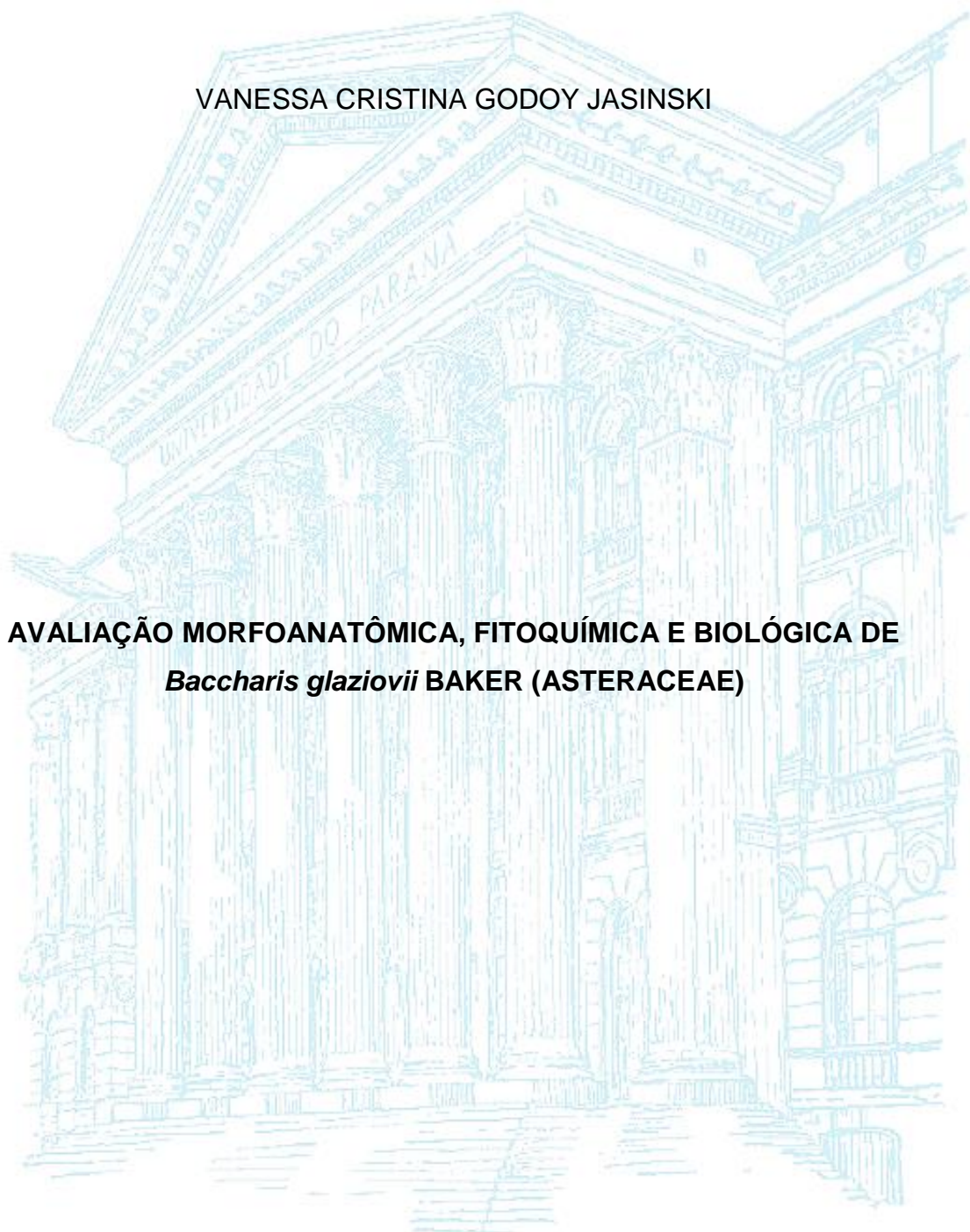


UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

VANESSA CRISTINA GODOY JASINSKI

**AVALIAÇÃO MORFOANATÔMICA, FITOQUÍMICA E BIOLÓGICA DE
Baccharis glaziovii BAKER (ASTERACEAE)**



CURITIBA

2016

VANESSA CRISTINA GODOY JASINSKI

**AVALIAÇÃO MORFOANATÔMICA, FITOQUÍMICA E BIOLÓGICA DE
Baccharis glaziovii BAKER (ASTERACEAE)**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, Área de Insumos, Medicamentos e Correlatos, Setor de Ciências da Saúde, Universidade Federal do Paraná, como requisito parcial à obtenção do título de Doutor em Ciências Farmacêuticas.

Orientadores: Prof. Dr^a. Francinete R. Campos
Prof. Dr. Roberto Pontarolo
Prof. Dr^a. Rosi Z. da Silva

CURITIBA

2016


TERMO DE APROVAÇÃO


VANESSA CRISTINA GODOY JASINSKI


Título: **"Avaliação morfoanatômica, fitoquímica e biológica de *Baccharis glaziovii* Baker (Asteraceae)"**

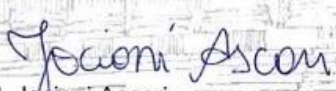
Tese aprovada como requisito parcial para a obtenção de grau de Doutor, no Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, da Universidade Federal do Paraná, área de concentração: Insumos, medicamentos e correlatos.


Prof^ª. Dr^ª. Francinete Ramos Campos
Orientadora


Prof^ª. Dr^ª. Angela Cristina Leal Badaró Trindade
Universidade Federal do Paraná


Prof^ª. Dr^ª. Joice Maria da Cunha
Universidade Federal do Paraná


Prof^ª. Dr^ª. Jane Manfron Budel
Universidade Estadual de Ponta Grossa


Prof^ª. Dr^ª. Jociani Ascari
Universidade Tecnológica Federal do Paraná

Curitiba, 17 de junho de 2016.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus, por me dar forças, coragem e proteção do meu ir e vir, para poder vencer com saúde e paz mais esta etapa na minha vida.

