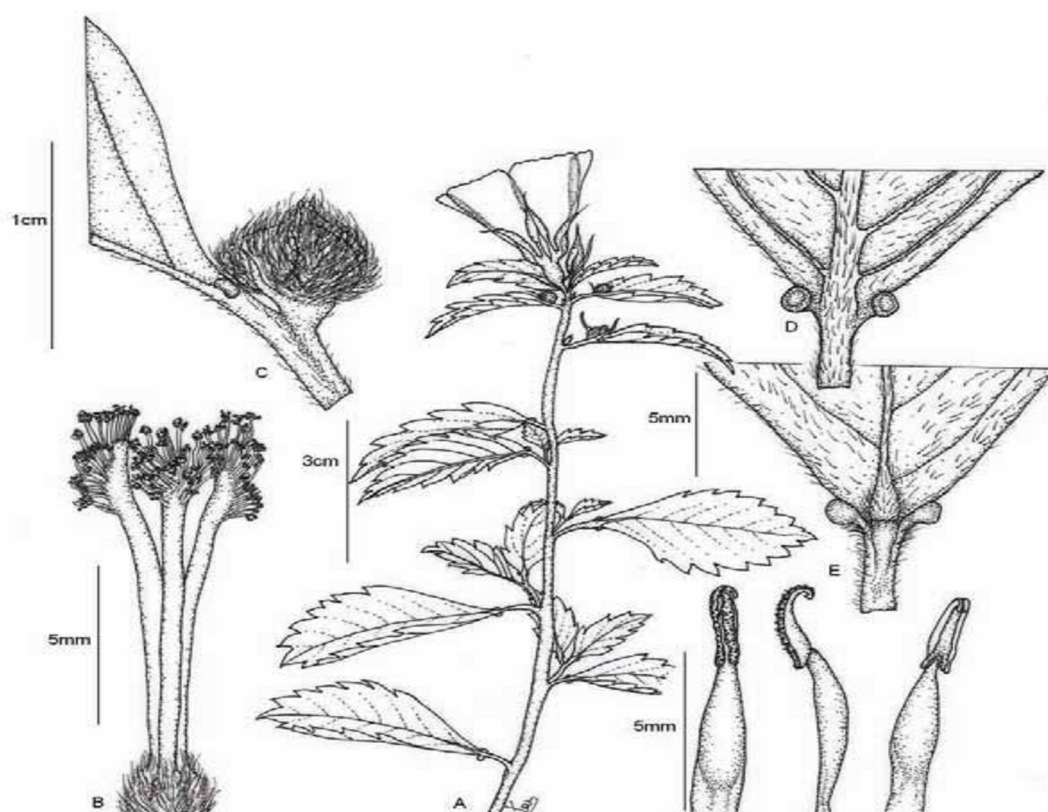


Figura 3: Características botânicas de *Turnera subulata* Sm.

A. Ramo florido ; B. Gineceu isolado; C. detalhe do fruto na planta; D-E. nectário extrafloral em vista frontal: D. face abaxial, E. face adaxial; F-H. Estames isolados: F. em vista frontal, G. de perfil, H. vista dorsal

FONTE: Barbosa et al., 2007.

Quadro 1: Taxonomia da espécie *Turnera subulata* Sm. Disponível em:
http://zipcodezoo.com/Plants/T/Turnera_subulata/. Acessado em: 26/10/2010.

Reino: *Plantae* – p. Haeckel, 1866 – Plants.

Filo: *Tracheophyta* – Sinnott, 1935, Ex Cavalier-Smith, 1998 - Vascular Plants.

Classe: *Magnoliopsida* – Brongniart, 1843 – Dicotyledons.

Ordem: *Passiflorales* – Dumortier, 1829.

Família: *Turneraceae* – Kunth Ex A.p. De Candolle, 1828.

Gênero: *Turnera* – Linnaeus, 1753.

Epíteto específico: *subulata* - Sm.

Nome Botânico: *Turnera subulata* Sm.

3.6 Classes de constituintes químicos isolados de *Turnera subulata* Sm. e seus aspectos biossintéticos

3.6.1 Esteróides

3.6.1.1 Considerações gerais

Os esteróides constituem uma classe de compostos naturais com ampla distribuição na natureza, que apresentam em sua estrutura química um núcleo ciclopentanoperidrofenantreno. A diversidade das atividades biológicas desses metabólitos compreende o desenvolvimento e o controle do sistema reprodutor humano, como também indução da reprodução sexual em fungos aquáticos, além de funcionarem como cardiotônicos, precursores da vitamina D, anticoncepcionais orais, agentes antiinflamatórios e agentes anabolizantes (DANNHARDT et al., 2001).

3.6.1.2 Aspectos biossintéticos dos esteróides

Os esteróides são derivados da via do ácido mevalônico, a partir da combinação de unidades de isopreno ativo. Na primeira etapa (Figura 4, p.36), duas unidades de acetil-CoA (1) combinam-se através de uma condensação de Claisen formando acetoacetil-CoA (2). A incorporação de uma terceira unidade de acetil-CoA via uma adição aldólica estereoespecífica fornece o éster β -hidroxi- β -metilglutaril-CoA, (3) (HMG-CoA) que é reduzido a ácido (3R)-mevalônico (4) (MVA), num processo que depende de NADPH. Nos passos seguintes, o ácido mevalônico é fosforilado em seqüência e produz 5-fosfato de mevalonato, que é então descarboxilado, formando pirofosfato de isopentenila (IPP) (5), ou isopreno ativo, a unidade de construção C_5 da biossíntese dos esteróides e triterpenos. A isomerização do pirofosfato de isopentenila, (5) e sua conversão em pirofosfato de 3,3-dimetilalil (6) (DMAPP), com a subsequente condensação cabeça-cauda destas unidades C_5 (DMAPP + IPP), sob a influência da preniltransferase, origina o pirofosfato de geranila (7) (GPP). Este por sua vez, pode sofrer

adição seqüencial de pirofosfato de isopentenila (IPP) por conjugação entre as extremidades superior e inferior (cabeça-cauda), produzindo-se pirofosfato de farnesila (8) (FPP) e pirofosfato de geranilgeranila (9) (GGPP) (Figura 4, p.39). A 2ª Etapa (Fig 4, p.37) da biossíntese dos esteróides é desencadeada pela dimerização entre as extremidades cabeça-cauda do pirofosfato de farnesila (8) com o cátion alila (9) (FPP) levando a formação do pre-esqualeno (10) este por vários passos leva ao esqualeno (11) (2ª etapa), precursor dos esteróides (Figura 4, p.37). A ciclização do esqualeno (11) (3ª etapa) origina os triterpenos (C₃₀), como por exemplo, o lanosterol (12) e o cicloartenol (13), que leva à formação dos esteróides (C₂₇) a (C₂₉), ou seja, triterpenos modificados contendo o anel tetracíclico do sistema lanosterol após a perda dos grupos metilas das posições C-4 ou C-14. O lanosterol (12) leva a formação dos esteróides , entre eles o colesterol (14), enquanto o cicloartenol (13) é precursor do ergosterol (15) que origina o sitosterol (16) (Figura 5, p. 38) (DEWICK, 2002).

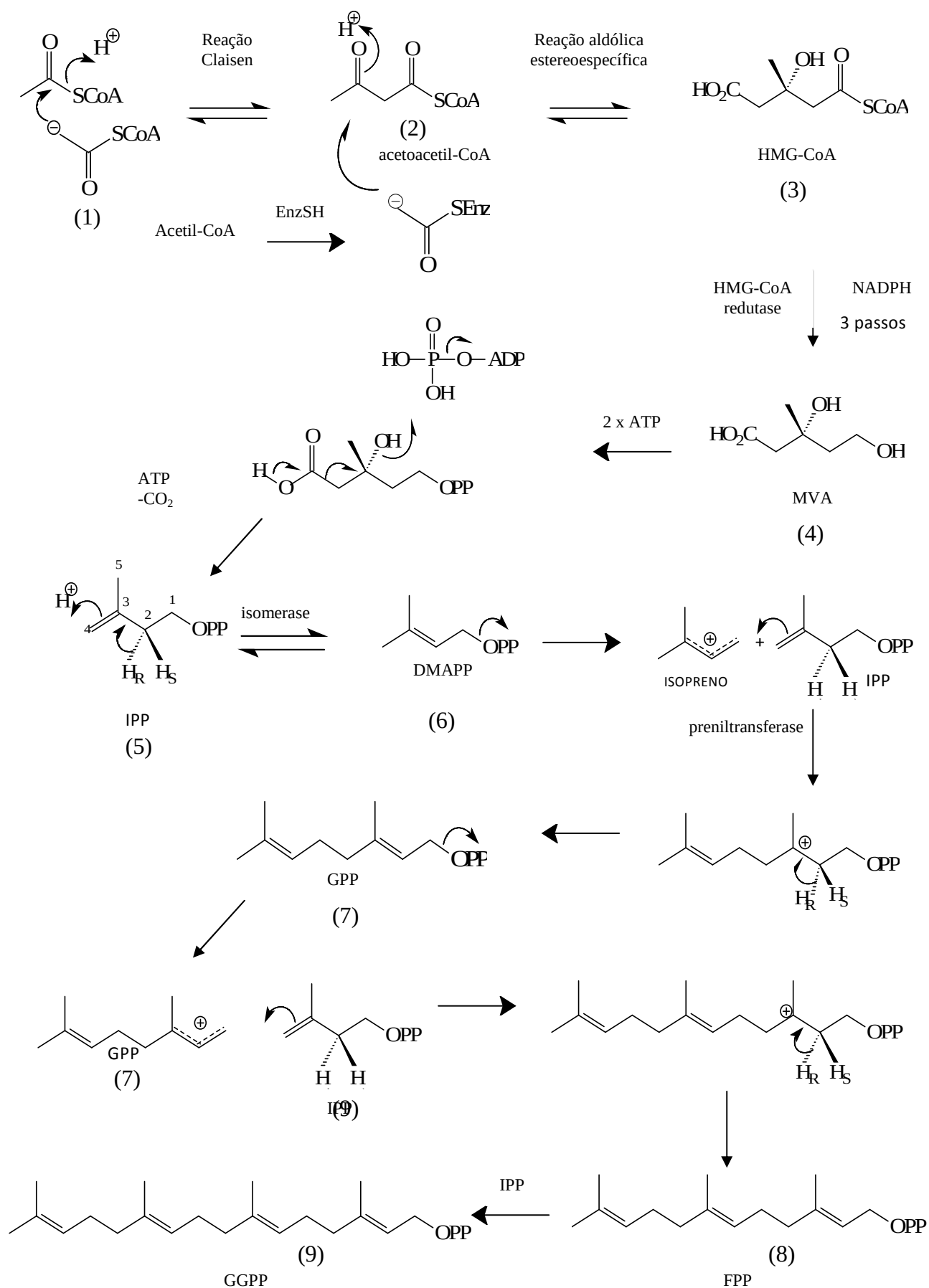


Figura 4 – Representação esquemática da biossíntese dos esteróides (1ª etapa)
(DEWICK, 2002)

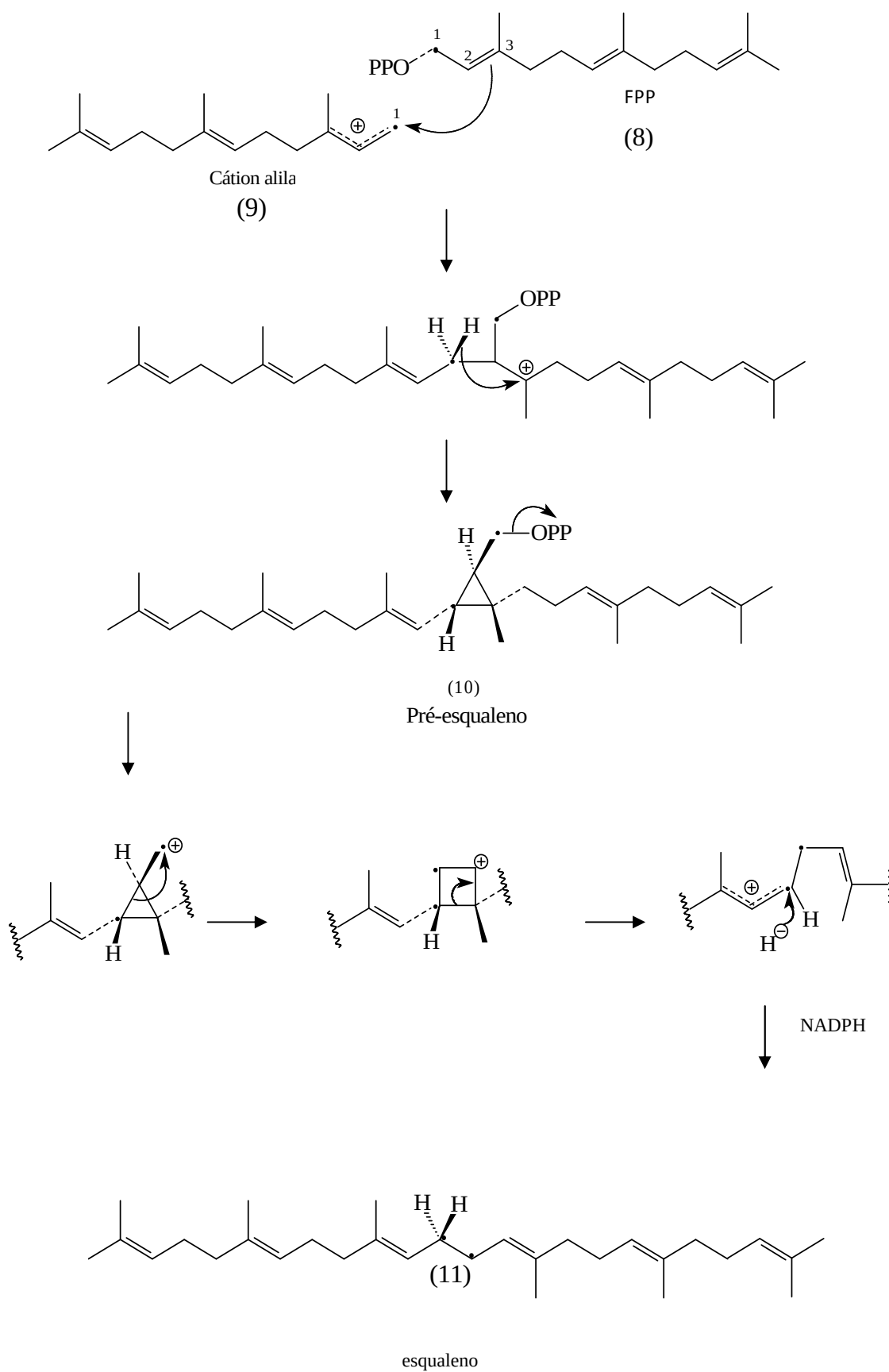


Figura 4 (Cont.) – Representação esquemática da biossíntese dos esteróides (2ª etapa)
(DEWICK, 2002)

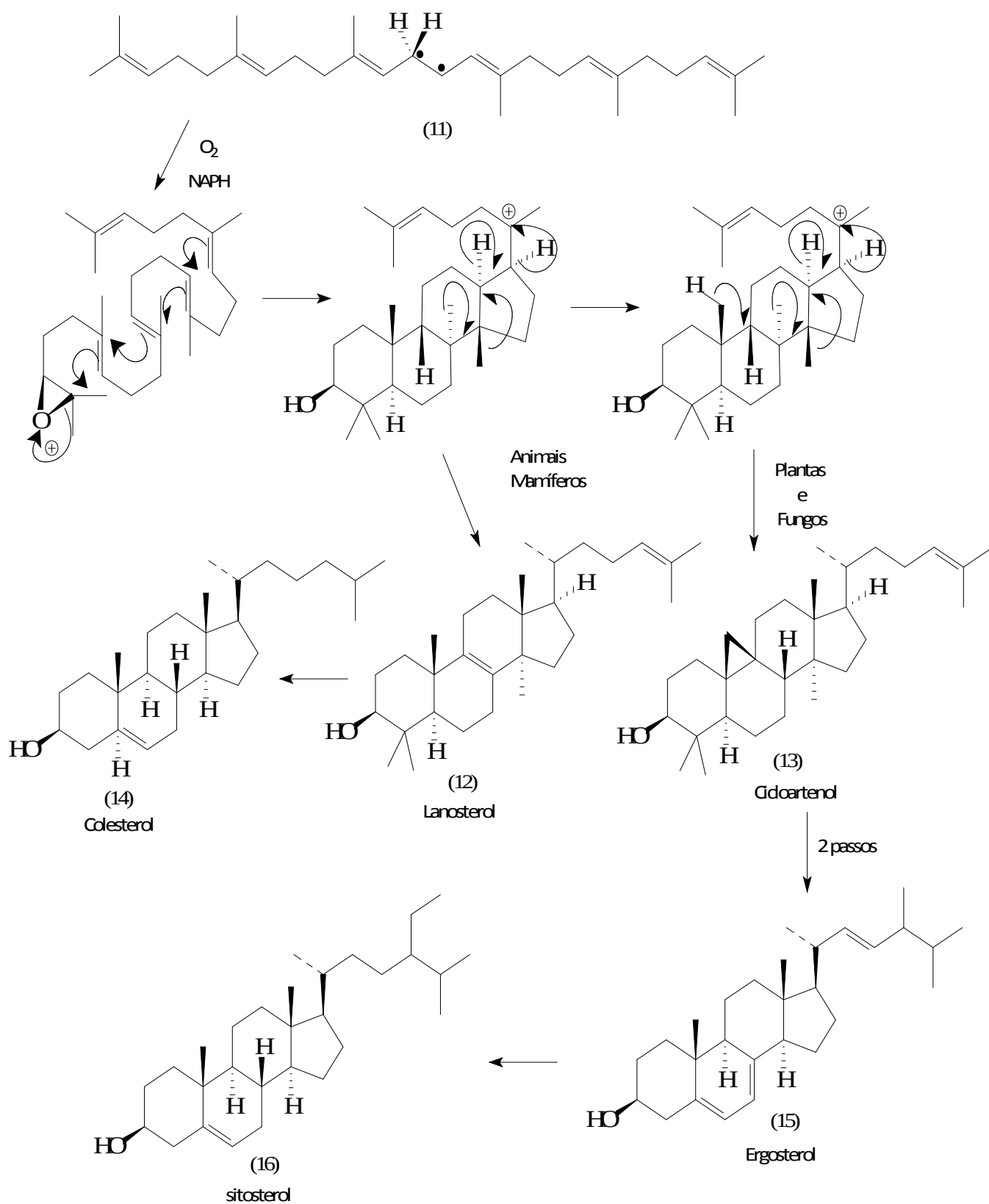


Figura 5 – Representação esquemática da biossíntese dos esteróides (3ª etapa)
(DEWICK, 2002)

3.6.2 Feofitinas

As porfirinas constituem uma classe muito importante de moléculas que estão presentes em muitos sistemas biológicos, como por exemplo, nos citocromos e hemoglobinas, os quais são responsáveis pela transferência de elétrons na cadeia respiratória e pelo transporte de oxigênio na corrente sanguínea, respectivamente (LEHNINGER et al., 2005).

As porfirinas e seus derivados (Figura 6, p.39) compreendem um grande grupo de diversas entidades químicas que são constituídas essencialmente de quatro anéis pirrólicos ligados entre si por uma ponte metínica, formando um grande macrociclo. As diferenças estruturais na série de porfirinas decorrem do grau de insaturação dos anéis, na composição das cadeias laterais anexadas aos anéis pirrólicos e nas posições axiais do macrociclo (STERNBERG et al., 1998).

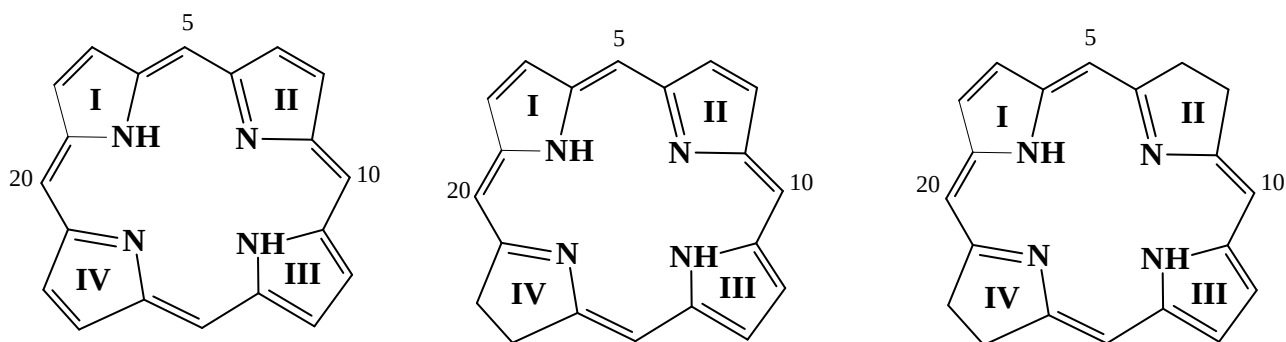


Figura 6: Estruturas da porfirina, clorina e bacterioclorina, respectivamente.

As clorofilas são pigmentos verdes encontrados em plantas. De um modo geral, são encontradas em todos os organismos capazes de realizar fotossíntese. Tanto as clorofilas, quanto o processo de fotossíntese, são restritos ao reino vegetal. Na natureza, o número de clorofilas diferentes não é muito grande. Aproximadamente cerca de 10 tipos de clorofilas têm sido isoladas de partes verdes de plantas. Em alguns organismos, apenas uma clorofila é detectada, enquanto em outros, a clorofila majoritária é acompanhada por outros pigmentos verdes auxiliares. O componente verde mais abundante é a **clorofila a**, seguido pela **clorofila b**, as **clorofilas c** (c1 e c2), **clorofila d** e a **protoclorofila** (SOARES, 2006).

Do ponto de vista estrutural, há uma íntima relação entre as clorofilas e as porfirinas, ambas são ciclos tetrapirrólicos complexados com o íon magnésio (Mg^{2+}). Dentro da

montagem de uma estrutura de porfirina através de quatro moléculas de PBG. Esta fase consiste em seis etapas enzimáticas distintas, que termina com o produto protoporfirina IX (22). O magnésio (Mg) é inserido, ocorre a ciclização do anel V dependente de luz, a redução do anel IV e a anexação da cauda de fitol leva a formação da **clorofila a** (WETTSTEIN et al., 1995).

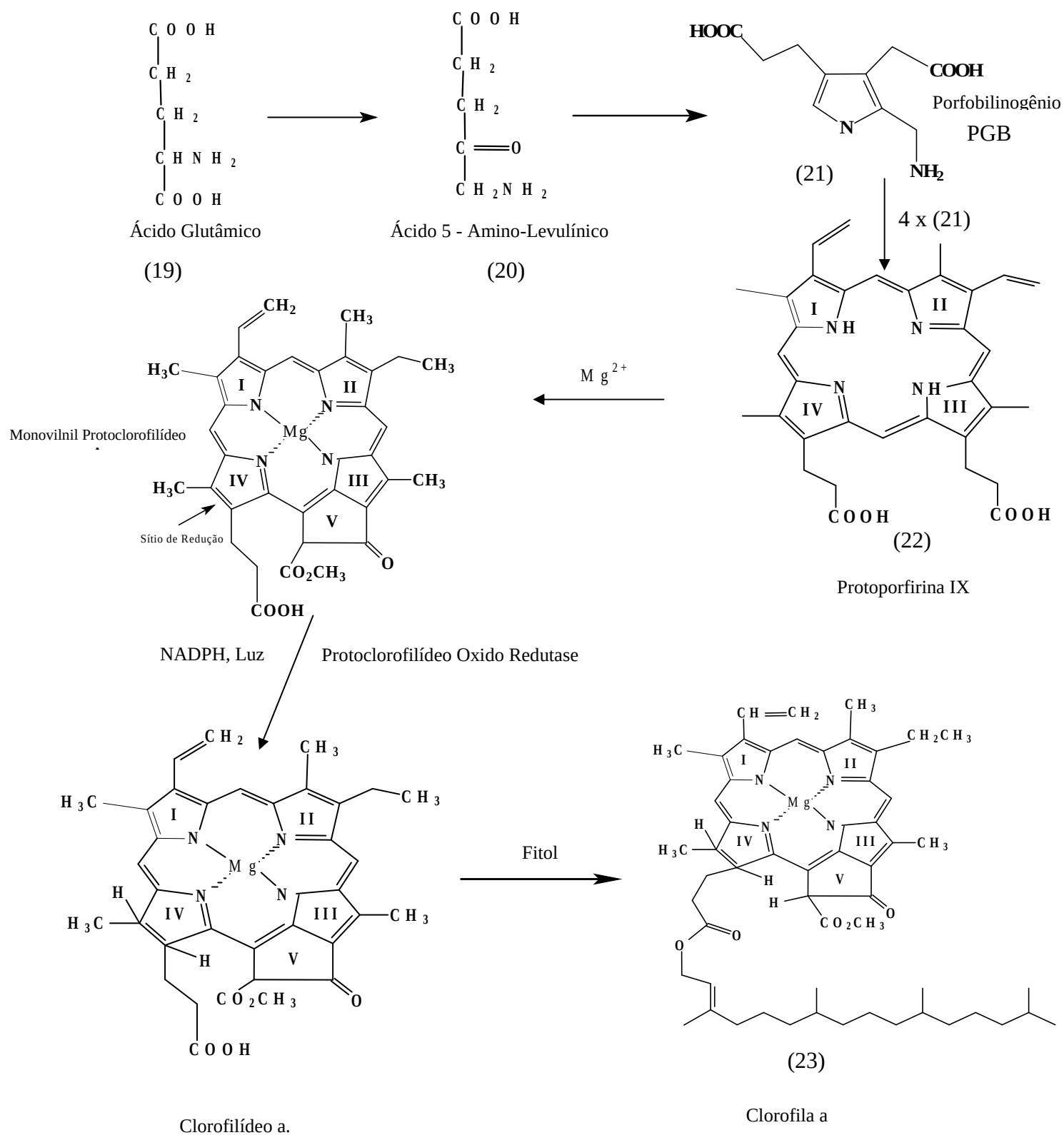
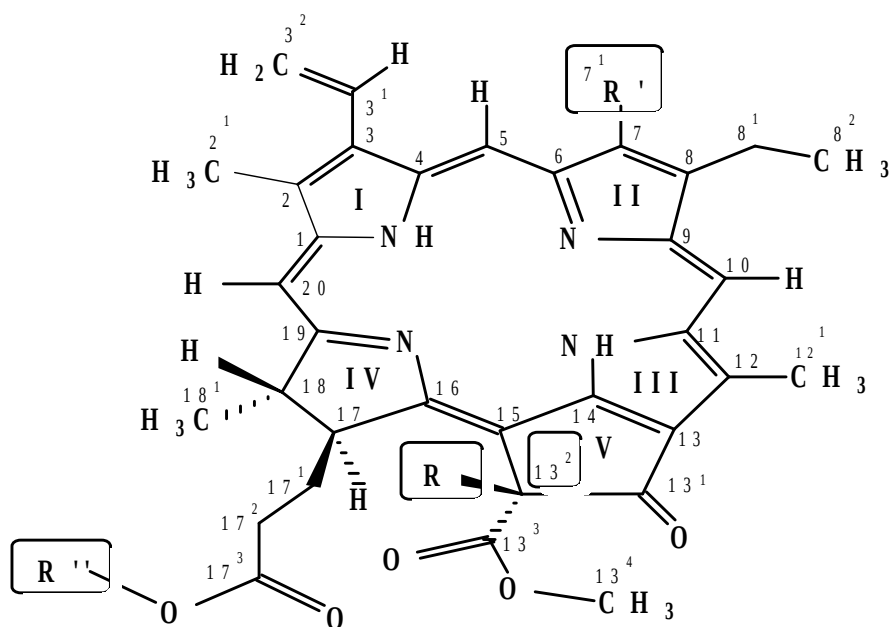


Figura 8: Representação esquemática da biossíntese da Clorofila a.

As demais feofitinas originam-se biossinteticamente da **clorofila a** (23) que sofre a perda de magnésio em meio ácido, sendo este fenômeno conhecido como feofitinização. A **feofitina a** (24), por sua vez, quando hidroxilada na posição C-13² gera **13²-hidroxi feofitina a** (25) e/ou quando hidrolisada na porção éster (remoção da cadeia fitol) por ação da enzima clorofilase, produzirá o **feoforbídeo a** (26). As **clorofilas a** e **b** diferem pelos seus substituintes no carbono 7¹, onde para **clorofila a** este substituinte é um grupo metila, enquanto na **clorofila b**, este é um aldeído, conseqüentemente a **feofitina b** (27) difere da **feofitina a** (24) por possuir um grupo aldeído na posição 7¹ (Figura 9, p.43) [(STREIT et al., 2005)].



R=H	R'= CH ₃	R''= C ₂₀ H ₃₉	Feofitina a	(24)
R=OH	R'= CH ₃	R''= C ₂₀ H ₃₉	13²-hidroxi feofitina a	(25)
R=H	R'= CH ₃	R''= CH ₃	Feoforbídeo a	(26)
R=H	R'= CHO	R'' = C ₂₀ H ₃₉	Feofitina b	(27)

Figura 9: Diferenças estruturais entre as Feofitinas.

4. EXPERIMENTAL

4.1 Levantamento bibliográfico

O levantamento bibliográfico de *Turnera subulata* Sm., realizou-se no decorrer do trabalho Laboratorial através do Chemical Abstracts, Biological Abstracts, bem como em pesquisas na Internet, não sendo encontrado registros na literatura no que tange ao estudo fitoquímico da espécie estudada e poucos registros no que se refere ao estudo biológico da referida espécie.

4.2 Coleta do material botânico

O material botânico, partes aéreas de *T. subulata*, foi coletado na Cidade Universitária/Campus I/João Pessoa - PB, em setembro de 2008. Sua identificação botânica foi realizada pela Prof^a Dr^a Maria de Fátima Agra do setor de botânica do LTF/UFPB, sendo uma exsicata depositada no herbário Prof. Lauro Pires Xavier do Centro de Ciências Exatas e da Natureza (CCEN) da Universidade Federal da Paraíba (UFPB) e catalogada como Agra & Barbosa 6273 (JPB).

4.3 Processamento do material botânico

O material botânico, partes aéreas, fresco foi desidratado em estufa, com ar circulante, durante 48 horas, a temperatura média de 40 °C, sendo, em seguida, triturado em moinho mecânico, fornecendo 6.0 Kg do pó da planta (Esquema 1, p.51).

4.4 Obtenção do extrato etanólico das partes aéreas de *Turnera subulata* Sm

O pó da planta (6,0 Kg) foi macerado em etanol (EtOH) a 95 % por 72 horas, sendo tal processo repetido exaustivamente. Em seguida, a solução etanólica foi filtrada e concentrada em evaporador rotativo sob pressão reduzida a 40 °C, fornecendo 604,2 g do extrato etanólico bruto (EEB) (Esquema 1, p.51).

4.4.1 Particionamento do extrato etanólico bruto das partes aéreas de *Turnera subulata*

Uma porção de 300,0 g do extrato etanólico bruto das partes aéreas de *Turnera subulata* foram dissolvidos em uma solução EtOH:H₂O (7:3) obtendo-se, portanto, a solução hidroalcoólica. Esta foi submetida sequencialmente a um particionamento com hexano, clorofórmio, acetato de etila e n-butanol. As soluções obtidas foram, concentradas em evaporador rotativo sob pressão reduzida, obtendo-se 107,6 g da fase hexânica; 12,8 g da fase clorofórmica; 12,3 g da fase acetato de etila e 20,8 g da fase n-butanólica (Esquema 1, p.51).

4.4.2 Fracionamento do extrato etanólico bruto das partes aéreas de *Turnera subulata* Sm

Uma alíquota de 300g do extrato etanólico bruto das partes aéreas de *Turnera subulata* foi submetida a um fracionamento com hexano, clorofórmio e metanol (ZHAO et al., 2008) obtendo-se três frações que após concentração em rotaevaporador forneceram três resíduos: hexânico (8,36g); clorofórmio (15,82g) e metanólico (207,9g) (Esquema 2, p.52).

4.5 Isolamento e purificação dos constituintes químicos das fases hexânica e clorofórmica do extrato etanólico bruto das partes aéreas de *Turnera subulata* Sm

O isolamento, purificação e análise dos constituintes químicos da fase hexânica; resíduo clorofórmico e resíduo metanólico do extrato etanólico bruto de *T. subulata* foram realizados através de técnicas cromatográficas como: cromatografia em coluna; cromatografia

em camada delgada preparativa; cromatografia líquida em média pressão (CLMP) e cromatografia em camada delgada analítica, respectivamente.

4.5.1 Procedimentos cromatográficos e definição do grau de pureza

Os adsorventes gel de sílica 60 (Merck) 7734 (partículas com 0,063-0,2 mm, 70-230 mesh), sílica flesh (partículas com 0,04-0,063mm, 230-400 mesh) e Sephadex LH-20 (Merck) foram utilizados para a cromatografia em coluna, e em coluna sob média pressão tendo como suporte colunas de vidro cilíndricas com dimensões variando de acordo com a quantidade de amostra a ser cromatografada. Como fase móvel, nos processos cromatográficos, foram utilizados solventes comerciais destilados no setor de destilação do LTF/UFPB.

A Cromatografia em Camada Delgada Analítica (CCDA) foi empregada para a análise e reunião das frações obtidas por cromatografia em coluna e para a análise da pureza dos constituintes isolados. As placas cromatográficas utilizadas para CCDA foram preparadas com uma suspensão gel de sílica PF₂₅₄ (Art. 7749 Merck) em água, seguindo técnica descrita por Matos (1997), sendo a espessura da camada de sílica igual a 0,3 mm. A Cromatografia em Camada Delgada Preparativa (CCDP) foi empregada para o isolamento das substâncias de *Turnera subulata* sendo as placas de CCDP preparadas seguindo a mesma técnica utilizada para as placas de CCDA, mas com a espessura da camada de sílica igual a 1,0 mm. Como suportes para as placas cromatográficas foram utilizadas placas de vidro com dimensões variadas de 5x20, 10x20 e 20x20 cm.

O fracionamento cromatográfico a média pressão foi realizado em aparelho BUCHI (Switzerland) Pump Manager C – 615 do Laboratório de Tecnologia Farmacêutica – UFPB utilizando-se como adsorvente Sílica flesh, como sistemas de solvente: hexano, acetato de etila e metanol.

As substâncias em análise foram evidenciadas pelo uso de radiação ultravioleta nos comprimentos de onda de 254 e 366 nm como também impregnação das placas em cubas de vidro, saturadas por vapores de iodo. O monitoramento das substâncias através do fator de retenção (Rf) na CCDA foi o método adotado para reunir as frações coletadas durante a cromatografia em coluna.

Para definir o grau de pureza das substâncias isoladas, fez-se o uso de CCDA utilizando-se vários sistemas de solventes.

4.5.1.1 Processamento cromatográfico dos resíduos clorofórmico e metanólico do extrato etanólico bruto das partes aéreas de *Turnera subulata* Sm.

Do resíduo clorofórmico do extrato etanólico bruto de *T. subulata* retirou-se 12g para a realização de uma filtração sob pressão reduzida em um funil de placa porosa, utilizando sílica gel 60 como fase estacionária e como eluentes Hexano e Acetato (puro ou em misturas binárias). Desta filtração obteve-se 7 frações (Esquema 2, p.52)

A fração Hex: AcOEt (8:2) (0,9849g) (Esquema 2, p.52) foi submetida a uma cromatografia em aparelho de média pressão com sílica flesh e eluída com hexano, acetato de etila e metanol, sendo coletadas 150 frações de 15 mL, cada, que foram analisadas e reunidas por CCDA (Quadro 2, p.56). A sub-fração 23/49 depois de submetida à cromatografia em camada delgada preparativa, eluída com uma mistura binária Hex: AcOet forneceu 0,026g de um sólido amorfo verde escuro codificado como **Ts – 1** (Esquema 2, p.52).

As frações Hex: AcOEt (7:3), Hex: AcOEt (1:1), Hex:AcOEt (3:7) foram reunidas baseando-se em CCDA, resultando em 2,2137g que foram plicadas em uma coluna de sílica gel 60 eluída em uma mistura de Hexano, AcOEt e MeOH, de onde se obteve 181 frações de 20 mL cada analisadas por CCDA (Quadro 3, p.56), sendo a sub-fração 29/41 submetida a uma cromatografia em camada delgada preparativa CCDP, eluída em Hex:AcOEt (85:15), de onde se obteve uma fração (0,0161g) que caracterizou-se como um sólido amorfo verde escuro, sendo definido portanto, como substancia **Ts – 2** (Esquema 2, p.52).

A fração AcOEt (0,6682 g) do resíduo clorofórmico do extrato etanólico bruto das partes aéreas de *Turnera subulata* Sm foi submetida a uma coluna de Sephadex LH-20 (Esquema 2, p.52) eluída em MeOH. Foram obtidas 10 frações de 10 mL, cada, analisadas em cromatografia em camada delgada analítica (CCDA) sendo a sub-fração 7/10 recristalizada em MeOH:CHCl₃ e o seu precipitado (0,0076g), mostrou-se como um sólido amorfo branco, codificado como sendo a substância **Ts – 3**.

Do resíduo metanólico do extrato etanólico bruto das partes aéreas de *Turnera subulata* Sm (Esquema 3, p.53) retirou-se uma alíquota de 5,0g que foi submetida a uma coluna de sílica gel 60 eluída com uma mistura de CHCl₃, MeOH e H₂O segundo metodologia descrita por Zhao et al. (2008). Foram obtidas 96 frações de 75 ml cada sendo estas analisadas por CCDA e reunidas de acordo com seus Rf's (Quadro 4, p.57). A sub-fração 15/18 (109mg) foi aplicada em uma coluna de sílica flesh adotando Hexano, CHCl₃ e MeOH como solventes de eluição Desta coluna obteve-se 59 frações de 25 ml, cada, que foram analisadas através da metodologia anterior (Quadro 5, p.57). A sub fração 18/20 (0,0123g) foi

caracterizada como sólido amorfo amarelo-amarronzado, denominada portanto, como substância **Ts – 4** (Esquema 3, p.53).

4.5.1.2 Processamento cromatográfico da fase hexânica do extrato etanólico bruto das partes aéreas de *Turnera subulata* Sm.

A fase hexânica do extrato etanólico bruto das partes aéreas de *T. subulata* (50,0 g) foi submetida a uma filtração a vácuo, utilizando como fase estacionária gel de sílica 60 (Merck) 7734 (partículas com 0,063-0,2 mm, 70-230 mesh), e como suporte um funil de Büchner, com placa porosa. Como fase móvel foram utilizados hexano e/ou AcOEt. As frações foram concentradas em evaporador rotativo sob pressão reduzida (Esquema 4, p.54).

A fração Hex:AcOEt (7:3) (5,7 g) da fase hexânica do EEB das partes aéreas de *T. subulata* foi submetida a cromatografia em coluna utilizando como adsorvente gel de sílica 60 (Merck) 7734 (partículas com 0,063-0,2 mm, 70-230 mesh) e como eluentes hexano, diclorometano (CH_2Cl_2), e MeOH puros ou em misturas binárias com gradiente crescente de polaridade (Esquema 5, p.55). Desta coluna, foram coletadas 250 frações de 40,0 mL cada, concentradas em evaporador rotativo, analisadas em CCDA e reunidas de acordo com seus fatores de retenção (R_f 's) (Quadro 6, p.58). A sub-fração 132/250 (3,0 g) foi submetida a uma nova cromatografia em coluna adotando-se a metodologia anterior. Desta coluna, foram coletadas 262 frações de 20,0 mL cada, concentradas em evaporador rotativo, analisadas em CCDA e reunidas de acordo com seus fatores de retenção (R_f 's) (Quadro 7, p.58). A sub-fração 186/262 (2 g) oriunda da coluna anterior foi submetida a uma outra cromatografia em coluna utilizando como adsorvente gel de sílica 60 (Merck) e como eluentes hexano, diclorometano (CH_2Cl_2) e MeOH puros ou em misturas binárias com gradiente crescente de polaridade. Desta coluna, foram coletadas 69 frações de 25 mL, cada, concentradas em evaporador rotativo, analisadas em CCDA e reunidas de acordo com seus fatores de retenção (R_f 's) (Quadro 8, p.59). A fração reunida 03/04 (0,0106g), caracterizada como um sólido amorfo escuro-arroxeadado, foi submetida a espectrometria de RMN ^1H e RMN ^{13}C o que permitiu codificar a fração reunida 03/04 como sendo a substância **Ts - 5** (Esquema 5, p.55).

4.6 Caracterização estrutural dos constituintes químicos isolados de *Turnera subulata* Sm.

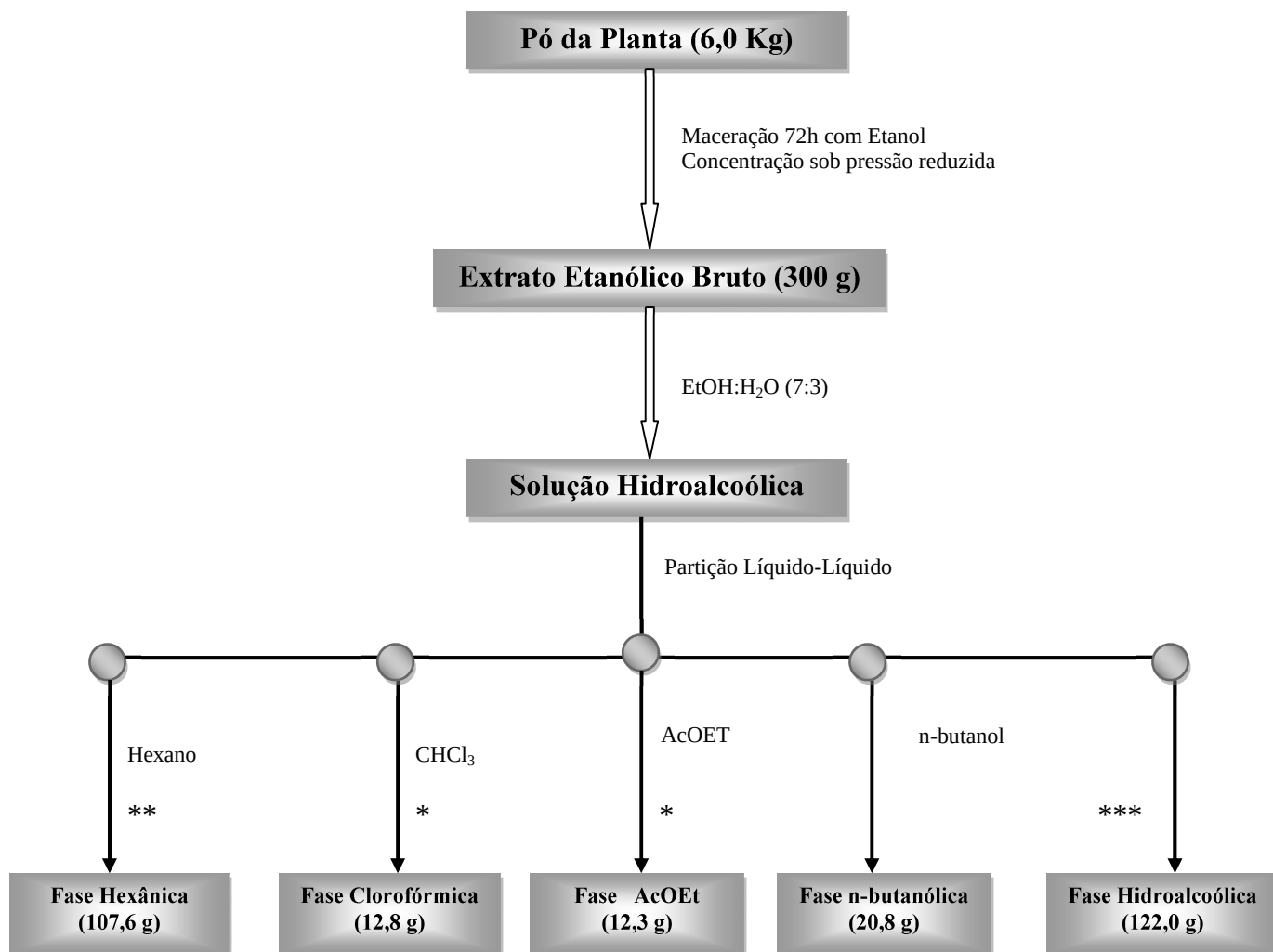
A caracterização estrutural dos constituintes químicos isolados de *T. subulata* foi realizada pela análise dos espectros obtidos através dos métodos espectroscópicos no Infravermelho (IV) e Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio (RMN ^1H) e Carbono-13 (RMN ^{13}C), utilizando técnicas uni e bidimensionais (HSQC, HMBC, COSY e NOESY), além de comparações com modelos da literatura.

4.6.1 Infravermelho

Os dados espectrais na região do infravermelho foram obtidos em aparelho Perkin-Elmer, FT-IR-1750 do Laboratório de Tecnologia Farmacêutica-UFPB, utilizando-se de 1 a 3 mg da amostra em pastilhas de KBr. As absorções foram registradas em cm^{-1} .

4.6.2 Ressonância Magnética Nuclear

Os espectros de Ressonância Magnética Nuclear foram obtidos nos espectrômetros Mercury-Varian a 200 e 500 MHz do Laboratório de Tecnologia Farmacêutica-UFPB, otimizados para técnicas uni e bidimensionais, utilizando-se quantidades variáveis de amostras. Os solventes empregados para solubilizar as amostras foram Clorofórmio deuterado (CDCl_3) e Piridina deuterada ($\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$) registrados a partir dos seus picos característicos em RMN de ^1H e RMN ^{13}C em relação ao TMS.

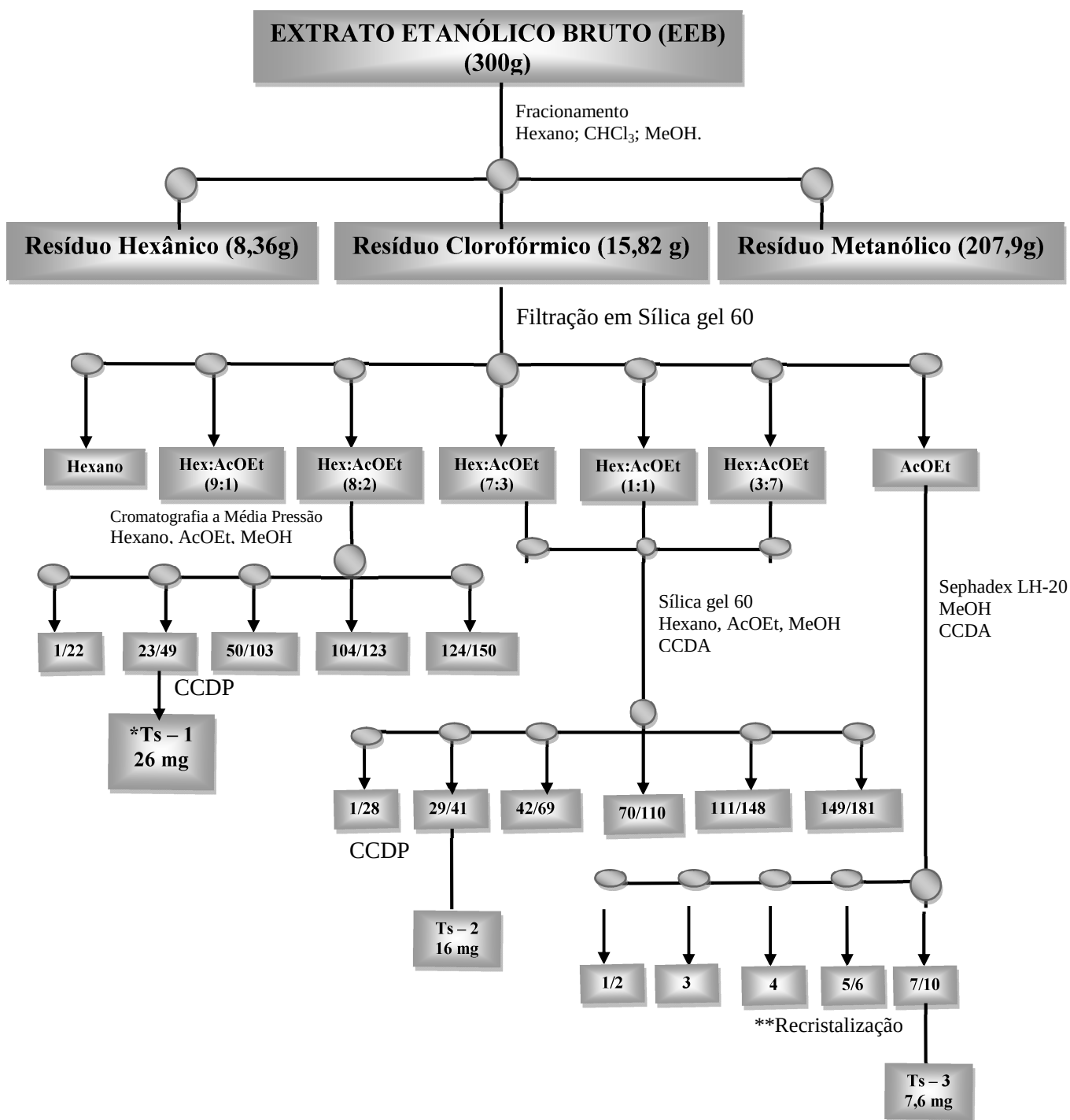


Esquema 1: Obtenção e Partição líquido-líquido do extrato etanólico bruto das partes aéreas de *Turnera subulata* Sm

(*) – Estudos anteriores.

(**) – Estudos anteriores e atual.

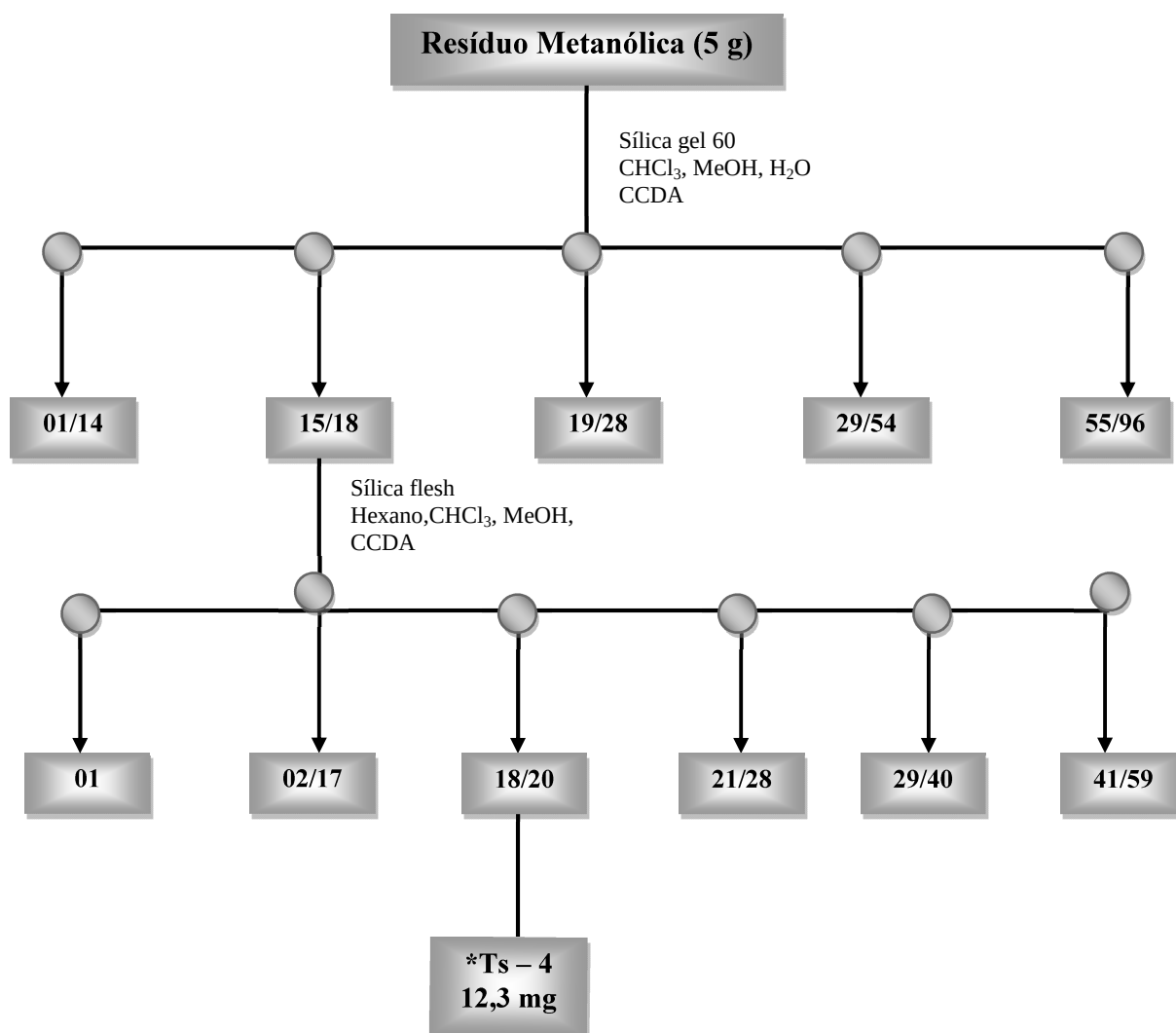
(***) – Estudos Posteriores.



Esquema 2: Processamento cromatográfico do extrato etanólico bruto das partes aéreas de *Turnera subulata* Sm e do resíduo clorofórmico.

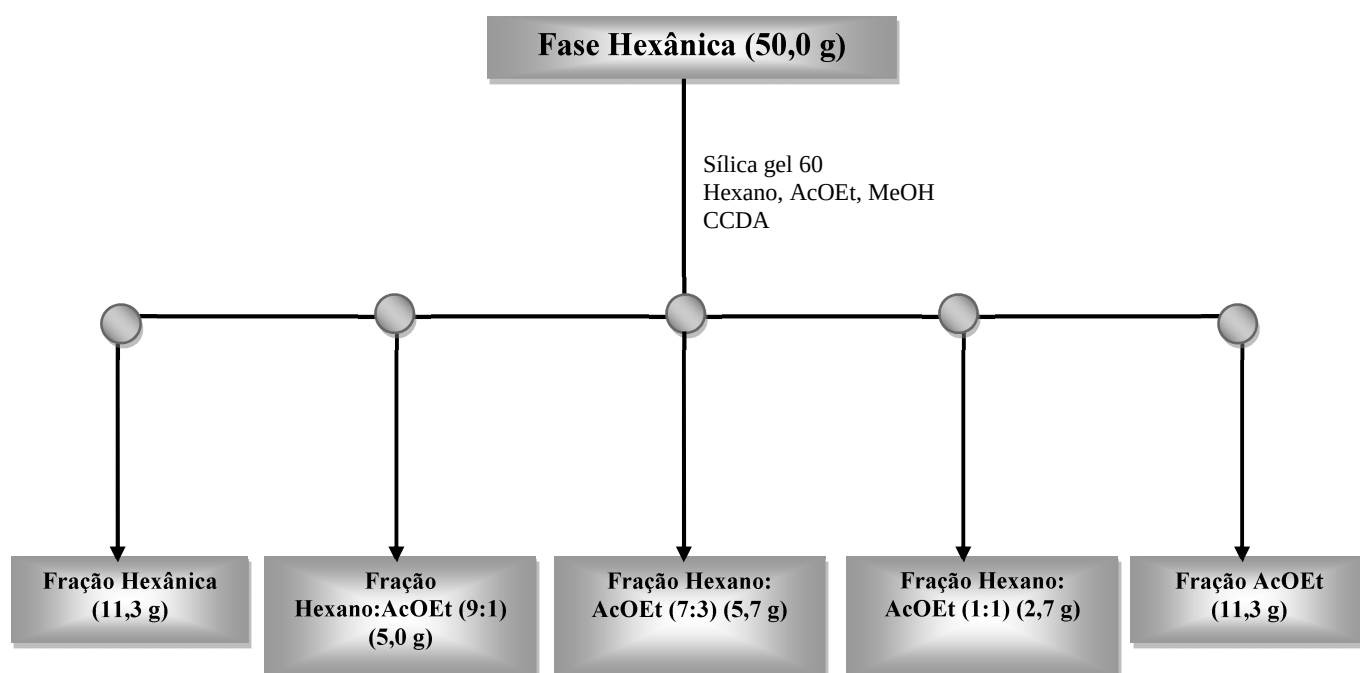
(*) – Disponibilizada para estudo Farmacológico.

(**) – CHCl₃:MeOH

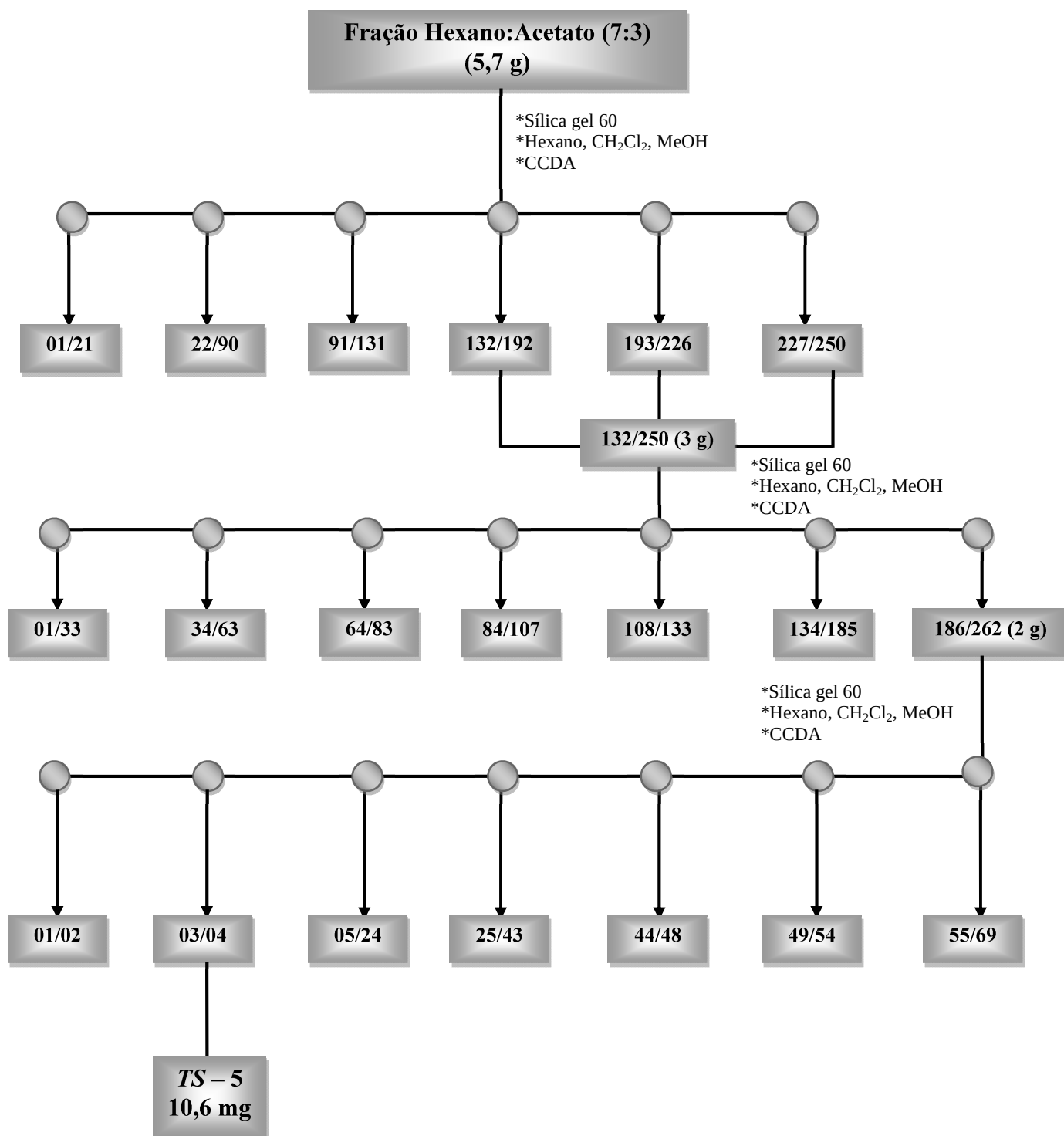


Esquema 3: Fracionamento cromatográfico do resíduo Metanólico do extrato etanólico bruto das partes aéreas de *Turnera subulata* Sm.

(*) – Disponibilizada para estudo Farmacológico.



Esquema 4 : Fracionamento cromatográfico da fase Hexânica do extrato etanólico bruto das partes aéreas de *Turnera subulata* Sm.



Esquema 5: Fracionamento cromatográfico da fração Hexano:Acetato (7:3) da fase hexânica do extrato etanólico bruto das partes aéreas de *Turnera subulata* Sm.

Quadro 2: Fracionamento cromatográfico sob média pressão da fração Hexano: AcOEt (8:2) do resíduo clorofórmico do extrato etanólico bruto das partes aéreas de *Turnera subulata* Sm.

Eluentes	Frações obtidas	Frações reunidas
Hexano : AcOEt (95:5)	01-17	1/22 (100 mg)
Hexano : AcOEt (9:1)	18-44	<u>23/49 – CCDP – Ts – 1 (26mg)</u>
Hexano : AcOEt (85:15)	45-60	50/103 (502 mg)
Hexano : AcOEt (8:2)	61-64	104/123 (350 mg)
Hexano : AcOEt (7:3)	65-100	124/150 (69 mg)
Hexano : AcOEt (6:4)	101-111	
Hexano: AcOEt (1:1)	112-120	
Hexano: AcOEt (4:6)	121-125	
Hexano: AcOEt (3:7)	126-134	
Hexano: AcOEt (2:8)	135-140	
Hexano: AcOEt (1:9)	141-146	
AcOEt	147-150	

Quadro 3: Fracionamento cromatográfico da reunião das frações Hex:AcOEt (7:3), Hex:AcOEt (1:1), Hex:AcOEt (3:7) do resíduo clorofórmico do extrato etanólico bruto das partes aéreas de *Turnera subulata* Sm.

Eluentes	Frações obtidas	Frações reunidas
Hexano : AcOEt (95:5)	01-39	1/28 (100 mg)
Hexano :AcOEt (9:1)	40-68	<u>29/41 – CCDP – Ts – 2 (16 mg)</u>
Hexano : AcOEt (8:2)	69-93	42/69 (484 mg)
Hexano : AcOEt (7:3)	94-108	70/110 (939 mg)
Hexano : AcOEt (6:4)	109-119	111/148 (513 mg)
Hexano : AcOEt (1:1)	120-136	149/181 (161,7 mg)
Hexano : AcOEt (4:6)	137-143	
Hexano : AcOEt (3:7)	144-147	
Hexano : AcOEt (2:8)	148-153	
Hexano : AcOEt (1:9)	154-164	
AcOEt	165-174	
AcOEt : MeOH (95:5)	175-181	

Quadro 4: Fracionamento cromatográfico do resíduo metanólico do extrato etanólico bruto das partes aéreas de *Turnera subulata* Sm.

Eluentes	Frações obtidas	Frações reunidas
CHCl ₃	1-20	1/14 (2,0 g)
CHCl ₃ : MeOH (95:5)	21-30	<u>15/18 (109,0 mg)</u>
CHCl ₃ : MeOH (9:1)	31-40	19/28 (2,19 mg)
CHCl ₃ : MeOH (85:15)	41-50	29/54 (432 mg)
CHCl ₃ : MeOH (8:2)	51-60	55/96 (370,89 mg)
CHCl ₃ : MeOH (7:3)	61-69	
CHCl ₃ : MeOH (6:4)	70-75	
CHCl ₃ : MeOH (1:1)	76-82	
CHCl ₃ : MeOH : H ₂ O (97:2:1)	83-88	
CHCl ₃ : MeOH : H ₂ O (96:3:1)	89	
CHCl ₃ : MeOH : H ₂ O (96:2,5:1,5)	90-96	

Quadro 5: Fracionamento cromatográfico da sub-fração (15/18) do resíduo metanólico do extrato etanólico bruto das partes aéreas de *Turnera subulata* Sm.

Eluentes	Frações obtidas	Frações reunidas
Hexano : CHCl ₃ (1:1)	01-05	01 (10 mg)
Hexano : CHCl ₃ (4:6)	06-07	02/17 (25,8 mg)
Hexano : CHCl ₃ (3:7)	08-09	<u>18/20 – Ts – 5 (12,3 mg)</u>
Hexano : CHCl ₃ (2:8)	10-11	21/28 (86,7 mg)
Hexano : CHCl ₃ (1:9)	12-14	29/40 (40 mg)
CHCl ₃	15-24	41/59 (20,9 mg)
CHCl ₃ : MeOH (98:2)	25-37	
CHCl ₃ : MeOH (97:3)	38-41	
CHCl ₃ : MeOH (96:4)	42-44	
CHCl ₃ : MeOH (95:5)	45-52	
CHCl ₃ : MeOH (9:1)	53-55	
CHCl ₃ : MeOH (8:2)	56-57	
CHCl ₃ : MeOH (1:1)	58-59	

Quadro 6: Fracionamento cromatográfico da fração Hexano:AcOEt (7:3) da fase hexânica do extrato etanólico bruto das partes aéreas de *Turnera subulata* Sm.

Eluentes	Frações obtidas	Frações reunidas
Hexano	1-14	1/21 (2,0 g)
Hexano: CH ₂ Cl ₂ (9:1)	15-25	22/90 (3,1 g)
Hexano: CH ₂ Cl ₂ (8:2)	26-42	91/131 (600 mg)
Hexano: CH ₂ Cl ₂ (7:3)	43-67	<u>132/250 (3,0 g)</u>
Hexano: CH ₂ Cl ₂ (6:4)	68-88	
Hexano: CH ₂ Cl ₂ (1:1)	89-129	
Hexano: CH ₂ Cl ₂ (4:6)	130-157	
Hexano: CH ₂ Cl ₂ (3:7)	158-172	
Hexano: CH ₂ Cl ₂ (2:8)	173-195	
Hexano: CH ₂ Cl ₂ (1:9)	196-221	
CH ₂ Cl ₂	222-237	
CH ₂ Cl ₂ : MeOH (95:5)	238-243	
CH ₂ Cl ₂ : MeOH (9:1)	244-250	

Quadro 7: Fracionamento cromatográfico da sub-fração (132/250) da fração Hexano:AcOEt (7:3) da fase hexânica do extrato etanólico bruto das partes aéreas de *Turnera subulata* Sm.

Eluentes	Frações obtidas	Frações reunidas
Hexano: CH ₂ Cl ₂ (7:3)	1-48	1/33 (150 mg)
Hexano: CH ₂ Cl ₂ (6:4)	49-83	34/63 (160 mg)
Hexano: CH ₂ Cl ₂ (1:1)	84-147	64/83 (230 mg)
Hexano: CH ₂ Cl ₂ (4:6)	148-194	84/107 (250 mg)
Hexano: CH ₂ Cl ₂ (3:7)	195-216	108/133 (20mg)
CH ₂ Cl ₂	217-244	134/185 (190mg)
CH ₂ Cl ₂ : MeOH (9:1)	245-255	<u>186/262 (2,0 g)</u>
CH ₂ Cl ₂ : MeOH (8:2)	256-260	
CH ₂ Cl ₂ : MeOH (7:3)	261-262	

Quadro 8: Fracionamento cromatográfico da sub-fração (**186/262**) oriunda da sub-fração (**132/250**) da fase hexânica do extrato etanólico bruto das partes aéreas de *Turnera subulata* Sm.

Eluentes	Frações obtidas	Frações reunidas
Hexano: CH ₂ Cl ₂ (4:6)	1-11	01/02 (25 mg)
Hexano: CH ₂ Cl ₂ (3:7)	12-26	<u>03/04 – Ts – 5 (10,6 mg)</u>
Hexano: CH ₂ Cl ₂ (2:8)	27-29	05/24 (450 mg)
Hexano: CH ₂ Cl ₂ (1:9)	30-48	25/43 (630 mg)
CH ₂ Cl ₂	49	44/48 (200 mg)
CH ₂ Cl ₂ : MeOH (95:5)	50-57	49/54 (356 mg)
CH ₂ Cl ₂ : MeOH (9:1)	58-61	55/69 (328,4 mg)
CH ₂ Cl ₂ : MeOH (8:2)	62-63	
CH ₂ Cl ₂ : MeOH (7:3)	64-65	
CH ₂ Cl ₂ : MeOH (6:4)	66-69	

RESULTADOS E DISCUSSÃO

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Substâncias isoladas do extrato etanólico bruto das partes aéreas de *Turnera subulata* Sm.

O estudo fitoquímico do resíduo clorofórmico e metanólico, obtidos por fracionamento do extrato etanólico bruto das partes aéreas de *Turnera subulata* Sm, e da fase hexânica obtida por partição do referido extrato levou ao isolamento de cinco substâncias (Figura 10, p. 61) codificadas com as letras iniciais da espécie (*Ts*), seguida da numeração de 1 a 5 de acordo com a ordem em que foram isoladas. Do resíduo clorofórmico, citado anteriormente foram obtidas as substâncias *Ts-1*, *Ts-2* e *Ts-3*. Do resíduo metanólico foi isolada a substância *Ts-4*, enquanto da fase hexânica foi isolada a substância codificada como *Ts-5*.

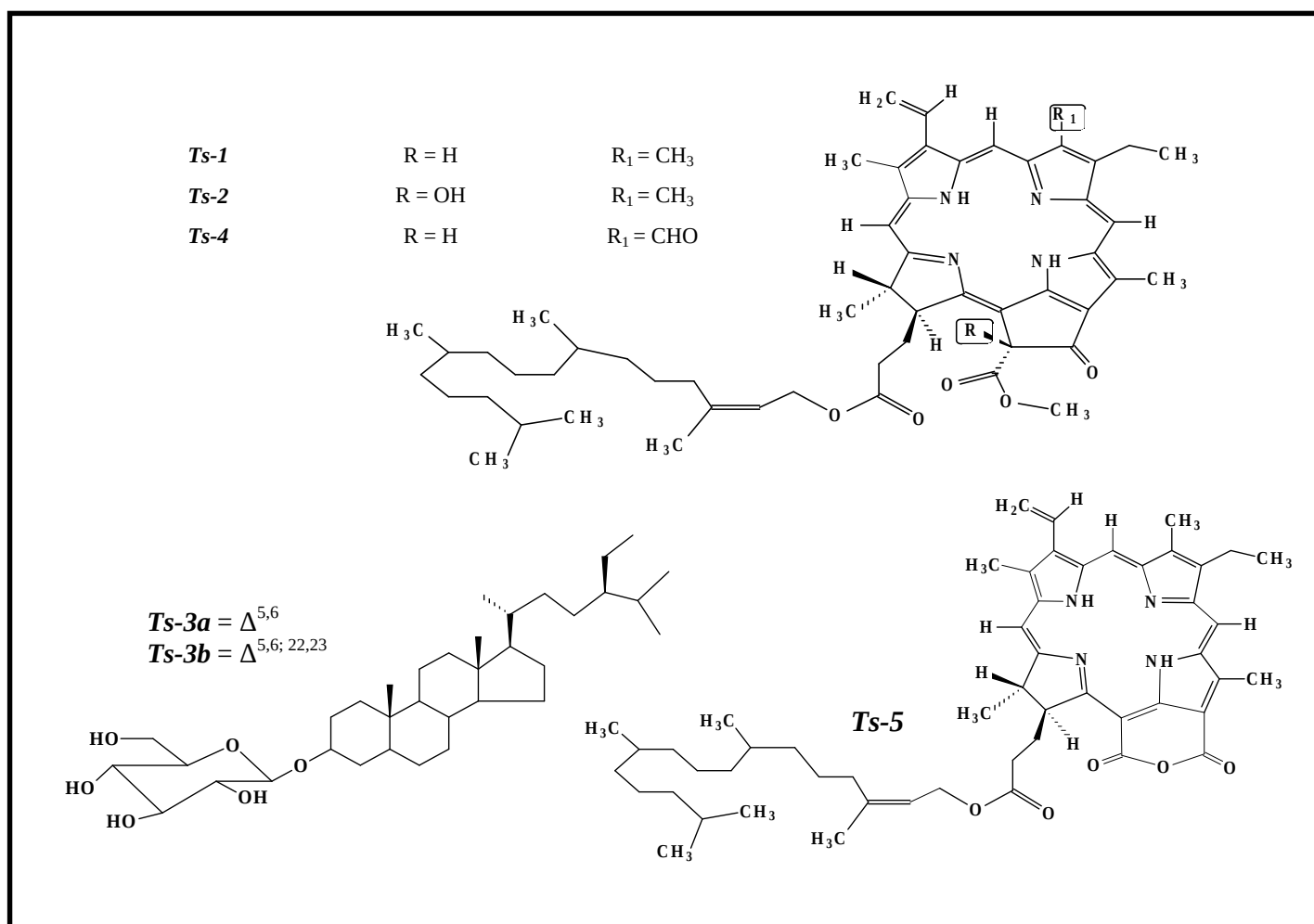


Figura 10: Substâncias isoladas de *Turnera subulata* Sm.

5.2 Caracterização estrutural de *Ts-1*.

A substância codificada como *Ts-1* apresentou-se como um sólido amorfo verde escuro. O espectro de IV (Fig. 12, p. 70) da substância mostrou uma banda característica de estiramento de C-H alifático em 2926 cm^{-1} e uma banda sugestiva de estiramento C-H de grupo metoxílico em 2854 cm^{-1} . Observou-se a presença de uma banda em 3435 cm^{-1} , a qual propôs se tratar de deformação axial de N-H de aminas ou de O-H. Uma outra banda, observada em 1377 cm^{-1} , fortaleceu a sugestão da presença de grupo amino, por tratar-se de deformação axial de ligação C-N. Esta observação, aliada à presença de uma banda em 1618 cm^{-1} , condizente com a absorção de ligação dupla em sistemas conjugados, levaram a sugerir que a molécula em análise contém núcleo porfirínico. Absorções em 1735 e 1701 cm^{-1} condizentes com a deformação axial de grupo carbonílico não conjugado e conjugado, respectivamente sugerem a presença desses grupos em *Ts-1* (SILVERSTEIN et al., 2005; PAVIA et al., 2010).

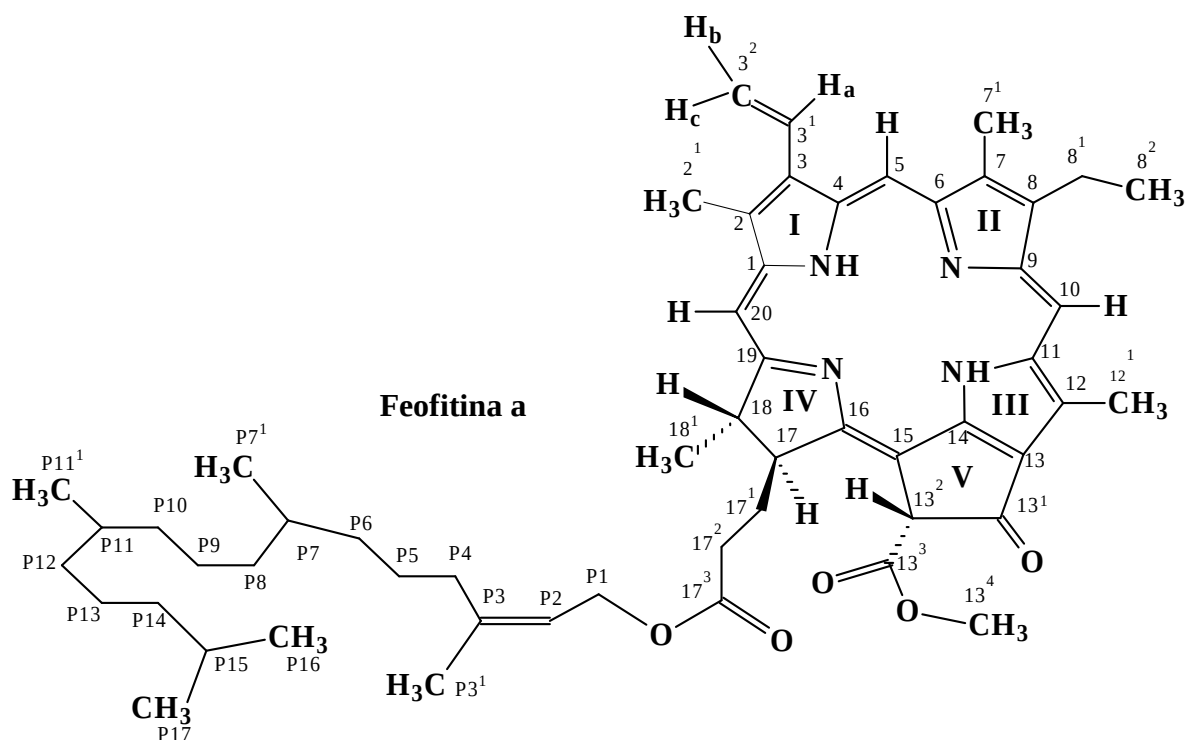
O espectro de RMN ^1H (Fig. 13, p. 71) de *Ts-1* e suas expansões (Figs. 14 a 18, p. 72 a 76) exibiram absorções que corroboram a sugestão que *Ts-1* trata-se de uma substância com núcleo porfirínico. Esta sugestão foi fortalecida ao observarmos sinais para quatro metilas de anéis pirrólicos em 3,82 (Me-12¹); 3,40 (Me-2¹); 3,21 (Me-7¹) e 1,81 (Me-18¹) sendo os três primeiros referentes às metilas dos anéis III, I e II, sendo o quarto sinal condizente com a metila do anel IV do núcleo porfirínico (Tabela 1, p. 67). O sinal em δ 3,21 permitiu propor que *Ts-1* trata-se da **feofitina a**, uma vez que a feofitina b possui em C-7¹ um grupo aldeído (SCHWIKKARD et al., 1998).

Ainda observando o espectro de RMN ^1H (Fig. 13, p.71) e suas expansões (Figs. 14 a 18, p. 72 a 76) percebemos o fortalecimento da proposta do núcleo porfirínico ao observar sinais para hidrogênios vinílicos *Ha* - 3¹ em δ 7,98 (dd- $J=17,78\text{ Hz}$ e $11,51\text{ Hz}$) que acopla *trans* com *Hc* - 3² em δ 6,28 (dd, $J=17,78\text{ Hz}$) e *cis* com *Hb* - 3² em 6,17 (dd, $J=11,51\text{ Hz}$ e $1,0\text{ Hz}$). Este por sua vez acopla geminado com *Hc* - 3² ($J=1,0\text{ Hz}$) (Tabela 1, p. 69). Foram ainda observados sinais para três hidrogênios olefínicos em δ 9,38, δ 9,53 e δ 8,58 condizentes com os hidrogênios H-5, H-10 e H-20 respectivamente, do núcleo porfirínico das feofitinas (Fig. 7, p. 40) (MATSUO et al., 1996; DUAN et al., 2002 e SILVA et al. 2006). Um singleto largo em δ 3,88 (H-13⁴) (Fig. 16, p. 74) com integração para três hidrogênios, caracteriza o grupo metoxila, fortalecendo a sugestão dada pelo IV (Fig. 12, p. 70) da

presença deste grupo em **Ts-1** na posição C-13⁴. Um tripleto em δ 1,69 (Fig. 17, p. 75) com $J=7,55$ Hz condiz com hidrogênios do grupo CH₃, da posição C-8², (Tabela 1, p. 67). A figura 15, p.73, nos mostra um singleto em δ_H 6,27 condizente com o hidrogênio da posição 13², indicando que o referido núcleo porfirínico seria hydrogenado naquela posição.

As figuras 17 e 18, p. 75 e 76 sugerem que a substância em análise possui em sua estrutura o grupo fitil éster em C-17³. Esta sugestão baseou-se na existência de um envelope referente a sinais para hidrogênios metílicos, metilênicos e metínicos entre 0,8 e 2,9 δ_H (*Mo-1*) (TOMAZ et al., 2008). A localização do grupo C-17³ fundamentou-se também quando comparados os dados de **Ts-1** com o 17³ – etoxifeoforbídeo (*Mo-2*) (SILVA et al., 2006), que não possui o grupo fitil éster em C-17³ (Tabela 2, p. 68).

A compilação dos dados de IV e RMN¹H, em consonância com os dados da literatura (Tabela 1, p. 67) levaram a sugerir que **Ts-1** possui o núcleo porfirínico e um grupo fitila (Tabela 2, p. 68) podendo tratar-se da **feofitina a** (Fig. p. 63).



A análise dos espectros de RMN ¹³C-APT (Figuras 19 a 21, p. 77 a 79, Tabelas 1 e 2, p. 67 e 68) revelou picos para 55 átomos de carbono, onde pode-se definir 19 não hydrogenados, 11 metínicos, entre os quais um vinílico em δ_C 129,04 (C-3¹), 14 metilênicos, com destaque também para um carbono vinílico em δ_C 122,98 (C-3²) e 11 metílicos com um

sinal em δ_C 52,86, típico de CH_3 de metoxila de éster, que fortalece as sugestões do IV e RMN^1H para a existência desse grupo em ***Ts-1*** (Tabela 1, p.67).

A sugestão feita, baseando-se nos dados de RMN^1H , que ***Ts-1*** pode tratar-se da **feofitina a** foi fortalecida pelo espectro de RMN^{13}C -APT (Figuras 19 a 21, p. 77 a 79) que mostrou um envelope de sinais com 17 absorções referentes aos carbonos metínicos, metilênicos e metílicos do radical fitila. Outros dados que fortaleceram a presença do referido radical em ***Ts-1*** foram três sinais: um em δ_C 61,46 atribuído ao carbono oximetilênico ($\text{CH}_2\text{-P}_1$) e dois referentes aos carbonos olefínicos (CH-P_2) em δ_C 117,79 e (CH-P_3) em δ_C 142,19 (Tabela 2, p. 68).

O espectro de $\text{RMN}^1\text{H} \times ^1\text{H}$ -COSY (Fig. 22 a 24, p. 80 a 82, Tabela 3, p. 69) confirmou a presença dos grupos vinílico (C-3¹) e etila (C-8), antes proposto pelo espectro de RMN^1H unidimensional ao mostrar acoplamento entre as absorções do (H-3¹) em δ 7,98 com (H-3²-trans) em δ 6,28 e com (H-3²-cis) em δ 6,17, referentes aos hidrogênios vinílicos e entre δ 3,68 (H-8¹) e δ 1,69 ($\text{CH}_3\text{-8}^2$), atribuídos aos grupos etila.

Os espectros de correlação bidimensional heteronuclear a duas ($^2J_{\text{CH}}$) e a três ligações ($^3J_{\text{CH}}$) HMBC (Figuras 25 a 28, p. 83 a 86, Tabela 3, p. 69) mostraram correlação a $^3J_{\text{CH}}$ entre os hidrogênios (3^2Hc) em δ_H 6,28 e (3^2Hb) em δ_H 6,17 com o carbono C-3 em δ_C 136,69 como também entre H-3¹ em δ_H 7,98 (H-3¹) com o C-2 em δ_C 132,09. Outra correlação $^3J_{\text{CH}}$ acontece entre os hidrogênios H-8² em δ_H 1,68 com o carbono C-8 (δ_C 145,04). Estas correlações permitiram definir inequivocamente as posições 3 e 8 para os grupos vinílico e etílico, respectivamente. As atribuições referentes aos hidrogênios olefínicos e grupos metila foram atribuídas também através do HMBC pelas correlações seguintes: $\text{CH}_3\text{-2}^1$ (δ_H 3,40) com δ_C 132,09 (C-2) a $^2J_{\text{CH}}$ e com δ_C 142,78 (C-1) e δ_C 136,69 (C-3) a $^3J_{\text{CH}}$; $\text{CH}_3\text{-7}^1$ (δ_H 3,21) com δ_C 135,89 (C-7) a $^2J_{\text{CH}}$ e com os carbonos C-6 (δ_C 155,55) e C-8 (δ_C 145,04) a $^3J_{\text{CH}}$; $\text{CH}_3\text{-12}^1$ (3,82) (2J) com δ_C 129,14 (C-12) e (3J) com δ_C 138,00 (C-11) e δ_C 129,14 (C-13); δ_H 9,53 (H-10) (2J) com δ_C 138,00 (C-11) e (3J) com δ_C 145,04 (C-8); δ_H 9,38 (H-5) (2J) com δ_C 136,44 (C-4); δ_H 8,58 (H-20) (2J) com δ_C 132,09 (C-2). As atribuições dos carbonos 13¹ e 13² do anel V foram feitas através das correlações entre δ_H 6,27 (H-13²) a duas ligações com δ_C 189,51 (C-13¹), δ_C 169,49 (C-13³) e δ_C 105,63 (C-15) e a três ligações com δ_C 150,02 (C-14).

169,49), já que o mesmo não está de acordo com os dados da literatura. Matsuo et al. (1996) e Schwikkard et al. (1998) relatam que este valor é δ_C 173,0. No entanto, nossa atribuição é inequívoca uma vez que o espectro HMBC mostrou correlações a $^2J_{CH}$ entre o H-13² (δ_H 6,27) com o C-13³ (δ_C 169,49) (Figura 26, p. 84) e a $^3J_{CH}$ com os hidrogênios metoxílicos na posição 13⁴ (δ_H 3,88) (Figura 27, p. 85), fortalecendo nossos dados (Tabela 3, p. 69).

Os demais assinalamentos de carbonos no que diz respeito a cadeia lateral de fitol foram determinados com base em comparação com dados da literatura (TOMAZ, 2008; MELOS et al, 2007; Tabela 2, p. 68), permitindo identificar a substância **Ts-1** como sendo a **Feofitina a** (Fig. p. 63) descrita pela primeira vez na família Turneraceae.

Tabela 1: Dados comparativos de RMN ^1H e ^{13}C de **Ts-1** (δ , CDCl_3 , 500 e 125 MHz, respectivamente) com os modelos Mo-1 (δ , CDCl_3 , 500 e 125 MHz; TOMAZ et al., 2008) e Mo-2 (δ , CDCl_3 , 200 e 50 MHz; SILVA et al., 2006)

Mo-1			Mo-2		TS-1	
C	δ C	δ H	δ C	δ H	δ C	δ H
1	142,34	—	141,98	—	142,78	—
2	131,10	—	131,78	—	132,09	—
2 ¹	12,26	3,39 (s)	12,06	3,37 (s)	12,07	3,40 (s)
3	136,82	—	136,16	—	136,69	—
3 ¹	129,19	7,95 (dd, $J=17,85$ Hz, 11,48 Hz)	128,91	7,93 (dd, $J=17,8$ e 11,6 Hz)	129,04	7,98 (dd- $J=17,81$ Hz e 11,51 Hz)
3 ²	123,11	6,27 (trans) (d, $J=17,95$ Hz) e 6,18 (cis) (d, $J=11,10$ Hz)	122,72	6,14 (dd, $J=11,6$ e 1,6 Hz) (Cis) e 6,24 (dd, $J=17,8$ e 1,6 Hz) (Trans)	122,98	6,28 (trans) (dd- $J=17,78$ Hz) e 6,17(Cis) (dd- $J=11,51$ Hz e 1,0 Hz)
4	136,51	—	136,40	—	136,44	—
5	97,66	9,35 (s)	97,39	9,30 (s)	97,52	9,38 (s)
6	155,55	—	155,55	—	155,55	—
7	136,14	—	136,05	—	135,89	—
7 ¹	11,35	3,19 (s)	11,11	3,16 (s)	11,20	3,21 (s)
8	145,25	—	145,09	—	145,04	—
8 ¹	19,60	3,63 (m)	19,32	3,64 (m)	19,47	3,68 (s, 2H)
8 ²	17,52	1,66 (m)	17,37	1,65 (t, $J=7,60$ Hz)	16,28	1,69 (t) $J=7,55$ Hz
9	150,92	—	150,86	—	150,05	—
10	104,59	9,51 (s)	104,32	9,45 (s)	104,44	9,53 (s)
11	138,14	—	137,83	—	138,00	—
12	129,03	—	128,80	—	129,14	—
12 ¹	12,32	3,69 (s)	12,06	3,65 (s)	12,09	3,82 (s)
13	129,14	—	128,80	—	129,14	—
13 ¹	189,81	—	189,66	—	189,51	—
13 ²	64,90	6,30 (s)	64,66	6,25 (s)	64,75	6,27 (s)
13 ³	169,77	—	172,95	—	169,49	—
13 ⁴	53,07	3,91 (s)	52,88	3,87 (s)	52,86	3,88 (s)
14	149,59	—	149,59	—	150,02	—
15	105,10	—	105,10	—	105,63	—
16	161,19	—	161,19	—	161,30	—
17	51,42	4,15 (m)	51,05	4,19 (m)	51,30	4,16 (m)
17 ¹	29,89	—	29,76	—	29,68	—
17 ²	31,42	—	31,16	—	31,24	—
17 ³	173,18	—	172,19	—	173,83	—
18	50,36	4,34 (m)	50,05	4,44 (m)	50,19	4,47 (m)
18 ¹	23,28	1,84 (d)	23,94	1,79 (d, $J=7,40$ Hz)	23,08	1,81 (d)
19	172,63	—	169,60	—	172,89	—
20	93,72	8,60 (s)	93,06	8,53 (s)	93,59	8,58(s)

Tabela 2: Dados comparativos de RMN ^{13}C da cadeia fitila de **Ts-1** (δ , CDCl_3 , 50 MHz) com os modelos Mo-3 (δ , CDCl_3 , 125 MHz; TOMAZ, 2008) e Mo-4 (δ , CDCl_3 , 75 MHz; MELOS et al., 2007).

CADEIA DE FITOL – TS -1			
	Mo - 3	Mo - 4	Ts - 1
C	δ C	δ C	δ C
P 1	61,69	59,40	61,46
P 2	117,93	123,10	117,79
P 3	143,02	140,10	142,19
P 4	39,98	39,80	39,78
P 5	25,17	25,10	24,98
P 6	37,57	36,60	37,37
P 7	32,93	32,70	32,60
P 8	37,50	37,20	37,31
P 9	24,60	24,50	24,86
P 10	36,82	37,30	37,25
P 11	32,79	32,60	32,74
P 12	37,44	37,30	36,63
P 13	24,95	24,70	24,74
P 14	39,53	39,30	39,34
P 15	28,14	27,90	27,94
P 16	22,89	22,70	22,68
P 17	22,80	22,60	22,59
P 11 ¹	19,84	19,70	19,70
P 7 ¹	19,90	19,70	19,63
P 3 ¹	16,48	16,10	17,30

Tabela 3: Dados espectrais de RMN ^1H e ^{13}C (δ , CDCl_3 , 500 e 125 MHz, respectivamente) do núcleo porfirínico de **Ts-1**.