Ao Núcleo de Pós-Graduação e o seu corpo docente por proporcionar a oportunidade de realização do curso de Doutorado em Ciências Farmacêuticas.

Ao CNPQ e a Fundação Araucária, pelo apoio financeiro, que permitiu a realização desse trabalho.

A minha Orientadora Prof^a. Dr^a. Francinete Ramos Campos pelos ensinamentos, dedicação, seriedade e pela orientação exemplar, sempre disposta a colaborar, com empenho incansável, um exemplo de profissionalismo, tendo acreditado e me incentivado desde o início, sendo a grande responsável pelo meu crescimento e desenvolvimento intelectual nesta área de produtos naturais.

A Prof^a. Dr^a. Rosi Zanoni da Silva, não só pela co-orientação, mas também pela grande amizade, carinho e oportunidade em todos os momentos.

Ao co-orientador Prof. Dr. Roberto Pontarolo, pelo aceite inicial e pela colaboração no desenvolvimento deste trabalho.

Ao taxonomista Prof. Dr. Nelson Ivo Matzenbacher da UFRGS, pela classificação botânica e depósito do exemplar da espécie.

Ao botânico Osmar dos Santos Ribas do Herbário do Museu Botânico Municipal de Curitiba, pela classificação botânica e depósito do exemplar da espécie.

Ao especialista Dr. Gustavo Heiden do Herbário do Departamento de Botânica da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, pela classificação botânica e depósito do exemplar da espécie.

Ao Centro de Microscopia Eletrônica da Universidade Federal do Paraná, pelo uso dos laboratórios.

Aos funcionários do Centro de Microscopia Eletrônica da Universidade Federal do Paraná, Rosângela, Luiz e Thiago, pelo auxílio no processamento do material para a microscopia eletrônica de varredura.

A Prof^a. Dr^a. Jane Manfron Budel pelos ensinamentos, que muito contribuíram para o meu crescimento profissional.

Ao Prof. Dr. Andersson Barison do Centro de Ressonância Magnética Nuclear da UFPR, pela ajuda na elucidação das estruturas e seus alunos Allan e Livia pela obtenção dos espectros de RMN.

Ao Prof. Dr. Emmanoel V. Costa do Departamento de Química da UFS, pela obtenção das análises em CG-DIC e CG-EM.

Ao Prof. Dr. Marcos José Salvador do Departamento de Biologia Vegetal da UNICAMP, pela realização dos ensaios de atividade antimicrobiana e anti-inflamatório.

Ao Prof. Dr. Celso Vataru Nakamura do Departamento de Ciências Básicas da Saúde, pela realização dos ensaios anti-tripanosomo, anti-leishmania e de citotoxicidade.

Ao Prof. Dr. Flávio L. Beltrame do Departamento de Farmácia da UEPG, por abrir as portas do seu laboratório para a realização dos ensaios *in vivo* de lesão gástrica, e aos colegas: Bruno, Jheniffer e Ana Paula, pela ajuda, conversas, pela boa convivência e companheirismo.

À técnica do Laboratório da Central Analítica da UFPR, Maria da Graça Teixeira de Toledo "Gracinha", pelo auxílio e colaboração.

Aos colegas do laboratório que de alguma forma contribuíram para esta pesquisa.

Aos meus pais queridos Nilson Marcelino de Godoy e Leonilda Gonçalves Domingues de Godoy, por toda preocupação e orações que muito me incentivaram para esta realização profissional e me ensinaram a ser firme, perseverante, a respeitar a todos e a amar a Deus e ao próximo.

À minha irmã Marilane de Godoy Abib e meu Cunhado Marcos Aurélio Abib, pelas palavras de paciência, tranquilidade e orações, e aos meus sobrinhos Marcos Aurélio Abib Júnior e Dra. Lorena Abib, por todo o incentivo e receituários.

À meus amados filhos Gabriel Jasinski e Isabela Jasinski por estarem sempre comigo, aguentando a falta de paciência, ausência e estresse durante o trabalho. Amo vocês!

Ao meu querido esposo, Josiel Jasinski, por toda compreensão, paciência e companheirismo dispensada durante este trabalho e pelas horas de convivência roubadas.

A todos que participaram de forma direta ou indireta para a realização deste trabalho,

MUITO OBRIGADA.

“Assim diz o Senhor: ‘Não se glorie o sábio em sua sabedoria nem o forte em sua força nem o rico em sua riqueza, mas quem se gloriar, glorie-se nisto: em compreender-Me e conhecer-Me, pois Eu sou o Senhor, e ajo com lealdade, com justiça e com retidão sobre a Terra, pois é dessas coisas que Me agrado’, declara o Senhor”

Jeremias 9: 23, 24, Nova Versão Internacional

RESUMO

Baccharis compreende 178 espécies registrados no Brasil, e 87 destas no Estado do Paraná, que é um dos principais centros de diversidade de espécies deste gênero. Mais de 150 compostos foram isolados e identificados, sendo esses pertencentes as classes dos diterpenos, triterpenos, flavonoides, cumarinas e óleos essenciais. Algumas espécies deste gênero possuem cladódios e são popularmente conhecidas como “carquejas” e utilizadas como anti-inflamatórios, estomáquicos e diuréticos. O presente trabalho objetivou estudar a morfologia externa, a anatomia de partes vegetativas aéreas, a composição química e atividades biológicas de *Baccharis glaziovii*. O material vegetal foi analisado por métodos habituais de microscopia fotônica e de microscopia eletrônica de varredura. Dentre as espécies que apresentam caule trialado e folha destacou-se as seguintes diferenças morfoanatômicas em *B. glaziovii*, é verificada a presença de folhas e de tricomas simples, tectores e flageliformes; na região perimedular do eixo caulinar encontra-se cristais de oxalato de cálcio na forma de ráfides, estiloides e piramidais. Para a extração dos óleos essenciais de *B. glaziovii* de cladódios femininos (**BgCF**) e masculinos (**BgCM**) e de flores dos espécimes femininos (**BgFF**) e masculinos (**BgFM**) foi utilizada a destilação pou arraste de vapor, foram analisados por CG-DIC e CG-EM e apresentou (*E*)-cariofileno, β -pineno, biciclogermacreno, α -humuleno, germacreno D, espatulenol e limoneno como principais componentes dos óleos voláteis. Os extratos etanólicos de caules e folhas de *B. glaziovii* feminino (**BgF**) e de *B. glaziovii* masculino (**BgM**) foram submetidos à análise fitoquímica. O extrato **BgF** foi particionado obtendo-se as frações hexano (**BgFH**), diclorometano (**BgFD**), acetato de etila (**BgFAc**) e aquoso residual (**BgFAq**), estes foram purificadas por técnicas cromatográficas e analisadas por RMN uni e bidimensionais. Após fracionamento foram identificadas oito substâncias, três cumarinas (isofraxosídeo, magnoliosídeo e uncalina), todas inéditas em *Baccharis*, flavonoides (apigenina, naringenina e 5,7,3',5'- tetraidroxiflavona) entre os quais, um deles foi identificado pela primeira vez no gênero e um ácido fenólico (3,5-O-dicafeoilquínico). Também foram realizados ensaios biológicos tais como atividade antimicrobiana com **BgCF**, **BgCM**, **BgFF**, **BgFM**, **BgF** e **BgM**. Todos estes extratos apresentaram atividade promissora frente as bactérias e os fungos. Dando destaque para o extrato **BgFF** que apresentou ação sobre todos os microrganismos testados. A atividade anti-inflamatória *in vitro* com **BgF** e **BgM** mostrou atividade satisfatória quando comparados ao controle positivo diclofenaco de sódio (400 $\mu\text{g.mL}^{-1}$). O extrato **BgFF** apresentou uma atividade expressiva contra formas promastigotas de *Leishmania amazonensis in vitro*, com uma Cl_{50} de 6,42 $\mu\text{g.mL}^{-1}$. A fração **BgFAc** apresentou atividade antiproliferativa sobre as formas tripomastigotas (CE_{50} 44,97 $\mu\text{g.mL}^{-1}$) de *Trypanosoma cruzi in vitro*, e no ensaio de citotoxicidade em células VERO, apresentou uma CC_{50} 220,59 $\mu\text{g.mL}^{-1}$. O extrato **BgM** apresentou atividade antiproliferativa sobre as formas amastigotas (CE_{50} 86,43 $\mu\text{g.mL}^{-1}$).

Palavras chave: *Baccharis glaziovii*; morfoanatomia; composição química; ensaios biológicos

ABSTRACT

Baccharis comprises 178 species recorded in Brazil, and 87 of these in the state of Paraná, which is one of the main species diversity centers of this kind. Over 150 compounds were isolated and identified, and those belonging to the class of diterpenes, triterpenes, flavonoids, coumarins and essential oils. Some species of this genus have cladodes and are popularly known as "coots" and used as anti-inflammatory, estomáquicos and diuretics. This study aimed to study the external morphology, anatomy of vegetative aerial parts, the chemical composition and biological activity of *Baccharis glaziovii*. The plant material was analyzed by standard methods of light microscopy and scanning electron microscopy. Among the species with winged stem and leaf stood out the following morphoanatomic differences in *B. glaziovii* is verified the presence of three winged stem, leaves and flageliform and simple non-glandular trichome; perimedullary in the region of the shank axis is calcium oxalate crystals as raphides, styloid and pyramids in the perimedullary region. For the extraction of essential oils from *B. glaziovii* female cladodes (**BgCF**) and male (**BgCM**) and flowers of female specimens (**BgFF**) and male (**BgFM**) the distillation pou drag steam was used, were analyzed by GC-FID and GC-MS showed and (*E*-caryophyllene, β -pinene, bicyclogermacrene, α -humulene, sesquiterpene, spathulenol and limonene as main components of the essential oils. The ethanol extracts of stems and leaves of *B. glaziovii* female (**BgF**) and *B. glaziovii* male (**BgM**) underwent phytochemical analysis. The extract was partitioned **BgF** obtaining the hexane fractions (**BgFH**), dichloromethane (**BgFD**), ethyl acetate (**BgFAc**) and the residual aqueous (**BgFAq**), which were purified by chromatographic techniques and analyzed by NMR and one dimensional. After fractionation eight substances were identified three coumarins (isofraxoside, magnolioside and umkalin), all unpublished at *Baccharis*, flavonoids (apigenin, naringin and 5,7,3',5'-tetrahydroxyflavone) among which one was first identified time in the genre and a phenolic acid (3,5-O-dicaffeoylquinic). Also biological assays were performed such as antimicrobial activity with **BgCF**, **BgCM**, **BgFF**, **BgFM**, **BgF** and **BgM**. All these extracts showed promising activity against bacteria and fungi. Giving emphasis on the **BgFF** extract presented action on all the microorganisms. The anti-inflammatory activity in vitro **BgF** and **BgM** showed satisfactory activity when compared to diclofenac sodium positive control (400 $\mu\text{g.mL}^{-1}$). The **BgFF** extract showed a significant activity against promastigotes of *Leishmania amazonensis* in vitro with an IC_{50} 6.42 $\mu\text{g.mL}^{-1}$. The fraction was **BgFAc** antiproliferativa activity on trypomastigotes (EC_{50} 44.97 $\mu\text{g.mL}^{-1}$) of *Trypanosoma cruzi* in vitro, and the cytotoxicity assay on VERO cells, showed a CC_{50} 220.59 $\mu\text{g.mL}^{-1}$. The **BgM** extract showed antiproliferative activity on the amastigotes (EC_{50} 86.43 $\mu\text{g.mL}^{-1}$).