C	δC	$^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$	$^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$	$^1\text{H} \times ^1\text{H}$
		HSQC	HMBC	COSY
		δH	2J	3J
1	142,78			
2	132,09			
3	136,69			
4	136,44			
6	155,55			
7	135,89			
8	145,04			
9	150,05			
11	138,00			
12	129,14			
13	129,14			
13 ¹	189,51			
13 ³	169,49			
14	150,02			
15	105,63			
16	161,30			
17 ³	173,83			
19	172,47			
CH				
3 ¹	129,04	7,98 (dd-J=17,81 Hz e 11,51 Hz)		C-2
5	97,52	9,38(s)	C-4	
10	104,44	9,53(s)	C-11	
13 ²	64,75	6,27(s)	C-13 ¹ ; C-13 ³ ; C-15	C-14
17	51,30	4,16(m)		
18	50,19	4,47 (m)		
20	93,59	8,58(s)		C-2
CH₂				
3 ²	122,98	6,28 (trans) (dd-J=17,78Hz) e 6,17(Cis) (dd-J=11,51 Hz)		C-3
8 ¹	19,47	3,68 (s, 2H)	C-8; C-8 ²	C-7
17 ¹	29,68			
17 ²	31,24			
CH₃				
2 ¹	12,07	3,40 (s)	C-2	C-1; C-3
7 ¹	11,20	3,21 (s)	C-7	C-6; C-8
8 ²	16,28	1,68(t) J=7,06Hz		
12 ¹	12,09	3,82 (s)	C-12	C-11; C-13
13 ⁴ (OMe)	52,86	3,88 (s)		C-13 ³
18 ¹	23,08	1,81 (d)		

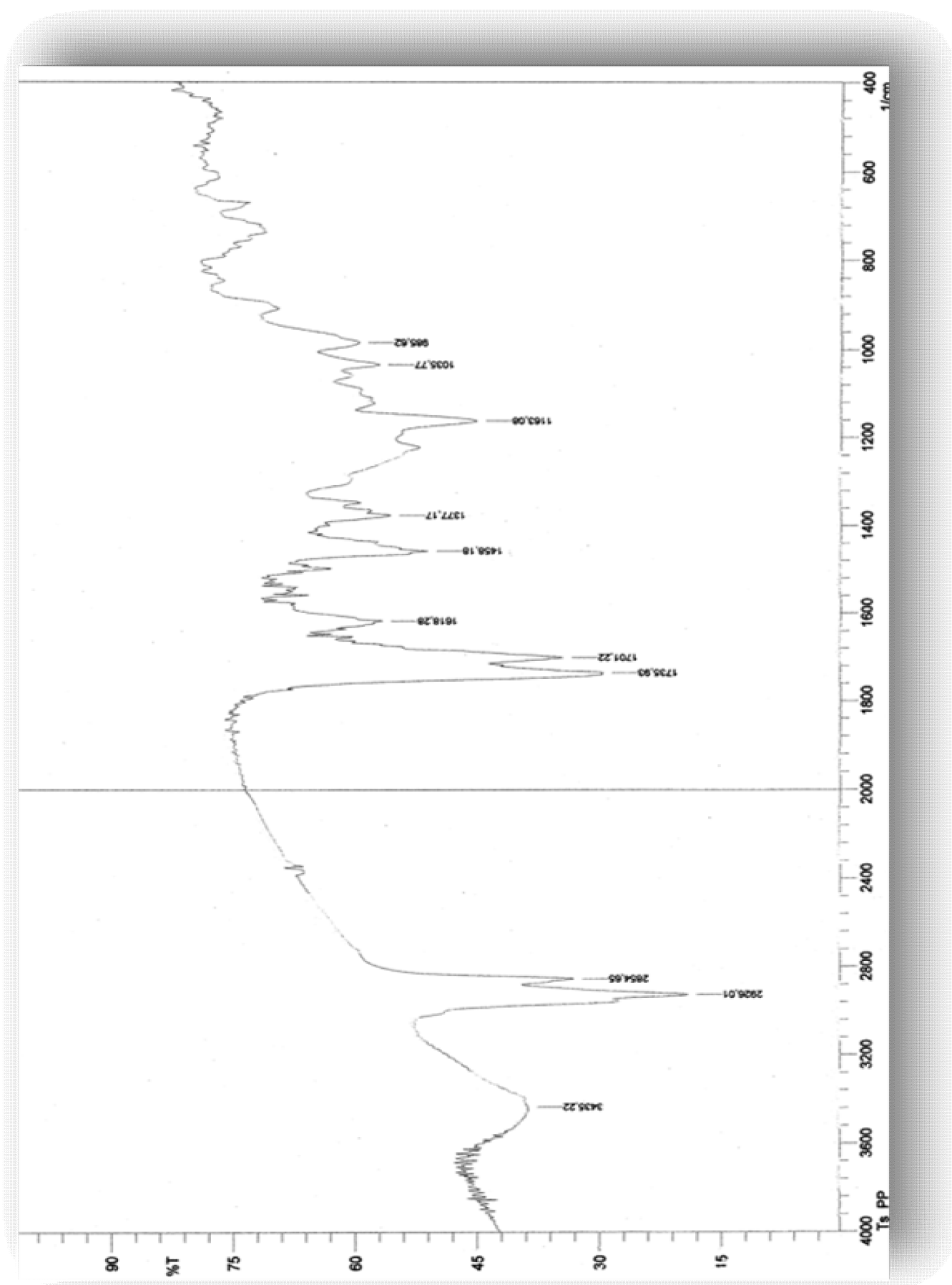


Figura 12: Espectro de IV (KBr, cm^{-1}) de *Ts-1*

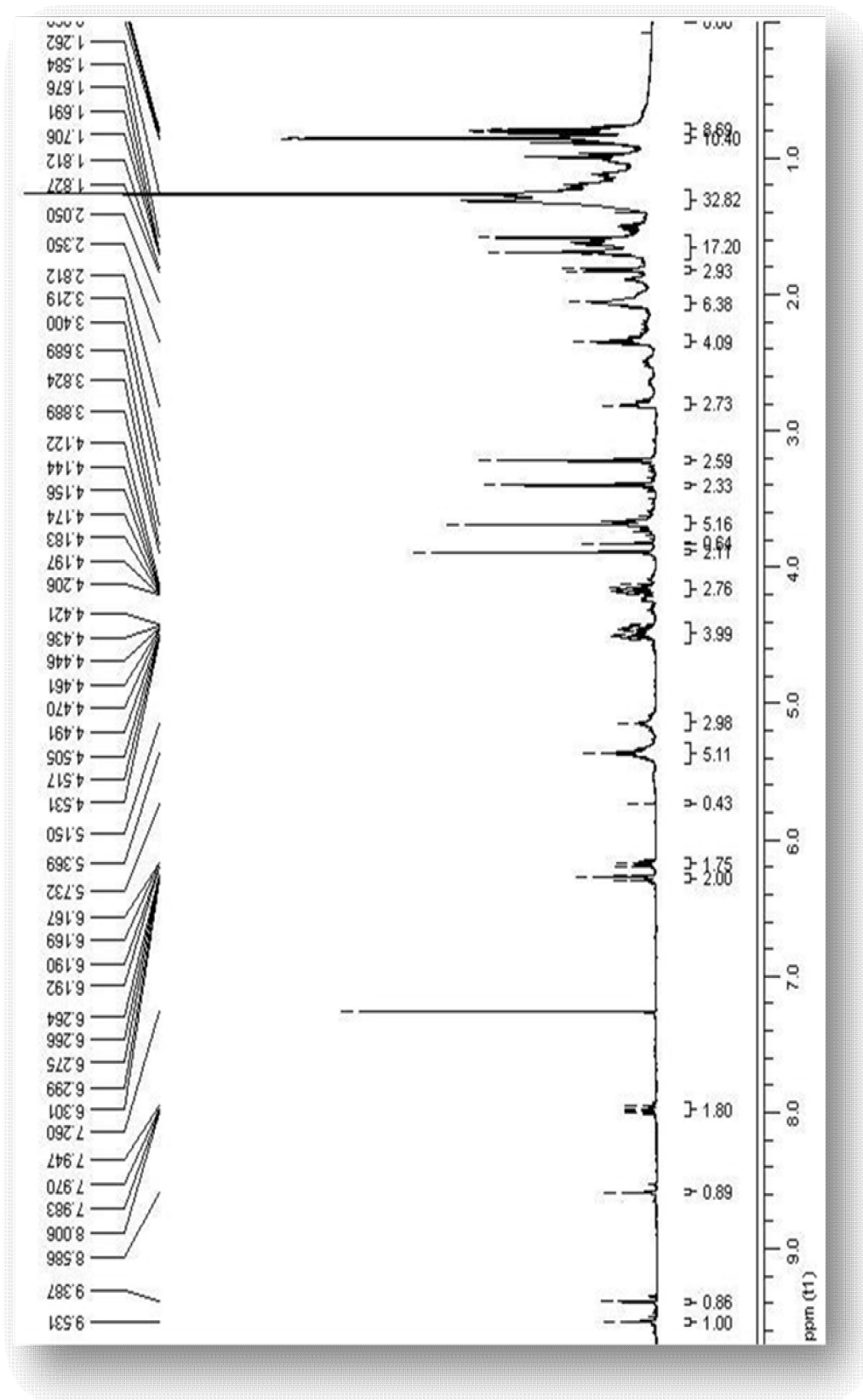


Figura 13: Espectro de RMN ^1H (δ , CDCl_3 , 500 MHz) de **Ts-1**

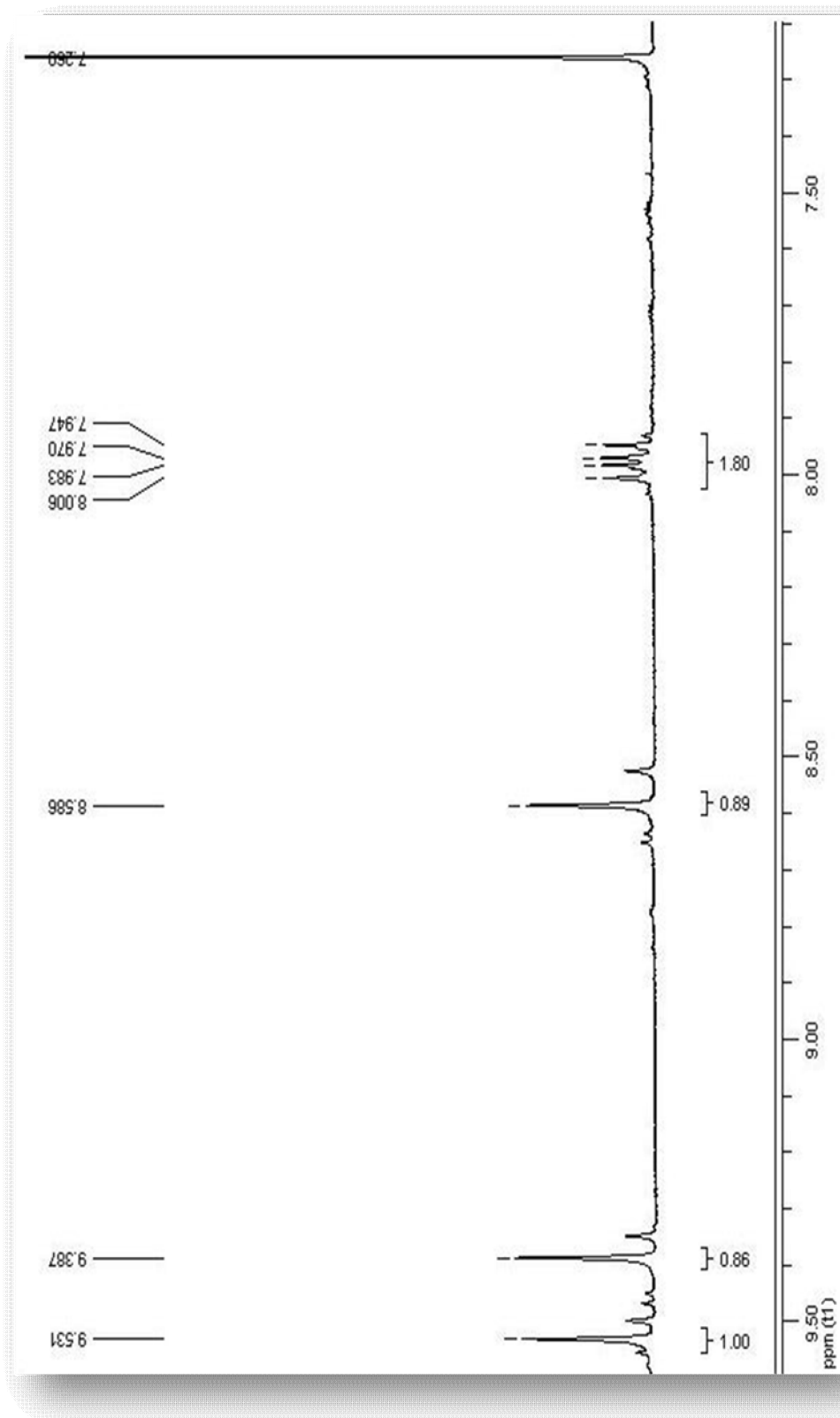


Figura 14: Expansão 1 do espectro de RMN ^1H (δ , CDCl_3 , 500 MHz) de **Ts-1**.

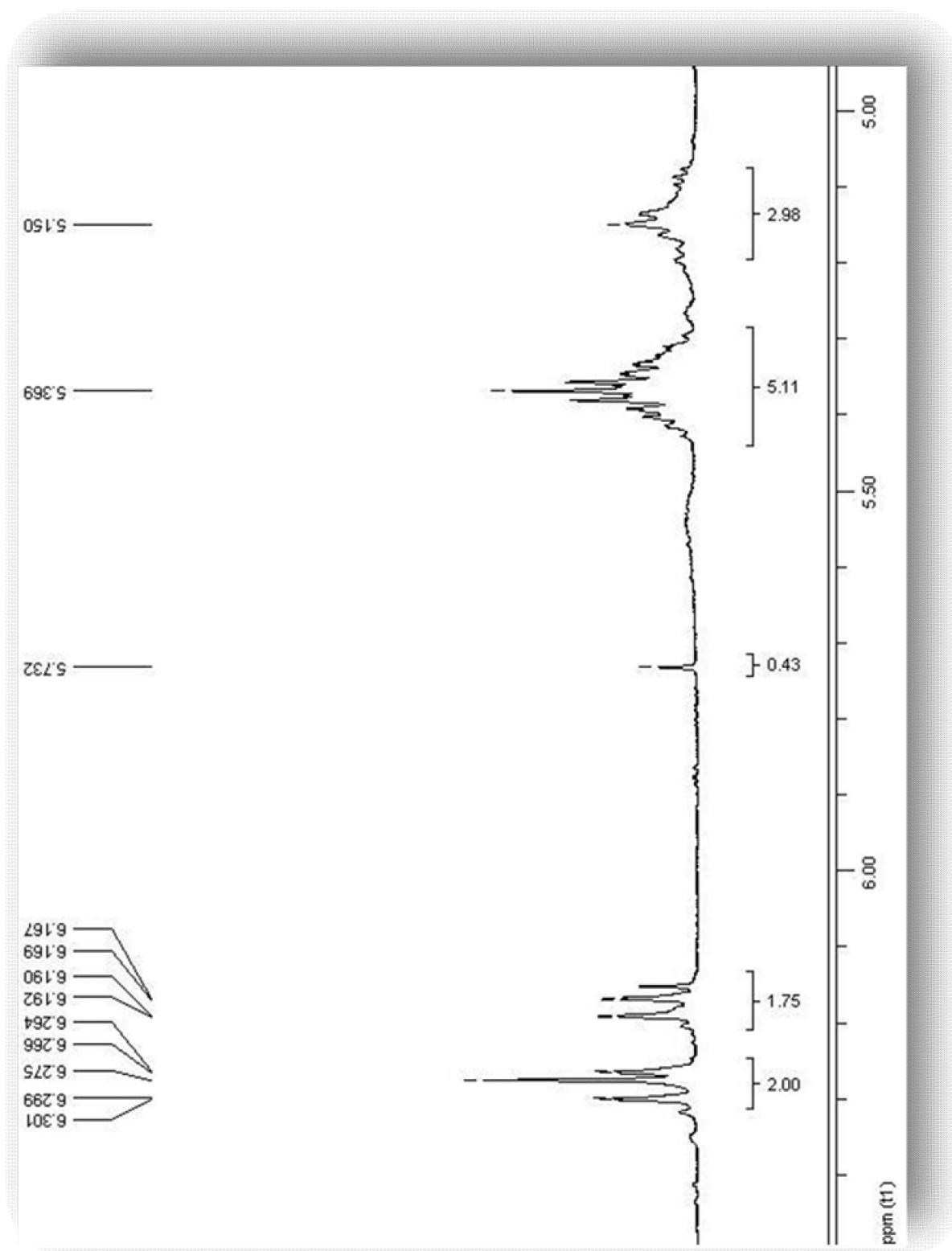


Figura 15: Expansão 2 do espectro de RMN ^1H (δ , CDCl_3 , 500 MHz) de *Ts-1*.

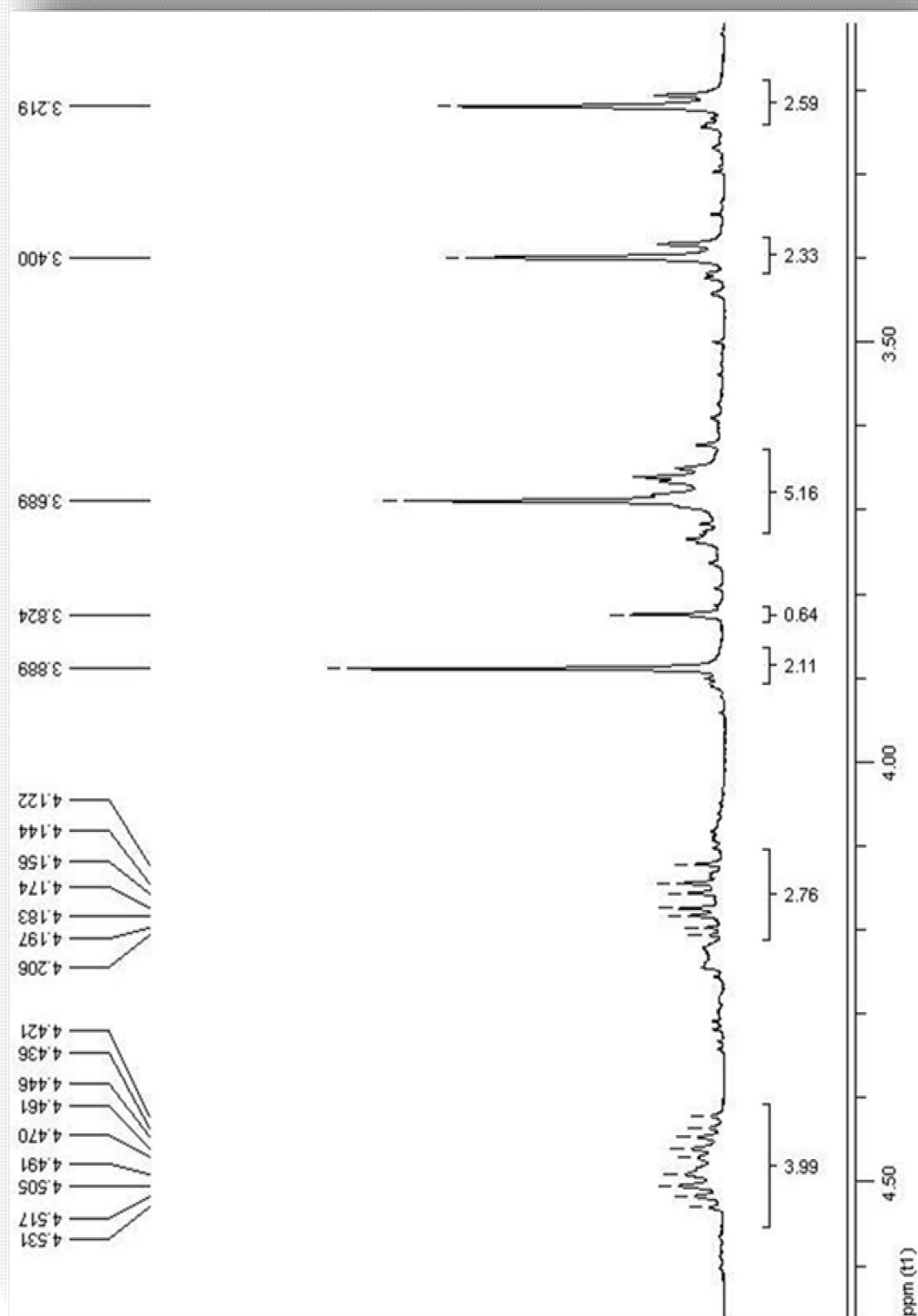


Figura 16: Expansão 3 do espectro de RMN ^1H (δ , CDCl_3 , 500 MHz) de *Ts-1*.

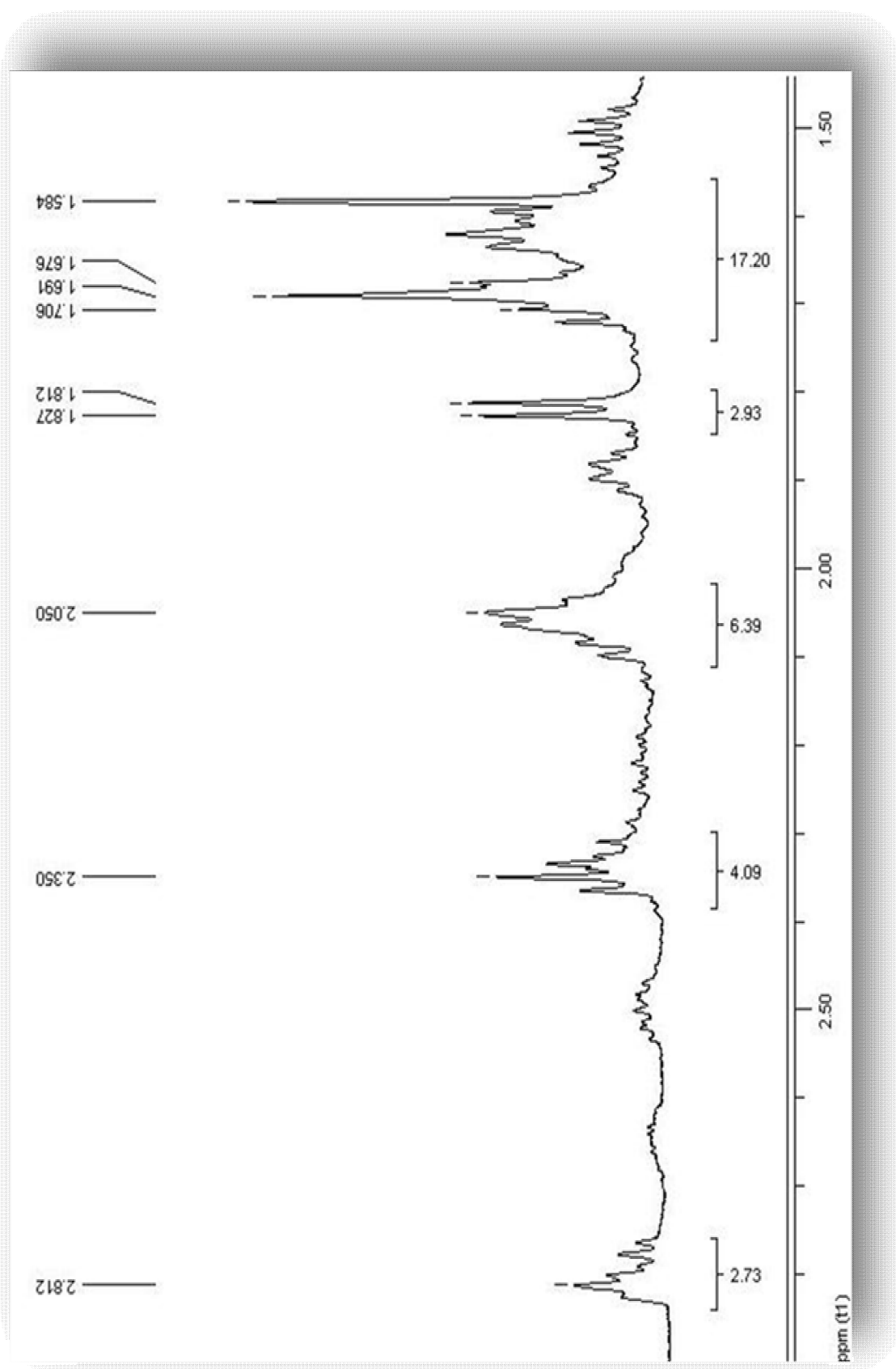


Figura 17: Expansão 4 do espectro de RMN ^1H (δ , CDCl_3 , 500 MHz) de *Ts-1*.

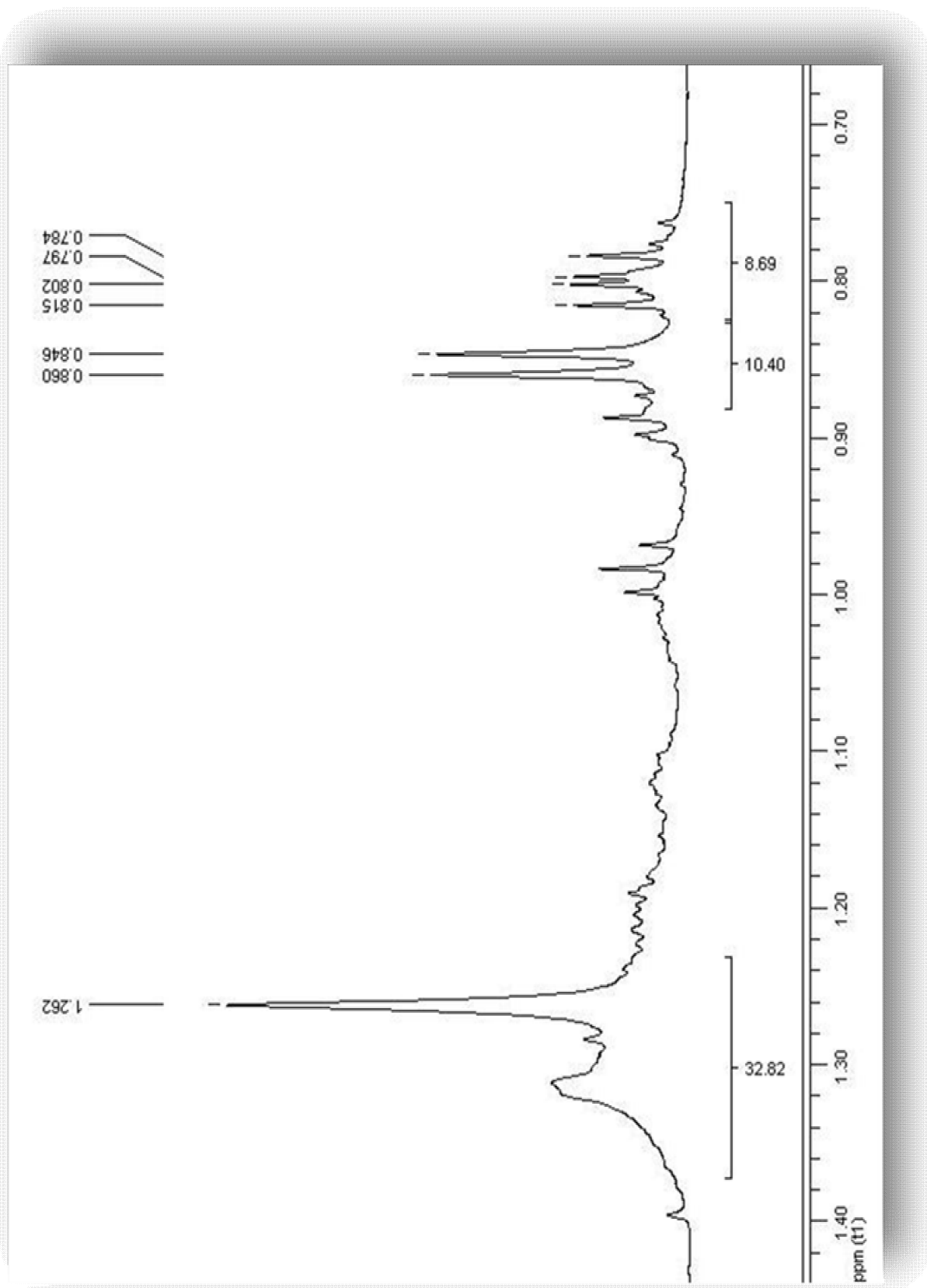


Figura 18: Expansão 5 do espectro de RMN ^1H (δ , CDCl_3 , 500 MHz) de *Ts-1*.

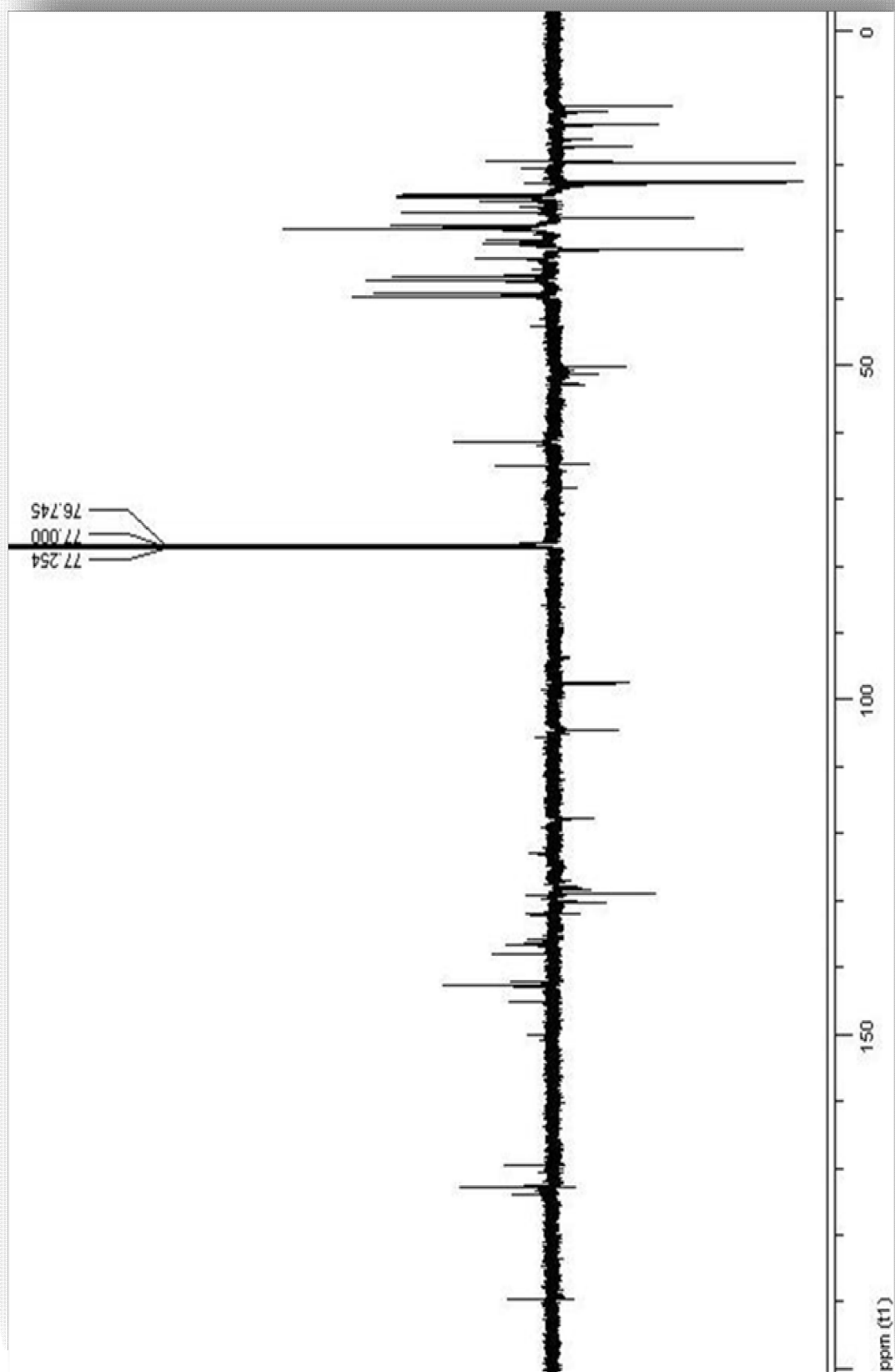


Figura 19: Espectro de RMN ^{13}C APT (δ , CDCl_3 , 125 MHz) de *Ts-1*.

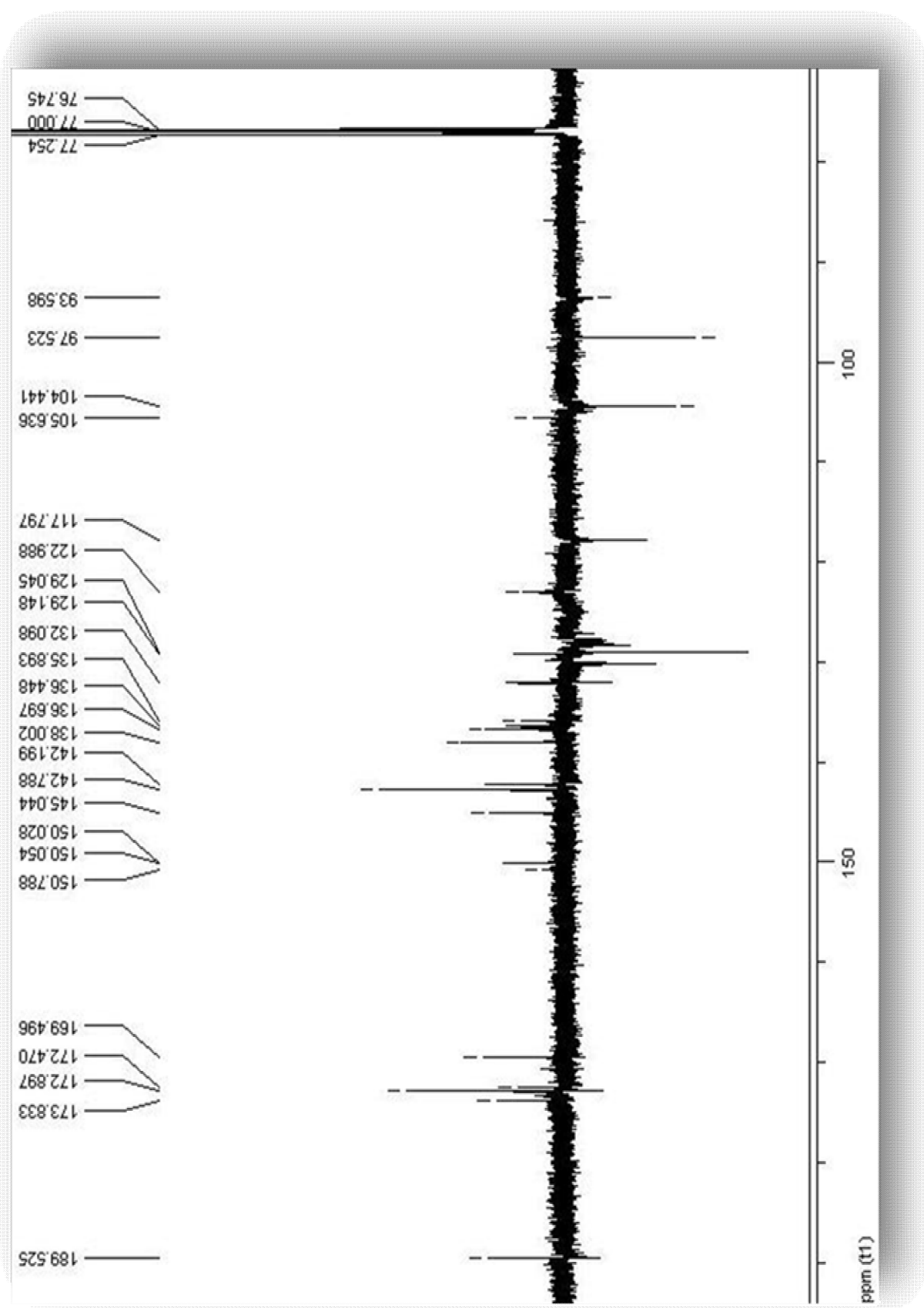


Figura 20: Expansão 1 do espectro de RMN ^{13}C APT (δ , CDCl_3 , 125 MHz) de *Ts-1*.

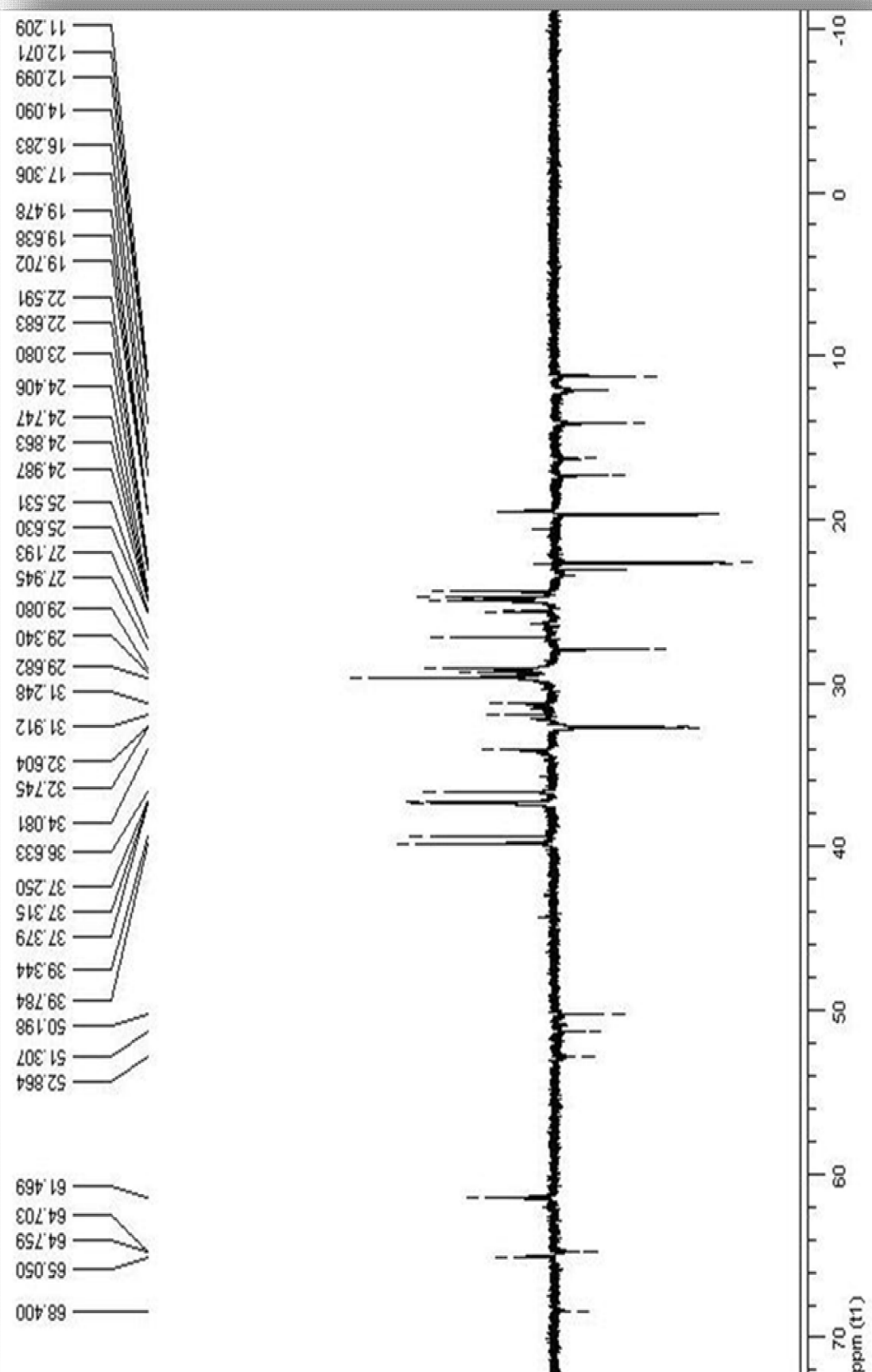


Figura 21: Expansão 2 do espectro de RMN ^{13}C APT (δ , CDCl_3 , 125 MHz) de *Ts-1*.

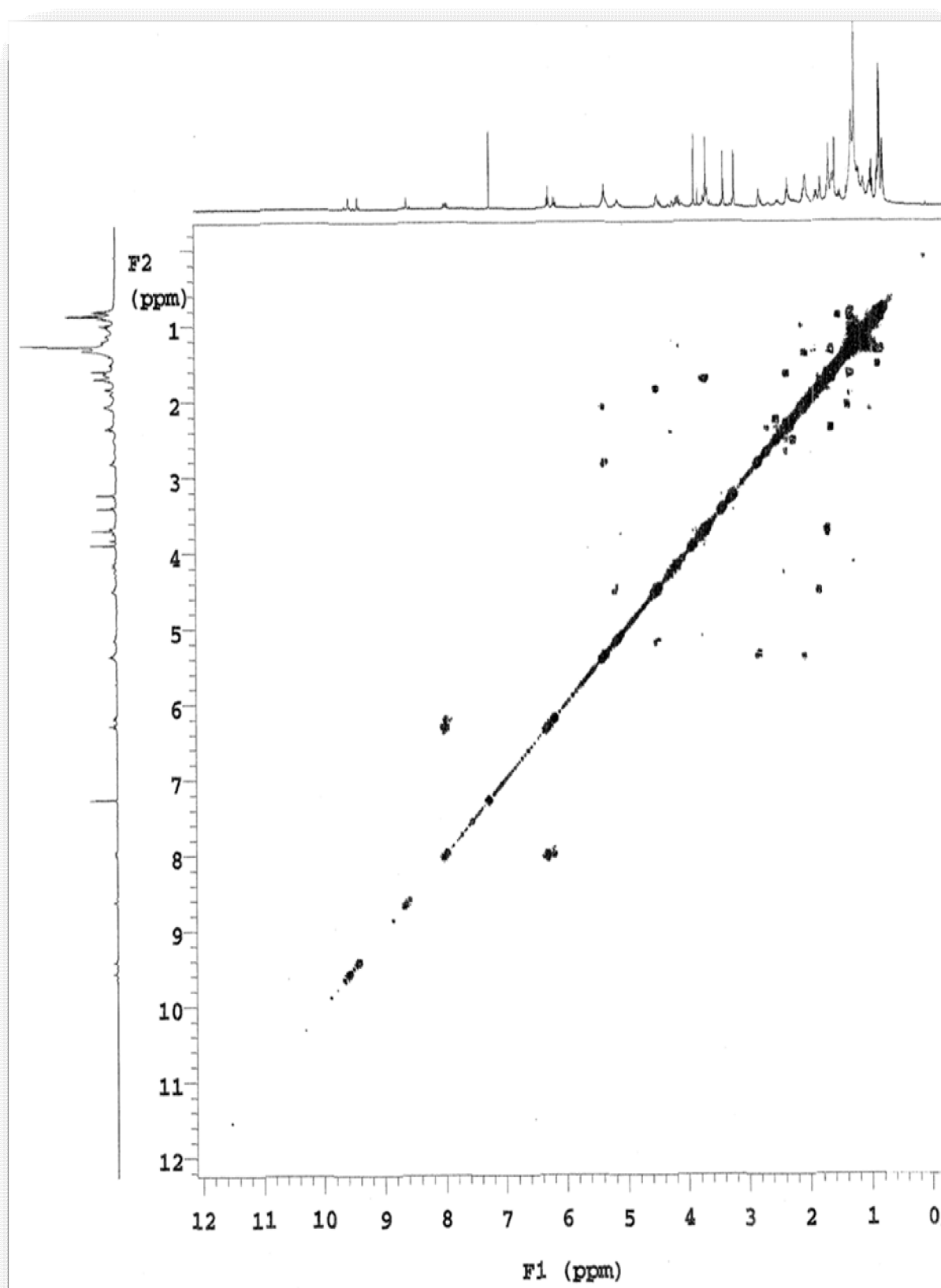


Figura 22: Espectro de RMN $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ COSY (δ , CDCl_3 , 500 MHz) de *Ts-1*.

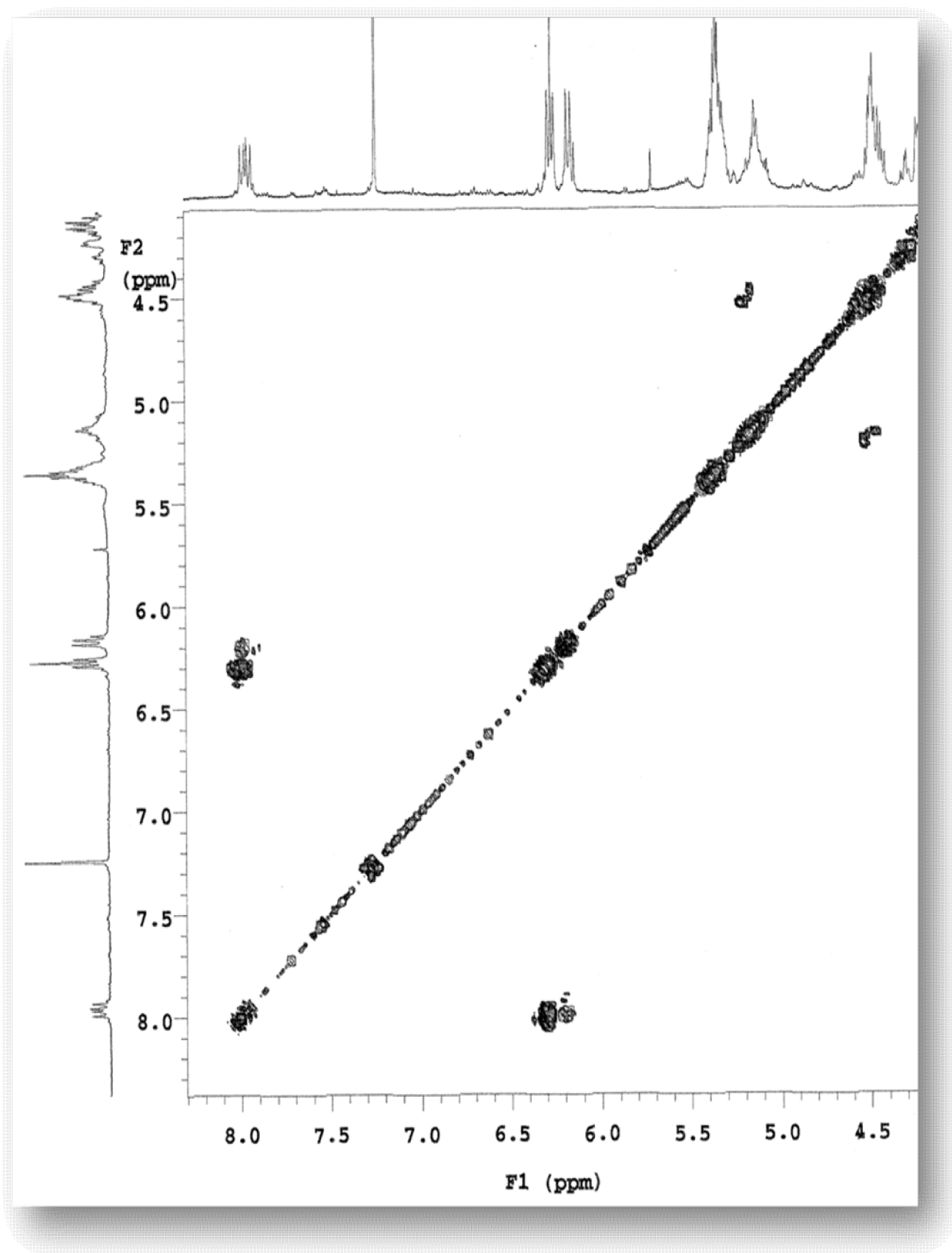


Figura 23: Expansão 1 do espectro de RMN $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ COSY (δ , CDCl_3 , 500 MHz) de

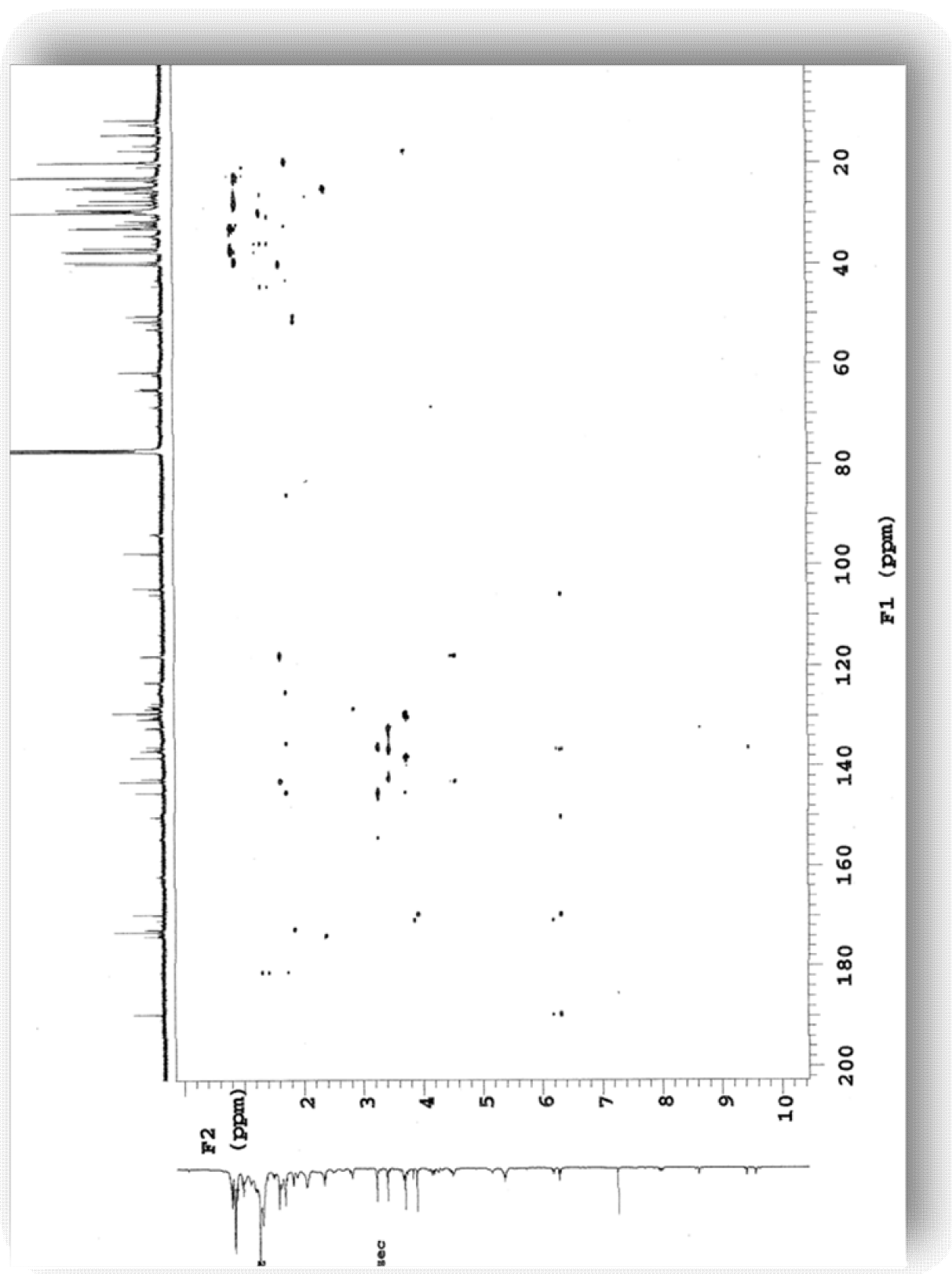


Figura 25: Espectro de RMN $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ HMBC (δ , CDCl_3 , 500 MHz) de *Ts-1*.