Keywords: *Baccharis glaziovii*; morphoanatomy; chemical composition; biological assays

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1 - DISTRIBUIÇÃO GEOGRÁFICA DAS ESPÉCIES DA FAMÍLIA ASTERACEAE NO MUNDO.....	26
FIGURA 2 - ESPÉCIES DO GÊNERO <i>Baccharis</i>	31
FIGURA 3 - <i>Baccharis glaziovii</i> . A) INFLORESCÊNCIAS FEMININAS, B) INFLORESCÊNCIAS MASCULINAS.	57
FIGURA 4 - APARATO CLEVENGER MODIFICADO.....	64
FIGURA 5 - <i>Baccharis glaziovii</i> BAKER. ASTERACEAE. A. ASPECTO GERAL; B. RAMOS VEGETATIVOS INDICANDO ALAS (al). BARRA: 1cm (A, B).....	76
FIGURA 6 - <i>Baccharis glaziovii</i> BAKER, ASTERACEAE. ASPECTO GERAL; A. GERAL; B. APARÊNCIA DE CLADÓDIOS, INDICANDO FOLHAS (fo) E ALAS (al); C. VISTA FRONTAL DE CLADÓDIOS, EXIBINDO MEDULA (me), COSTELAS (cs) E ALAS (al) EM MEV (MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA); D. VISTA FRONTAL DA EPIDERME DA ALA (ep) (MEV). BARRA: 1,5 CENTÍMETROS (A), 1 CM (B).	79
FIGURA 7 - <i>Baccharis glaziovii</i> BAKER, ASTERACEAE – ALA DE CLADÓDIOS. A. VISTA FRONTAL DAS CÉLULAS EPIDÉRMICAS, MOSTRANDO ESTÔMATO ANOMOCÍTICO (es); B. VISTA FRONTAL DAS CÉLULAS EPIDÉRMICAS, MOSTRANDO ESTÔMATO E CUTÍCULA LEVEMENTE ESTRIADA (ct) EM MEV (MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA); C. VISTA FRONTAL, INDICANDO ESTÔMATO (es) E TRICOMA TECTOR (tt); D. VISTA FRONTAL, EXIBINDO TRICOMA TECTOR (tt); E. VISTA FRONTAL, INDICANDO TRICOMAS GLANDULARES (tg); F. SECÇÃO TRANSVERSAL, MOSTRANDO EPIDERME (ep), FIBRAS (fi), PARÊNQUIMA PALIÇÁDICO (pp), FLOEMA (fl), DUCTOS SECRETORES (ds), PARÊNQUIMA ESPONJOSO (pe) E XILEMA (xi); G. BORDO DA ALA EM SECÇÃO TRANSVERSAL, MOSTRANDO EPIDERME (ep), COLÊNQUIMA (co), FIBRAS (fi), DUCTO SECRETOR (ds), FLOEMA (fl) E XILEMA (xi) EM MEV; H. BORDO DA ALA EM SECÇÃO TRANSVERSAL, EVIDENCIANDO	

EPIDERME (ep), COLÊNQUIMA (co), FIBRAS (fi), E DUCTO SECRETOR (ds). BARRA: 20 µm (A, D, F), 50 µm (H)..... 81

FIGURA 8 - *Baccharis glaziovii* BAKER, ASTERACEAE – EIXO DE CLADÓDIOS EM SECÇÃO TRANSVERSAL. A. DETALHE DO EIXO, MOSTRANDO COLÊNQUIMA (co), EPIDERME (ep), FIBRA (fi) E TRICOMAS GLANDULAR (tg) EM MEV; B. EIXO EM REAÇÃO COM SUDAN III, INDICANDO, COLÊNQUIMA (co), CUTÍCULA (ct), ENDODERME (en), EPIDERME (ep), FIBRAS (fi), FLOEMA (fl), E DUTOS SECRETORES (ds); C. DETALHE DO EIXO, EXIBINDO CLORÊNQUIMA (cl), COLÊNQUIMA (co), EPIDERME (ep), ENDODERME (en), FIBRAS (fi), FLOEMA (fl), XILEMA (xi) E MEDULA (me); D. EIXO CAULINAR EM DIREÇÃO AO COLÊNQUIMA (co), EXIBINDO EPIDERME (ep), ENDODERME (en), FIBRAS (fi), DUCTO SECRETOR (ds), FLOEMA (fl), E XILEMA (xi); E. EIXO CAULINAR EM REAÇÃO COM FLOROGLUCINA, INDICANDO COLÊNQUIMA (co), FIBRAS (fi), FLOEMA (fl), E XILEMA (xi); F. DETALHE DA FIBRA (fi) E DO DUTO SECRETOR EM MEV (ds). BARRA: 50 µm (B, D, E), 100 µm (C). 83

FIGURA 9 - *Baccharis glaziovii* BAKER, ASTERACEAE. A-C. EIXO EM MEV. A. ZONA PERIMEDULAR (pi) APRESENTANDO CRISTAIS DE OXALATO DE CÁLCIO (cre), MOSTRANDO CRISTAIS DO TIPO RÁFIDES (rf) E BIPIRAMIDES QUADRADOS ALONGADOS (cr) E ESTILÓIDES (cre); B. DETALHE DA FIGURA A, INDICANDO RÁFIDES (rf); C. DETALHE DA FIGURA A, MOSTRANDO CRISTAIS BIPIRAMIDAIS QUADRADOS ALONGADOS (cr); ORGANIZAÇÃO DA LÂMINA FOLIAR, REVELANDO MESOFILO ISOBILATERAL E MOSTRANDO EPIDERME (ep), ESTÔMATOS (es), PARÊNQUIMA PALIÇÁDICO (pp), PARÊNQUIMA ESPONJOSO (pe), TUFOS DE TRICOMAS (tu), E FEIXE VASCULAR (fv); E. NERVURA, MOSTRANDO COLÊNQUIMA (co), EPIDERME (ep), FLOEMA (fl), DUTOS SECRETORES (ds), XILEMA (xi) E FEIXES VASCULARES (fv); F. PECÍOLO EM SECÇÃO TRANSVERSAL, INDICANDO, COLÊNQUIMA (co),