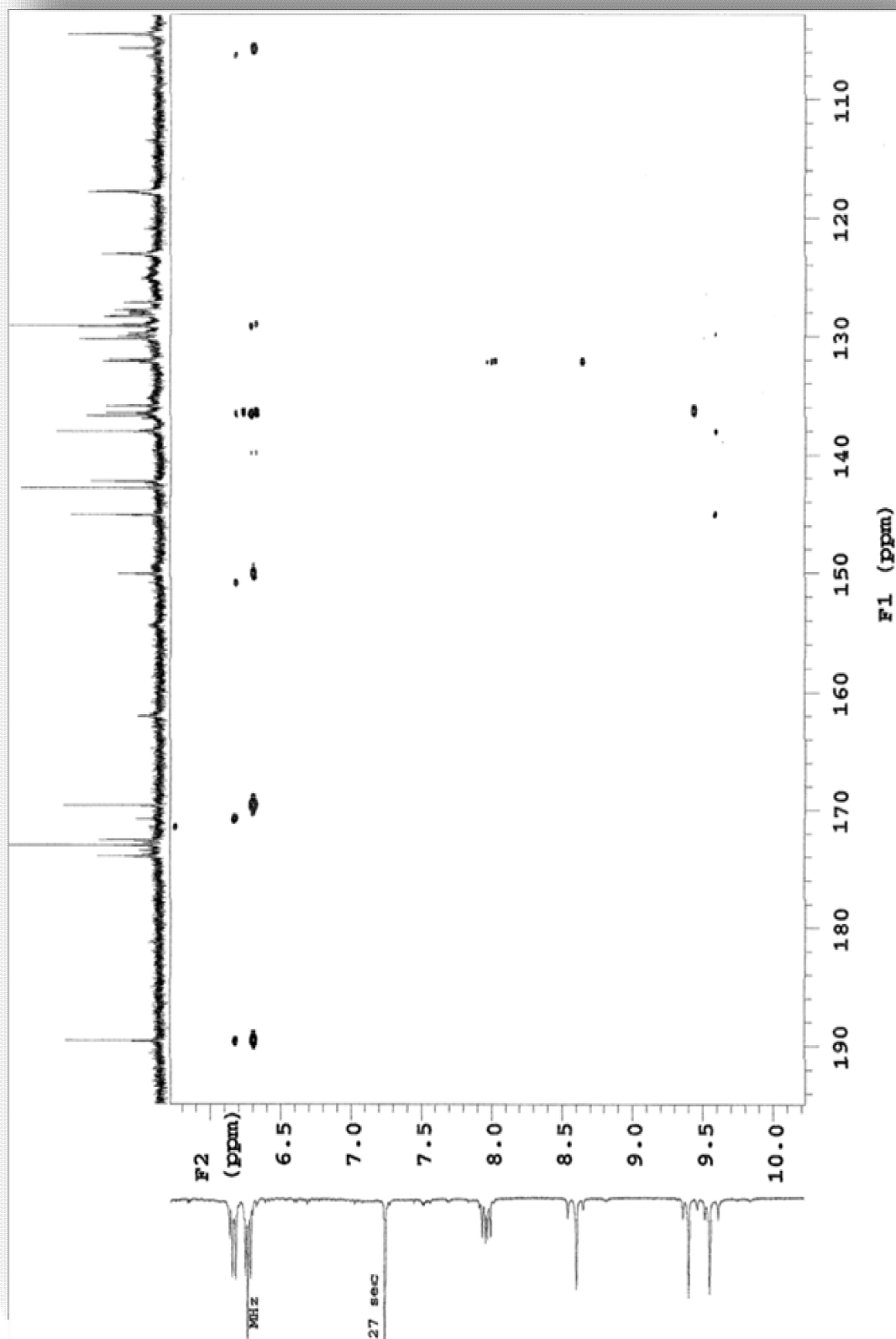


Figura 26: Expansão 1 do espectro de RMN $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ HMBC (δ , CDCl_3 , 500 MHz) de *Ts-1*.

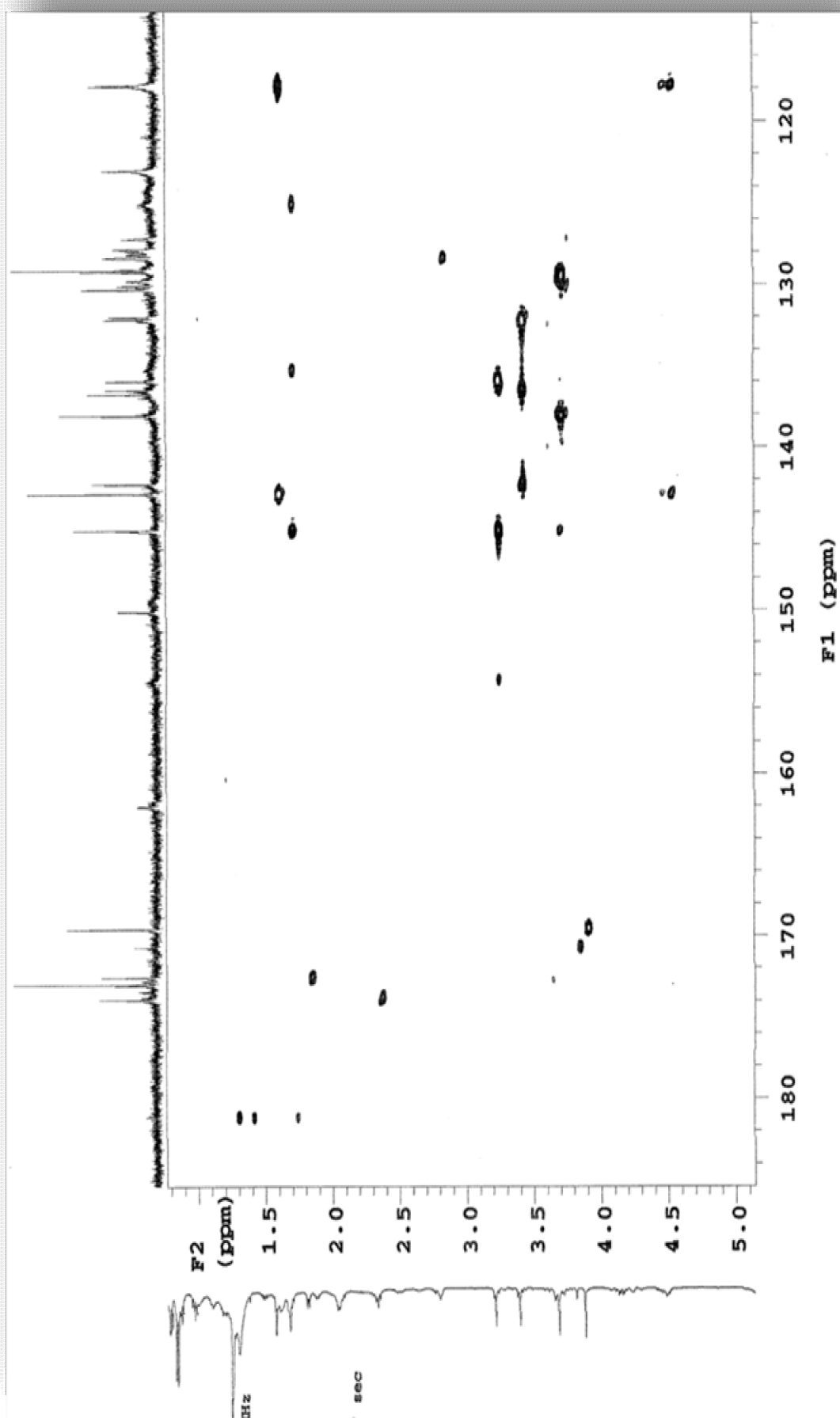


Figura 27: Expansão 2 do espectro de RMN $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ HMBC (δ , CDCl_3 , 500 MHz) de *Ts-1*.

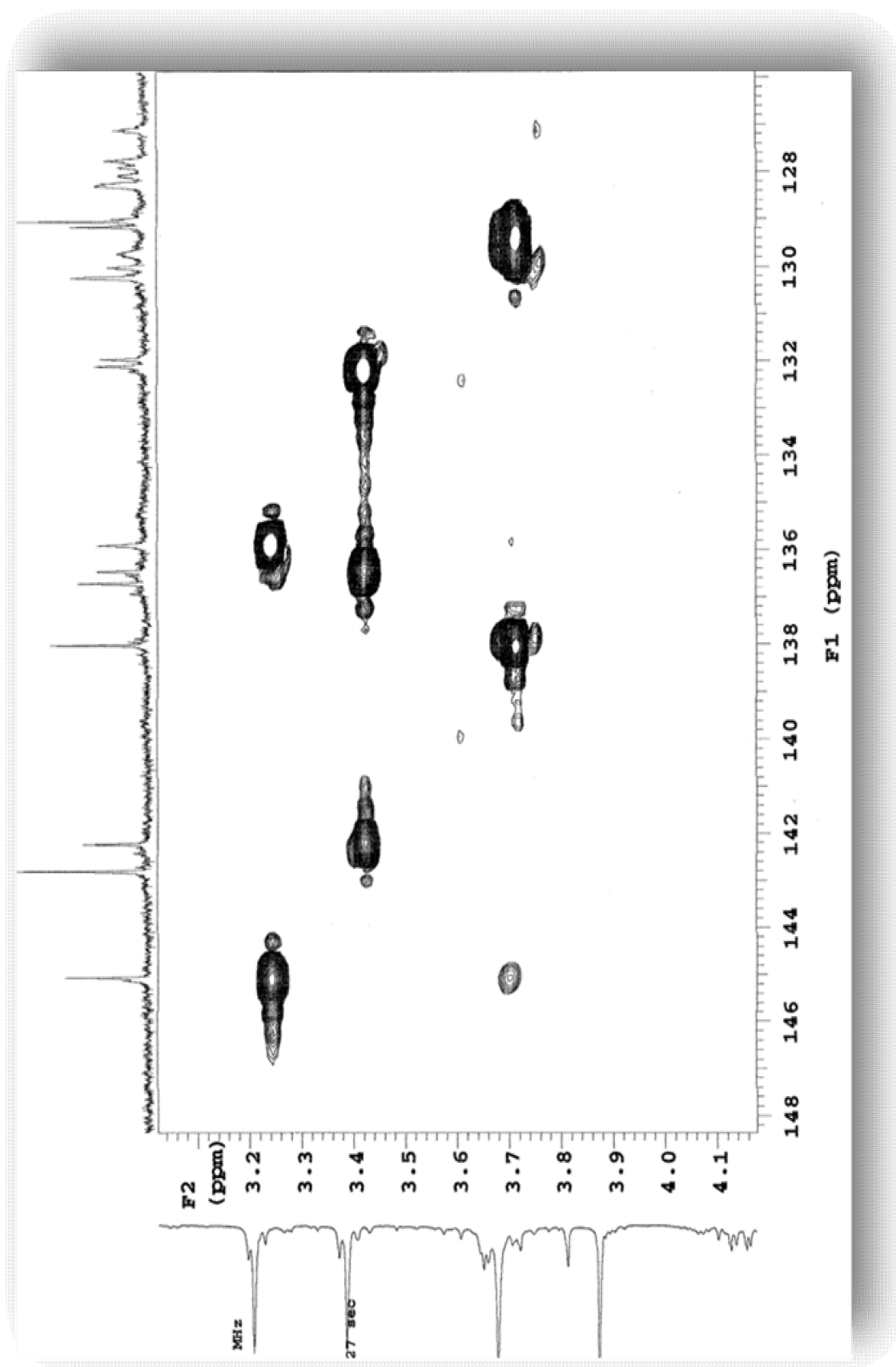


Figura 28: Expansão 3 do espectro de RMN $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ HMBC (δ , CDCl_3 , 500 MHz) de *Ts-1*.

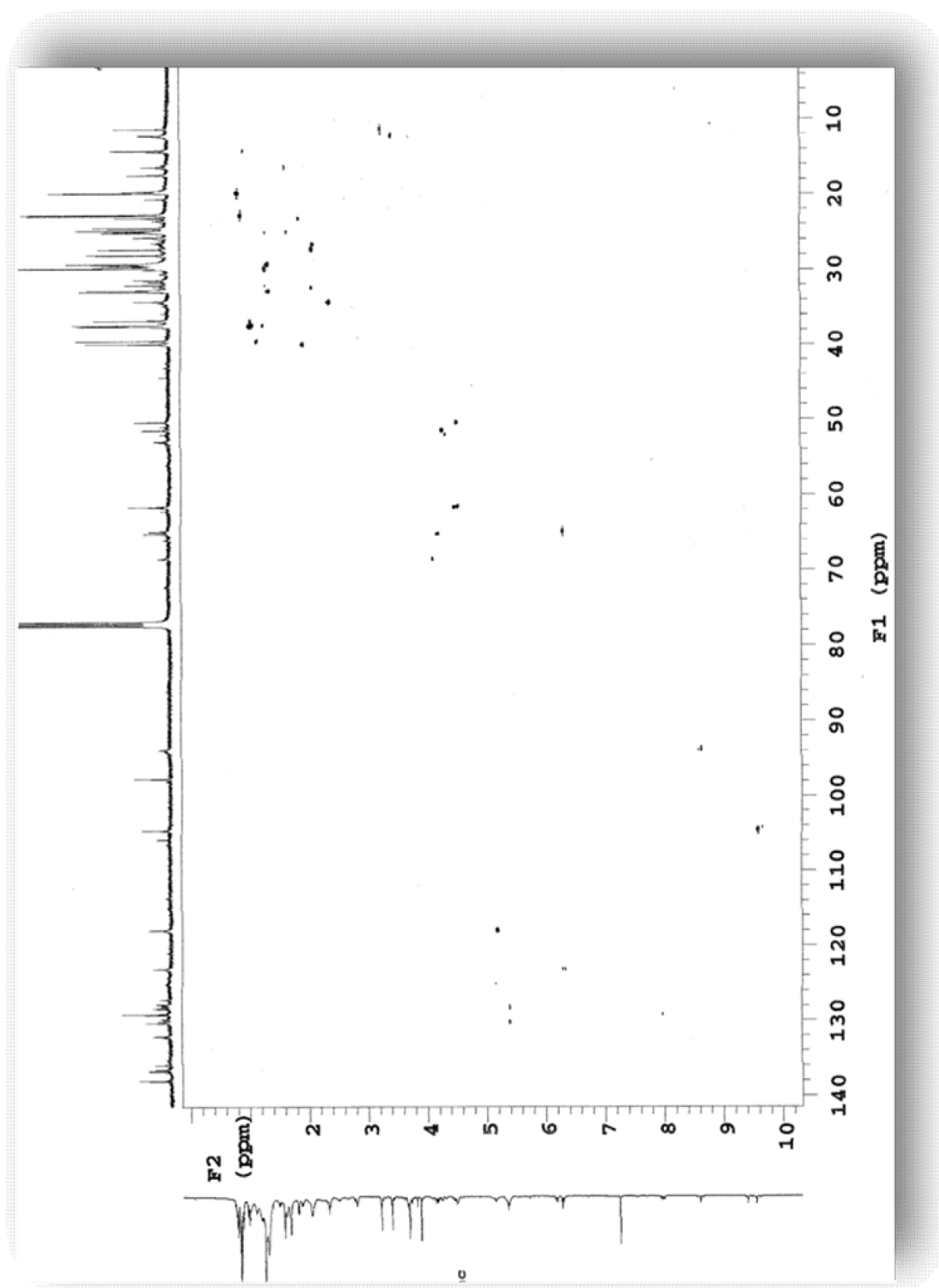


Figura 29: Espectro de RMN ^1H x ^{13}C HSQC (δ , CDCl_3 , 500 MHz) de *Ts-1*.

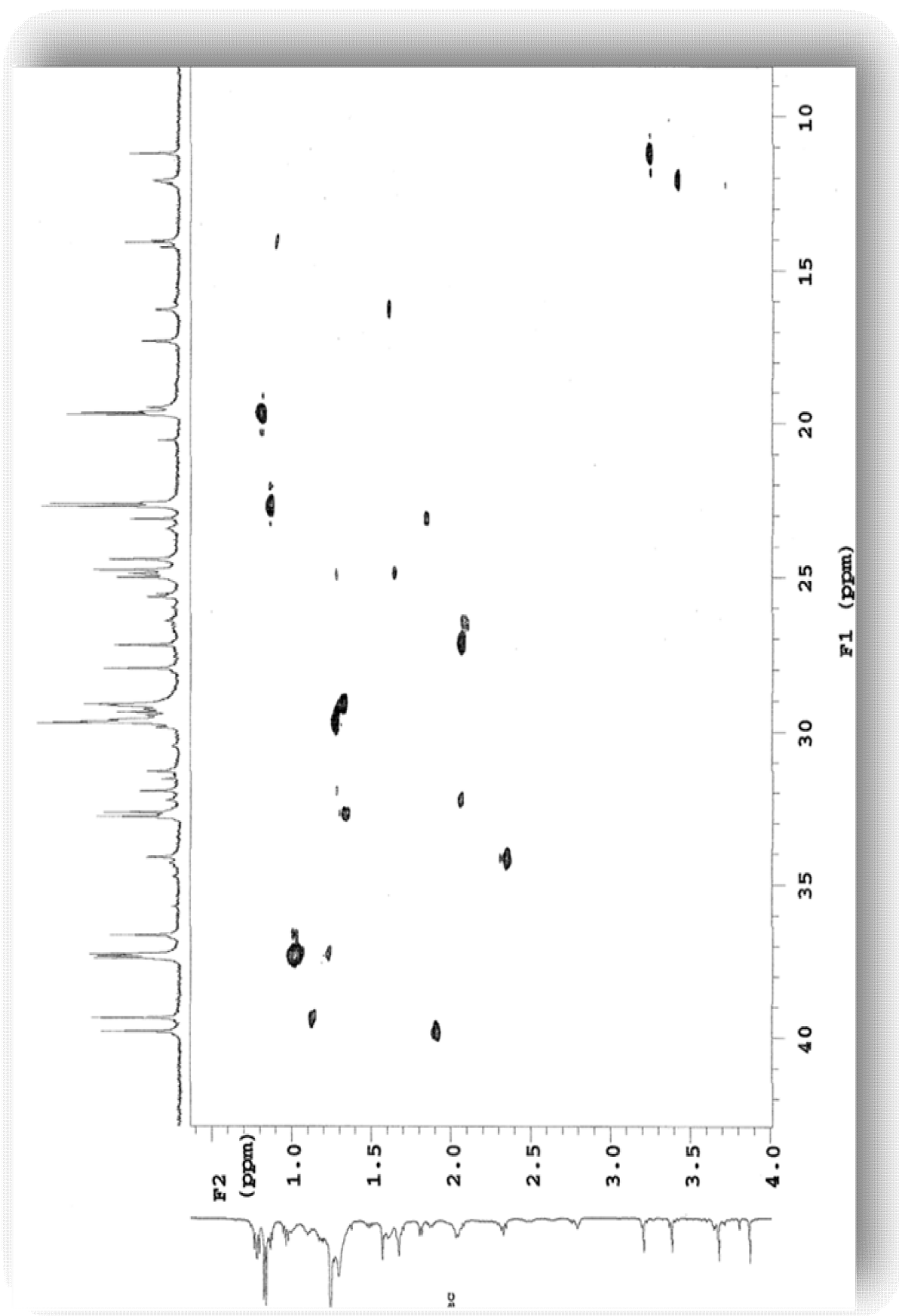


Figura 30: Expansão 1 do espectro de RMN $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ HSQC (δ , CDCl_3 , 500 MHz) de *Ts-1*.

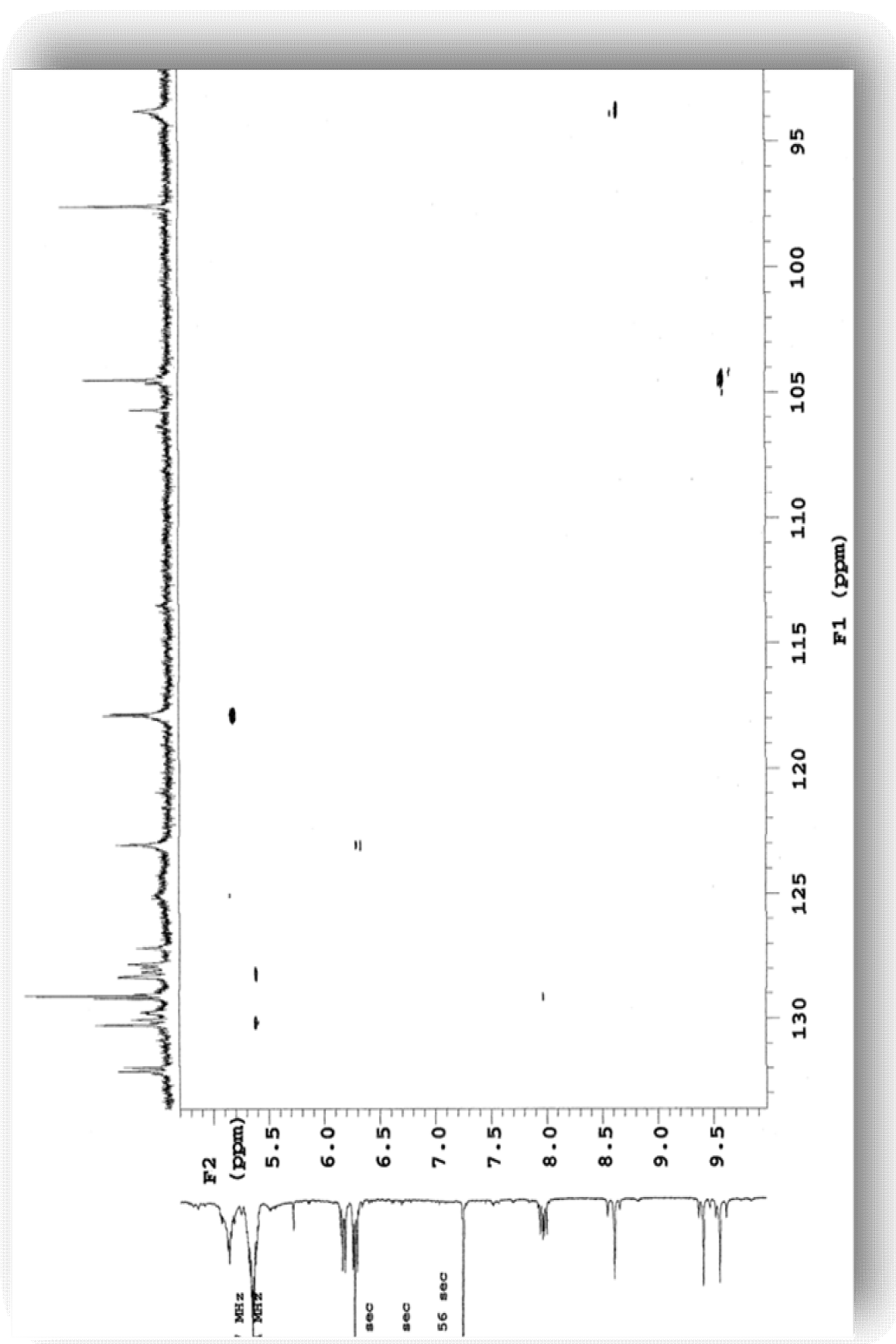


Figura 31: Expansão 2 do espectro de RMN $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ HSQC (δ , CDCl_3 , 500 MHz) de *Ts-1*.

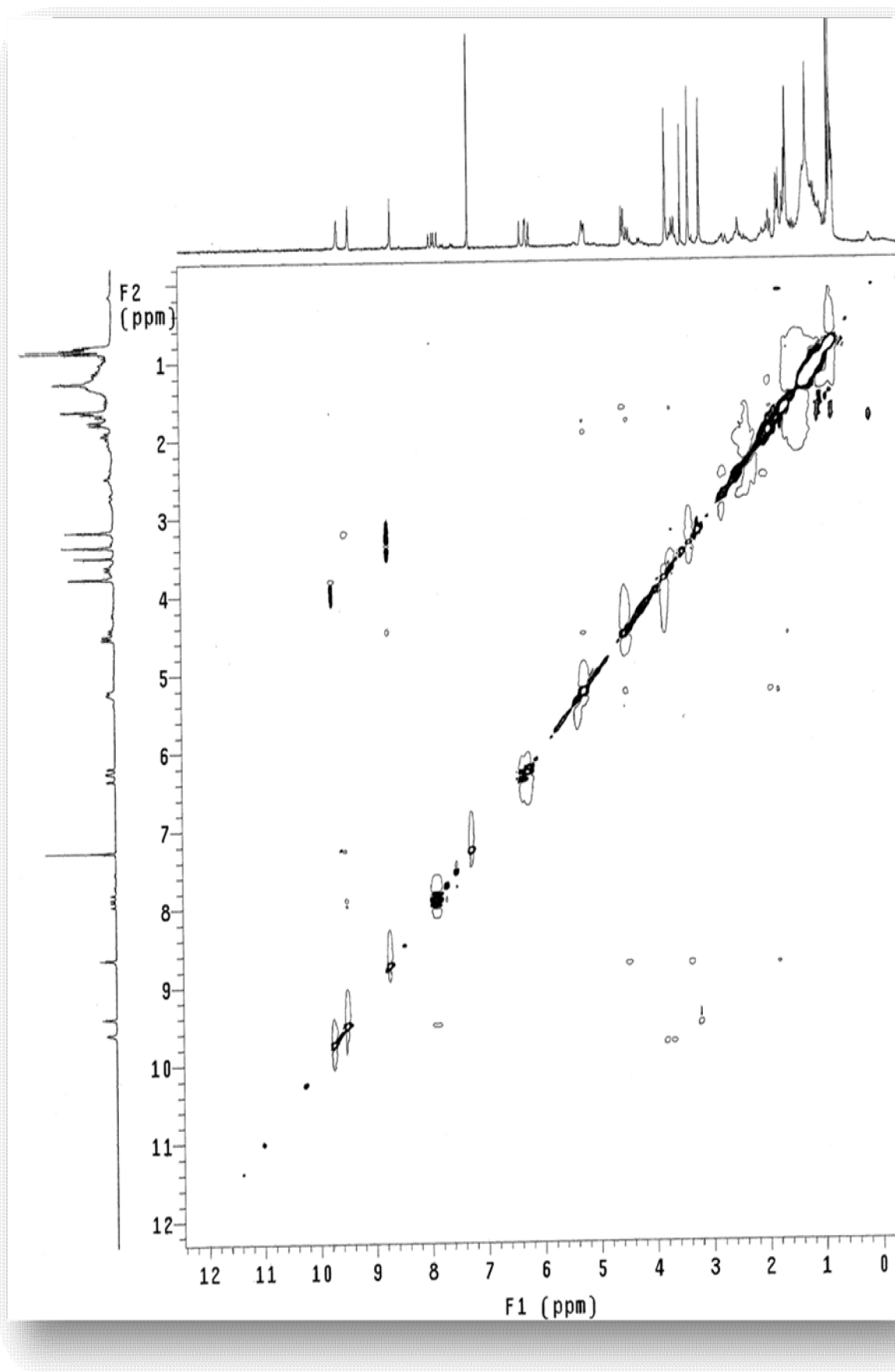


Figura 32: Espectro de RMN $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ -NOESY (δ , CDCl_3 , 500 MHz) de *Ts-1*.

5.3 Caracterização estrutural de *Ts-2*

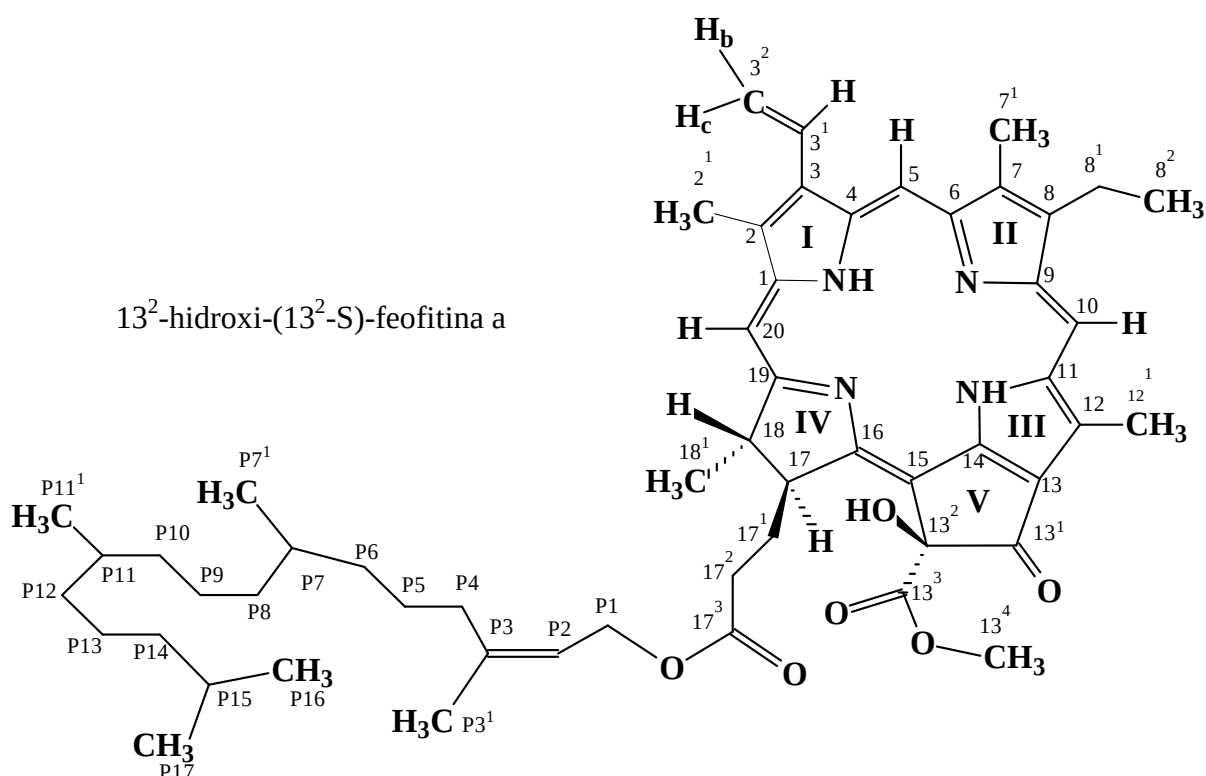
A substância codificada como *Ts-2*, isolada do resíduo clorofórmico do extrato etanólico bruto das partes aéreas de *Turnera subulata* Sm mostrou um espectro no infravermelho (Fig. 33, p. 96) semelhante ao espectro de IV da substância *Ts-1* (Fig. 12, p. 70). Esta semelhança possibilitou sugerir que a substância em análise poderia tratar-se da **feofitina a**. Todavia uma banda forte em 3435 cm^{-1} , diferente daquela de pequena intensidade em *Ts-1* (Fig. 12, p. 70), característica de estiramento de N-H ou OH, levantou a hipótese de que *Ts-2* poderia tratar-se de uma substância porfirínica com hidroxila em sua molécula (SILVERSTEIN et al., 2005; PAVIA et al., 2010).

O espectro de IV de *Ts-2* (Fig. 33, p. 96) também mostrou bandas características de estiramento de C-H alifático em 2954 , 2924 e 2852 cm^{-1} . Uma outra banda não assinalada, mas observada em torno de 1370 cm^{-1} , fortaleceu a sugestão da presença de grupo amino, por tratar-se de deformação axial de ligação C-N conjugada. Em 1741 e 1708 cm^{-1} observaram-se duas bandas de absorção que remetem à deformação axial de grupo carbonílico não conjugado e conjugado, respectivamente. Esta observação, aliada à presença de uma banda em 1618 cm^{-1} , condizente com a absorção de ligação dupla em sistemas conjugados, está de acordo com estruturas contendo núcleo porfirínico (SILVERSTEIN et al., 2005; PAVIA et al., 2010).

Os espectros de RMN ^1H (Fig. 34 a 37, p. 97 a 100, Tabela 4, p. 94) de *Ts-2* fortaleceram a hipótese levantada pelo espectro de IV (Fig. 33, p. 96), parágrafo anterior, de que *Ts-2* poderia tratar-se de uma feofitina ao exibir sinais para as metilas $\text{CH}_3\text{-}7^1$ (δ 3,17); $\text{CH}_3\text{-}2^1$ (δ 3,40) e $\text{CH}_3\text{-}12^1$ (δ 3,62) (Fig. 36, p. 99) condizentes com as metilas do núcleo porfirínico da **feofitina a**, além de sinais referentes a um grupo de hidrogênios vinílicos em δ 7,96 (dd-J=17,79 Hz e 11,54 Hz), δ 6,26 (Trans) (dd-J=17,87 Hz e 1,5 Hz), 6,16 (Cis) (dd-J=11,54 Hz 1,5 Hz) (Figs. 35 e 36, pgs. 98 e 99). Os sinais referentes aos hidrogênios H-5 (δ 9,37), H-10 (δ 9,54) e H-20 (δ 8,63) do núcleo porfirínico da referida feofitina (MATSUO et al., 1996; DUAN et al., 2002 e SILVA et al. 2006) podem ser observadas na figura 35 p. 98 e na tabela 4, p. 94.

Corroborando a proposta dada pelo IV e RMN ^1H de que *Ts-2* trata-se da **feofitina a**, a interpretação da fig. 37, p.100 mostrou sinais para seis grupos metila entre δ 0,84 e δ 1,70, sendo cinco destes referentes a metilas do grupo fitol que se une ao núcleo porfirínico da referida feofitina através do C-17³ (Tabela. 4, p. 94).

Numa análise comparativa entre a figura 15, p. 73 de **Ts-1** e a figura 36 p. 99, de **Ts-2** pôde-se observar nesta a ausência de um singlete em δ 6,27 atribuído ao H-13² da estrutura de **Ts-1**. Este fato em consonância com a sugestão levantada pelo IV (Fig. 33, p. 96) de que: **Ts-2** possui grupo hidroxila em sua molécula, além de comparações com a literatura (JERZ, 2007; NOGUEIRA, 2009) (Tabela 4, p. 94) permitiram propor que a substância em análise trata-se da **13²-hidroxi-(13²-S)-feofitina a** (Fig. p. 92).



A análise dos espectros de RMN ¹³C utilizando a técnica APT (Figuras 38 a 40, p.101 a 103, Tabelas 4 e 5, p. 94 e 95) revelou picos para 55 átomos de carbono, tendo-se observado 20 não hidrogenados, 10 metínicos, entre os quais um vinílico em δ_C 128,96, 14 metilênicos, com destaque também para um carbono vinílico em δ_C 122,81, 10 metílicos e um metoxílico em δ_C 53,38, típico de metoxila de éster. As 55 absorções são compatíveis com o número de carbonos presentes em **Ts-1**, todavia um sinal em δ_C 88,96 no espectro de RMN ¹³C (Figura 39, p. 102) de **Ts-2** característico de carbono não hidrogenado e oxigenado condizente com o C-13² (NOGUEIRA, 2009), ausente em **Ts-1** (Figura 20, p. 78) (Tabela 4, p. 94) fortalecem a

proposta levantada pelos espectros de IV e RMN¹H de que **Ts-2** possui um grupo hidroxila e que este encontra-se ligado ao C-13² (Tabela 4, p. 94), estrutura p. 92.

A compilação dos dados de IV, RMN¹H e RMN ¹³C de **Ts-2** e comparações com modelos da literatura *Mo-5* (JERZ, 2007) e **Ts-1** (Tabela 4, p. 94) permitiram defender a proposta de que **Ts-2** trata-se da **13²-hidroxi-(13²-S)-feofitina a**, substância isolada pela primeira vez no Família Turneraceae .

Tabela 4: Dados comparativos de RMN ^1H e ^{13}C de **Ts-2** (δ , CDCl_3 , 200 e 50 MHz, respectivamente) com o modelo Mo-5 (δ , CDCl_3 , 300 e 75 MHz; JERZ et al., 2007) e **Ts-1**

	TS-1		Mo-5		TS-2	
C	δ C	δ H	δ C	δ H	δ C	δ H
1	142,78	—	142,8	—	141,98	—
2	132,09	—	131,6	—	131,69	—
2 ¹	12,07	3,40 (s)	12,4	3,45 (s)	12,08	3,40 (s)
3	136,69	—	137,00	—	136,41	—
3 ¹	129,04	7,98 (dd- $J=17,81$ Hz e 11,51 Hz)	129,4	8,03 (dd- $J=17,8$ Hz e 11,2 Hz)	128,96	7,96 (dd- $J=17,79$ Hz e 11,54 Hz)
3 ²	122,98	6,28 (trans) (d- $J=17,78$ Hz) e 6,17(Cis) (d- $J=11,51$)	123,60	6,28 (Trans) (d- $J=18,0$ Hz) e 6,17 (Cis) (d- $J=11,4$ Hz)	122,81	6,26 (Trans) (dd- $J=17,87$ e 1,5 Hz Hz) e 6,16 (Cis) (dd=11,56Hz e 1,5 Hz)
4	136,44	—	136,30	—	136,41	—
5	97,52	9,38 (s)	98,40 (s)	9,60 (s)	97,85	9,54 (s)
6	155,55	—	150,90	—	150,94	—
7	135,89	—	136,30	—	136,17	—
7 ¹	11,20	3,21 (s)	11,60	3,30 (s)	11,17	3,17 (s)
8	145,04	—	145,30	—	145,09	—
8 ¹	19,47	3,68 (s, 2H)	19,60	3,77 (s,2H)	19,38	3,72 (s)
8 ²	16,28	1,68 (t) $J=7,06$ Hz	17,60	1,70 (t)	17,41	1,64 (t)
9	150,05	—	155,40	—	155,25	—
10	104,44	9,53 (s)	104,70	9,46 (s)	104,16	9,37 (s)
11	138,00	—	138,40	—	137,73	—
12	129,14	—	129,40	—	129,32	—
12 ¹	12,09	3,82 (s)	12,70	3,62(s)	12,27	3,62 (s)
13	129,14	—	127,70	—	126,85	—
13 ¹	189,51	—	192,20	—	192,07	—
13 ²	64,75	6,27 (s)	89,40	—	88,96	—
13 ³	169,49	—	173,30	—	173,63	—
13 ⁴	52,86	3,88 (s)	53,80	3,77 (s)	53,38	3,72 (s)
14	150,02	—	150,90	—	149,79	—
15	105,63	—	107,10	—	107,64	—
16	161,30	—	164,00	—	162,42	—
17	51,30	4,16 (m)	52,60	4,17 (m)	51,77	4,14 (m)
17 ¹	29,68	—	31,60	—	29,67	—
17 ²	31,24	—	32,00	—	31,56	—
17 ³	173,83	—	173,80	—	172,76	—
18	50,19	4,47 (m)	50,90	4,56 (dq)	50,30	4,53 (m)
18 ¹	23,08	1,81 (d)	22,90	1,63 (d)	22,69	1,62 (m)
19	172,47	—	173,00	—	172,40	—
20	93,59	8,58(s)	95,00	8,76 (s)	93,60	8,63 (s)

Tabela 5: Dados comparativos de RMN ^{13}C da cadeia de fitila de **Ts-2** (δ , CDCl_3 , 50 MHz) com os modelos Mo-3 (δ , CDCl_3 , 125 MHz; TOMAZ, 2008) e Mo-4 (δ , CDCl_3 , 75 MHz; MELOS et al., 2007).

CADEIA DE FITOL – TS – 2			
	Mo - 3	Mo - 4	Ts - 2
C	δ C	δ C	δ C
P 1	61,69	59,40	61,55
P 2	117,93	123,10	117,81
P 3	143,02	140,10	142,75
P 4	39,98	39,80	39,80
P 5	25,17	25,10	24,97
P 6	37,57	36,60	37,35
P 7	32,93	32,70	32,72
P 8	37,50	37,20	37,28
P 9	24,60	24,50	24,74
P 10	36,82	37,30	37,22
P 11	32,79	32,60	32,59
P 12	37,44	37,30	36,61
P 13	24,95	24,70	24,39
P 14	39,53	39,30	39,32
P 15	28,14	27,90	27,93
P 16	22,89	22,70	22,69
P 17	22,80	22,60	22,60
P 11 ¹	19,84	19,70	19,69
P 7 ¹	19,90	19,70	19,63
P 3 ¹	16,48	16,10	16,30

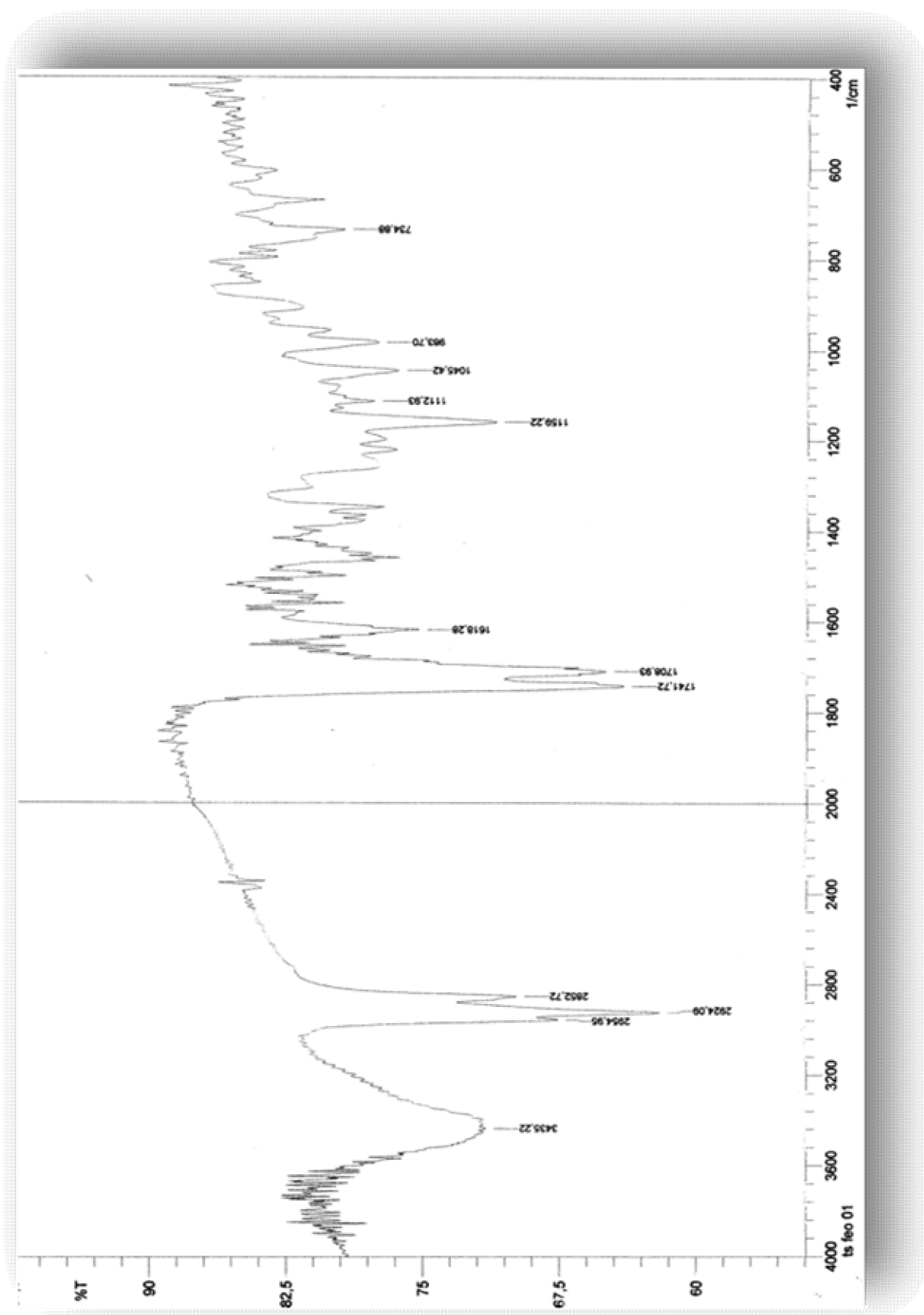


Figura 33: Espectro de IV (KBr, cm⁻¹) de Ts-2.

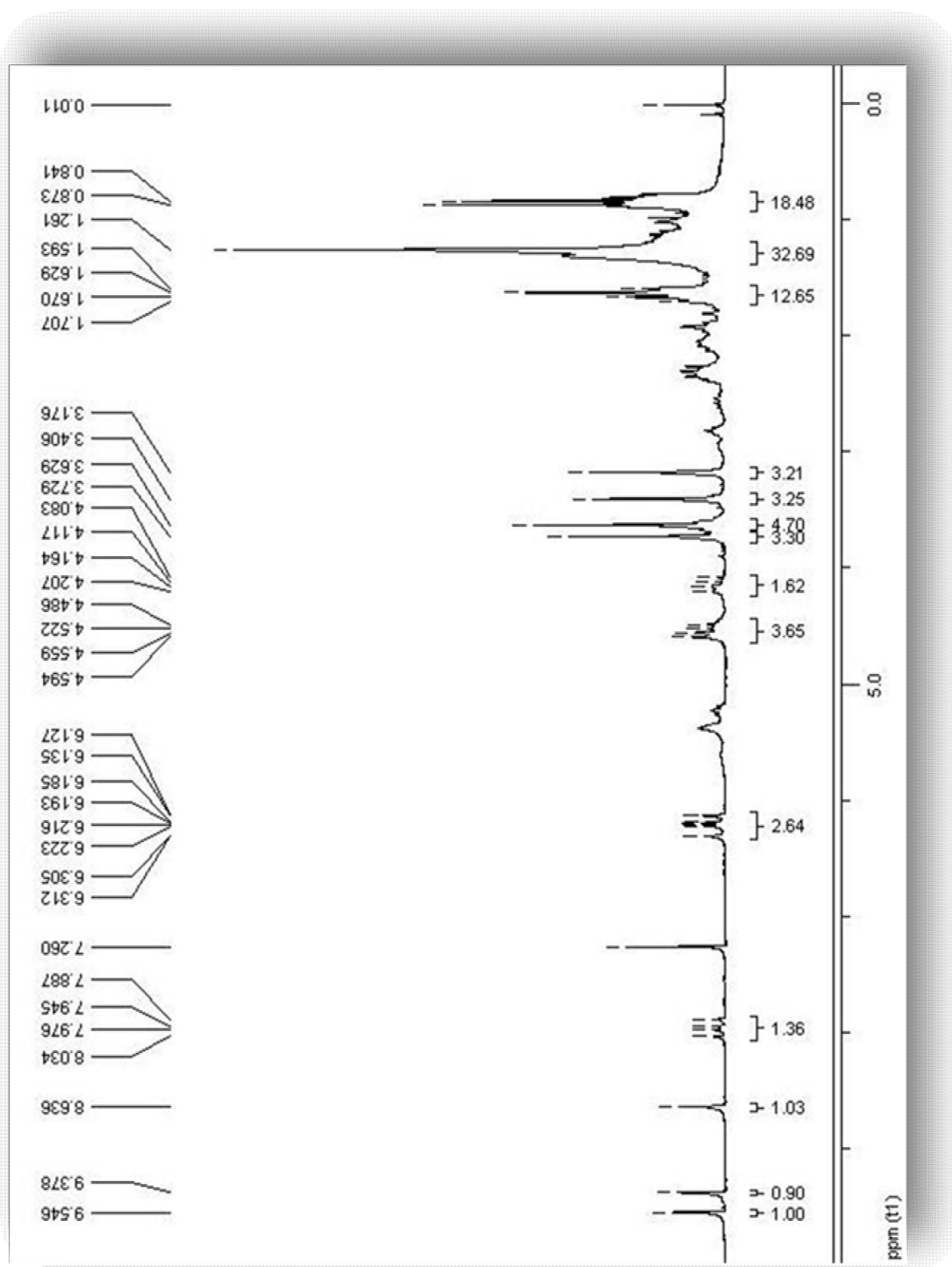


Figura 34: Espectro de RMN ^1H (δ , CDCl_3 , 200 MHz) de *Ts-2*

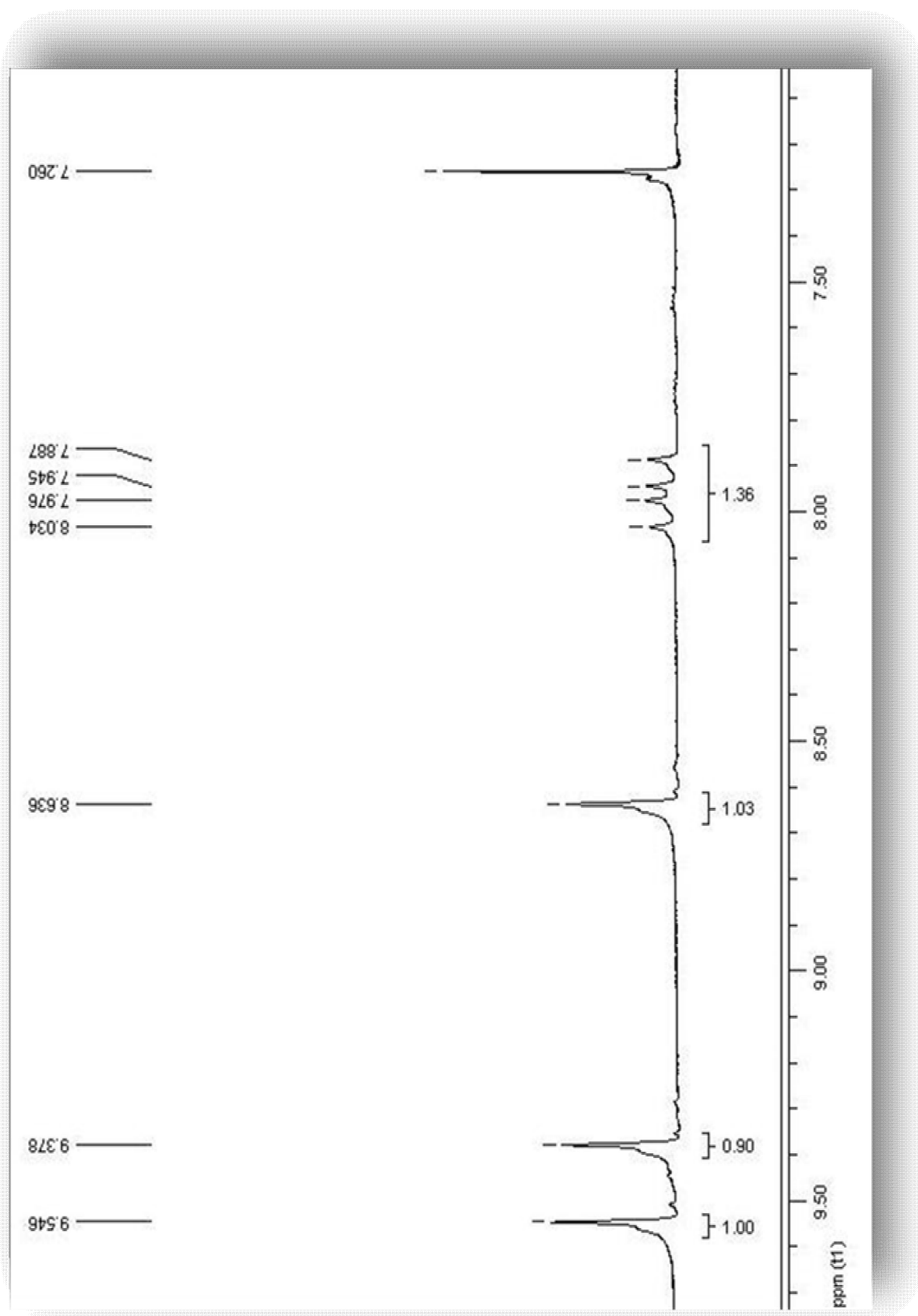


Figura 35: Expansão 1 do espectro de RMN ^1H (δ , CDCl_3 , 200 MHz) de **Ts-2**.

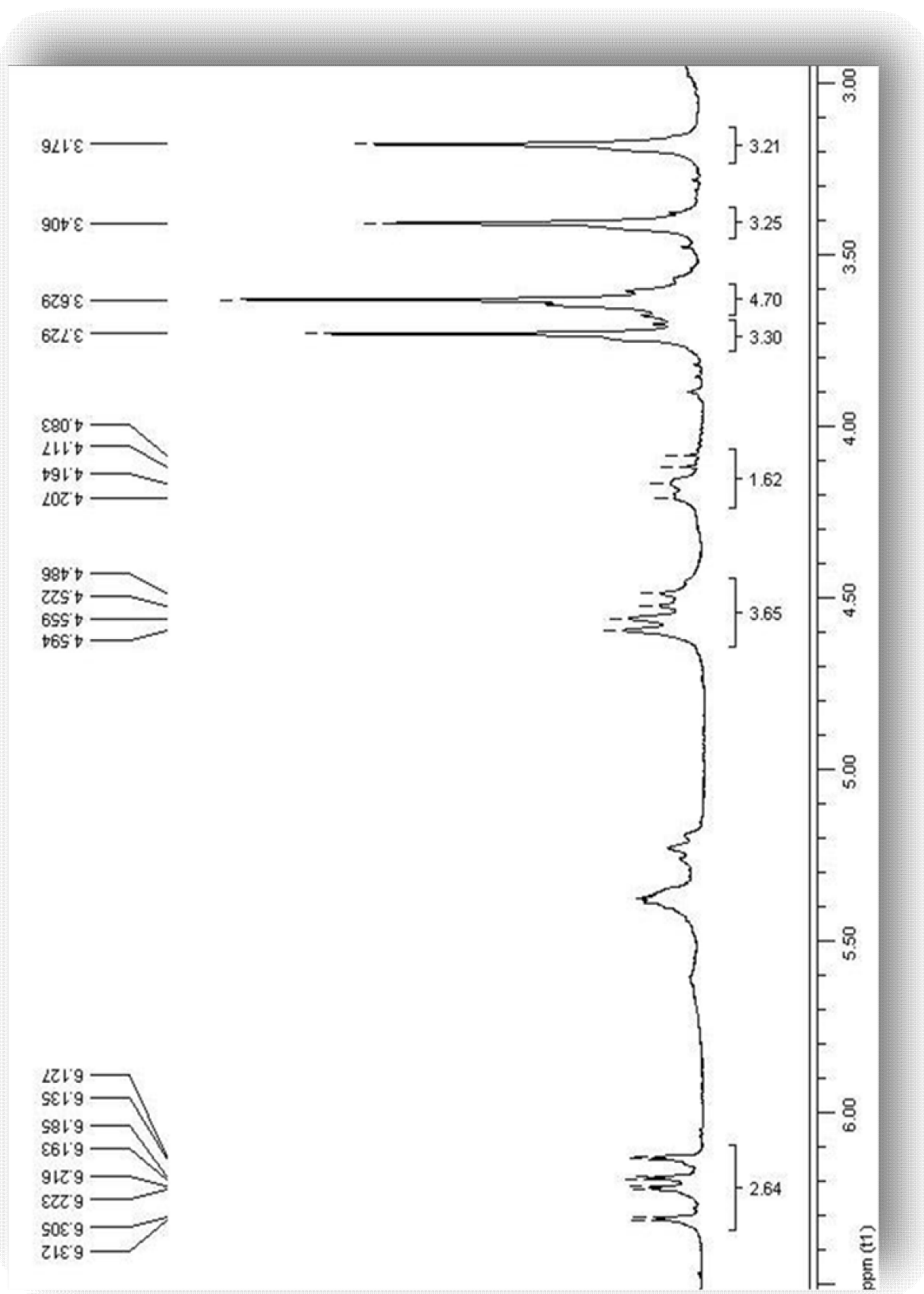


Figura 36: Expansão 2 do espectro de RMN ^1H (δ , CDCl_3 , 200 MHz) de *Ts-2*.

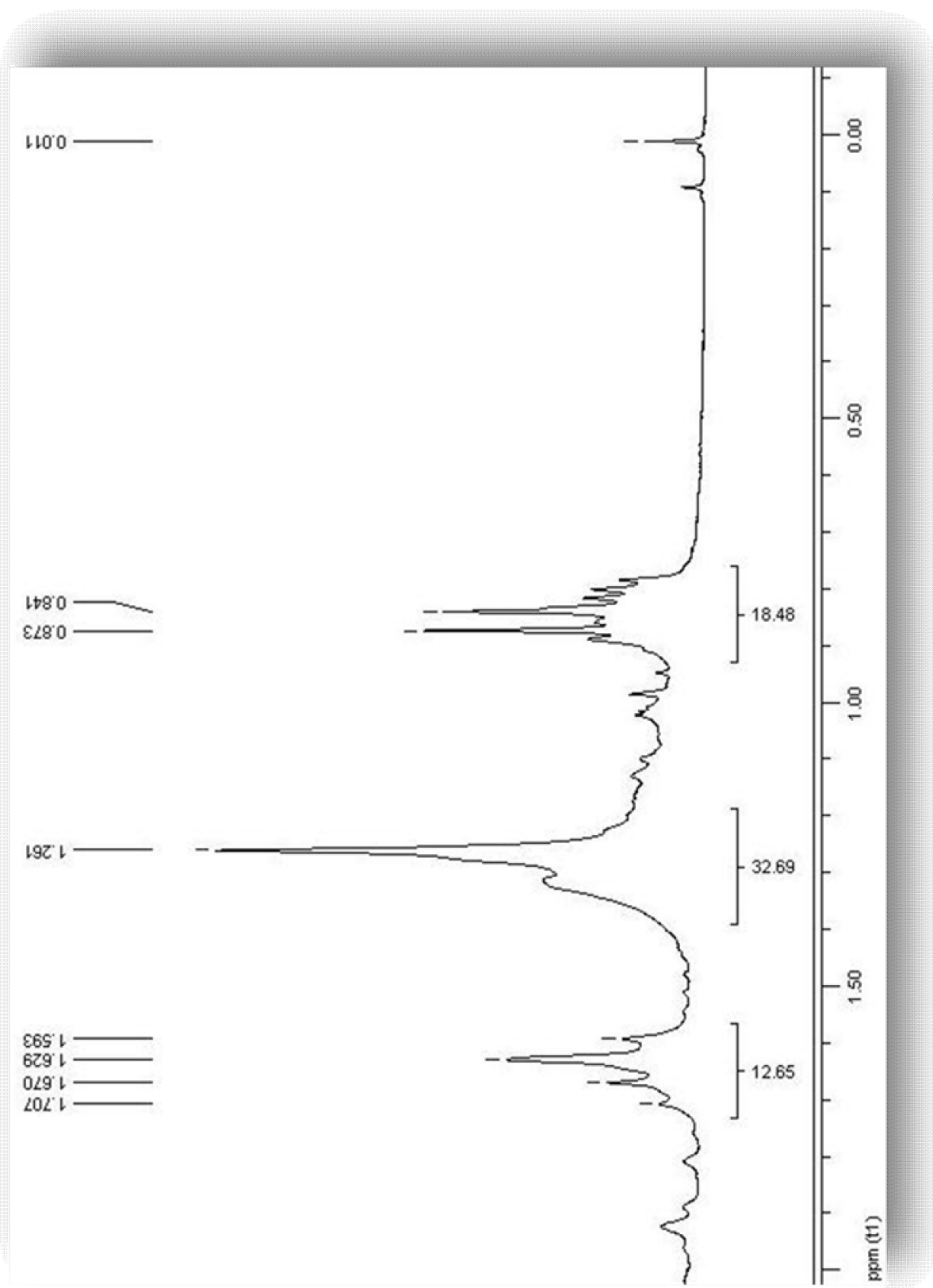


Figura 37: Expansão 3 do espectro de RMN ^1H (δ , CDCl_3 , 200 MHz) de **Ts-2**.

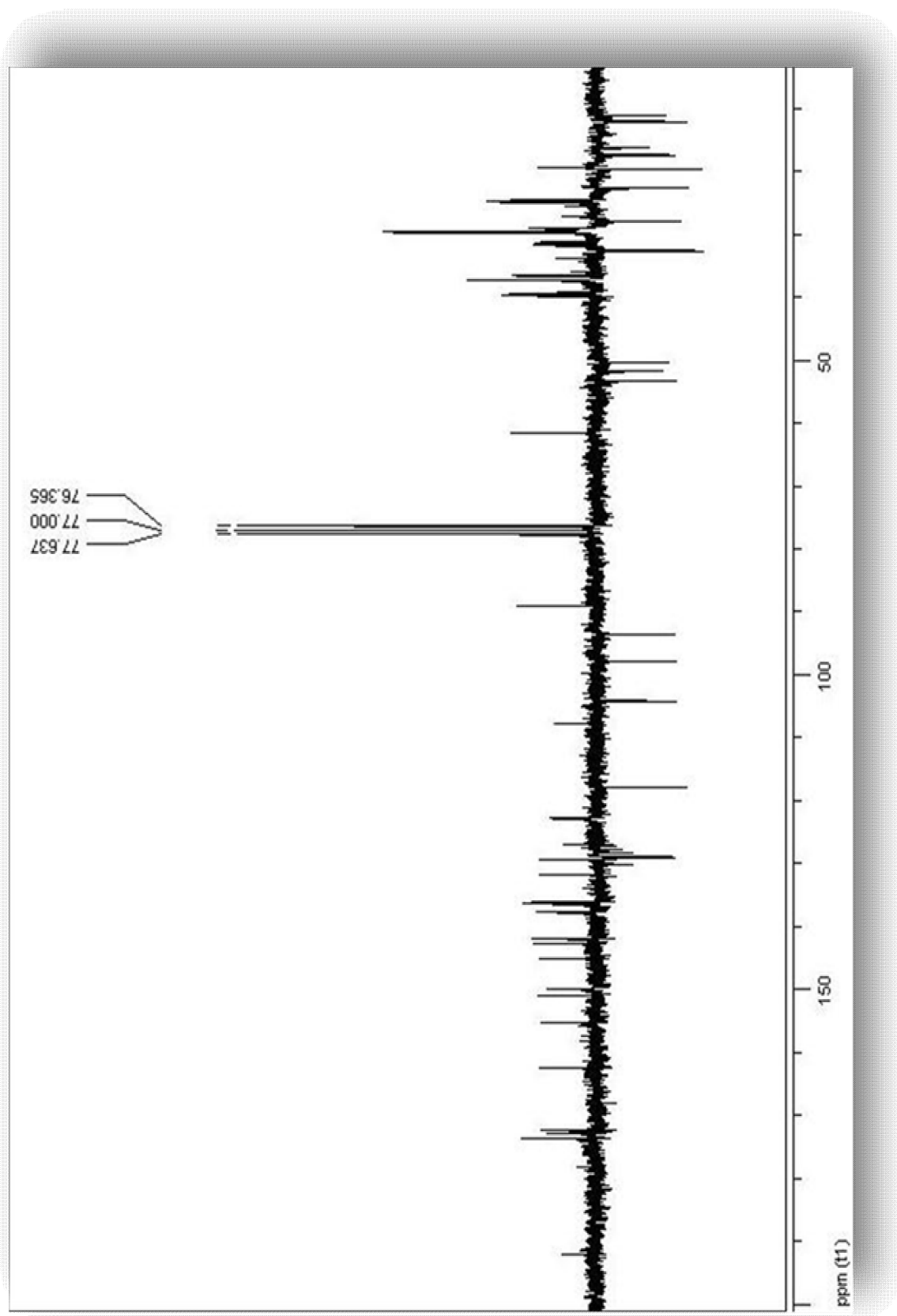


Figura 38: Espectro de RMN ^{13}C APT (δ , CDCl_3 , 50 MHz) de *Ts-2*.

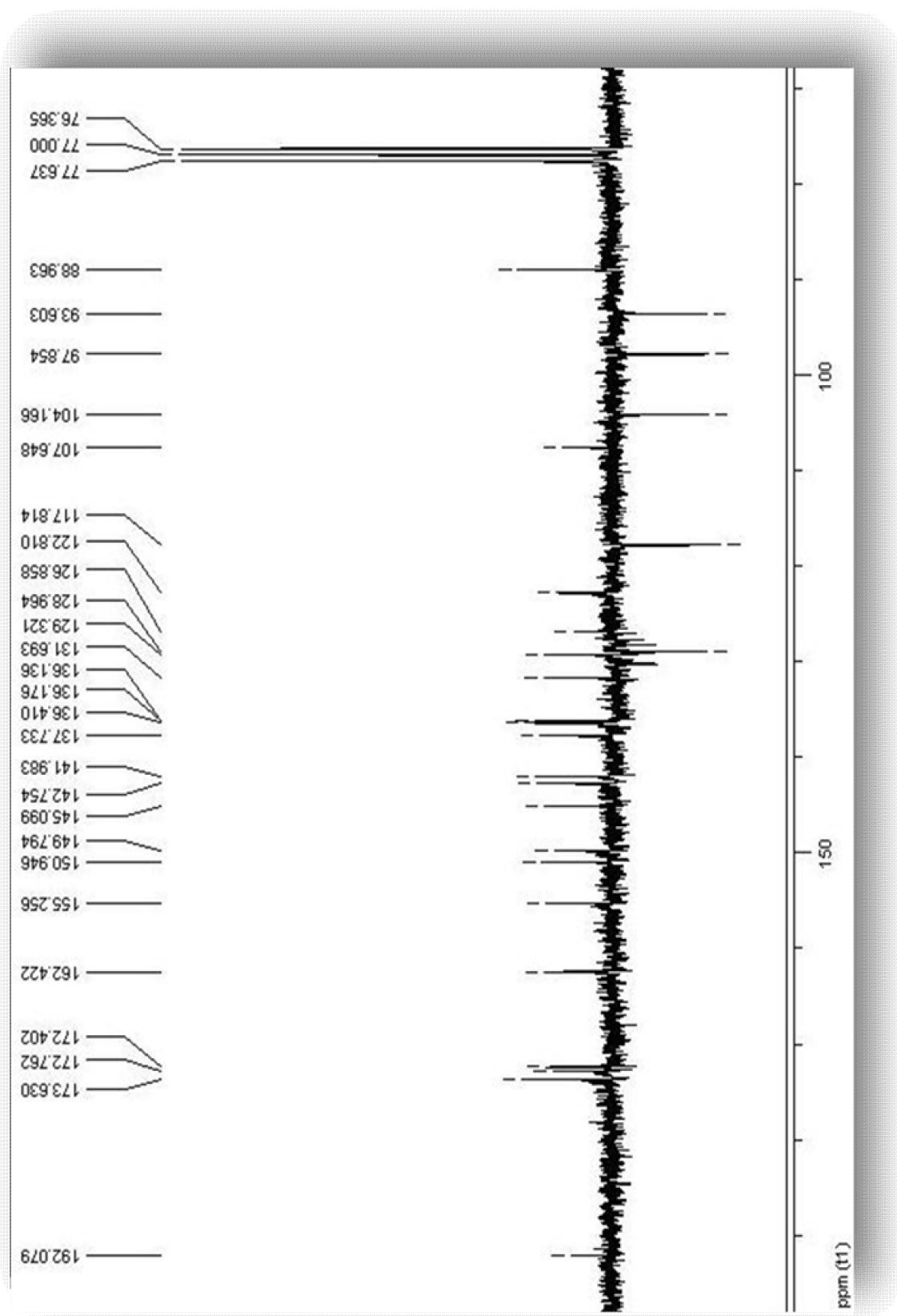


Figura 39: Expansão 1 do espectro de RMN ^{13}C APT (δ , CDCl_3 , 50 MHz) de **Ts-2**.

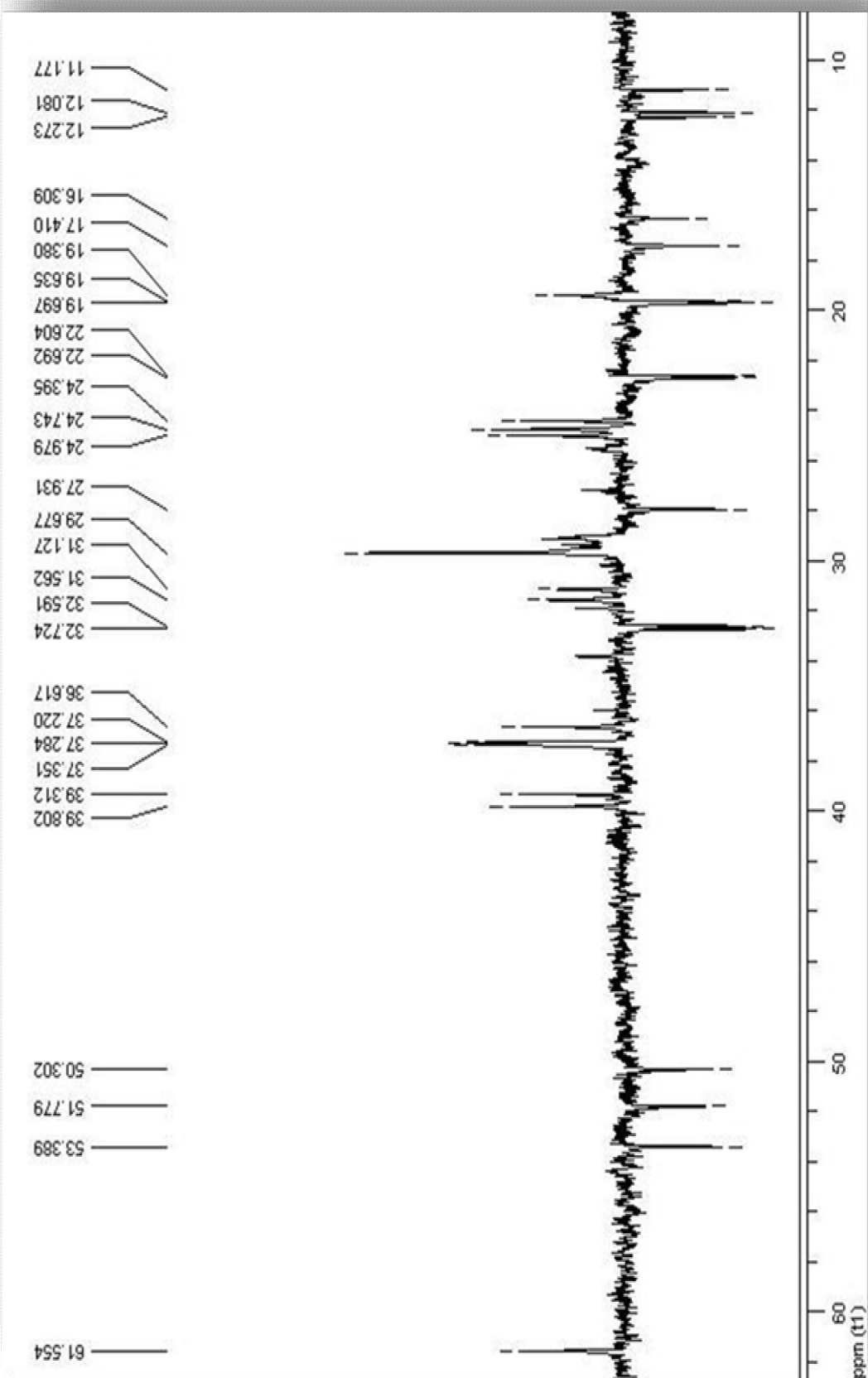


Figura 40: Expansão 2 do espectro de RMN ^{13}C APT (δ , CDCl_3 , 50 MHz) de *Ts-2*.

5.4 Caracterização estrutural de *Ts-3*.

A substância *Ts-3* mostrou-se como um pó branco amorfo. O espectro no IV (Fig.41, p. 107) da substância *Ts-3* mostrou bandas características de estiramento de carbonos sp^3 metínicos, metilênicos e metílicos entre 2958 e 2866 cm^{-1} , uma banda em 3417 cm^{-1} , referente a estiramento O-H sugere que a molécula em análise possui grupo hidroxila. A presença de absorção em 1450 cm^{-1} , fortaleceu a presença de carbonos metílicos, por tratar-se de deformação axial da ligação C-H de CH_3 e a presença de estiramento C-O de éter pode ser proposta pela absorção em 1375 cm^{-1} . Em 1022, 1072, 1107 e 1165 cm^{-1} observaram-se bandas de absorção que remetem à estiramento C-O de álcool e deformação angular de OH de álcool (SILVERSTEIN et al., 2005; PAVIA et al., 2010).

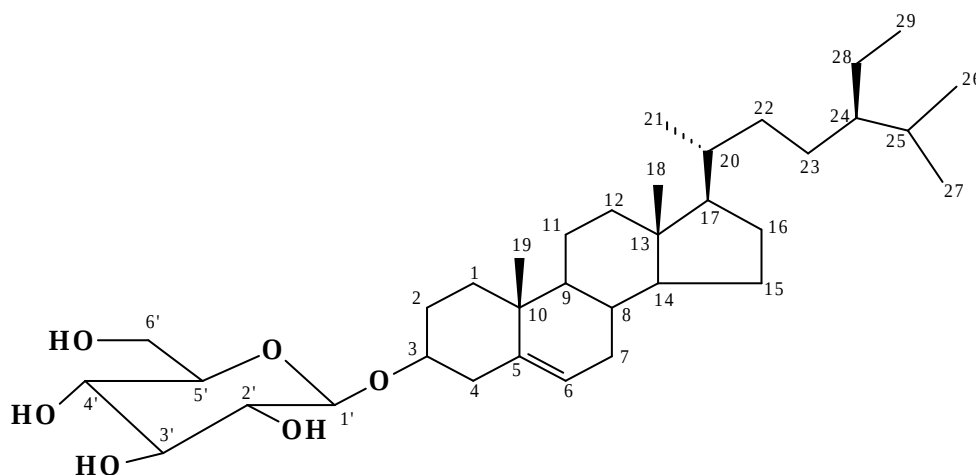
Através da análise dos espectros de RMN 1H (Figs. 42 a 44, p. 108 a 110, Tabela 6, p.106) observou-se um envelope de absorções entre δ 0,67 e δ 2,80 (Fig. 44, p. 110) comuns a hidrogênios metílicos e metilênicos de triterpenos ou esteróides. A análise do espectro de RMN 1H de *Ts-3* (Fig. 43 p. 109) na região entre δ 3,80 e δ 4,70 mostrou sinais condizentes com a hidrogênios C-H oximetínicos. Estas absorções juntamente com um dubleto em δ 5,05 ($J=7,6$ Hz) característico de hidrogênio anomérico em configuração β (KASAI et al., 1987) levou a propor que *Ts-3* possui em sua molécula uma ou mais unidade osídica. A localização de uma unidade osídica na posição C-3 do núcleo esteroidal ou triterpênico foi aqui sugerida pelo sinal em δ 3,96 (m), condizente com hidrogênio carbinólico, haja vista que, quando se trata de uma aglicona hidroxilada em C-3, o hidrogênio oximetínico absorve em campo alto (δ 3,80) (KOJIMA et al., 1990).

O espectro de RMN 1H (Fig. 43, p. 109) revelou um multipletto em δ 5,35 típico do hidrogênio olefínico H-6 de esteróides (AHMED et al., 1992) e também multipletos na região entre δ 5,19 e δ 5,10, referentes aos hidrogênios olefínicos H-22 e H-23 da estrutura do estigmasterol. A união destes dados e comparações com o modelo *Mo-6* da literatura sugeriram que a substância em questão trata-se de uma mistura de esteróides glicosilados, codificada como *Ts-3a* e *Ts-3b* (Tabela 6, p. 106).

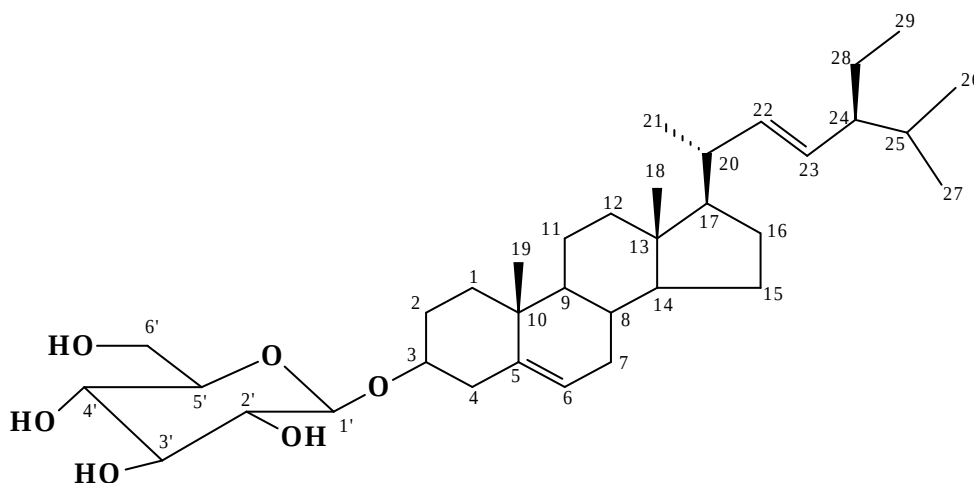
O espectro de RMN ^{13}C (Fig. 45 a 47, p. 111 a 113, Tabela 6, p. 106) corroborou com as sugestões de que *Ts-3* tratava-se de uma mistura de esteróides glicosilados ao exibir 37 sinais dos quais seis são sinais condizentes com a unidade osídica (Fig. 47, p. 113) sendo: quatro oximetínicos que absorvem entre δ 71,72 e δ 78,74; (C-2' a C-5'), um oximetilênico

(CH₂-O; C-6') em δ 62,88, e outro referente ao carbono anomérico de glicose, em δ 102,58 (C-1') (AQUINO et al, 1988). Os outros 29 sinais referem-se às estruturas das agliconas esteroidais (sitosterol e stigmasterol) onde se observou que: os carbonos C-5 e C-6 em ambas as estruturas (**Ts-3a** e **Ts-3b**) adsorvem em δ 140,88 e δ 121,91, respectivamente. Enquanto em **Ts-3a** os carbonos 22 e 23 são carbonos sp³, dois CH₂, absorvendo em δ 34,29 e δ 26,48 correspondem, respectivamente, na estrutura **Ts-3b** estes são carbonos do tipo sp², dois CH, absorvendo em δ 138,88 e δ 129,44, respectivamente (Tabela 6, p. 106). Estes dados reforçam a sugestão dada de que **Ts-3** trata-se de uma mistura de esteróides glicosilados.

Os dados de RMN ¹H e ¹³C da mistura **Ts-3a** /**Ts-3b** foram comparados com valores da literatura (Tabela 6, p. 106), permitindo indentificá-la como sitosterol-3-O-D-glicopiranosídeo (**Ts-3a**) e estigmasterol-3-O-β-D-glicopiranosídeo (**Ts-3b**), substâncias isoladas pela primeira vez no gênero *Turnera*.



Sitosterol-3-O-D-glicopiranosídeo - **Ts - 3a**



Estigmasterol-3-O-β-D-glicopiranosídeo - **Ts - 3b**

Tabela 6: Dados comparativos da mistura *Ts -3a/Ts-3b* (δ C₅D₅N, 200 e 50 MHz) com dados da literatura (δ C₅D₅N, 400 e 100 MHz), *Mo-6* (KOJIMA et al., 1990).

sitosterol-3-O-D-glicopiranosídeo - <i>Ts -3a</i>				estigmasterol-3-O-β-D-glicopiranosídeo - <i>Ts -3b</i>		
C	Mo – 6 δ_c	δ_c <i>Ts -3a</i>	δ_H <i>Ts -3a</i>	Mo – 6 δ_c	δ_c <i>Ts-3b</i>	δ_H <i>Ts-3b</i>
5	141,0	140,88		141,0	140,88	
10	37,0	37,01		37,0	37,01	
13	42,4	42,56		42,4	42,56	
CH						
3	78,3	78,13	3,96 (m)	78,3	78,13	3,96 (m)
6	122,0	121,91	5,36 (m)	122,0	121,91	5,36 (m)
8	32,1	32,14		32,1	32,14	
9	50,4	50,41		50,4	50,41	
14	57,0	56,89		57,1	56,89	
17	56,3	56,30		56,2	56,30	
20	36,5	36,47		36,9	36,47	
22	34,3	–		138,9	138,88	5,19-5,10 (m)
23	26,4	–		129,5	129,44	5,19-5,10 (m)
24	46,1	46,1		51,5	51,49	
25	29,5	29,26		32,2	32,14	
1'	102,6	102,58		102,6	102,58	
2'	75,4	75,37		75,4	75,37	
3'	78,7	78,64		78,7	78,64	
4'	71,7	71,72	4,29 (t)	71,7	71,72	4,29 (t)
5'	78,5	78,53	4,06 (m)	78,5	78,53	4,06 (m)
CH₂						
1	37,6	37,56		37,6	37,56	
2	30,3	30,34		30,3	30,34	
4	39,4	39,43		39,4	39,43	
7	32,2	34,29		32,2	34,29	
11	21,4	21,38		21,4	21,38	
12	40,0	40,03		39,9	40,03	
15	24,6	24,62		24,7	24,62	
16	28,7	28,64		29,4	28,64	
22	34,3	34,29		-	-	
23	26,4	26,48		-	-	
28	23,4	23,49		25,8	23,49	
6'	62,9	62,88	4,58 (dd, J=12 e 2,4 Hz) 4,41 (dd, J=12 e 5 Hz)	62,9	62,88	4,58 (dd, J=12 e 2,4 Hz) 4,41 (dd, J=12 e 5 Hz)
CH₃						
18	12,0	12,08	0,66 (s)	12,3	12,08	0,66 (s)
19	19,3	19,32	0,96 (s)	19,3	19,32	0,96 (s)
21	19,1	19,11	0,97 (d)	21,7	19,11	0,97 (d)
26	19,5	19,52	0,90 (d)	21,4	19,52	0,90 (d)
27	20,1	20,09	0,88 (d)	20,1	20,09	0,88 (d)
29	12,2	12,26	0,84	12,6	12,26	0,84

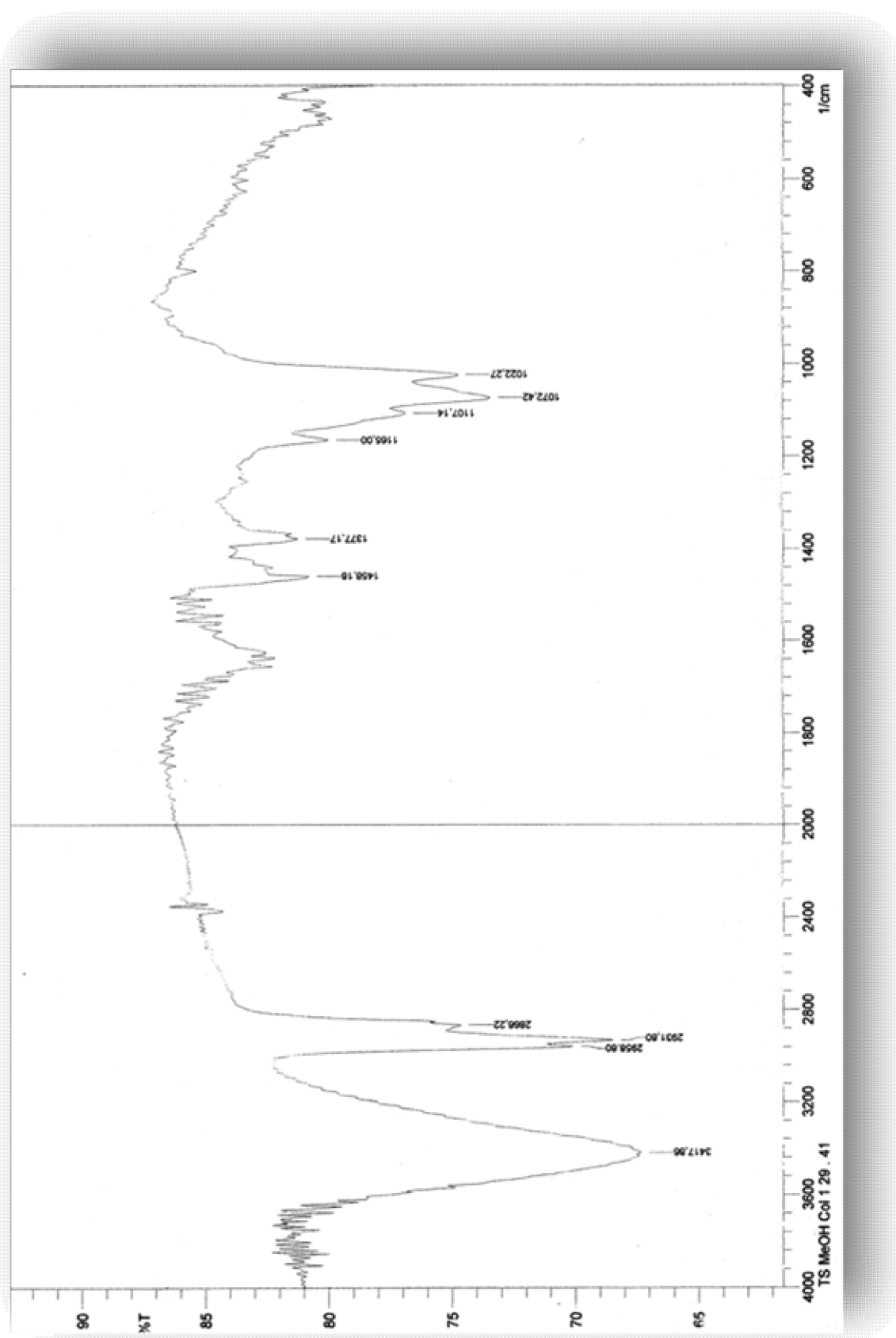


Figura 41: Espectro de IV (KBr, cm^{-1}) de *Ts-3a* e *Ts-3b*.

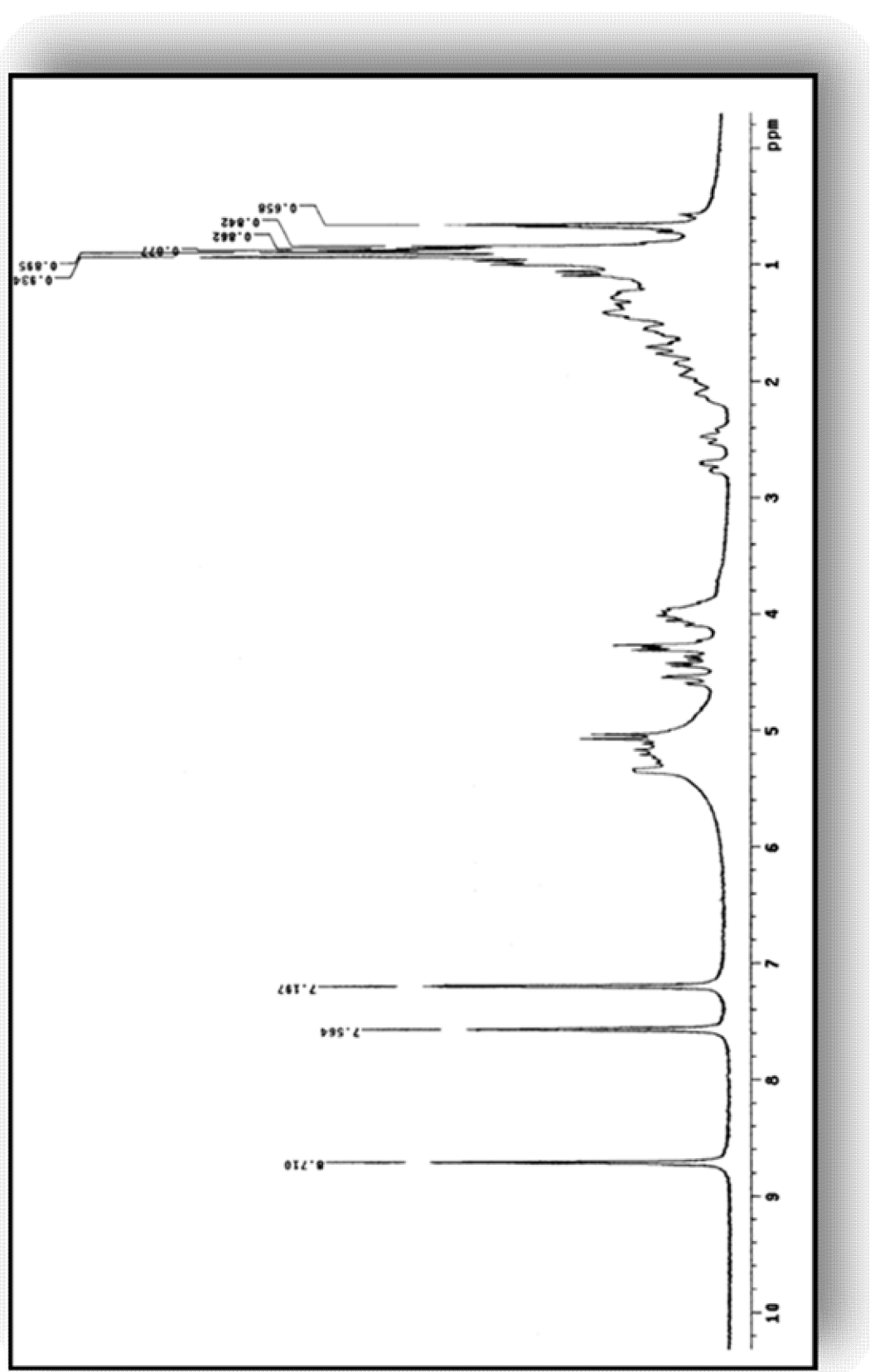


Figura 42: Espectro de RMN ^1H (δ $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$, 200 MHz) de *Ts-3a* e *Ts-3b*

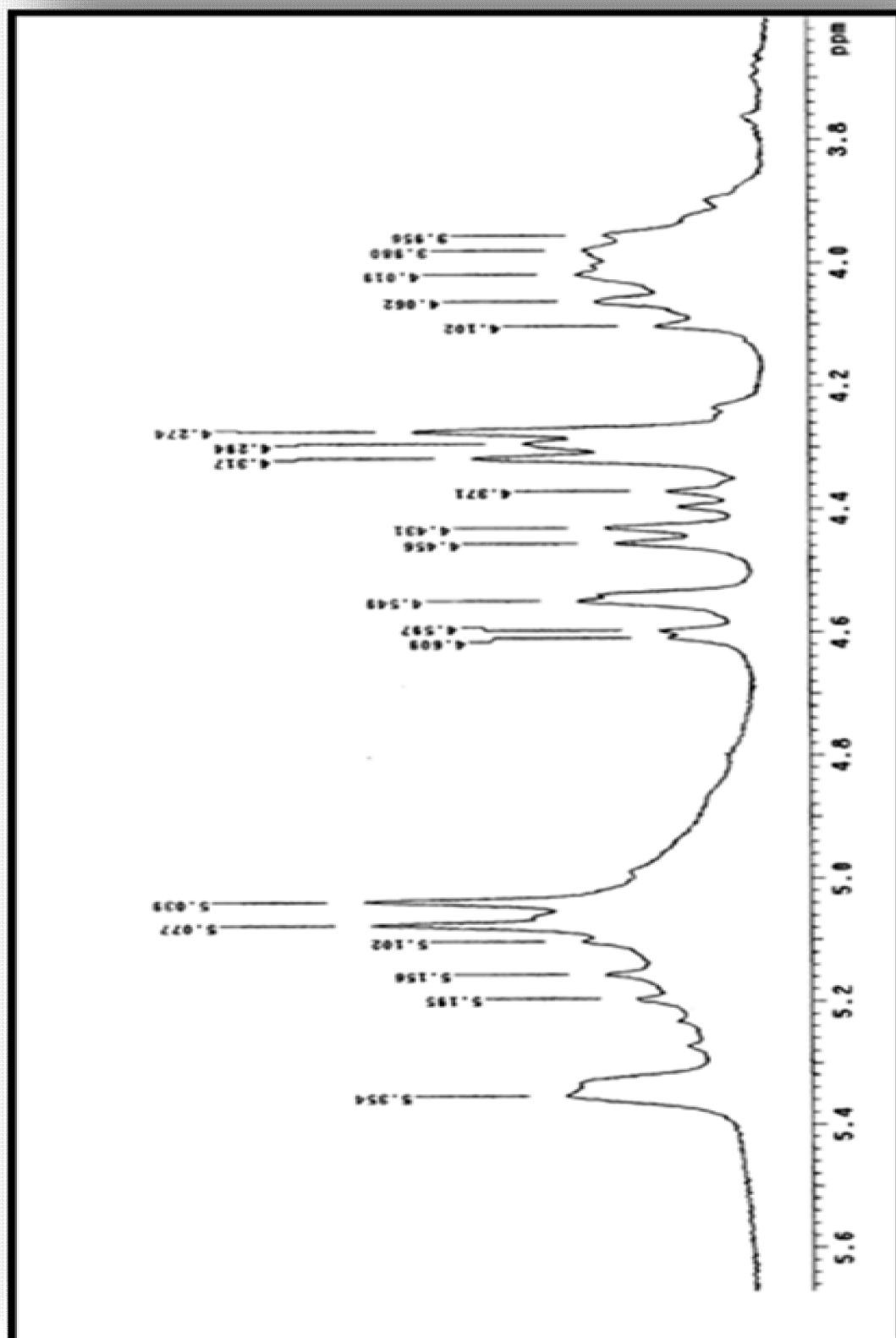


Figura 43: Expansão 1 do espectro de RMN ^1H (δ $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$, 200 MHz) de *Ts-3a* e *Ts-3b*.

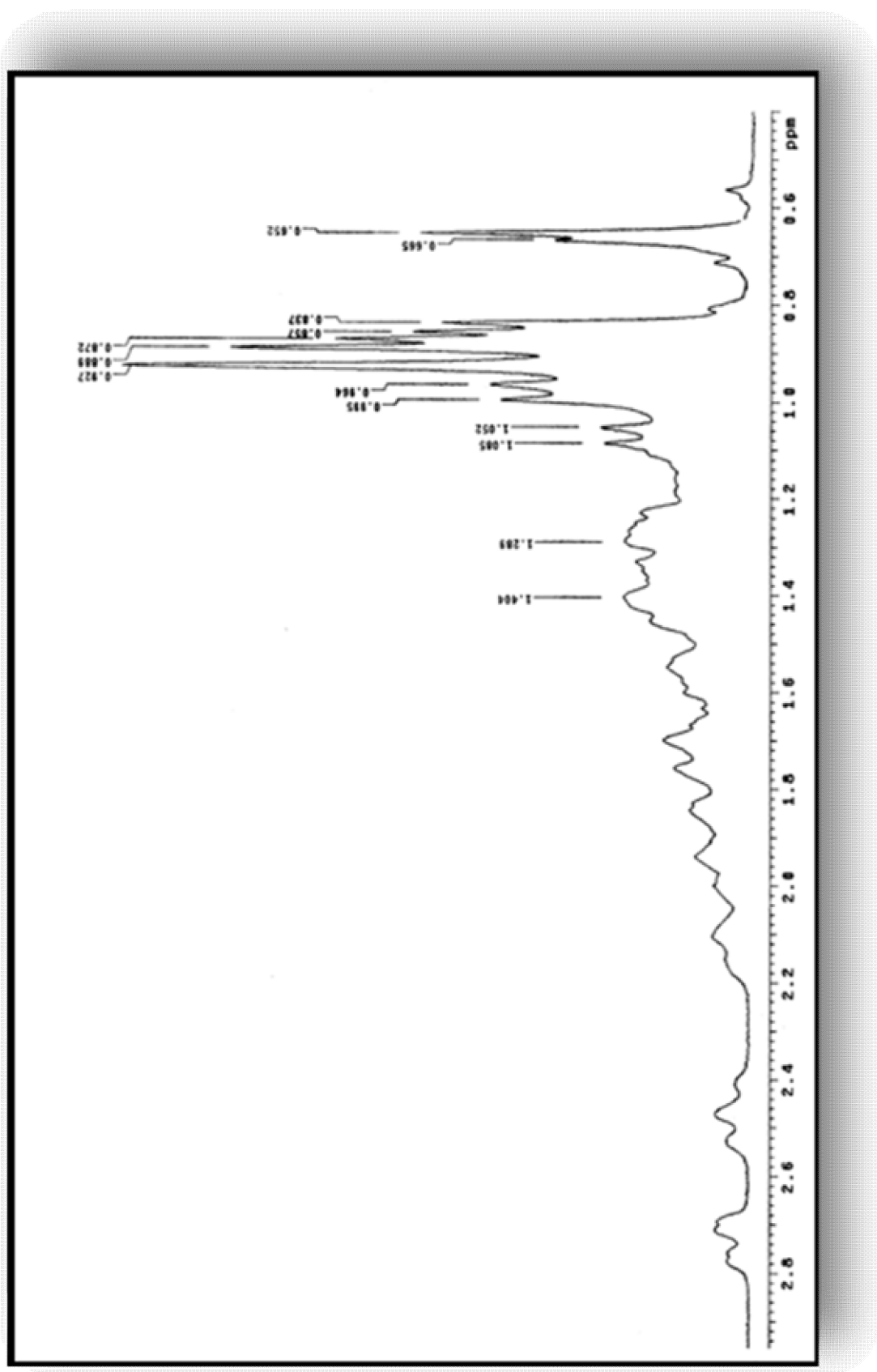


Figura 44: Expansão 2 do espectro de RMN ^1H (δ $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$, 200 MHz) de *Ts-3a* e *Ts-3b*.