ESTÔMATOS (es), EPIDERME (ep), DUTOS SECRETORES (ds), E FEIXES VASCULARES (fv). BARRA: 50 µm (D, E), 100 µm (F). ...	86
FIGURA 10 - CROMATOGRAMAS DE CG DE <i>Baccharis glaziovii</i> BAKER, ASTERACEAE. (BgCF , BgCM , BgFF e BgFM).....	88
FIGURA 11 - ESTRUTURA MOLECULAR DA APIGENINA (BgF_1).....	98
FIGURA 12 - ESTRUTURA MOLECULAR DO ISOFRAXOSÍDEO (BgF_2) .	102
FIGURA 13 - ESTRUTURA MOLECULAR DO MAGNOLIOSÍDEO (BgF_3).	107
FIGURA 14 - ESTRUTURA MOLECULAR DA UNCALINA (BgF_4)	109
FIGURA 15 - ESTRUTURA MOLECULAR DE 5,7,3',5'-TETRA- HIDROXIFLAVONA (BGF_5).....	112
FIGURA 16 - ESTRUTURA MOLECULAR DE NARINGENINA (BgF_6)	116
FIGURA 17 - ESTRUTURA MOLECULAR DE NARINGENINA (BgF_7)	119
FIGURA 18 - ESTRUTURA MOLECULAR DO ÁCIDO 3,5-O- DICAFFEOILQUÍNICO (BgF_8).....	123

LISTA DE TABELAS

TABELA 1 - USOS POPULARES E ATIVIDADES FARMACOLÓGICAS COMPROVADAS DE ALGUMAS ESPÉCIES PERTENCENTES À FAMÍLIA ASTERACEAE	28
TABELA 2 - ATIVIDADES BIOLÓGICAS E CONSTITUINTES QUÍMICOS DESCRITOS EM ESTUDOS DE VÁRIAS SEÇÕES COM ESPÉCIES DO GÊNERO <i>Baccharis</i>	34
TABELA 3 - COMPOSIÇÃO DO ÓLEO ESSENCIAL DE CLADÓDIOS DE <i>Baccharis glaziovii</i> FEMININOS (BgCF) E MASCULINOS (BgCM)	89
TABELA 4 - COMPOSIÇÃO DO ÓLEO ESSENCIAL DE FLORES DE <i>Baccharis glaziovii</i> FEMININOS (BgFF) E MASCULINOS (BgFM).	92
TABELA 5 - DADOS DE RMN 1D E 2D DE BgF_1	99
TABELA 6 - DADOS DE RMN 1D E 2D DE BgF_2	103
TABELA 7 - DADOS DE RMN 1D E 2D DE BgF_3	107
TABELA 8 - DADOS DE RMN 1D E 2D DE BgF_4	110
TABELA 9 - DADOS DE RMN 1D E 2D DE BgF_5	113
TABELA 10 - DADOS DE RMN 1D E 2D DE BgF_6	116
TABELA 11 - DADOS DE RMN 1D E 2D DE BgF_7	120
TABELA 12 - DADOS DE RMN 1D E 2D DE BgF_8	124
TABELA 13 - ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DOS ÓLEOS ESSENCIAIS E EXTRATOS DE <i>Baccharis glaziovii</i>	128
TABELA 14 - ATIVIDADE ANTI-INFLAMATÓRIA <i>IN VITRO</i> DOS EXTRATOS DE <i>B. glaziovii</i> , EXPRESSA EM PORCENTAGEM DE INIBIÇÃO DA DESNATURAÇÃO DE ALBUMINA BSA.....	129
TABELA 15 - VALORES DE CC ₅₀ (µg.mL ⁻¹), IC ₅₀ (µg.mL ⁻¹) E IS PARA OS EXTRATOS HIDROALCOÓLICOS E DE ÓLEOS ESSENCIAIS DE <i>B. glaziovii</i> FRENTE <i>Leishmania amazonenses</i>	133
TABELA 16 - VALORES DE CC ₅₀ (µg.mL ⁻¹), CE ₅₀ (µg.mL ⁻¹) E IS PARA OS EXTRATOS E MISTURA DE SUBSTÂNCIA DE <i>B. glaziovii</i> FRENTE <i>Trypanosoma cruzi</i>	134

TABELA 17 - VALOR DE CE₅₀ (µg.mL⁻¹) E CV (%) PARA OS EXTRATOS DE *B. glaziovii* FRENTE *Trypanosoma cruzi*. 135