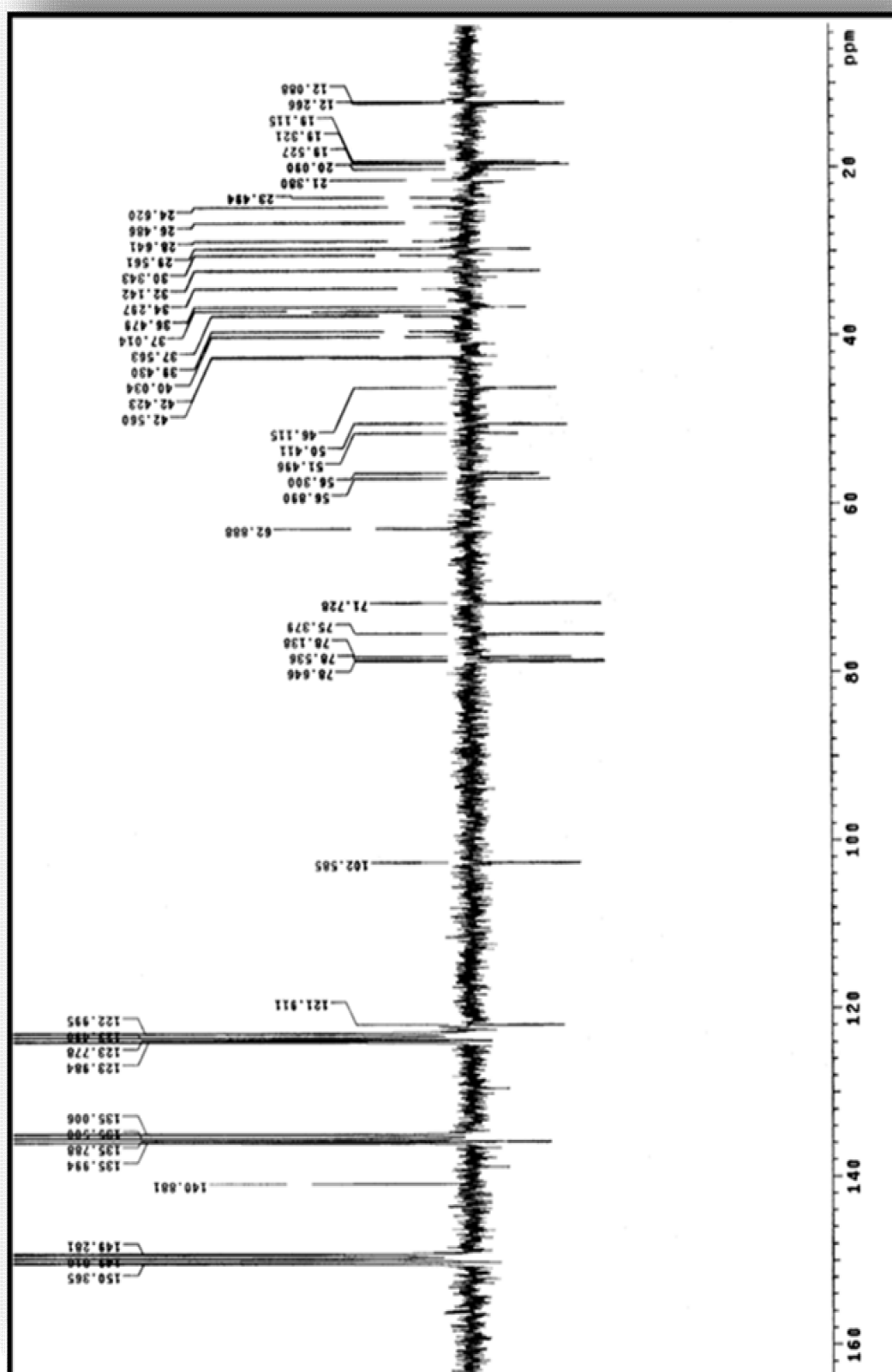


Figura 45: Espectro de RMN ^{13}C APT (δ $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$, 50 MHz) de *Ts-3a* e *Ts-3b*.

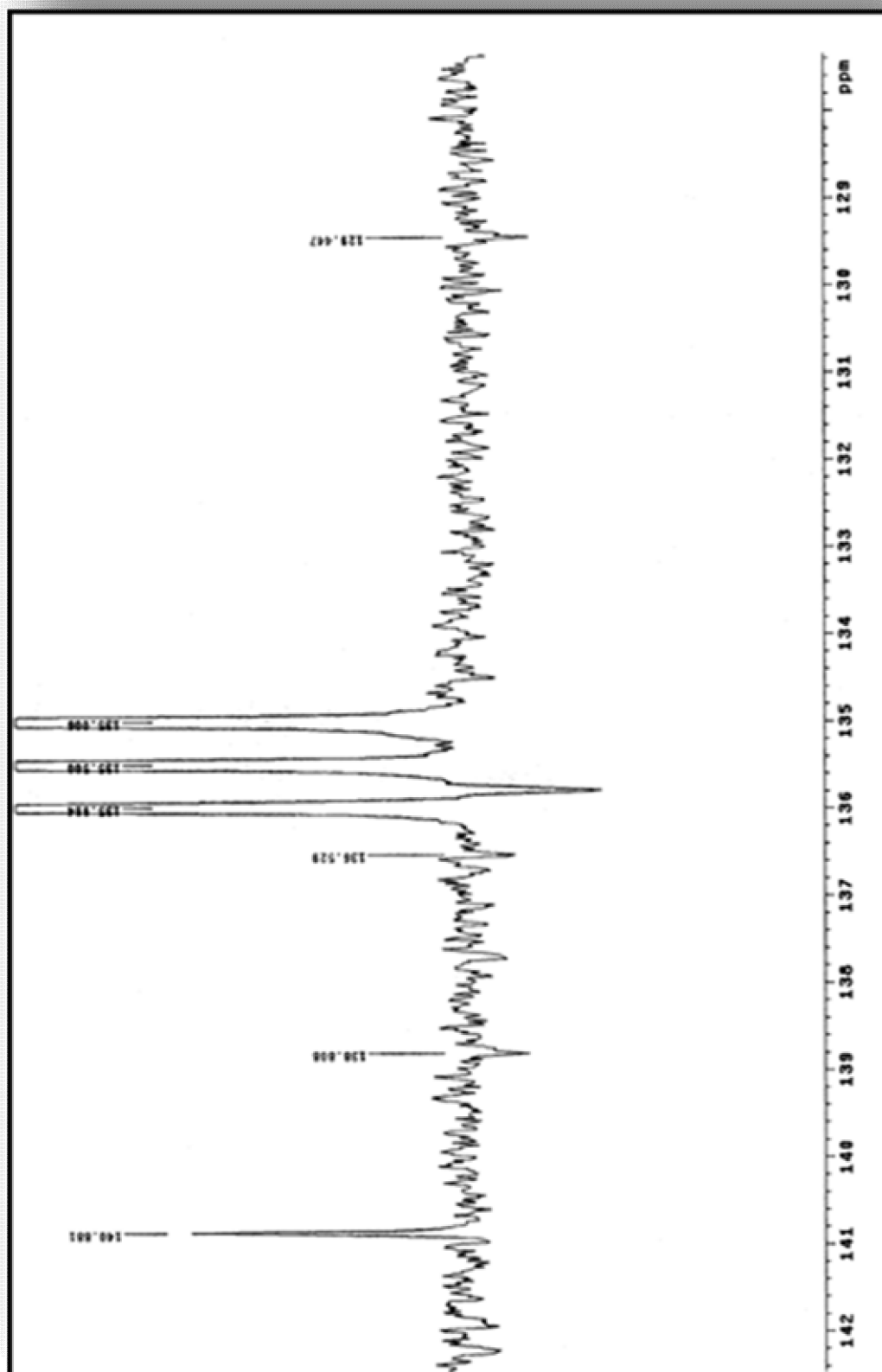


Figura 46: Expansão 1 do espectro de RMN ^{13}C APT (δ $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$, 50 MHz) de *Ts-3a* e *Ts-3b*.

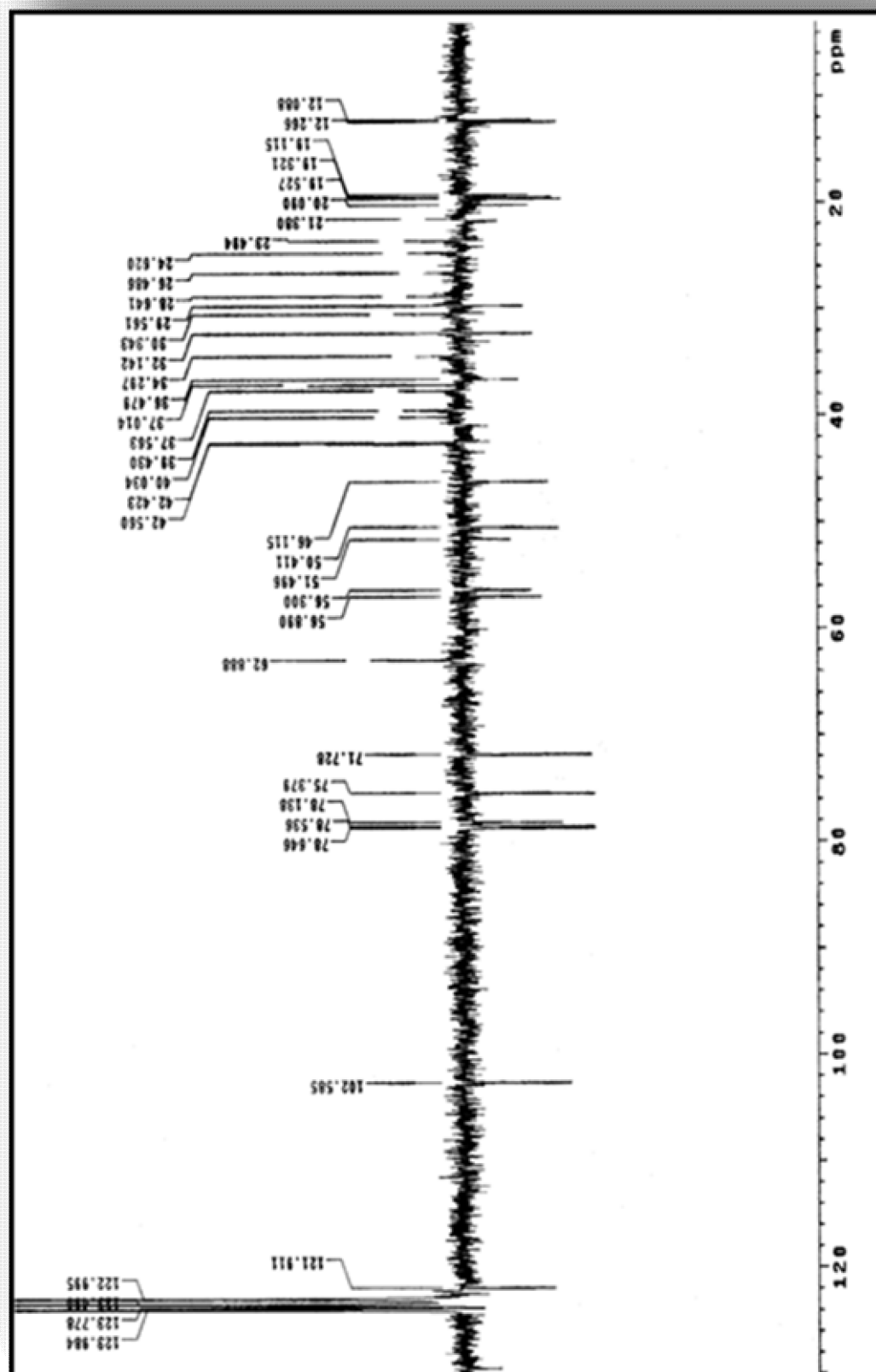


Figura 47: Expansão 2 do espectro de RMN ^{13}C APT (δ $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$, 50 MHz) de *Ts-3a* e *Ts-3b*.

5.5 Caracterização estrutural de *Ts-4*.

A substância codificada como *Ts-4* mostrou-se como um sólido amorfo amarronzado. O espectro de IV (Figura 48, p 118) mostrou-se semelhante aos espectros de IV das substâncias *Ts-1* (Fig. 12, p. 70) e *Ts-2* (Fig. 33, p. 96) levando a sugerir que *Ts-4*, assim como *Ts-1* e *Ts-2* poderia se tratar de uma feofitina. No entanto a feição do sinal em 2854cm^{-1} (Figura 48, p 118), sugere que em *Ts-4* existe um grupo aldeído, visto que o estiramento C-H deste grupo mostra-se como uma banda menos intensa que o estiramento C-H de carbono sp^3 observado em 2926cm^{-1} . Uma outra banda, observada em 1734cm^{-1} sugere a ocorrência de um estiramento C=O de aldeído (SILVERSTEIN et al., 2005; PAVIA et al., 2010).

Os espectros de RMN ^1H de *Ts-4* (Fig 49, p. 119) ao mostrar semelhanças com as figuras 13, p. 71 de *Ts-1* e fig. 34, p. 97 de *Ts-2* enriquece a sugestão de que a substância em análise trata-se de uma feofitina, podendo ser a **feofitina a**, uma vez que exhibe similaridade entre os H-10; H-20; hidrogênios vinílicos (H-3¹ e H-3²), além de outras semelhanças (Tabela 7, p. 116).

A sugestão de que *Ts-4* poderia se tratar da **feofitina a**, foi afastada pela ausência na figura 51, p. 121, de um singlete em aproximadamente δ 3,20 referente ao grupo metila (CH_3 -7¹) característico da **feofitina a** (TOMAZ et al., 2008) e também pela desproteção sofrida pelo H-5 em *Ts-4* (δ 10,36) (SCHWIKKARD et al., 1998; JERZ et al., 2007), quando comparado com H-5 em *Ts-1* e *Ts-2* que absorvem em δ 9,38 e δ 9,54, respectivamente (Tabela 1, p. 67 e Tabela 4, p. 94). Esta desproteção do H-5 em *Ts-4* foi causada pela anisotropia diamagnética local devido à presença da carbonila de aldeído na posição C-7¹.

Uma absorção em δ 11,38 (Fig. 50, p.120) característico de C-H de aldeído (SILVERSTEIN, 2005; PAVIA, 2010) corrobora a sugestão feita pelo IV (Figura 48, p 118) de que *Ts-4* possui grupo aldeído em sua molécula, como também propõe que este grupo está na posição C-7¹.

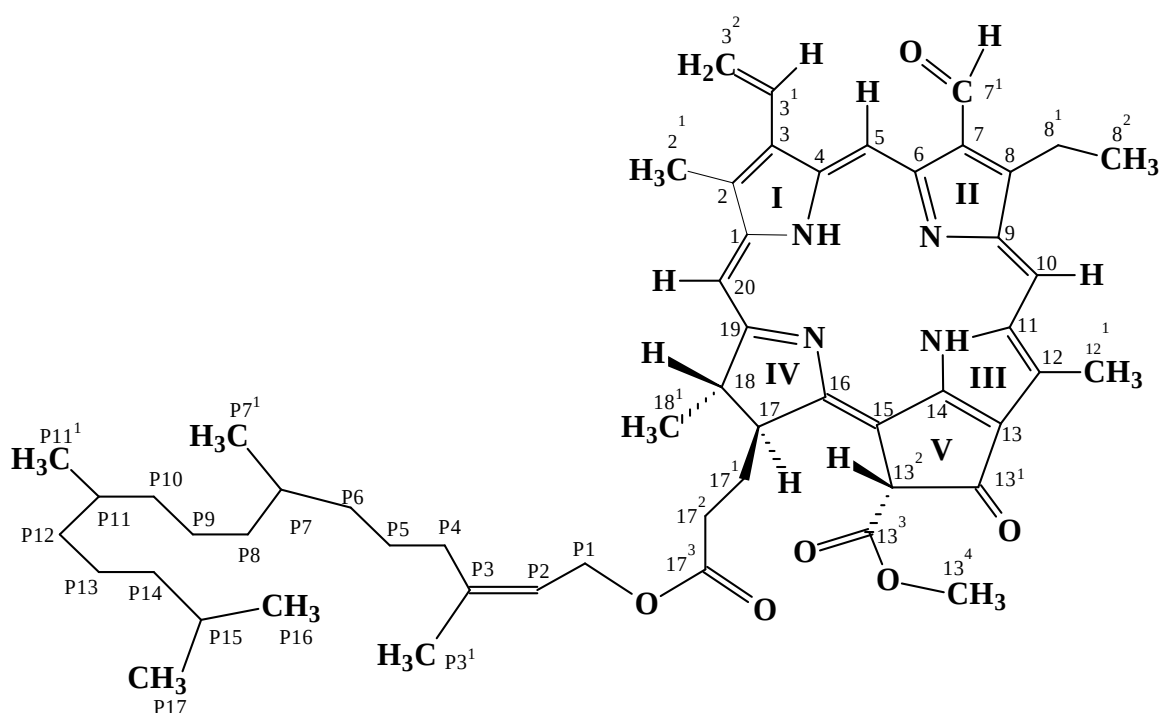
A análise dos dados de IV, RMN ^1H e comparações com a literatura (Tabela 7, p. 116) levaram a propor que *Ts-4* tratava-se da **feofitina b**.

A análise dos espectros de RMN ^{13}C utilizado a técnica APT (Figuras 52 a 54, p. 122 a 124, Tabelas 7 e 8, p. 116 e 117) revelou picos para 55 átomos de carbono, tendo-se observado 19 não hidrogenados, 12 metínicos, entre os quais um vinílico em δ_{C} 128,62, 14

metilênicos, com destaque também para um carbono vinílico em δ_C 123,57 e 10 metílicos, dentre estes últimos um sinal em δ_C 52,99; típico de metoxila de éster.

A figura. 53, p. 123 corroborou a proposta sugerida pelo IV e RMN 1H de que a molécula em discussão possui um grupo aldeído em δ_C 187,77 pela absorção condizente com C=O deste grupo. A definição da localização do grupo aldeído como sendo na posição C-7¹ foi possível após comparações dos dados de **Ts-4** com o modelo **Mo-7** e **Ts-1** (Tabela 7, p. 116).

Após a análise dos espectros de IV, RMN 1H e RMN ^{13}C de **Ts-4** com dados de **Ts-1**, como também comparações com dados da literatura (SCHWIKKARD et al., 1998) (Tabela 7, p. 116) foi possível identificar **Ts-4** como sendo a **feofitina b**, substância inédita na Família Turneraceae.



Feofitina b (Ts-4)

Tabela 7: Dados comparativos de RMN ^1H e ^{13}C de **Ts-4** (δ , CDCl_3 , 200 e 50 MHz, respectivamente) com os modelos **Ts-1** (δ CDCl_3 , 500 e 125 MHz) e **Mo-7** (δ , CDCl_3 , 300 e 75 MHz; SCHWIKKARD et al., 1998).

C	TS-1		Mo-7		TS-4	
	δ C	δ H	δ C	δ H	δ C	δ H
1	142,78	–	143,5	–	143,54	–
2	132,09	–	132,3	–	132,31	–
2 ¹	12,07	3,40 (s)	12,1	3,39 (s)	12,26	3,37 (s)
3	136,69	–	137,50	–	137,75	–
3 ¹	129,04	7,98 (dd-J=17,81 Hz e 11,51 Hz)	128,6	7,98 (dd-J=15,19 Hz e 11,39 Hz)	128,62	8,00 (dd-J=17,65 Hz e 11,56 Hz)
3 ²	122,98	6,283 (trans) (dd-J=17,78Hz) e 6,179(Cis) (dd-J=11,51 Hz e 1,0 Hz)	123,3	6,35 (Trans) (d-J=15,19 Hz) e 6,20 (Cis) (d-J=11,39 Hz)	123,57	6,37 (trans) (d-J=17,83 Hz) e 6,22 (Cis) (d,J=10,90Hz)
4	136,44	–	136,9	–	136,16	–
5	97,52	9,38 (s)	101,5	10,28 (s)	101,36	10,36 (s)
6	155,55	–	151,0	–	151,22	–
7	135,89	–	132,5	–	132,46	–
7 ¹	11,20	3,21 (s)	187,1	11,07(s)	187,77	11,13 (s)
8	145,04	–	158,8	–	159,48	–
8 ¹	19,47	3,68 (s, 2H)	18,50	3,66 (s)	19,11	3,82 (s,2H)
8 ²	16,28	1,68 (t) J=7,06Hz	19,5	1,68 (t)	19,41	1,72 (m)
9	150,05	–	146,8	–	147,16	–
10	104,44	9,53 (s)	106,5	9,57 (s)	107,00	9,64(s)
11	138,00	–	137,9	–	138,00	–
12	129,14	–	132,2	–	132,19	–
12 ¹	12,09	3,82 (s)	11,9	3,65 (s)	12,07	3,68(s)
13	129,14	–	129,7	–	129,69	–
13 ¹	189,51	–	189,6	–	189,50	–
13 ²	64,75	6,27 (s)	64,7	6,20(s)	64,53	6,23(s)
13 ³	169,49	–	169,5	–	169,25	–
13 ⁴	52,86	3,88 (s)	53,0	3,88(s)	52,99	3,90 (s)
14	150,02	–	150,8	–	150,80	–
15	105,63	–	105,1	–	104,90	–
16	161,30	–	164,0	–	164,00	–
17	51,30	4,16 (m)	51,5	4,15(m)	51,27	4,16 (m)
17 ¹	29,68	–	31,3	–	31,16	–
17 ²	31,24	–	29,8	–	29,68	–
17 ³	173,83	–	174,0	–	174,014	–
18	50,19	4,47 (m)	50,0	4,45 (m)	50,08	4,46 (m)
18 ¹	23,08	1,81 (d)	23,1	1,80 (s)	23,06	1,82(s)
19	172,47	–	173,0	–	172,80	–
20	93,59	8,58(s)	93,1	8,55	93,35	8,53 (s)

Tabela 8: Dados comparativos de RMN ^{13}C da cadeia de fitol de **Ts-4** (δ , CDCl_3 , 50 MHz) com os modelos Mo-3 (δ CDCl_3 , 125 MHz; TOMAZ, 2008) e Mo-4 (δ CDCl_3 , 75 MHz; MELOS et al., 2007).

CADEIA DE FITOL – TS – 4			
	Mo - 3	Mo - 4	Ts - 4
C	δ C	δ C	δ C
P 1	61,69	59,40	61,51
P 2	117,93	123,10	117,57
P 3	143,02	140,10	142,97
P 4	39,98	39,80	39,77
P 5	25,17	25,10	24,75
P 6	37,57	36,60	36,60
P 7	32,93	32,70	32,72
P 8	37,50	37,20	37,35
P 9	24,60	24,50	24,96
P 10	36,82	37,30	37,22
P 11	32,79	32,60	32,58
P 12	37,44	37,30	37,27
P 13	24,95	24,70	24,38
P 14	39,53	39,30	31,91
P 15	28,14	27,90	27,94
P 16	22,89	22,70	22,70
P 17	22,80	22,60	22,60
P 11 ¹	19,84	19,70	19,70
P 7 ¹	19,90	19,70	19,63
P 3 ¹	16,48	16,10	16,27

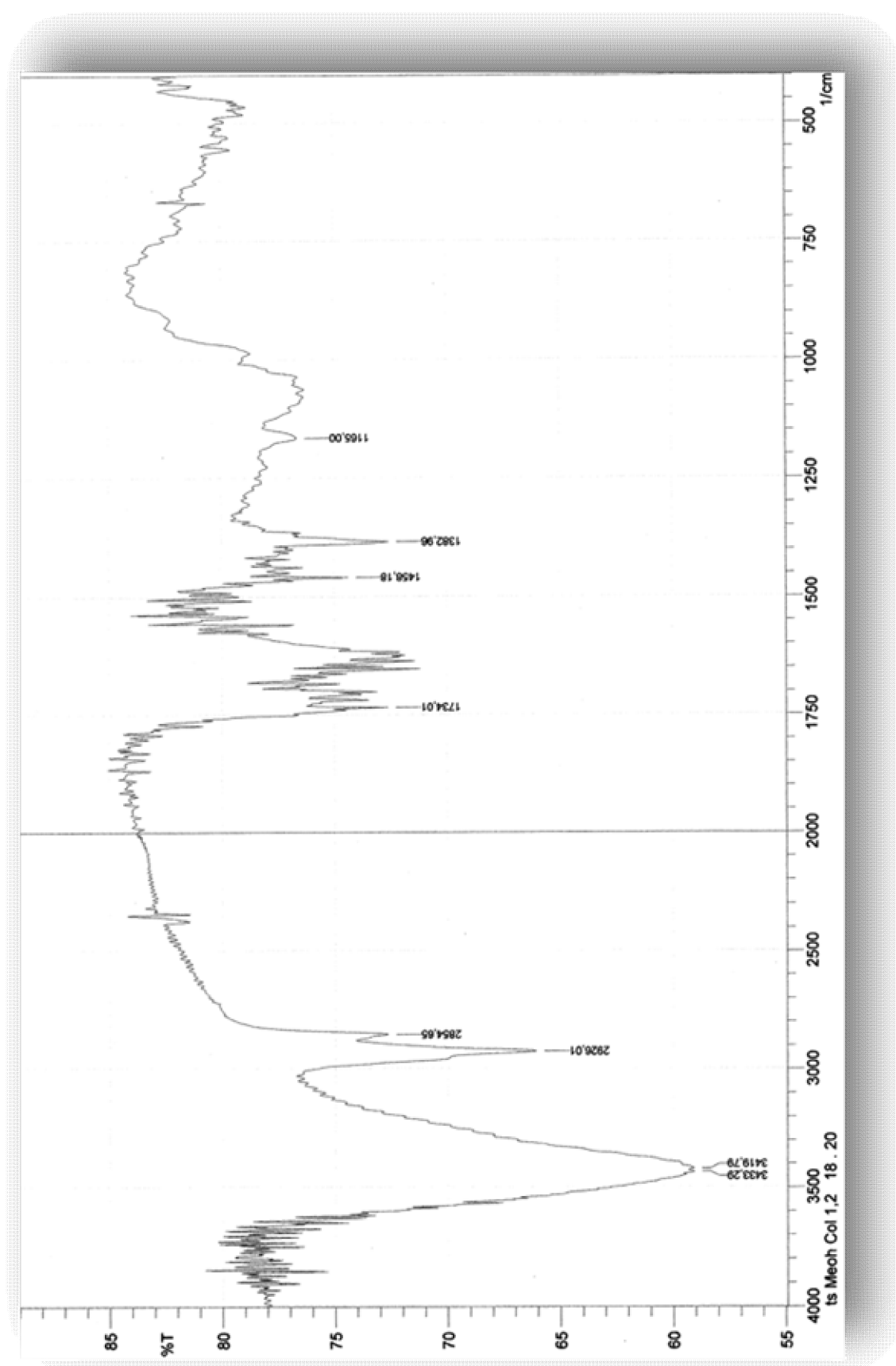


Figura 48: Espectro de IV (KBr, cm^{-1}) de *Ts-4*.

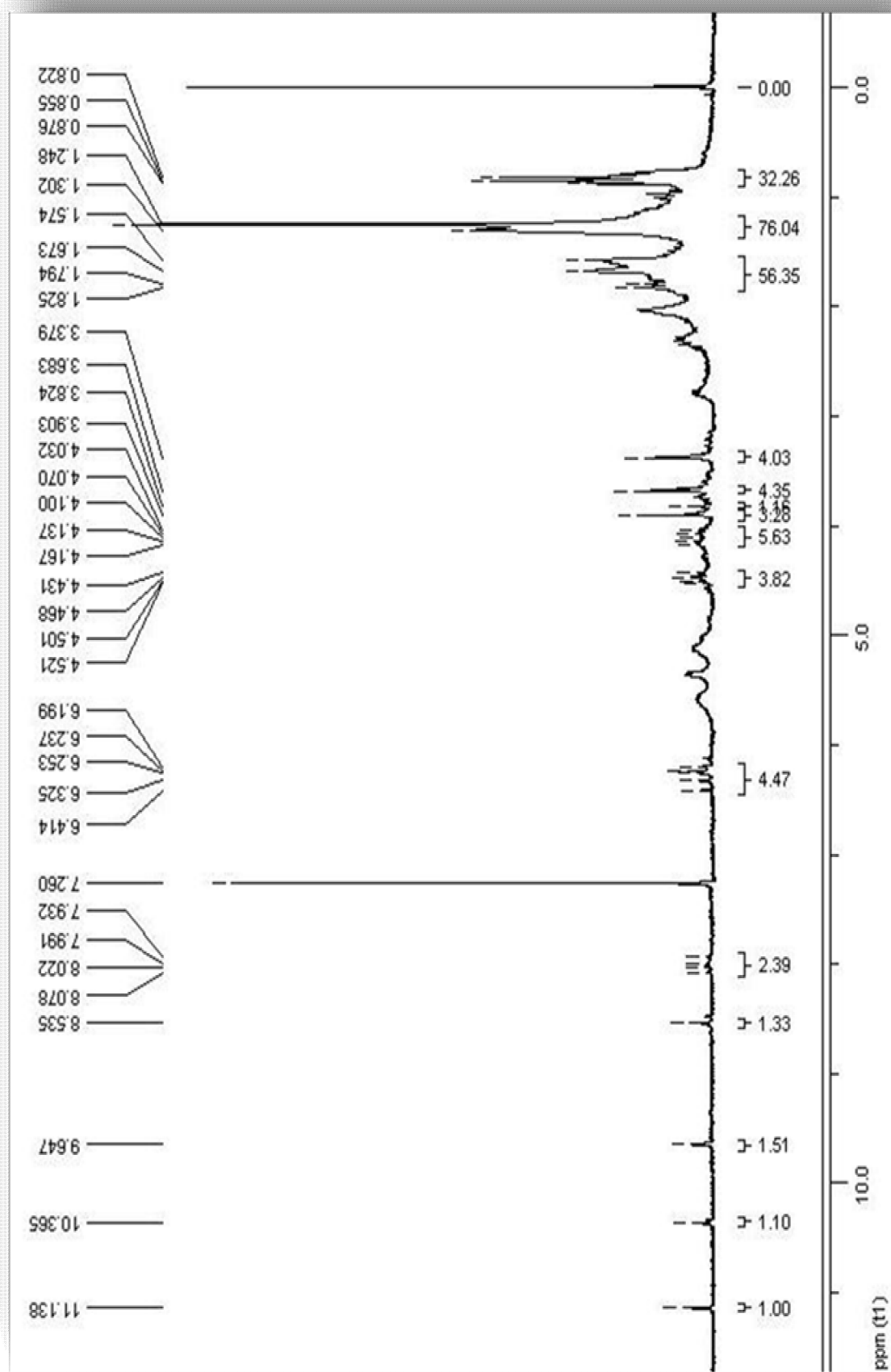


Figura 49: Espectro de RMN ^1H (δ , CDCl_3 , 200 MHz) de **Ts-4**.

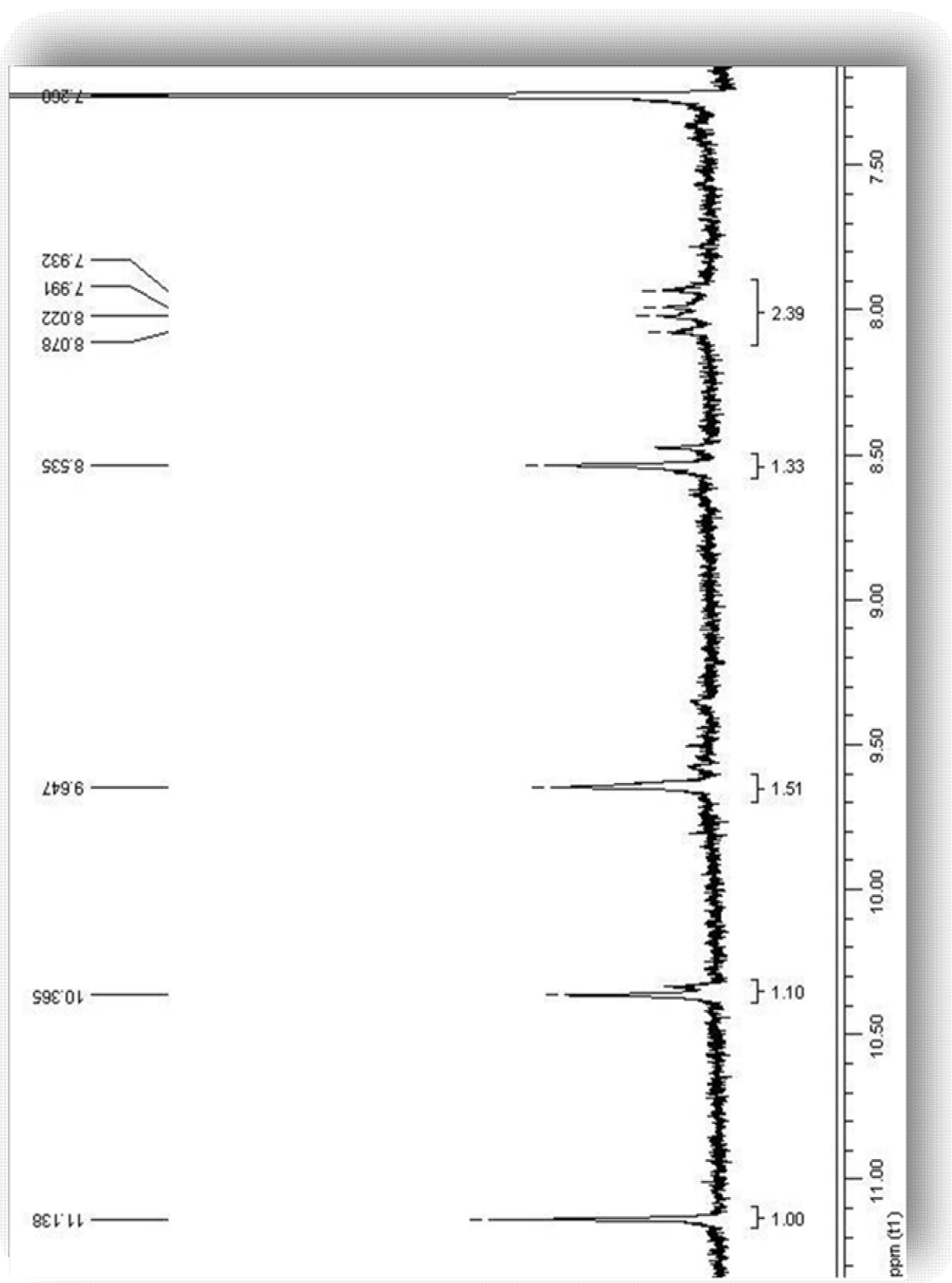


Figura 50: Expansão 1 do espectro de RMN ¹H (δ, CDCl₃, 200 MHz) de *Ts-4*.

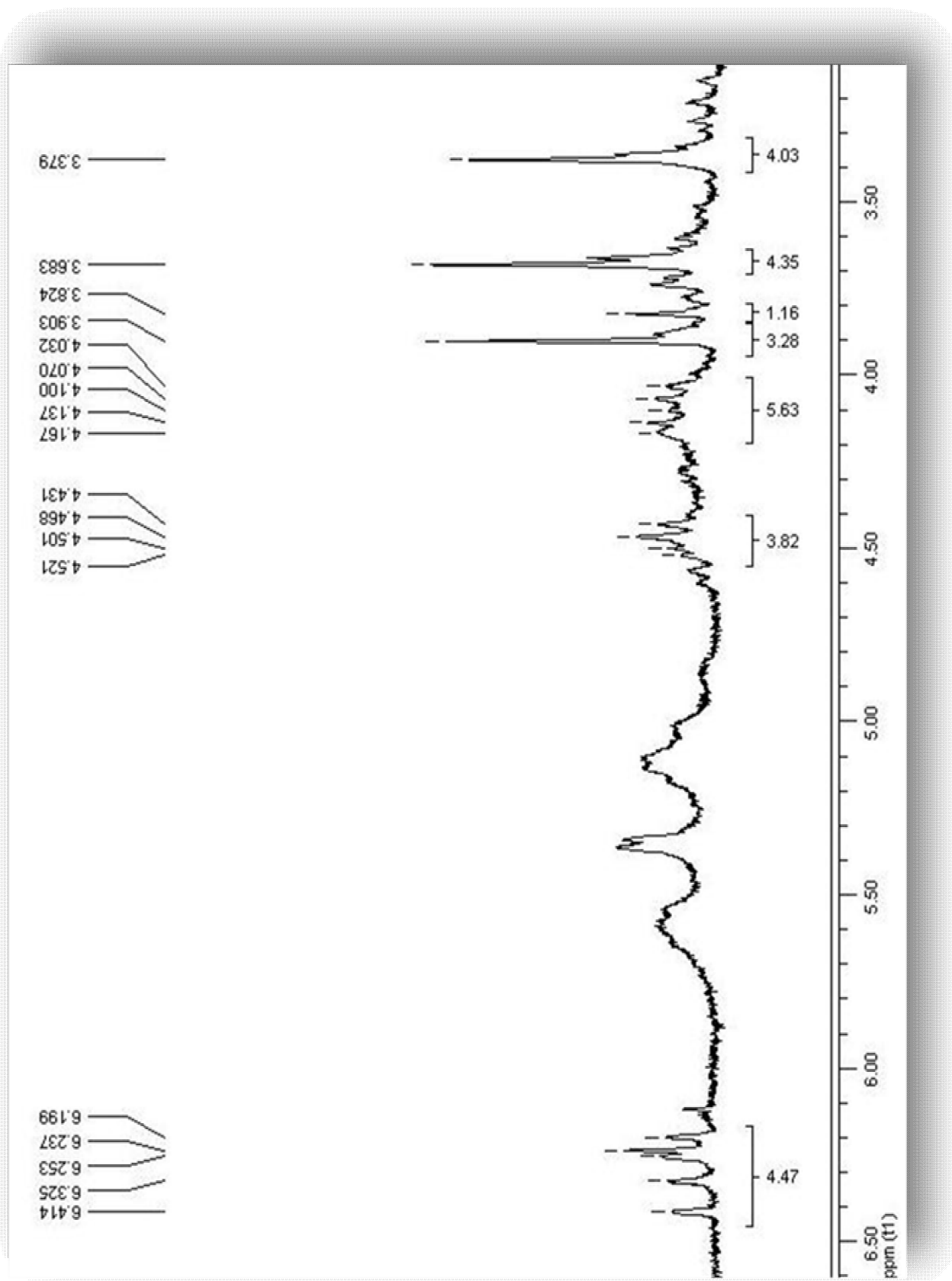


Figura 51: Expansão 2 do espectro de RMN ^1H (δ , CDCl_3 , 200 MHz) de *Ts-4*.

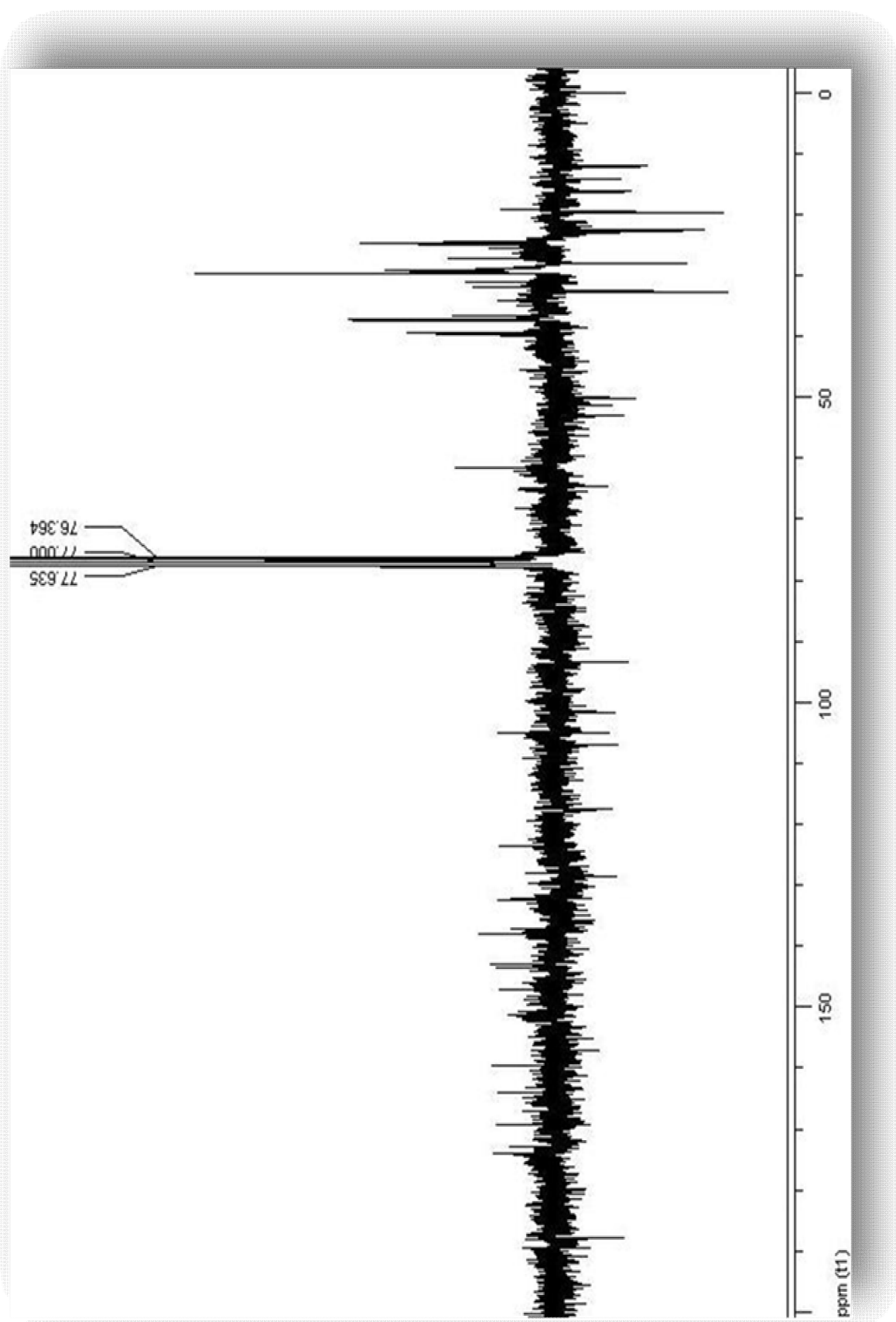


Figura 52: Espectro de RMN ^{13}C APT (δ , CDCl₃, 50 MHz) de *Ts-4*.

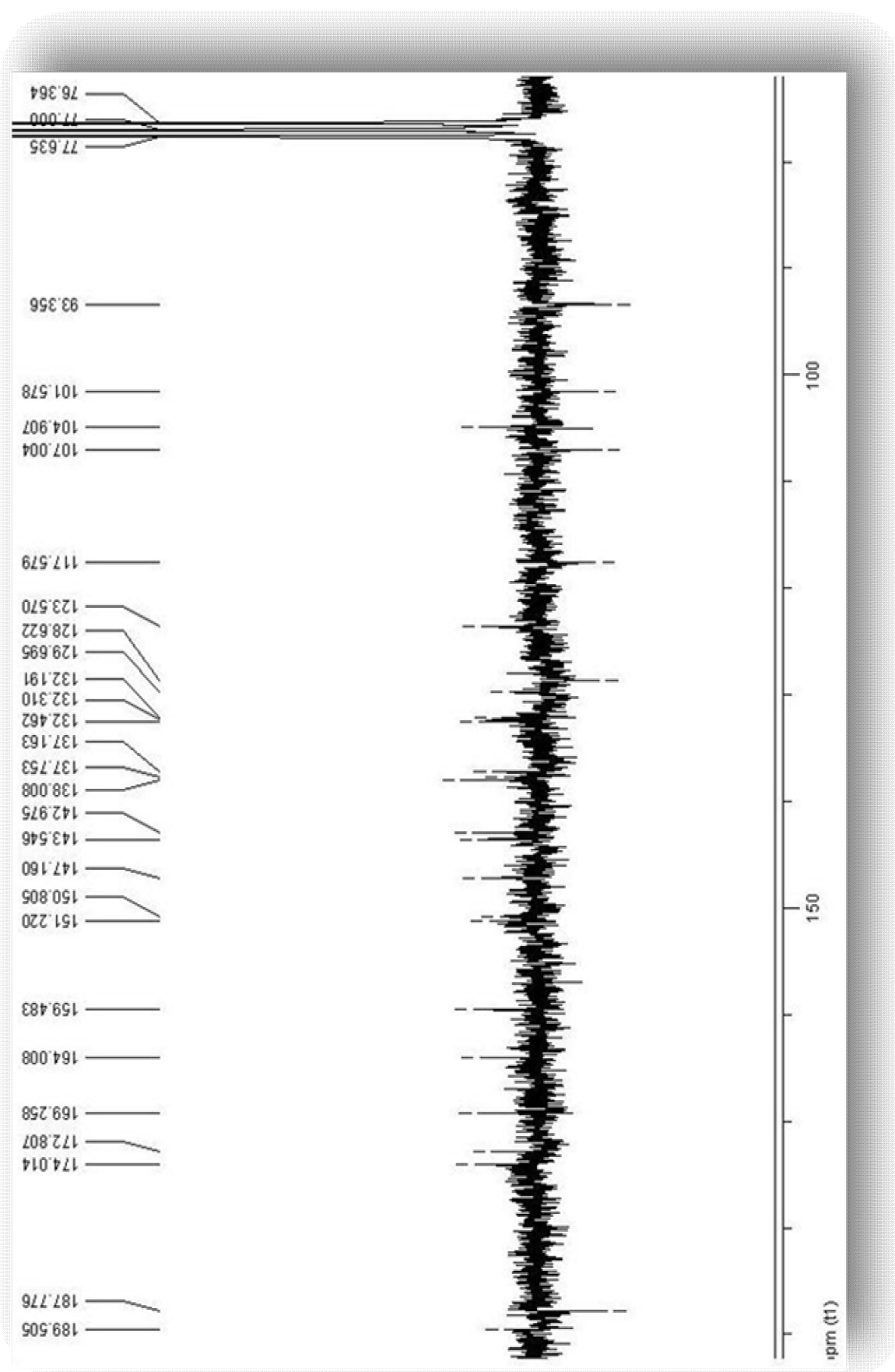


Figura 53: Expansão 1 do espectro de RMN ^{13}C APT (δ , CDCl_3 , 50 MHz) de *Ts-4*.