LISTA DE ESPECTROS

ESPECTRO 1 - COMPARAÇÃO DE ESPECTROS DE RMN DE ¹ H (600 MHz, CD ₃ OD) DE BgF E BgM	94
ESPECTRO 2 - COMPARAÇÃO DE ESPECTROS DE RMN de ¹ H AMPLIADOS NA REGIÃO DE 8,3-6,0 ppm (600 MHz, CD ₃ OD) DE BgF E BgM	95
ESPECTRO 3 - ESPECTRO DE LRMS NO MODO NEGATIVO DE IONIZAÇÃO DE BgM (METANOL).....	96
ESPECTRO 4 - ESPECTRO DE LRMS NO MODO POSITIVO DE IONIZAÇÃO DE BgF (METANOL 1% DE ÁCIDO FÓRMICO).....	96
ESPECTRO 5 - ESPECTRO DE RMN DE ¹ H (600 MHz, CDCl ₃) DA FRAÇÃO BgF_1	100
ESPECTRO 6 - MAPA DE CORRELAÇÃO DE HSQC (600 MHz, CDCl ₃) DA FRAÇÃO BgF_1	100
ESPECTRO 7 - MAPA DE CORRELAÇÃO DE HMBC (600 MHz, CDCl ₃) DA FRAÇÃO BgF_1	101
ESPECTRO 8 - ESPECTRO DE RMN DE ¹ H (600 MHz, MeOD) DA MISTURA BgF_2 + BgF_3 + BgF_4 E EXPANSÃO DOS SINAIS EM 6,35 ppm; 7,85 ppm; 4,90 ppm.	104
ESPECTRO 9 - MAPA DE CORRELAÇÃO DE HSQC (600 MHz, MeOD) DA MISTURA BgF_2 + BgF_3 + BgF_4	104
ESPECTRO 10 - MAPA DE CORRELAÇÃO DE HMBC (600 MHz, MeOD) DA MISTURA BgF_2 + BgF_3 + BgF_4	105
ESPECTRO 11 - EXPERIMENTO DE HRMS DA MISTURA BgF_2 + BgF_3 + BgF_4 (METANOL 1% DE ÁCIDO FÓRMICO), REFERENTE A BgF_2 NA MISTURA.....	105
ESPECTRO 12 - ESPECTRO DE RMN DE ¹ H (600 MHz, MeOD) DA MISTURA BgF_2 + BgF_3 + BgF_4 E EXPANSÃO DOS SINAIS EM 8,27 ppm E 6,16 ppm, REFERENTE A BgF_3 NA MISTURA.....	108
ESPECTRO 13 - AMPLIAÇÃO DO ESPECTRO DE MASSAS NA FAIXA DE M/Z 352-356 DO EXPERIMENTO DE HRMS DA MISTURA BgF_2 + BgF_3 + BgF_4 (METANOL 1% DE ÁCIDO FÓRMICO).....	108

ESPECTRO 14 - ESPECTRO DE RMN DE ¹ H (600 MHz, MeOD) DA MISTURA BgF_2 + BgF_3 + BgF_4 E EXPANSÃO DOS SINAIS EM 8,11 ppm e 6,12 ppm.	110
ESPECTRO 15 - AMPLIAÇÃO DO ESPECTRO DE MASSAS NA FAIXA DE <i>M/Z</i> 210-227 DO EXPERIMENTO DE HRMS DA MISTURA BgF_2 + BgF_3 + BgF_4 (METANOL 1% DE ÁCIDO FÓRMICO), REFERENTE A BgF_4 NA MISTURA.	111
ESPECTRO 16 - ESPECTRO DE RMN DE ¹ H (600 MHz, CDCl ₃) DE BgF_5	113
ESPECTRO 17 - MAPA DE CORRELAÇÃO DE HSQC (600 MHz, CDCl ₃) DE BgF_5	114
ESPECTRO 18 - MAPA DE CORRELAÇÃO DE HMBC (600 MHz, CDCl ₃) DE BgF_5	114
ESPECTRO 19 - ESPECTRO DE RMN DE ¹ H (600 MHz, CDCl ₃) DA MISTURA BgF_6	117
ESPECTRO 20 - MAPA DE CORRELAÇÃO DE HSQC (600 MHz, CDCl ₃) DA MISTURA BgF_6	117
ESPECTRO 21 - MAPA DE CORRELAÇÃO DE HMBC (600 MHz, CDCl ₃) DA MISTURA BgF_6	118
ESPECTRO 22 - AMPLIAÇÃO DO ESPECTRO DE MASSAS NA FAIXA DE <i>M/Z</i> 271-275.5 DO EXPERIMENTO DE HRMS DE BgF_6 (METANOL 1% DE ÁCIDO FÓRMICO).	118
ESPECTRO 23 - ESPECTRO DE RMN DE ¹ H (600 MHz, CDCl ₃) DE BgF_7	120
ESPECTRO 24. MAPA DE CORRELAÇÃO DE HSQC (600 MHz, CDCl ₃) DE BgF_7	121
ESPECTRO 25 - MAPA DE CORRELAÇÃO DE HMBC (600 MHz, CDCl ₃) DE BgF_7	121
ESPECTRO 26 - AMPLIAÇÃO DO ESPECTRO DE MASSAS NA FAIXA DE <i>M/Z</i> 271-279 DO EXPERIMENTO DE HRMS DE BgF_7 (METANOL 1% DE ÁCIDO FÓRMICO).	122

ESPECTRO 27 - ESPECTRO DE RMN DE ^1H (600 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆) DE BgF_8	125
ESPECTRO 28 - MAPA DE CORRELAÇÃO DE HSQC (600 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆) DE BgF_8	125
ESPECTRO 29 - MAPA DE CORRELAÇÃO DE HMBC (600 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆) DE BgF_8	126
ESPECTRO 30 - AMPLIAÇÃO DO ESPECTRO DE MASSAS NA FAIXA DE <i>M/Z</i> 470-562 DO EXPERIMENTO DE HRMS DE BgF_8 (METANOL 1% DE ÁCIDO FÓRMICO).....	126