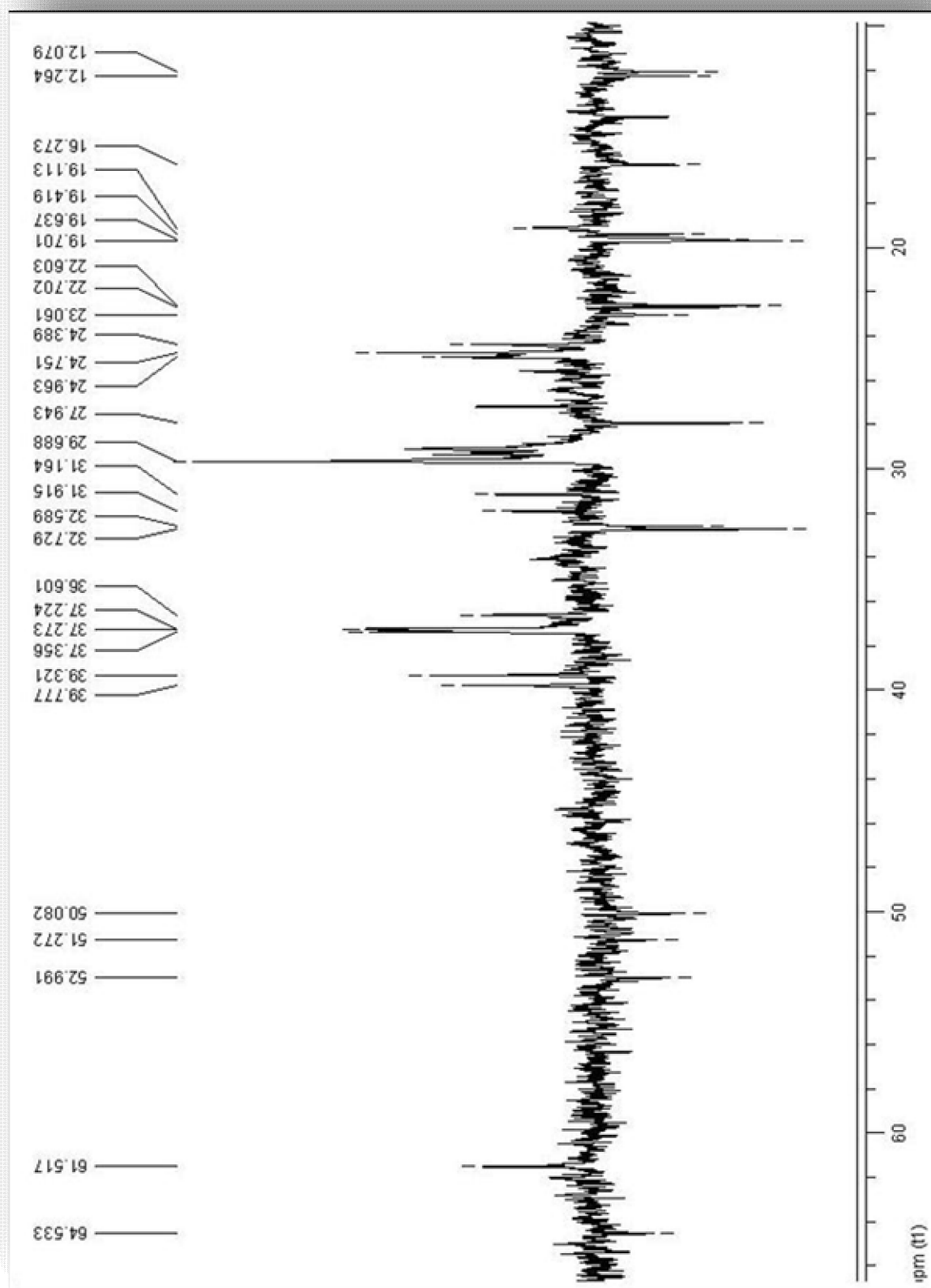


Figura 54: Expansão 2 do espectro de RMN ^{13}C APT (δ , CDCl_3 , 50 MHz) de **Ts-4**.

5.6 Caracterização estrutural de *Ts-5*

A substância denominada ***Ts-5***, isolada da fase hexânica do extrato etanólico bruto das partes aéreas de *Turnera subulata* Sm mostrou-se como um sólido amorfo escuro-arroxeadado. O espectro no IV (Figura 56, p. 133) de ***Ts-5*** mostrou bandas semelhantes àsquelas de ***Ts-1*** (Fig. 12, p. 70); de ***Ts-2*** (Fig. 33, p. 96) e ***Ts-4*** (Fig. 48, p. 118) levando a sugerir que ***Ts-5*** poderia tratar-se também de uma substância porfirínica. Esta sugestão fundamentou-se nas bandas em: 3446 cm^{-1} atribuída a deformação axial de N-H de amins ou de O-H; 1388 cm^{-1} referente a deformação axial de ligação C-N de grupo amino e uma terceira banda em 1604 cm^{-1} , característica de ligação dupla em sistemas conjugados, que está de acordo com estruturas contendo núcleo porfirínico (SILVERSTEIN et al., 2005; PAVIA et al., 2010).

Em 1739 cm^{-1} observa-se uma forte banda de absorção visivelmente alargada, em comparação com a mesma região do espectro de IV de ***Ts-1*** (Fig. 12, p. 70); de ***Ts-2*** (Fig. 33, p. 96) e ***Ts-4*** (Fig. 48, p. 118), que remete a um provável estiramento C=O de anidrido. A intensidade e o alargamento da banda de absorção em 1739 cm^{-1} (Figura 56, p. 133) pode ser explicada pela tensão anelar de um suposto grupamento anidrido presente na molécula de ***Ts-5*** (SILVERSTEIN et al., 2005; PAVIA et al., 2010).

O espectro de RMN ^1H (Figura 57, p. 134) de ***Ts-5*** mostrou-se idêntico a figura 13, p. 71 (RMN ^1H de ***Ts-1***) e fortaleceu a sugestão dada pelo IV de que a substância em análise possui o núcleo porfirínico. Esta análise ainda permitiu propor que ***Ts-5*** poderia tratar-se da **feofitina a**, uma vez que se pôde observar um envelope de sinais na região entre $\delta_{\text{H}} 0,83$ e $\delta_{\text{H}} 2,03$, atribuídos a absorções CH de grupos metínicos, metilênicos e metílicos de carbono sp^3 da cadeia de fitol, além de um sinal em $\delta_{\text{H}} 3,15$ (s) característico de grupo metílico $\text{Me}-7^1$.

A possibilidade de que ***Ts-5*** poderia tratar-se da **feofitina a**, foi descartada ao fazer-se uma comparação entre a figura 15, p. 73 de ***Ts-1***, onde se observa um singlete em $\delta_{\text{H}} 6,27$ característico do H-13² de ***Ts-1*** e a figura 59, p. 136 (***Ts-5***) que revelou a ausência do referido sinal (Tabela 9, p. 129). Outro contraste entre ***Ts-1*** e ***Ts-5*** é a ausência nesta (Fig 60, p. 137) de um singlete em torno de $\delta_{\text{H}} 3,88$ atribuído aos hidrogênios do grupo metoxila (H-13⁴) de ***Ts-1*** (Fig. 16, p. 74) (Tabela 9, p. 129).

A compatibilidade dos sinais de ***Ts-1*** com ***Ts-5*** e as ausências, nesta, das absorções para os H-13² e H-13⁴, característico do anel V do núcleo porfirínico, presente em ***Ts-1***,

permitiram fortalecer a suposição levantada pelo o IV de que **Ts-5** possui grupamento anidrido e que este pode estar no anel V.

A compilação dos dados de IV e RMN ^1H , comparações com **Ts-1** e com os modelos **Mo-8** (SAKDARAT et al., 2008) e **Mo-9** (SARMENTO SILVA et al., 2010) (Tabela 9, p.129) permitiram propor que **Ts-5** possui o núcleo porfirínico, podendo o anel V ser um anidrido cíclico de seis membros além do grupo fitila em C-17³.

O espectros de RMN ^{13}C -APT (Figuras 61 a 63, p. 138 a 140, Tabelas 10 e 11, p. 130 e 131) mostrou sinais para 53 átomos de carbono dois a menos que em **Ts-1** **Ts-2** e **Ts-4**. A ausência do anel V como sendo um grupo pirrólico em **Ts-5**, foi fortalecida pela figura 61, p. 138 ao evidenciar a ausência em **Ts-5** do sinal para CH metínico em δ_{C} 64,75 referente a C-13² de **Ts-1** (fig. 21, p. 79) e também a não visualização de um singlete em δ_{C} 52,86 (Fig 63, p. 140) atribuído ao carbono metoxílico C-13⁴ de **Ts-1** (Fig. 21, p. 79) (Tabela 10, p. 130)

A sugestão de que o anel V de **Ts-5** tratava-se de um anidrido cíclico de seis membros em um sistema conjugado foi fortalecida pelas absorções em δ_{C} 159,32 e δ_{C} 164,11 (Fig. 62, p. 139) atribuídos as carbonilas C-13¹ e C-13² respectivamente, do anel V de **Ts-5**.

O espectro de RMN ^1H x ^1H -COSY (Figuras 64 e 65, p. 141 e 142, Tabela 12, p. 132) confirmou a presença dos grupos vinílico (C-3¹) e etila (C-8), antes proposta pelo espectro RMN ^1H unidimensional, ao mostrar acoplamento entre as absorções do (H-3¹) em δ_{H} 7,87 com (H-3²-trans) em δ_{H} 6,29 e com (H-3²-cis) em δ_{H} 6,21, referentes aos hidrogênios vinílicos, e entre δ_{H} 3,61 (H-8¹) e δ_{H} 1,63 (CH₃-8²), atribuídos aos grupos etila.

Os espectros de correlação bidimensional heteronuclear a duas ($^2J_{\text{CH}}$) e a três ligações ($^3J_{\text{CH}}$) HMBC (Figuras 66 a 68, p. 143 a 145, Tabela 12, p. 132) mostrou correlação a $^3J_{\text{CH}}$ entre os hidrogênios (3²Hc) em δ_{H} 6,29 e (3²Hb) em δ_{H} 6,21 (2H-3²) com (C-3) em δ_{C} 137,70 e ainda entre os hidrogênios H-8² em δ_{H} 1,63 com o carbono C-8 em δ_{C} 145,91. Estas correlações permitiram definir inequivocamente as posições 3 e 8 para os grupos vinílico e etílico, respectivamente. As atribuições referentes aos hidrogênios olefínicos e grupos metila foram feitas também através do HMBC pelas correlações seguintes: CH₃-2¹ (δ_{H} 3,34) com δ_{C} 131,75 (C-2) a $^2J_{\text{CH}}$ e com δ_{C} 144,05 (C-1) e δ_{C} 137,70 (C-3) a $^3J_{\text{CH}}$; CH₃-7¹ (δ_{H} 3,15) com δ_{C} 136,57 (C-7) a $^2J_{\text{CH}}$ e com os carbonos C-6 (δ_{C} 156,22) e C-8 (δ_{C} 145,91) a $^3J_{\text{CH}}$; CH₃-12¹ (δ_{H} 3,75) a $^3J_{\text{CH}}$ com δ_{C} 131,46 (C-11) e com δ_{C} 111,43 (C-13).

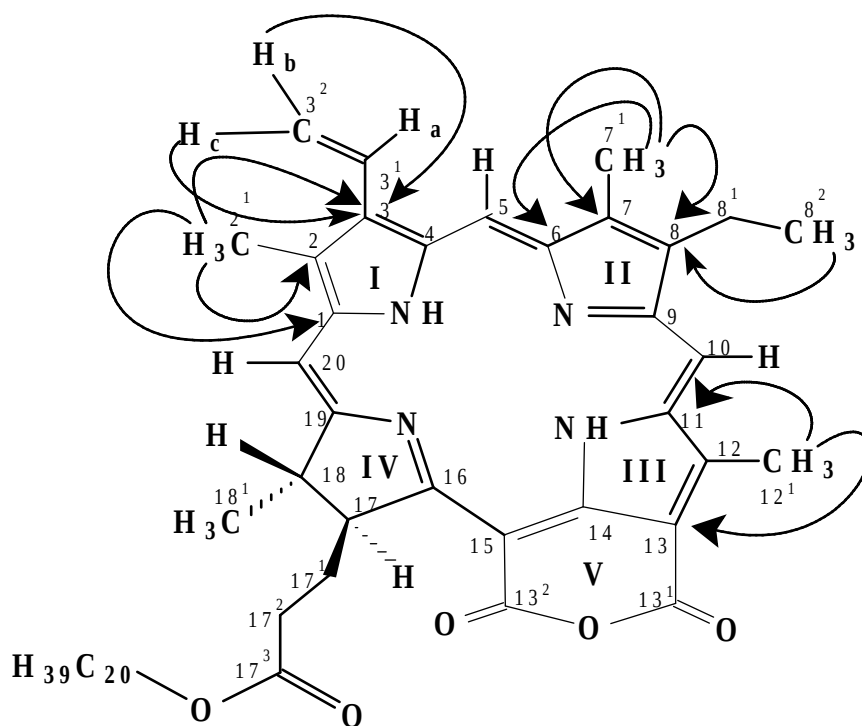


Figura 55: Estrutura do composto **Ts-5** e principais correlações observadas no espectro de HMBC.

A configuração relativa em C-17 e C-18 foi determinada como sendo *trans* (Figuras 69 e 70, p. 146 e 147) devido à interação espacial observada através do espectro de NOESY do H-17 (δ H 5,22) com a metila 3H-18¹ (δ H 1,76).

Os dados de IV, RMN ¹H e RMN ¹³C uni e bidimensionais bem como comparações com dados da literatura **Ts-1**; **Mo-8** e **Mo-9** (Tabelas 9 e 10, p.129 e 130) permitiram concluir que **Ts-5** trata-se da **Purpurina 18 fitil éster**, isolada anteriormente de *Clinacanthus nutans* L, família Acanthaceae, (SAKDARAT et al., 2008), todavia inédita na família Turneraceae.

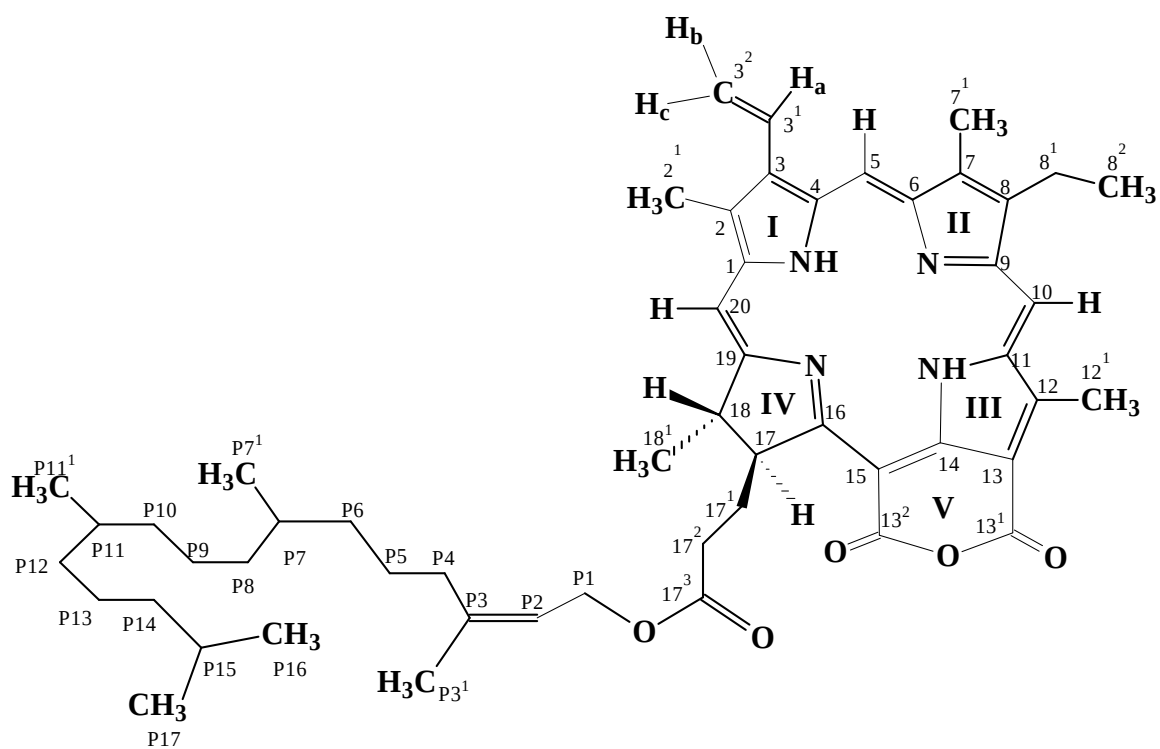
Purpurina 18 fitil éster (*Ts-5*)

Tabela 9: Dados comparativos de RMN ^1H de **Ts-5** (δ CDCl_3 , 200 MHz, respectivamente) com os modelos **Ts-1** (δ CDCl_3 , 500 MHz); **Mo-8** (δ $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$, 500 MHz, SAKDARAT et al., 2008) e **Mo-9** (δ CDCl_3 , 500 MHz; SARMENTO SILVA et al., 2010).

	TS-1	Mo-8	Mo-9	TS-5
C	δ H	δ H	δ H	δ H
1	—	—	—	—
2	—	—	—	—
2¹	3,40 (s)	3,32 (s)	3,32 (s)	3,34(s)
3	—	—	—	—
3¹	7,98 (dd-J=17,81 Hz e 11,51 Hz)	8,10 (dd, J = 11,65 Hz e 10,9 Hz	7,83 (dd-J=18 Hz e J=11,6 HZ)	7,87 (dd-J=17,76 Hz e J=11,55 Hz)
3²	6,28 (trans) (dd-J=17,78Hz) e 6,17(Cis) (dd-J=11,51 Hz e 1,0 Hz)	6,41 (E) (dd, J = 17, 8 Hz e 2,5 Hz) e 6,20 (Z) (dd, J = 12,6 Hz e 2,5Hz)	(E) 6,25 (dl, J=18,0 Hz) e (Z) 6,25 (dl,J=11,6 Hz)	(E) 6,29 (dl, J=17,91 Hz) e (Z) 6,21 (dl,J=11,69 Hz)
4	—	—	—	—
5	9,38 (s)	9,66 (s)	9,27 (s)	9,39 (s)
6	—	—	—	—
7	—	—	—	—
7¹	3,21 (s)	3,17 (s)	3,08 (s)	3,15 (s)
8	—	—	—	—
8¹	3,68 (s, 2H)	3,71 (m)	3,52 (m)	3,61 (m)
8²	1,68 (t) J=7,06Hz	1,69 (t) J=7,55 Hz	1,59 (t; J=7,2 Hz)	1,63 (t; J=7,42 Hz)
9	—	—	—	—
10	9,53 (s)	9,89 (s)	9,44 (s)	9,60 (s)
11	—	—	—	—
12	—	—	—	—
12¹	3,82 (s)	3,84 (s)	3,68	3,75(s)
13	—	—	—	—
13¹	—	—	—	—
13²	6,27 (s)	—	—	—
13³	—	—	—	—
13⁴	3,88 (s)	—	—	—
14	—	—	—	—
15	—	—	—	—
16	—	—	—	—
17	4,16 (m)	5,46 (m)	5,13 (dl)	5,22 (dl)
17¹	—	—	—	—
17²	—	—	—	—
17³	—	—	—	—
18	4,47 (m)	4,67 (dq)	4,37 (dl)	4,42 (dl)
18¹	1,81 (d)	1,74 (d)	1,72 (dl)	1,76 (dl)
19	—	—	—	—
20	8,58(s)	8,84 (s)	8,54 (s)	8,64 (s)

Tabela 10: Dados comparativos de RMN ^{13}C de **Ts-5** (δ CDCl_3 , 50 MHz, respectivamente) com os modelos **Ts-1** (δ CDCl_3 , 125 MHz); **Mo-8** (δ $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$, 125 MHz, SAKDARAT et al., 2008) e **Mo-9** (δ CDCl_3 , 125 MHz; SARMENTO SILVA et al., 2010).

	TS-1	Mo-8	Mo-9	TS-5
C	δ C	δ C	δ C	δ C
1	142,78	144,8	144,8	144,05
2	132,09	133,0	131,8	131,75
2¹	12,07	12,10	12,9	11,93
3	136,69	137,9	137,7	137,70
3¹	129,04	129,3	128,3	128,33
3²	122,98	123,0	123,7	123,69
4	136,44	138,0	136,6	136,54
5	97,52	104,0	103,1	103,02
6	155,55	157,2	156,3	156,22
7	135,89	137,5	136,6	136,57
7¹	11,20	11,4	11,0	11,01
8	145,04	147,0	145,9	145,91
8¹	19,47	20,0	19,3	19,28
8²	16,28	20,0	17,4	17,37
9	150,05	151,4	150,1	150,01
10	104,44	108,9	107,6	107,56
11	138,00	132,5	131,5	131,46
12	129,14	140,8	139,1	139,05
12¹	12,09	12,7	12,3	12,30
13	129,14	112,7	111,4	111,43
13¹	189,51	160,1	159,4	159,32
13²	64,75	165,0	164,8	164,11
13³	169,49	—	—	—
13⁴	52,86	—	—	—
14	150,02	140,0	139,9	139,05
15	105,63	94,0	92,6	92,86
16	161,30	178,3	177,6	177,55
17	51,30	56,0	54,9	54,98
17¹	29,68	32,4	31,7	31,17
17²	31,24	33,6	32,7	32,69
17³	173,83	173,6	173,3	173,22
18	50,19	49,8	49,2	49,19
18¹	23,08	24,4	23,8	23,82
19	172,47	177,7	176,6	176,60
20	93,59	96,2	94,9	94,95

Tabela 11: Dados comparativos de RMN ^{13}C da cadeia de fitila de **Ts-5** (δ , CDCl_3 , 50 MHz) com os modelos Mo-3 (δ , CDCl_3 , 125 MHz; TOMAZ, 2008) e Mo-4 (δ , CDCl_3 , 75 MHz; MELOS et al., 2007).

CADEIA DE FITOL – TS – 5			
	Mo - 3	Mo - 4	Ts - 5
C	δ C	δ C	δ C
P 1	61,69	59,40	61,42
P 2	117,93	123,10	117,83
P 3	143,02	140,10	142,71
P 4	39,98	39,80	39,81
P 5	25,17	25,10	24,74
P 6	37,57	36,60	36,61
P 7	32,93	32,70	32,72
P 8	37,50	37,20	37,35
P 9	24,60	24,50	24,97
P 10	36,82	37,30	37,27
P 11	32,79	32,60	32,59
P 12	37,44	37,30	37,22
P 13	24,95	24,70	24,39
P 14	39,53	39,30	39,31
P 15	28,14	27,90	27,93
P 16	22,89	22,70	22,69
P 17	22,80	22,60	22,60
P 11 ¹	19,84	19,70	19,69
P 7 ¹	19,90	19,70	19,63
P 3 ¹	16,48	16,10	16,31

Tabela 12: Dados espectrais de RMN ^1H e ^{13}C (δ , CDCl_3 , 200 e 50 MHz, respectivamente) do núcleo porfirínico de **Ts-5**.

TS-5			$^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ HMBC	$^1\text{H} \times ^1\text{H}$ COSY
C	δC	δH	2J	3J
1	144,05			
2	131,75			
3	137,70			
4	136,54			
6	156,22			
7	136,57			
8	145,91			
9	150,01			
11	131,46			
12	139,05			
13	111,43			
13 ¹	159,32			
13 ²	164,11			
14	139,05			
15	92,86			
16	177,55			
17 ³	173,22			
19	176,60			
CH				
3 ¹	128,33	7,87 (dd- J=17,76 Hz e J=11,55 Hz)		H-3 ²
5	103,02	9,39 (s)		
10	107,56	9,60 (s)		
17	54,98	5,22(dl)		
18	49,19	4,42 (dl)		
20	94,95	8,64 (s)		
CH ₂				
3 ²	123,62	(E) 6,29 (dl, J=17,91 Hz) e (Z) 6, 214 (dl,J=11,69 Hz)		C-3
8 ¹	19,28	3,61(m)		H-8 ²
17 ¹	31,17			
17 ²	32,69			
CH ₃				
2 ¹	11,93	3,34 (s)	C-2	C-1;C-3
7 ¹	11,01	3,15(s)	C-7	C-6;C-8
8 ²	17,37	1,63 (t ; J=7,42 Hz)		
12 ¹	12,30	3,75 (s)		C11;C-13
18 ¹	23,82	1,76 (dl)		

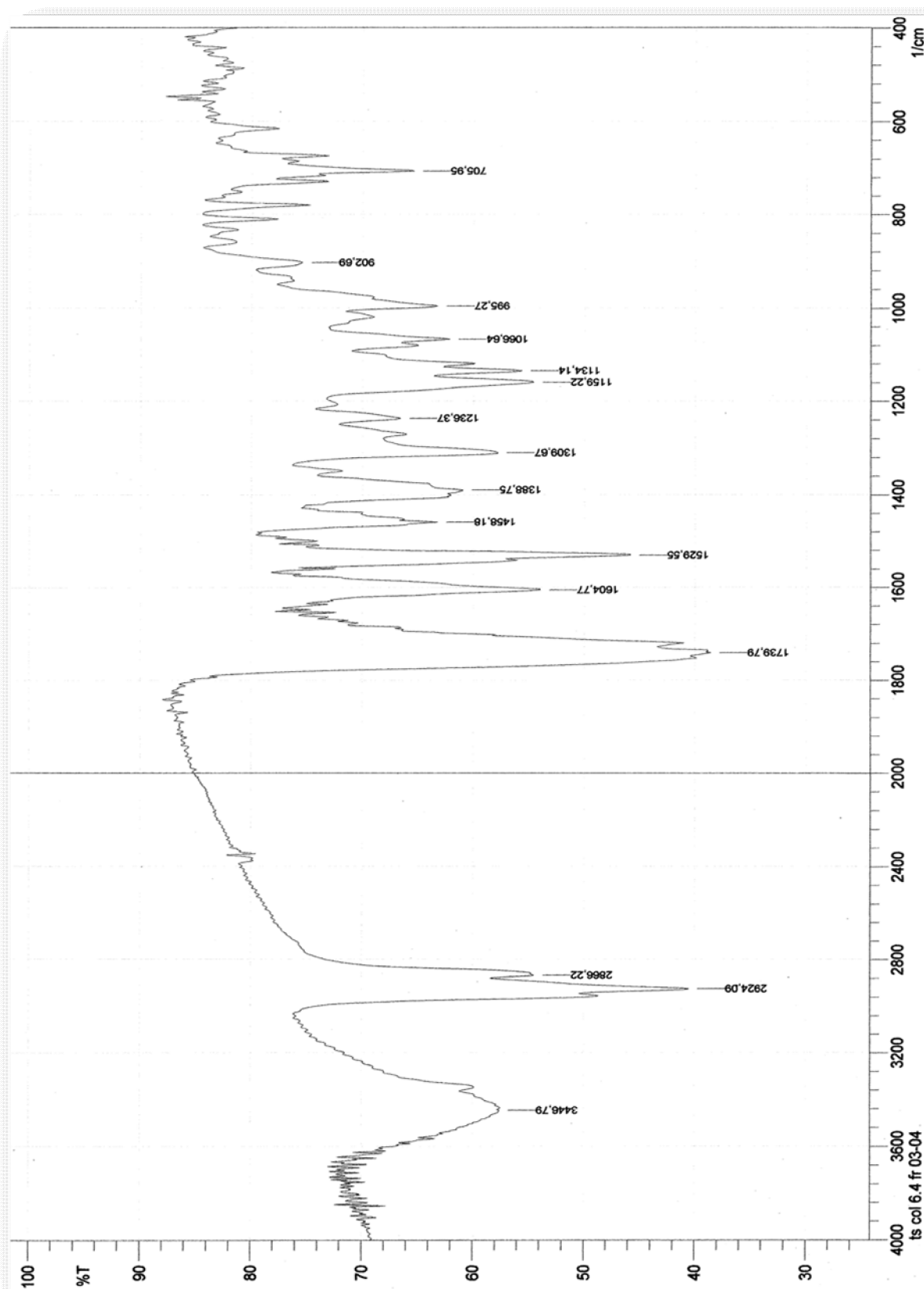


Figura 56: Espectro de IV (KBr , cm^{-1}) de *Ts-5*

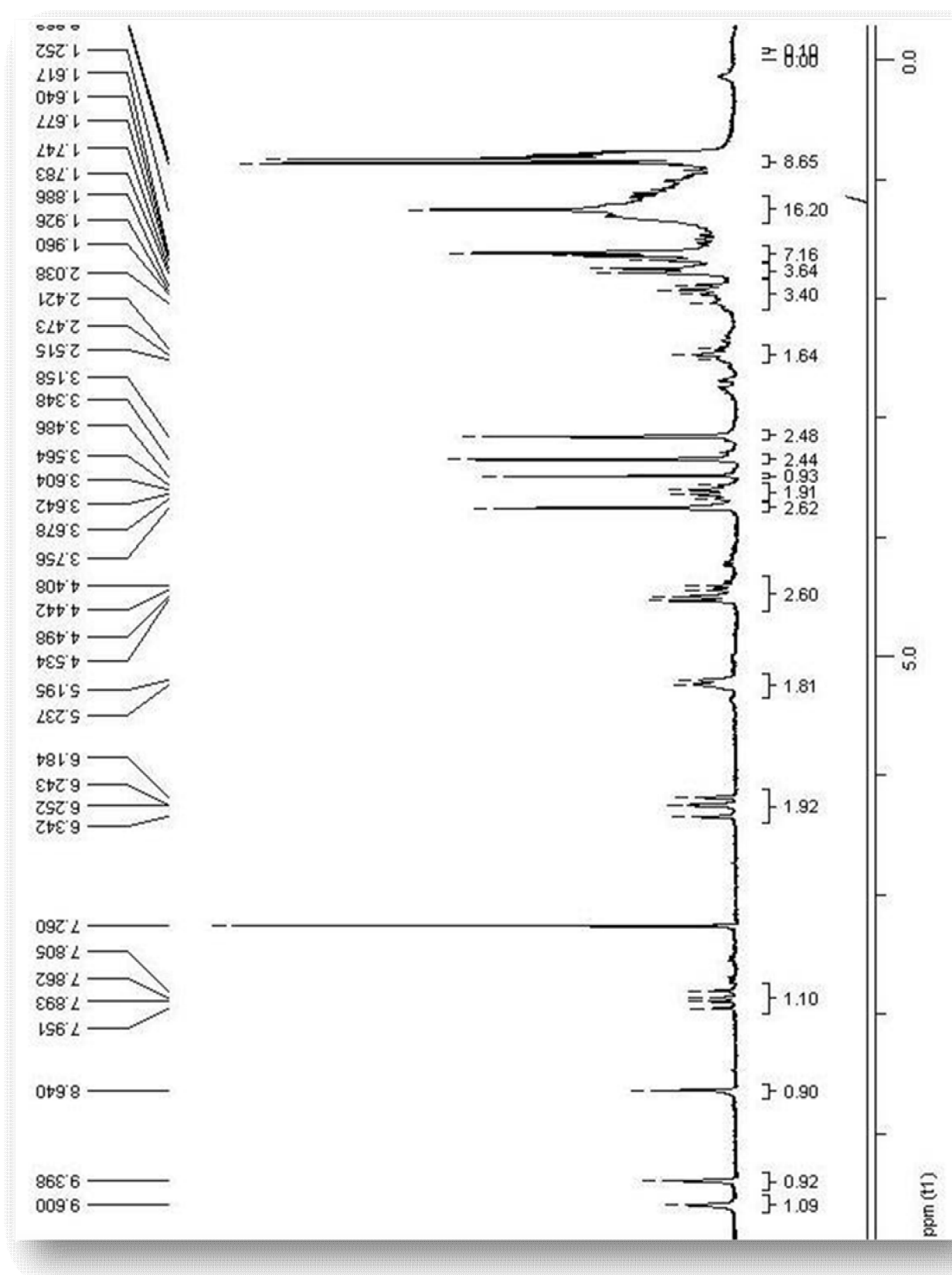


Figura 57: Espectro de RMN ^1H (δ , CDCl_3 , 200 MHz) de *Ts-5*

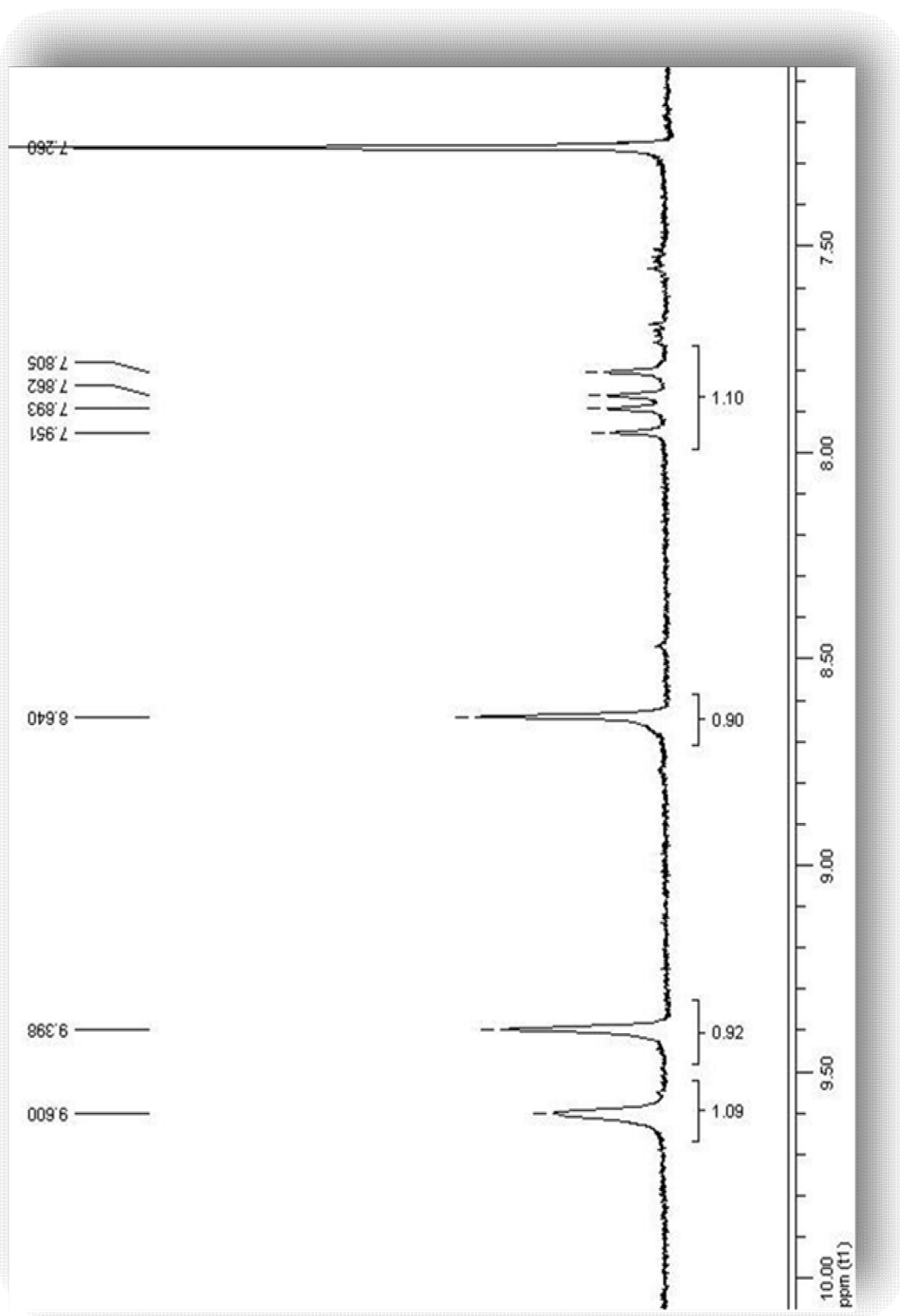


Figura 58: Expansão 1 do espectro de RMN ^1H (δ , CDCl_3 , 200 MHz) de **Ts-5**

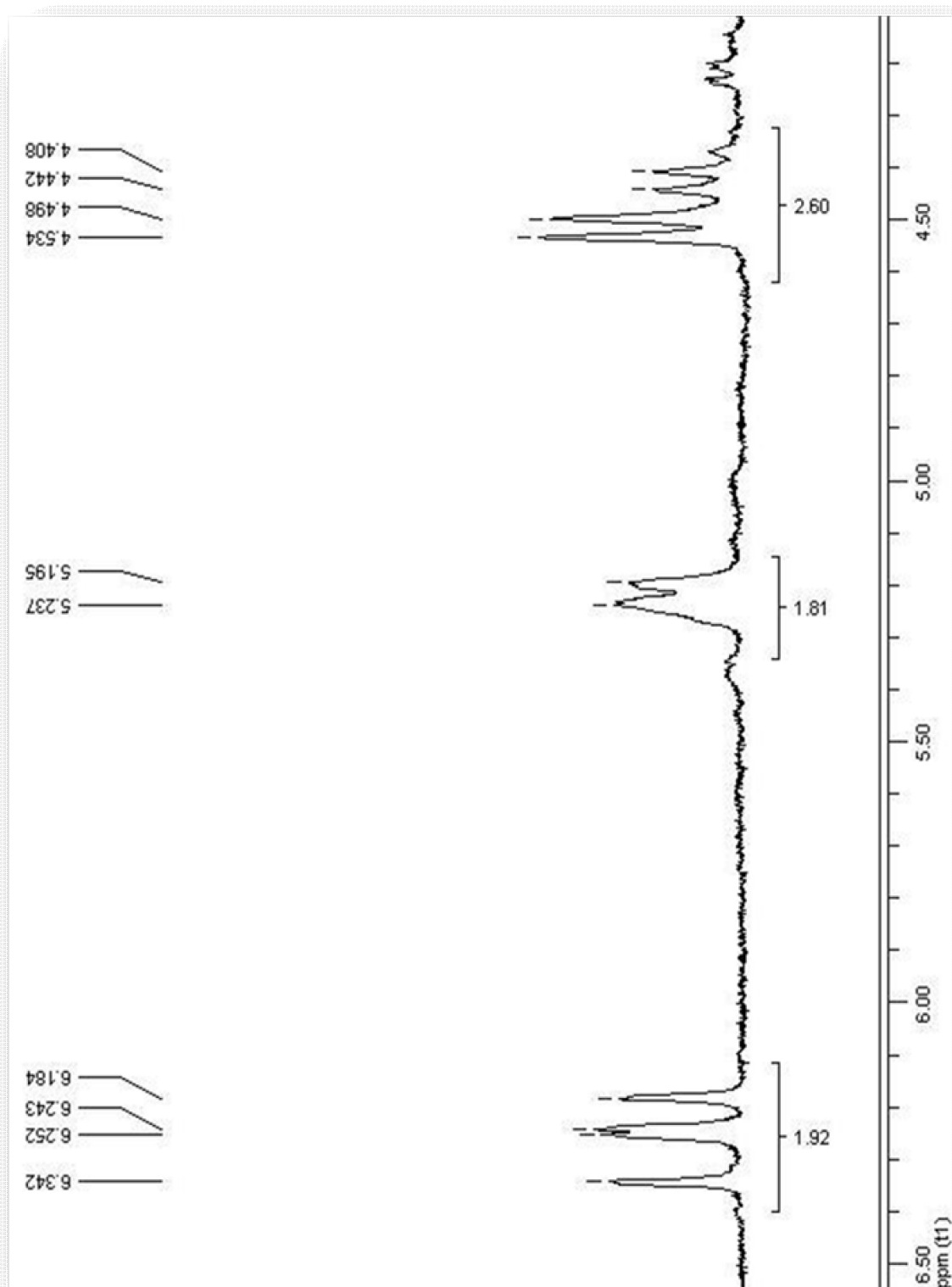


Figura 59: Expansão 2 do espectro de RMN ^1H (δ , CDCl_3 , 200 MHz) de *Ts-5*.

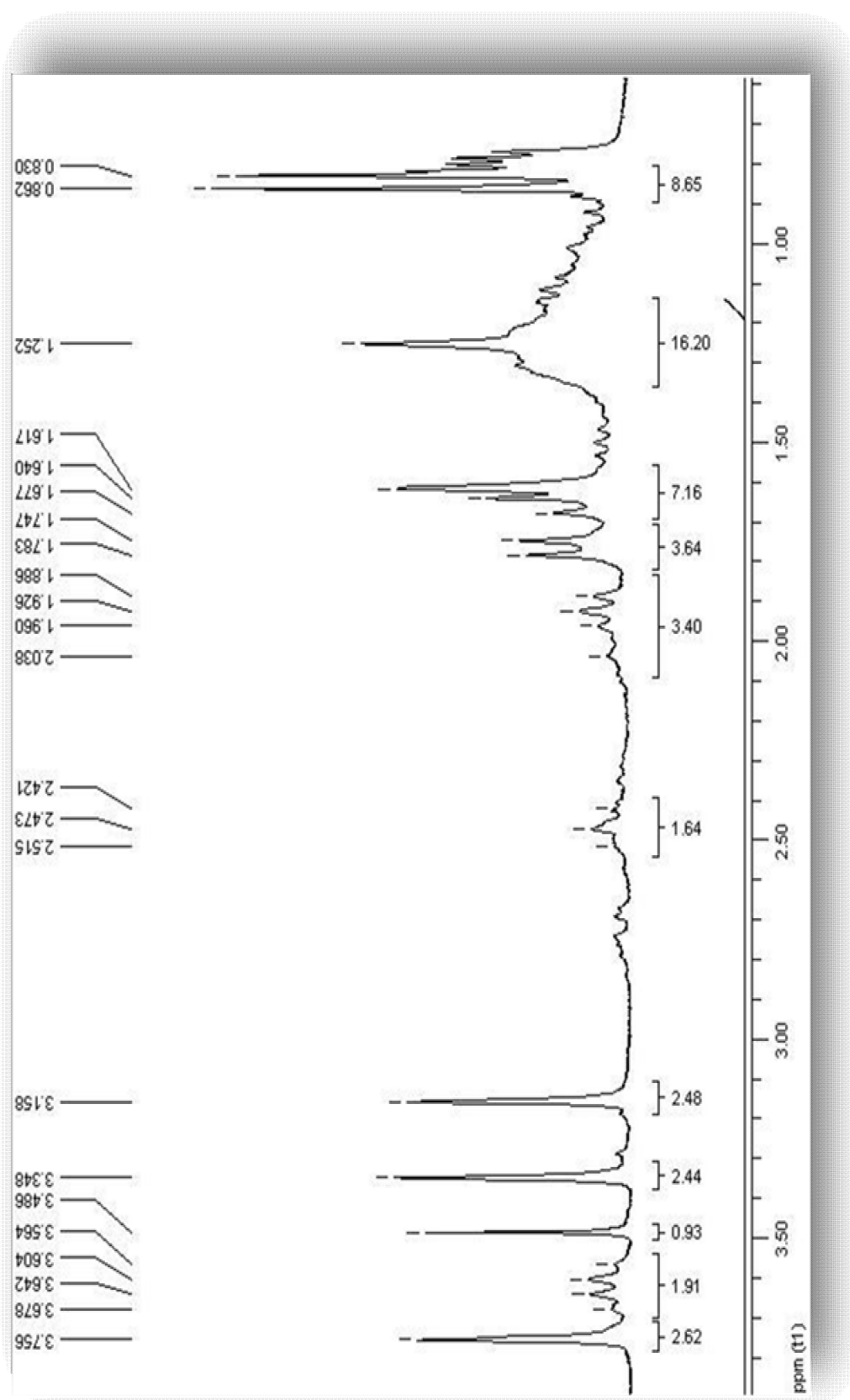


Figura 60: Expansão 3 do espectro de RMN ^1H (δ , CDCl_3 , 200 MHz) de **Ts-5**.

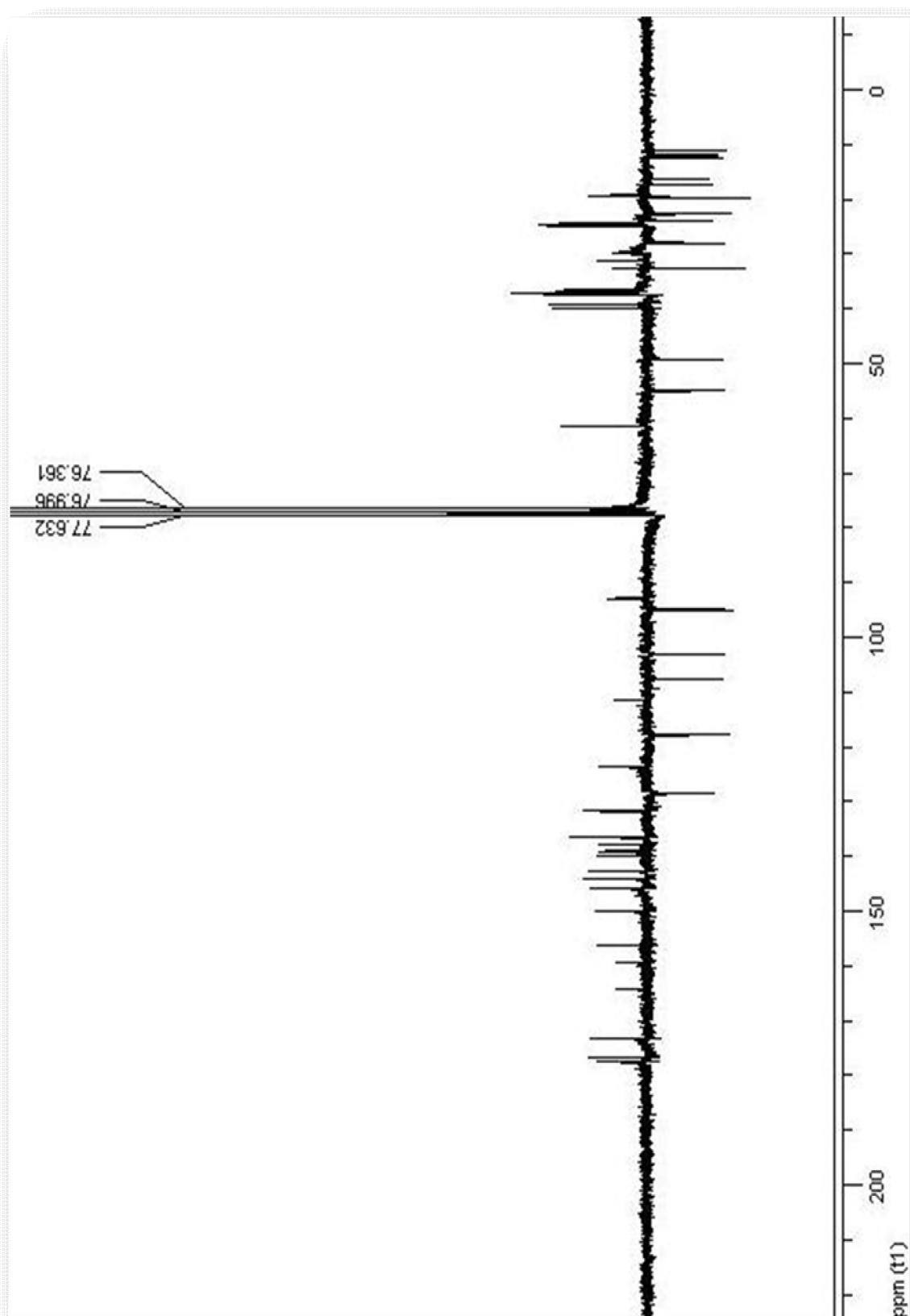


Figura 61: Espectro de RMN ^{13}C APT (δ , CDCl_3 , 50 MHz) de *Ts-5*.