LISTA DE SIGLAS

δ	– Deslocamento químico
φ	– Diâmetro da coluna
1D	– Uma dimensão
2D	– Duas dimensões
AcOEt	– Acetato de Etila
ATCC	– American Type Culture Collection
BgF	– Extrato Bruto Hidroalcoólico Feminino
BgM	– Extrato Bruto Hidroalcoólico Masculino
BgFF	– Extrato Flor Feminino
BgFM	– Extrato Flor Masculina
BgCF	– Extrato Cladódio Feminino
BgCM	– Extrato Cladódio Masculina
BgFAc	– Extrato Feminino Acetato de Etila
BgFAq	– Extrato Feminino Aquoso
BgFD	– Extrato Feminino em Diclorometano
BgFH	– Extrato Feminino Hexânico
BOD	– Demanda Bioquímica de Oxigênio
BSA	– Albumina Soro Bovino
CC	– Coluna Cromatográfica
CCDA	– Cromatografia em Camada Delgada Analítica
CE	– <i>Collision energy</i>
CH₂Cl₂	– Diclorometano
CH₃OH	– Metanol
CG	– Cromatografia à Gás
CI₅₀	– Concentração Inibitória Média
CIM	– Concentração Inibitória Mínima

<i>d</i>	– Dupleto
<i>dd</i>	– Duplo Dupleto
d.i.	– Diâmetro interno
d.p.	– Diâmetro da partícula
DIMS	– <i>Direct Injection Mass Spectrometry</i>
DIC	– <i>Direct Injection Mass Spectrometry</i>
DL₅₀	– Dose Letal Média
DMSO-<i>d</i>₆	– Dimetilsulfóxido Deuterado
ESI	– <i>Eletrospray</i>
HMBC	– <i>Heteronuclear Multiple Bond Correlation</i>
HRMS	– Espectrometria de massas de alta resolução
HSQC	– <i>Heteronuclear Single Quantum Coherence</i>
Hz	– Hertz
IUCN	– <i>The IUCN Red List of Threatened Species</i>
IS	– <i>Íon Spray voltage</i>
<i>J</i>	– Constante de Acoplamento
LRMS	– <i>Low resolution mass spectrum</i>
<i>m</i>	– Multipleteo
MEV	– Microscopia Eletrônica por Varredura
R_f	– Fator de Retenção
RMN de ¹H	– Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio
RMN de ¹³C	– Ressonância Magnética Nuclear de Carbono 13
<i>s</i>	– Simpleto
SOD	– Superóxido Dismutase
TMS	– Tetrametilsilano
UFC	– Unidades Formadoras de Colônia

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	22
2 OBJETIVOS	25
2.1 OBJETIVO GERAL	25
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	25
3 REVISÃO DA LITERATURA	26
3.1 FAMÍLIA ASTERACEAE	26
3.2 GÊNERO <i>Baccharis</i> L.....	30
3.3 ASPECTOS QUÍMICOS E BIOATIVIDADES DE ACORDO COM A CLASSIFICAÇÃO INFRAGENÉRICA DE <i>Baccharis</i> L.....	33
3.4 QUÍMICA DOS VOLÁTEIS E ATIVIDADES BIOLÓGICAS NO GÊNERO <i>Baccharis</i> L.....	44
3.5 <i>Baccharis</i> SEÇÃO <i>Caulopterae</i>	45
3.5.1 Análise morfoanatômica de partes vegetativas aéreas de <i>Baccharis</i> Secção <i>Caulopterae</i>	48
3.5.2 Química dos óleos essenciais de <i>Baccharis</i> seção <i>Caulopterae</i>	51
3.6 <i>Baccharis glaziovii</i> BAKER	56
4 MATERIAL E MÉTODOS	58
4.1 SUPORTE PARA CROMATOGRAFIA	58
4.2 REAGENTES E EQUIPAMENTOS.....	58
4.3 COLETA E IDENTIFICAÇÃO BOTÂNICA	61
4.4 ESTUDO MORFOANATÔMICO	62
4.4.1 Lâminas semipermanentes.....	62
4.4.2 Testes microquímicos.....	62
4.4.3 Microscopia eletrônica de varredura.....	63
4.5 SECAGEM E MOAGEM DO MATERIAL BOTÂNICO	63
4.6 OBTENÇÃO DOS ÓLEOS ESSENCIAIS	63
4.7 OBTENÇÃO DOS EXTRATOS.....	64
4.7.1 Fracionamento cromatográfico	65
4.7.2 Fração BgFD	65
4.7.3 Fração BgFAc.....	66

4.8 ENSAIOS BIOLÓGICOS.....	67
4.8.1 Ensaio antimicrobiano.....	67
4.8.2 Ensaio anti-inflamatório <i>in vitro</i>	69
4.8.3 Avaliação da atividade antiúlcera	70
4.8.4 Atividade antiproliferativa em formas promastigotas e amastigotas axênica de <i>Leishmania amazonenses</i>	71
4.8.4.1 Cultura de parasitos e macrófagos.....	71
4.8.4.2 Ensaios antiproliferativos <i>in vitro</i>	71
4.8.4.3 Ensaios de citotoxicidade <i>in vitro</i>	72
4.8.5 Atividade antiproliferativa na forma tripomastigotas de <i>Trypanosoma cruzi</i>	72
4.8.5.1 Parasitos	72
4.8.5.2 Células de mamíferos.....	73
4.8.5.3 Ensaio de viabilidade de formas tripomastigotas de <i>T. cruzi</i>	73
4.8.5.4 Ensaio antiproliferativo em formas amastigotas intracelulares de <i>T. cruzi</i>	74
4.8.5.5 Ensaios de toxicidade celular frente a células VERO.....	74
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	76
5.1 ANÁLISE MORFOLÓGICA EXTERNA	76
5.2 ANÁLISE ANATÔMICA.....	77
5.3 ANÁLISE DOS ÓLEOS ESSENCIAIS	87
5.4 ANÁLISE DO PERFIL QUÍMICOS DOS EXTRATOS DE <i>B. glaziovii</i> (BgF E BgM) POR RMN DE ¹ H.....	93
5.5 ANÁLISE DO PERFIL QUÍMICOS DOS EXTRATOS DE <i>B. glaziovii</i> (BgF E BgM) POR DIMS.....	95
5.6 FRACIONAMENTO CROMATOGRÁFICO DO EXTRATO BgF	97
5.6.1 Determinação estrutural de BgF_1	97
5.6.2 Determinação estrutural da mistura BgF_2 + BgF_3 + BgF_4	101
5.6.2.1 Determinação estrutural de BgF_2	101
5.6.2.2 Determinação estrutural de BgF_3	106
5.6.2.3 Determinação estrutural de BgF_4	109
5.6.3 Determinação estrutural de BgF_5 a BgF_7	111
5.6.3.1 Determinação estrutural de BgF_5	111