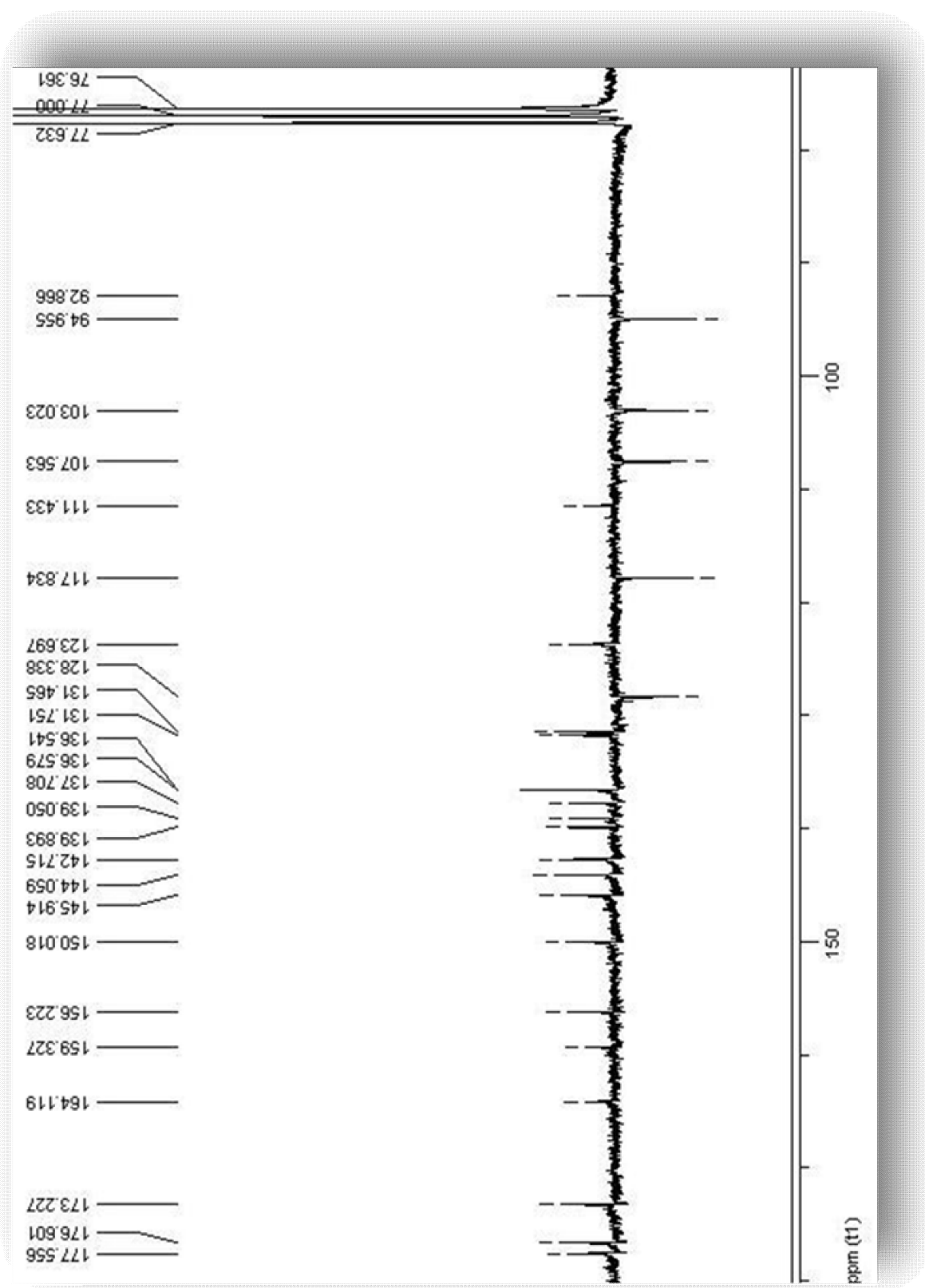


Figura 62: Expansão 1 do espectro de RMN ^{13}C APT(δ , CDCl_3 , 50 MHz) de **Ts-5**.

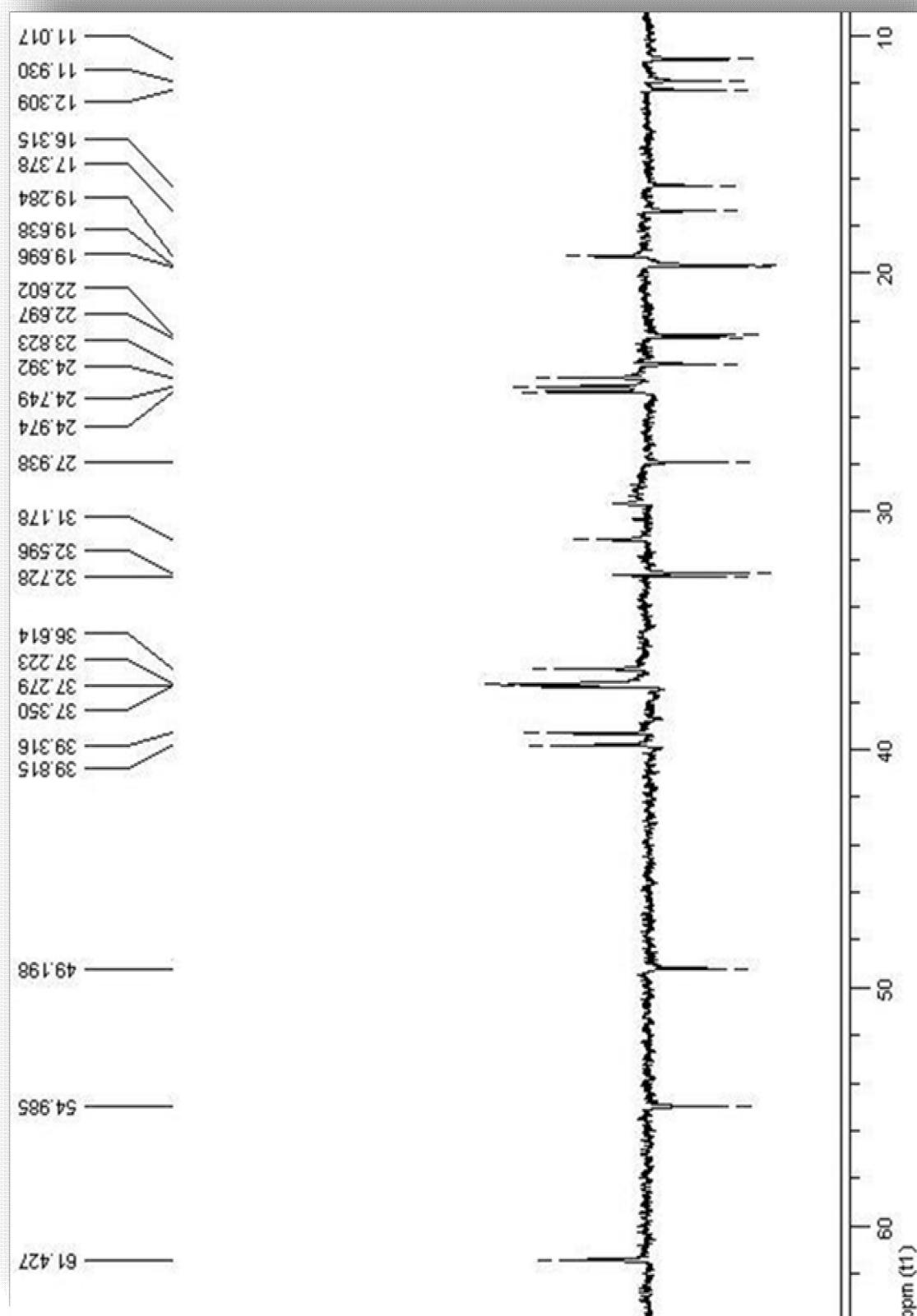


Figura 63: Expansão 2 do espectro de RMN ^{13}C APT (δ , CDCl_3 , 50 MHz) de *Ts-5*.

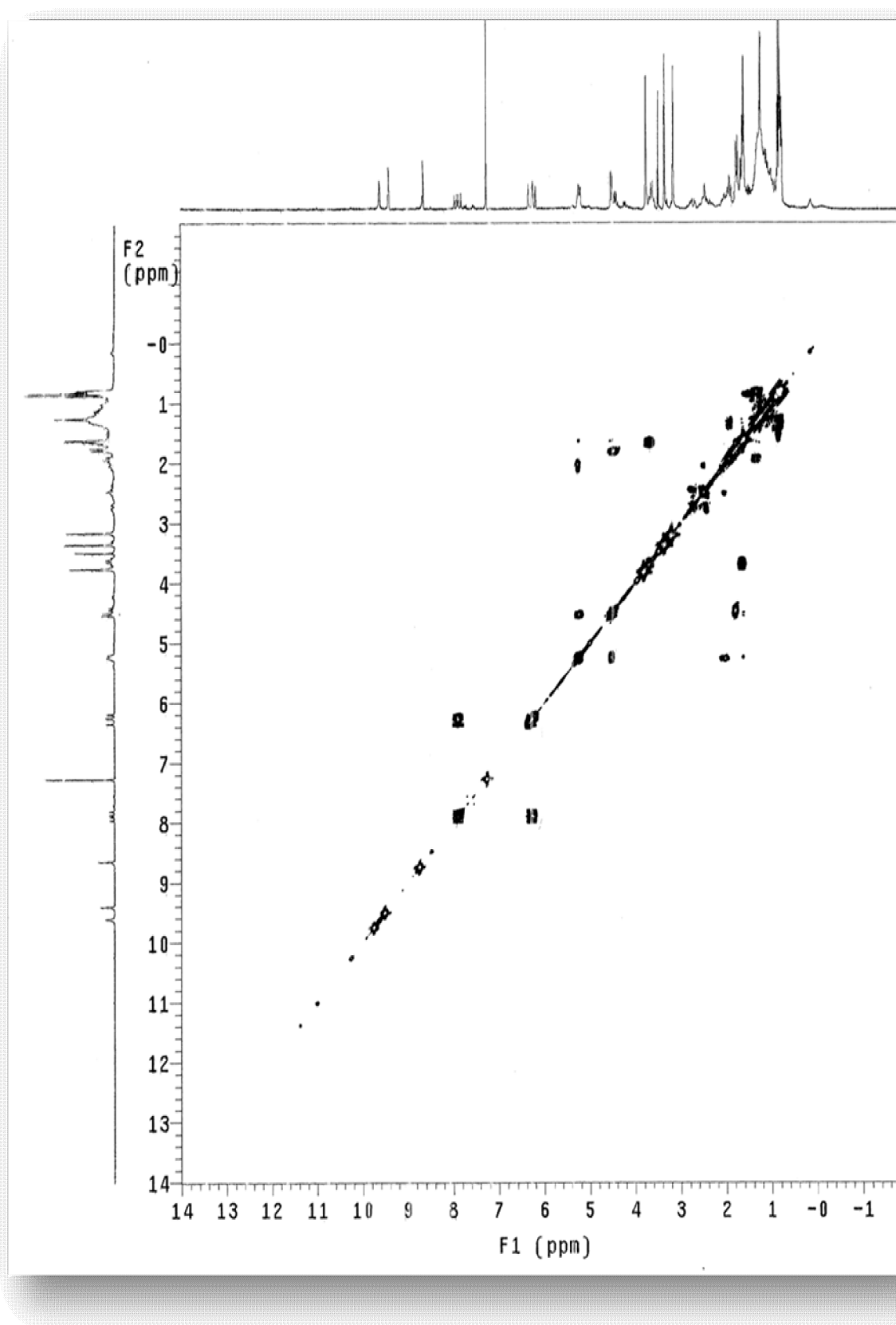


Figura 64: Espectro de RMN $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ COSY (δ , CDCl_3 , 200 MHz) de *Ts-5*.

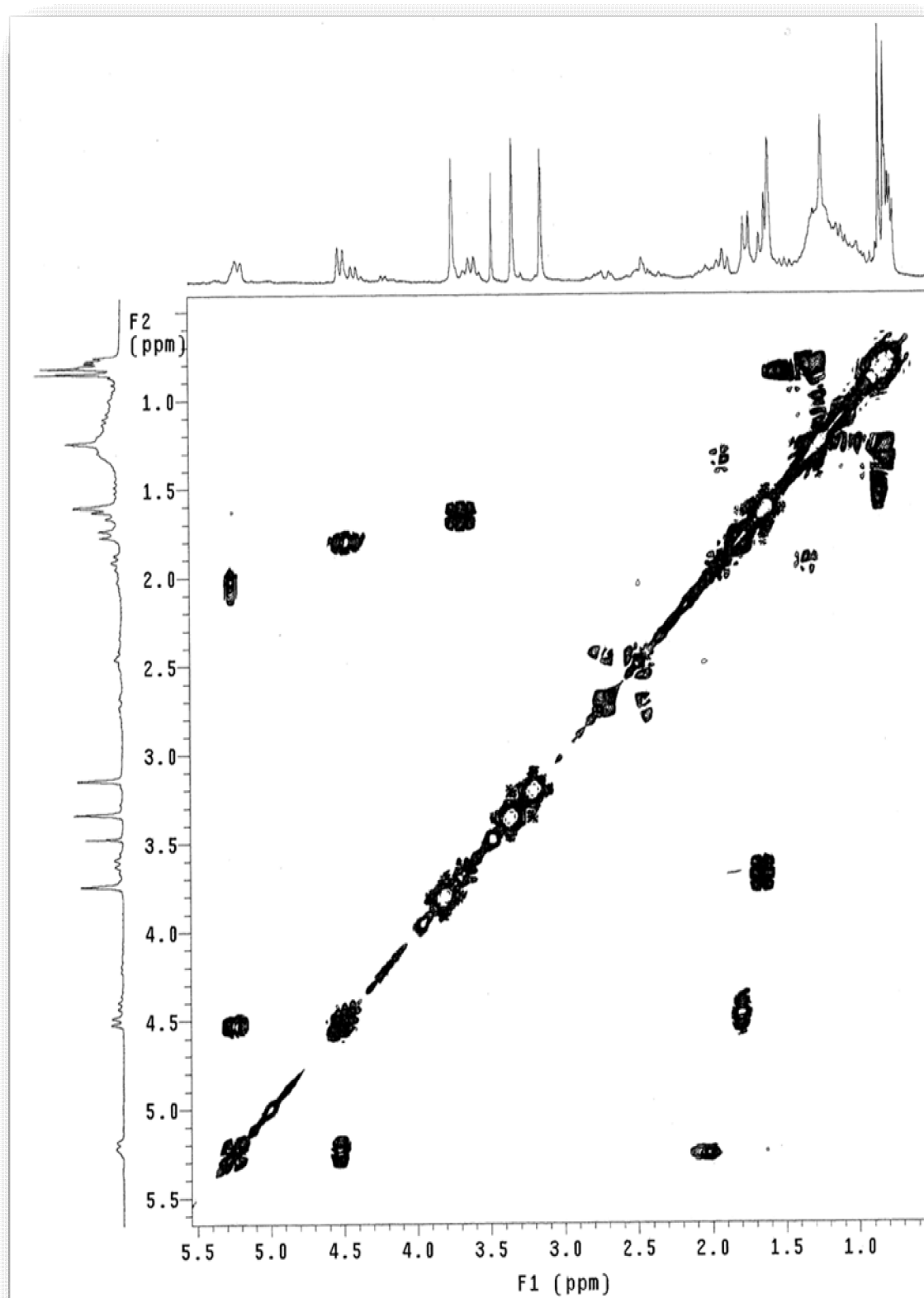


Figura 65: Expansão 1 do espectro de RMN $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ COSY (δ , CDCl_3 , 200 MHz) de

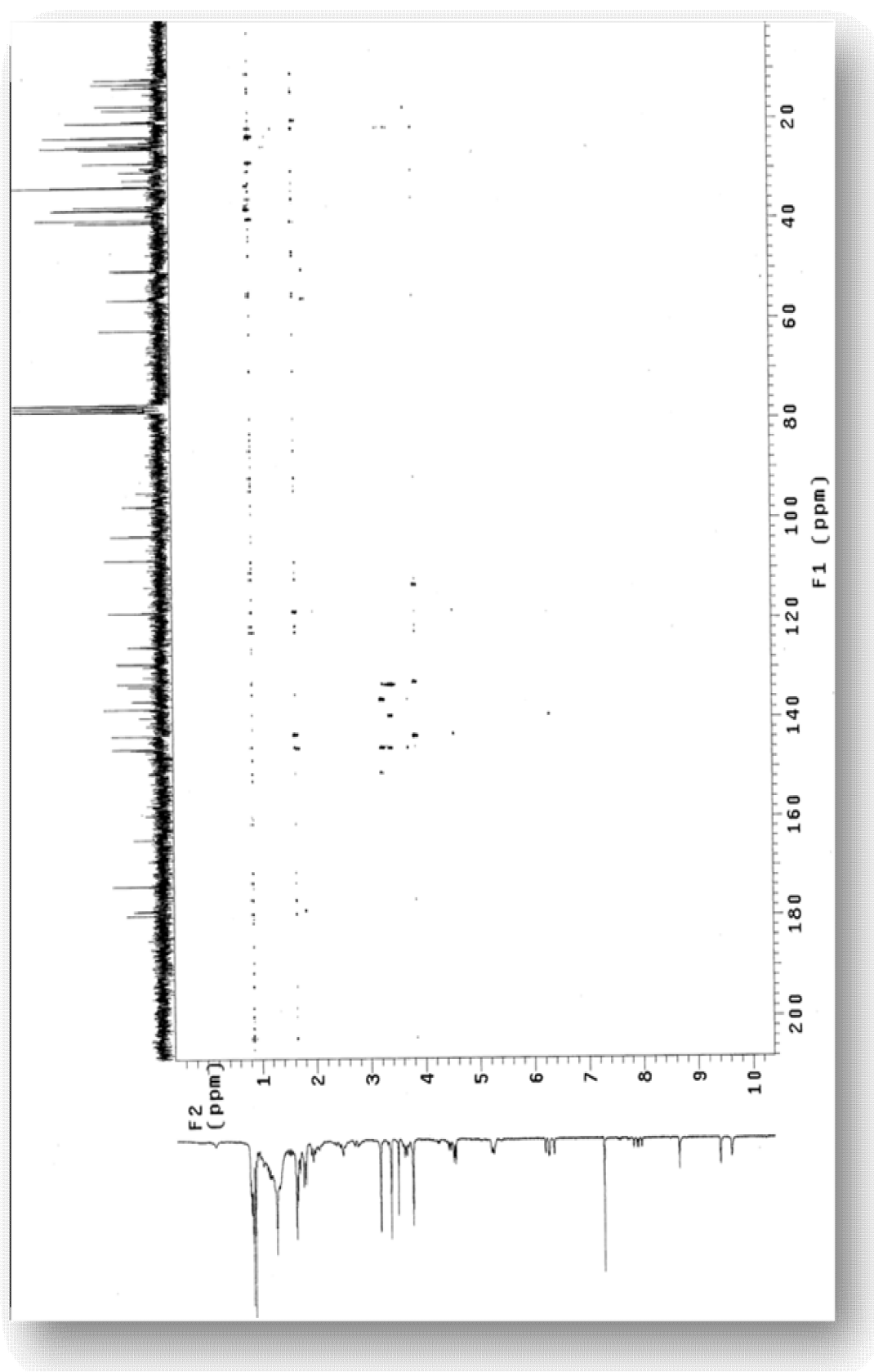


Figura 66: Espectro de RMN $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ HMBC (δ , CDCl_3 , 200 MHz) de *Ts-5*.

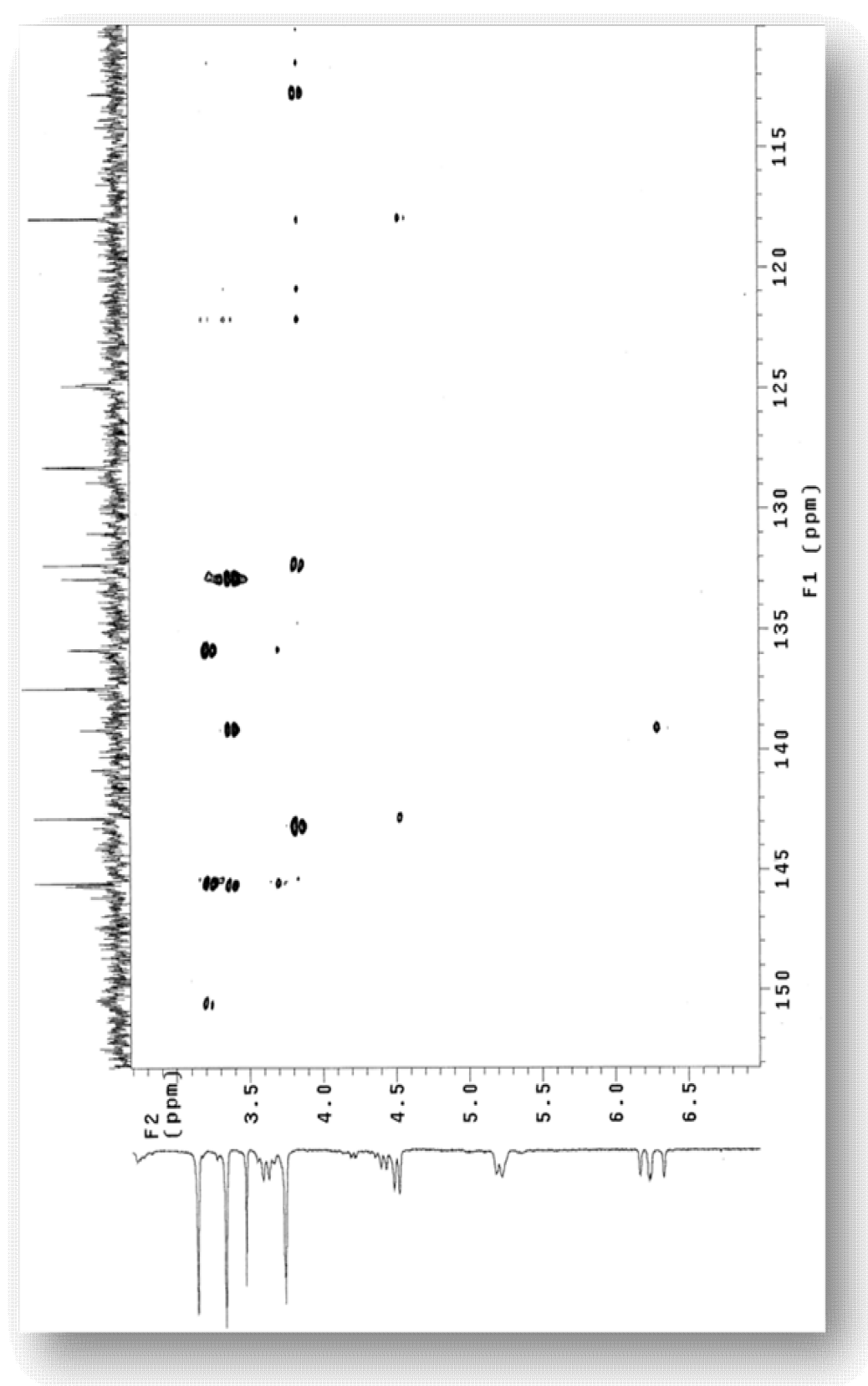


Figura 67: Expansão 1 do espectro de RMN $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ HMBC (δ , CDCl_3 , 200 MHz) de *Ts-5*.

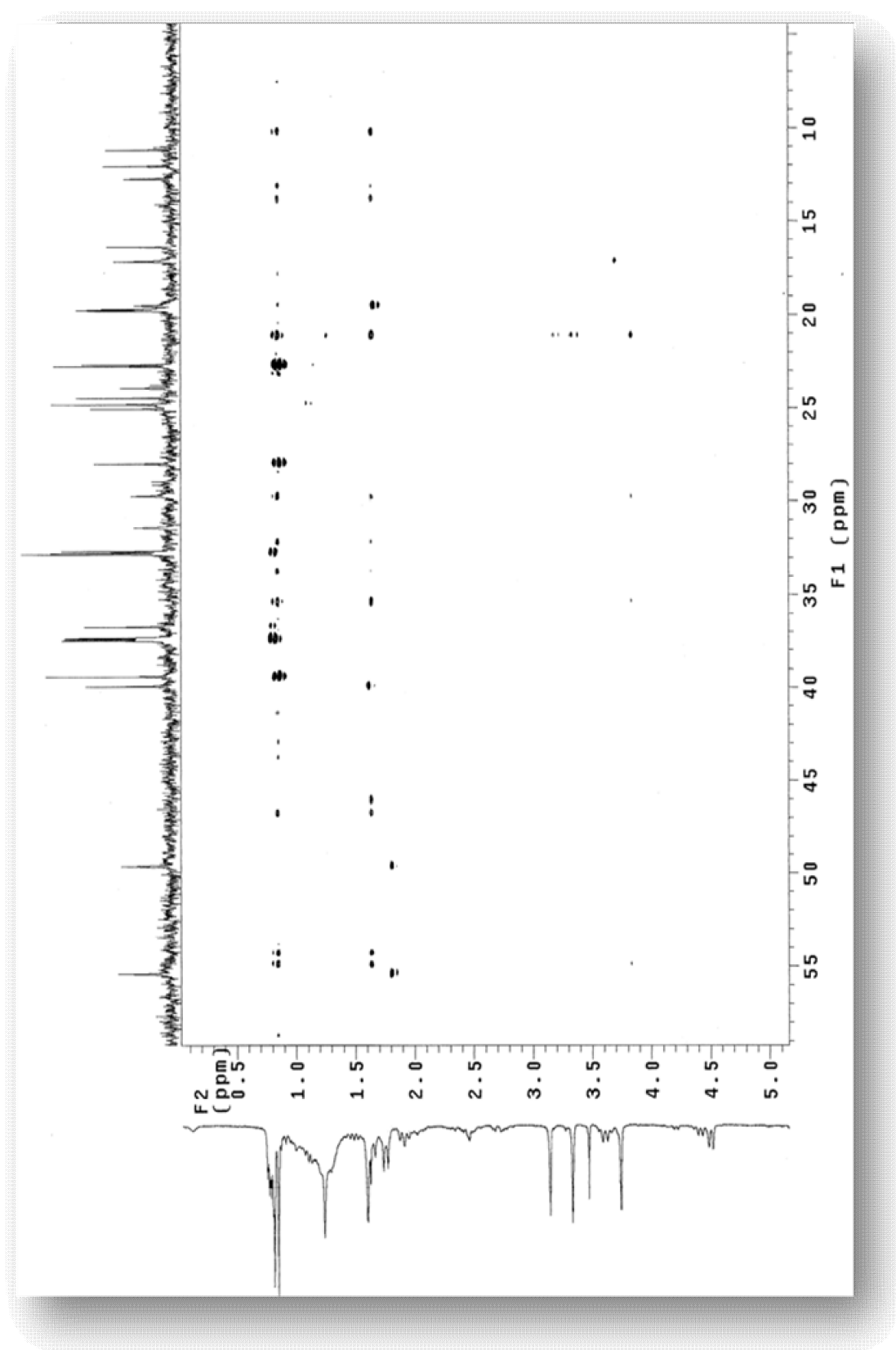


Figura 68: Expansão 2 do espectro de RMN ^1H x ^{13}C HMBC (δ , CDCl_3 , 200 MHz) de *Ts-5*.

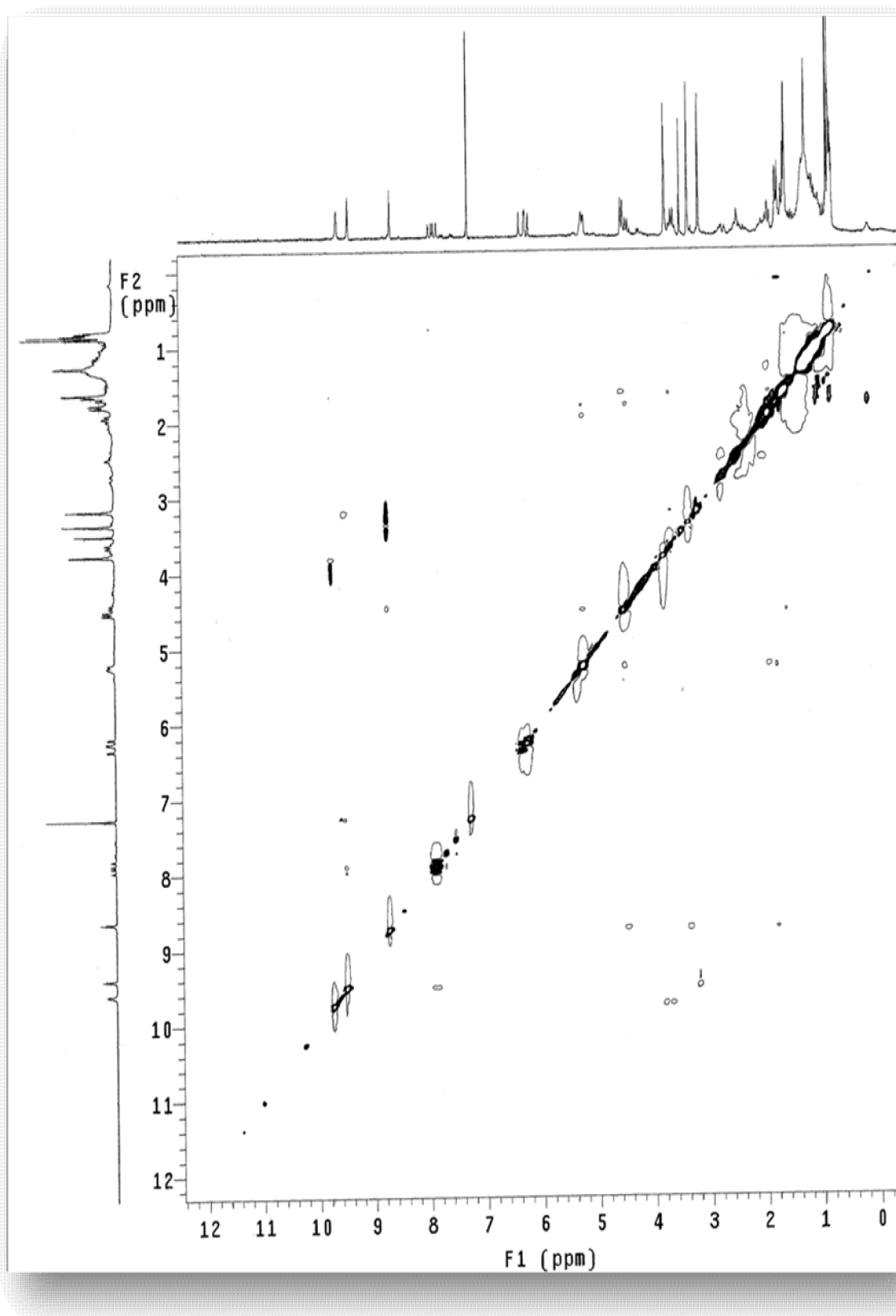


Figura 69: Espectro de RMN ^1H x ^1H -NOESY (δ , CDCl_3 , 200 MHz) de **Ts-5**.

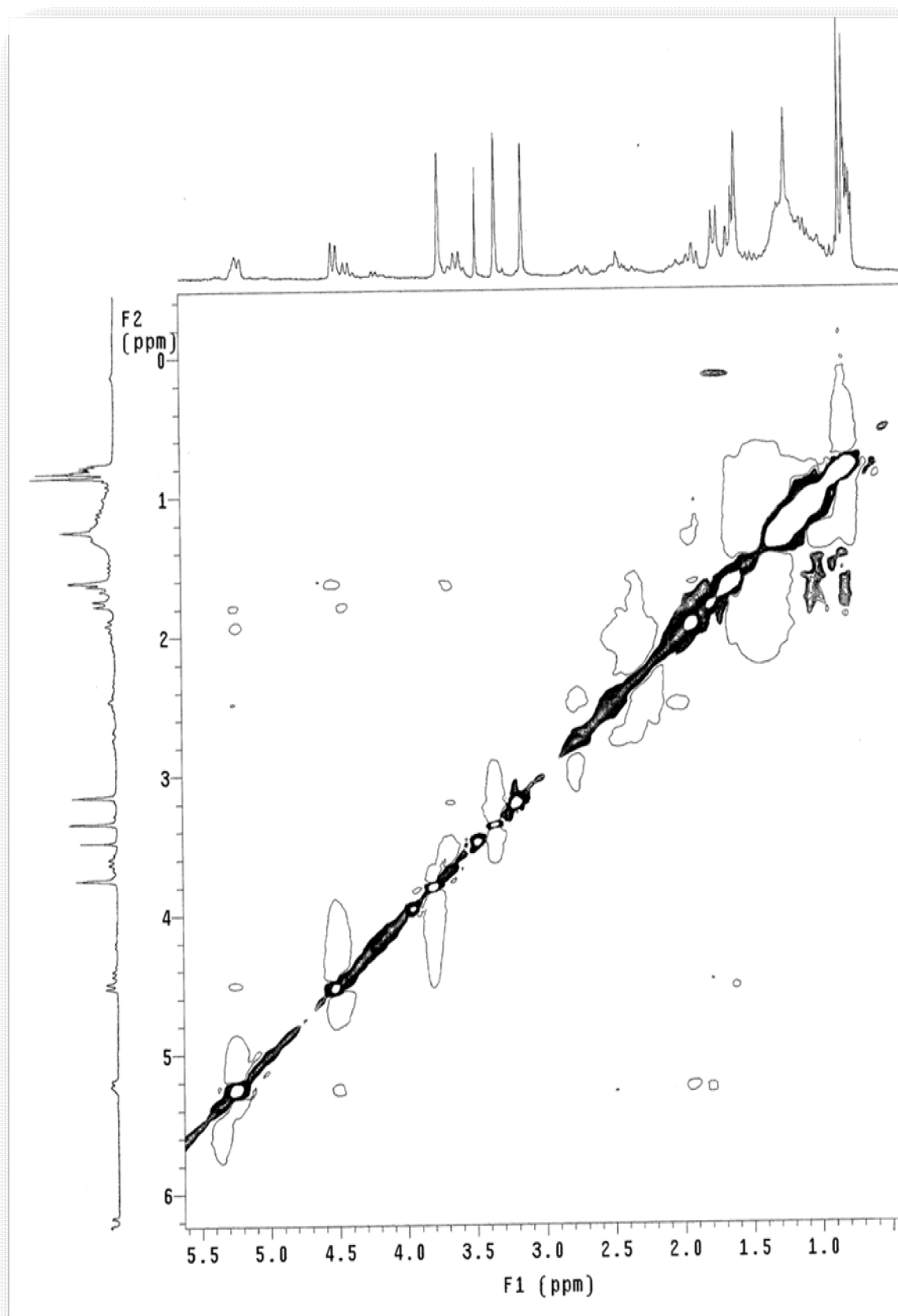


Figura 70: Expansão 1 do espectro de RMN $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ -NOESY (δ , CDCl_3 , 200 MHz) de *Ts-5*.

CONCLUSÕES

6. CONCLUSÕES

O estudo fitoquímico de *Turnera subulata* Sm atingiu seu objetivo nesta etapa, ao contribuir para o conhecimento da quimiotaxonomia da família *Turneraceae*.

➤ Através de métodos cromatográficos usuais e técnicas espectroscópicas de IV, RMN ^1H e ^{13}C uni e bidimensionais e comparações com os dados da literatura foi possível isolar e identificar seis constituintes químicos de *Turnera subulata* Sm, sendo definidas as estruturas químicas como quatro feofitinas, todas inéditas na família *Turneraceae*: Feofitina (A) (*Ts-1*); 13²-hidroxi-(13²-S)-feofitina (a) (*Ts-2*); Feofitina (b) (*Ts-4*); Purpurina 18 fitil éster (*Ts-5*); além de uma mistura de sitosterol-3-O-D-glicopiranosídeo (*Ts-3a*) e estigmasterol-3-O-β-D-glicopiranosídeo (*Ts-3b*) inéditos no gênero *Turnera*.

➤ Em virtude do potencial farmacológico apresentado por essas classes de substâncias na literatura, elas serão disponibilizadas para estudos farmacológicos tendo como finalidade a comprovação científica de algumas atividades farmacológicas citadas na medicina popular.

REFERÊNCIAS

REFERÊNCIAS

- AHMED, W.; AHMAD, Z.; MALIK, A. Stigmasteryl galactoside from *Rhynchosia minima*. **Phytochemistry**, v. 31, n. 11, p. 4038-4039, 1992.
- ALMEIDA, E. R. **Plantas medicinais brasileiras**. 1ª Ed. São Paulo: Editora Hemus, 1993.
- ANTONIO, M. A. **Ações farmacológicas gerais da *Turnera ulmifolia* L. sobre a resposta inflamatória**. Dissertação (Mestrado). Universidade Estadual de Campinas. Faculdade de Ciências Médicas. Campinas- SP, 1996.
- ANTONIO, M. A.; SOUSA BRITO, A. R. M. Oral anti-inflammatory and anti-ulcerogenic activities of a hydroalcoholic extract and partitioned fractions of *Turnera ulmifolia* (Turneraceae). **Journal of Ethnopharmacology**, v. 61, p. 215-228, 1998.
- AQUINO, R.; DE SIMONE, F.; PIZZA, C.; CERRI, R.; MELOO, J. F.; Quinovic acid glycosides from *Guettarda platypoda*. **Phytochemistry**, v. 27, n. 9, p. 2927-2930, 1988.
- ARBO, M. M. Estudios sistemáticos en *Turnera* (Turneraceae). III Series Anomaliae y *Turnera*. **Bonplandia**, n. 14, p 115-318, 2005.
- ARLETTI, R.; BENELLI, E.; CAVAZZUTI, E.; SCARPETTA, G.; BERTOLINI, A. Stimulating property of *Turnera diffusa* and *Pfaffia paniculata* extracts on the sexual behavior of male rats. **Psychopharmacology**, n. 143, p. 19-15, 1999.
- BARBOSA, D. A.; SILVA, K. N.; AGRA, M. F. Estudo farmacobotânico comparativo de folhas de *Turnera chamaedrifolia* Cambess. e *Turnera subulata* Sm. (Turneraceae). **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 17, n. 3, p. 396-413, 2007.
- BICCHI, C.; RUBIOLO, P.; CAMARGO, E. E. S.; VILEGAS, W.; GRACIOSO, J. S.; BRITO, R. M. S. Components of *Turnera diffusa* Willd. var. *afrodisiaca* (Ward) Urb. Essential Oil. **Flavour and Fragrance Journal**, v. 18, p. 59-61, 2003.

DANNHARDT, G; KIEFER, W. Cyclooxygenase inhibitors-current status and future prospects. **Eur. J. Med. Chem**, v 36, p. 109-126, 2001.

DEWICK, P. M. **Medicinal Natural Products: A Biosynthetic Approach**. John Wiley & Sons Ltd., New York, 2002.

DUAN, H.; TAKAISHI, Y.; MOMOTA, H.; OHMOTO, Y.; TAKI, T. Immunosuppressive constituents from *Saussurea medusa*. **Phytochemistry**, v. 59, p. 85-90, 2002.

ELDIN, S.; DUNFORD, A. **Fitoterapia na Atenção Primária a Saúde**. 1ª Ed. São Paulo: Editora Manole, 2001.

FERNANDES, M. G. **Abordagem fitoquímica de *Turnera subulata* Sm: uma espécie da família *Turneraceae***. 2009. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal da Paraíba (UFPB), João Pessoa – PB.

FERREIRA, V. F., PINTO, A. C. A Fito terapia no Mundo Atual. **Química Nova**, v. 33, n. 9, p. 1829, 2010.

GRACIOSO, J. S.; VILEGAS, W.; HIRUMA-LIMA, C. A.; SOUSA BRITO, A. R. M. Effects of Tea from *Turnera ulmifolia* L. on Mouse Gastric Mucosa Support the Turneraceae as a New Source of Antiulcerogenic Drugs. **Biol. Pharm. Bull**, v. 25, n. 4, p. 487-491, 2002.

JERZ, G.; ARREY, T. N.; WRAY, V. DU, Q.; WINTERHALTER, P. Structural Chracterization of 132-hydroxy-(132-S)-phaeophytin-A from leaves and stems of *Amaranthus tricolor* isolated by high- speed countercurrent chromatography. **Innovative Food Science & Emerging Tecnologies**, v. 8, p. 413-418, 2007.

KASAI, R.; MATSUMOTO, K.; NIE, R. L.; MORITA, T.; AWAZU, A; ZHOU, J.; TANAKA, O. Sweet and bitter cucurbitane glycosides from *Hemsleya carnosiflora*. **Phytochemistry**, v. 26, n. 5, p. 1371-1376, 1987.

KOJIMA, H.; SATO, N.; HATANO, A.; OGURA, H. Sterol glucosides from *Prunella vulgaris*. **Phytochemistry**, v. 29, n. 7, p. 2351-2355, 1990.

KUMAR, S.; TANEJA, R.; SHARMA, A. Pharmacognostic Standardization of *Turnera aphrodisiaca* Ward. **Journal of Medicinal Food** v. 9, n. 2, p. 254-260, 2006.

LEHNINGER, D.; NELSON, D. L.; COX, M. M. C. **Lehninger principles of biochemistry**. 4. ed. New York: W.H. Freeman, 2005.

MARTINS, E. R.; CASTRO, D. M.; CASTELLANI, D. C.; DIAS, J. E. **Plantas medicinais**. 1ª Ed. Viçosa: Editora UFV, 2000.

MATOS, F.J.A. **Introdução a Fitoquímica Experimental**. 2ª ed. Edições UFC, 1997, p. 13-14.

MATSUO, A.; ONO, K.; HAMASAKI, K.; NOZAKI, H. Phaeophytins from a cell suspension culture of the liverwort *Plagiochila ovalifolia*. **Phytochemistry**, v. 42, n. 2, p. 427-430, 1996.

MELOS, J. L. R.; SILVA, L. B.; PERES, M. T. L. P.; MAPELI, A. M.; FACCENDA, O.; ANJOS, H. H.; TORRES, T. G.; TIVIROLI, S. C.; BATISTA, A. L.; ALMEIDA, F. G. N.; FLAUZINO, N. S.; TIBANA, L. A.; HESS, S. C.; HONDA, N. K. Constituintes químicos e avaliação do potencial alelopático de *Adiantum tetraphyllum* HUMB. & BONPL. EX. WILLD (PTERIDACEAE). **Química Nova**, v. 30, n. 2, p.292-297, 2007.

NOGUEIRA, T. B. S. S. **Primeiras Substâncias de *Cordia Exaltata* Lam. Uma Contribuição para Quimiotaxonomia da família Boraginaceae LAM.** 2009. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal da Paraíba (UFPB), João Pessoa – PB.

PAVIA, D. L.; LAMPMAN, G. M.; KRIZ, G. S.; VYVYAN, J. R. **Introdução à Espectroscopia**. 4 ed. Cengage Learning, 2010

SAKDARAT, S.; SHUYPRON, A.; AYUDHYA, T. D.; WATERMAN, P. G.; KARAGIANIS, G. Chemical composition investigation of the *Clinacanthus nutans* Lindau leaves. **Thai Journal of Phytopharmacy**, v. 15, n. 1, p. 13-24, 2008.

SARMENTO SILVA, T. M.; CAMARA, C. A.; BARBOSA FILHO, J. M.; GIULIETTI, A. M. Feoforbídeo (Etoxi-Purpurina-18) Isolado de *Gossypium mustelinum* (Malvaceae). **Química Nova**, v. 33, n. 3, p. 571-573, 2010.

SCHWIKKARD, S. L.; MULHOLLAND, D. A.; HUTCHINGS, A. Phaeophytins from *Tapura fisheri*. **Phytochemistry**, v. 49, n. 8, p. 2391-2394, 1998.

SHARMA, A.; KUMAR, S. Apigenin: The Anxiolytic Constituent of *Turnera aphrodisiaca*. **Pharmaceutical Biology**, v. 44, n. 2, p. 84-90, 2006.

SILVA, D. A.; SILVA, T. M. S.; LINS, A. C. S.; COSTA, D. A.; CAVALCANTE, J. M. S.; MATIAS, W. N.; SOUZA, M. F. V. Constituintes químicos e atividade antioxidante de *Sida galheirensis* Ulbr. (Malvaceae). **Química Nova**, v. 29, n. 6, p. 1250-1254, 2006.

SILVERSTEIN, R. M.; WEBSTER, F. X.; KIEMLE, D. **Spectrometric Identification of Organic Compounds**. 7 ed. John Wiley & Sons, 2005.

SOARES, R. R. S. **Estudo de propriedades da Clorofila A e da Feofitina A visando a Terapia Fotodinâmica**. Dissertação (Mestrado). Universidade Estadual de Maringá. Centro de Ciências Exatas. Maringá – PR, 2006.

SOUZA, V. C.; LORENZI, H. **Botânica sistemática: guia ilustrado para identificação das famílias de fanerógamas nativas e exóticas do Brasil, baseado em APG II**. 2. Ed. Nova Odessa, SP: Instituto Plantarum, 2008.

STASI, L.C. **Plantas Medicinais: Arte e Ciência**. 1ª Ed. São Paulo: Editora da Unesp, 1995.

STERNBERG, E. D.; DOLPHIN, D.; BRUCKNER, C. [Porphyrin-based photosensitizers for use in photodynamic therapy](#). **Tetrahedron**, v. 54, n. 17, p. 4151, 1998.

STREIT, N. M.; CANTERLE, L. P.; CANTO, M. W.; HECKTHEUER, L. H. H. As Clorofilas. **Ciência Rural**, v. 35, n. 3, p. 748-755, 2005.

TOMAZ, A. C. A.; **Abordagem Fitoquímica de *Richardia Glandiflora* (Cham. & Schltdl.)**. 2008. 72 p. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal da Paraíba (UFPB), João Pessoa – PB.

TOMAZ, A. C. A.; NOGUEIRA, R. B. S. S.; PINTO, D. S.; AGRA, M. F.; SOUZA, M. F. V.; CUNHA, E. V. L. Chemical constituents from *Richardia grandiflora* (Cham. & Schltdl) Rubiaceae. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 8, n. 1, p. 47-52, 2008.

TOMAZZONI, M. I.; NEGRELLE, R. R. B.; CENTA, M. L. Fitoterapia Popular: A busca Instrumental Enquanto Prática Terapêutica. **Texto Contexto Enfermagem**, v. 15, n. 1, p. 115-121, 2006.

VICENTE, A. C. A.; MACEDO, E. G.; SANTOS, J. U. M.; POTIGUARA, R. C. V.; BASTOS, M. N. C. **Flora Fanerógama das Restingas do Estado do Pará. Ilha do Algodão**. Boletim do Museu Paraense Emílio Goeldi. Série Botânica Vol. 15(2). Belem - Pará. Dezembro, 1999.

WETTSTEIN, D. V.; GOUGH, S.; KANNANGARA, C. G. Chlorophyll Biosynthesis. **The Plant Cell**, v. 7, p. 1039-1057, 1995.

YAMADA, C. S. B. Fitoterapia: Sua história e Importância. **Rev Racine**, v. 43, p. 50-51, 1998.

ZHAO, J.; DASMAHAPATRA, A. K.; KHAN, S. I.; KHAN, I. A. Anti-aromatase activity of the constituents from damiana (*Turnera diffusa*). **Journal of Ethnopharmacology**, v. 120, p. 387-983, 2008.

ZHAO, J.; RAHUL, S. P.; ALI, Z.; KHAN, I. A. Phytochemical Investigation of *Turnera diffusa*. **Journal of Natural Products**, v. 70, n. 6, p. 289-292, 2007.