5.6.3.2 Determinação estrutural de BgF_6 na mistura.....	115
5.6.3.3 Determinação estrutural de BgF_7	119
5.6.4 Determinação estrutural de BgF_8	122
5.7 ATIVIDADE ANTIMICROBIANA	127
5.8 ATIVIDADE ANTI-INFLAMATÓRIO <i>in vitro</i>	129
5.9 ATIVIDADE ANTIÚLCERA EM MODELOS AGUDOS.....	130
5.10 ATIVIDADE ANTIPROLIFERATIVA E ANTILEISHMANICIDA DE <i>Baccharis glaziovii</i>	131
5.11 ATIVIDADE ANTIPROLIFERATIVA E TRIPANOCIDA DE <i>Baccharis glaziovii</i>	133
6 CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	136
REFERÊNCIAS.....	138
ANEXOS	177

1 INTRODUÇÃO

Historicamente, as plantas têm sido utilizadas como recurso terapêutico desde os primórdios. Sua importância como fitoterápico é registrada em culturas milenares, como na medicina tradicional chinesa e indiana (ALONSO, 1998; GURIB-FAKIN, 2006). No Brasil, há relatos de que os primeiros exploradores percorreram grande parte do território brasileiro, com o intuito de registrar os conhecimentos dos usos e propriedades de mais de uma centena de plantas coletadas, algumas hoje bem conhecidas por suas atividades farmacológicas, como o jiquiriti (*Abrus precatorius* L.), caju (*Anacardium occidentale* L.), jaborandi legítimo (*Pilocarpus microphyllus*), ipecacuanha (*Cephaelis ipecacuanha*), cipó mil-homens (*Aristolochia cymbifera*), abuta (*Cissampelos pareira*) e muitas outras (CARDIM, 1978; GAMA, 1875; LEMOS, 1947; PEREIRA, 1982). As pesquisas realizadas pelos primeiros naturalistas, do que se utilizava e do que foi estudado no século XIX, sobre plantas medicinais presentes no Brasil, servem de base para muitas das pesquisas nas áreas de taxonomia, morfoanatomia, química, biologia e farmacologia de produtos naturais. Dessa forma, a biodiversidade do Brasil oferece diversas possibilidades de encontrar evidências científicas no tratamento médico de muitas patologias, e é considerada uma fonte de substâncias biologicamente ativas, embora grande parte ainda permaneça sem comprovação de seus princípios ativos, suas atividades farmacológicas e dados toxicológicos (BARREIRO e BOLZANI, 2009).

Com cerca de 55 mil espécies de plantas, apenas 0,4% da flora brasileira tem sido investigada (GURIB-FAKIM, 2006). Estudos mostraram a eficácia das plantas medicinais no tratamento de doenças como Alzheimer, problemas do coração, malária, leishmaniose, esquistossomose, câncer, herpes, artrite, dentre outras, e efeitos como anticânceres, anti-inflamatórios, antiulcerosos, antinociceptivos, antidiabéticos e diuréticos (ELISABETSKY e POSEY, 1989, 1994; ELISABETSKY e CASTILHOS, 1990; LORENZI e MATOS, 2008; MANZALI DE SÁ e ELISABETSKY, 2012; SIMÕES et al., 2004; SOUZA et al., 2004).

Calcula-se que 25% de todos os fármacos modernos sejam derivados direta ou indiretamente de plantas medicinais, gerando um potencial de

lucratividade. Neste sentido, o setor global de fitoterápicos em 2011 movimentou 26 bilhões de dólares, variando conforme as condições econômicas e sociais de cada região do globo. No Brasil estima-se que esse mercado gire em torno de 1,1 bilhão de reais (IMS Health). Sob este aspecto, é importante ressaltar que o maior mercado de fitoterápicos encontra-se na Alemanha, e que sete países em desenvolvimento da América Latina, incluindo o Brasil, são considerados abundantes em reservas de plantas medicinais que ainda não foram completamente avaliadas, nem química, nem farmacologicamente. Portanto, no Brasil existe uma grande necessidade de estratégias adequadas e métodos de pesquisa altamente eficientes, que envolvam com qualidade todas as fases da produção de um medicamento fitoterápico, para que possa competir neste mercado (ALVES, 2013).

Considerando estes fatores, o potencial de busca de fitoterápicos que há no Brasil, o grande número de plantas sem estudos, a falta de identificação botânica e sua extensiva utilização popular, justificam o desenvolvimento de estratégias e metodologias na busca por novos fármacos.

Em função destas razões, e por não haver estudos da espécie *Baccharis glaziovii* Baker, esta foi selecionada para esse trabalho. Conhecida como carqueja, possui dispersão ampla nos campos de altitude do sul do Brasil (HEIDEN, IGANCI e MACIAS, 2009), podendo ser confundida com outras espécies de *Baccharis* que compõe o complexo carquejas. Devido a semelhança morfológica entre estas espécies e mesmo nome popular, são utilizadas para a mesma finalidade terapêutica (DEGEN et al., 2005), podendo gerar efeitos tóxicos prejudiciais a saúde (ANVISA, 2011). Atualmente, as espécies estão inseridas na seção *Caulopterae* são semelhantes, por apresentarem caules de duas ou três alas e o que as diferencia taxonomicamente é a anatomia floral (HEIDEN, IGANCI e MACIAS, 2009). Dentre as carquejas, *B. trimera* é a planta mais utilizada popularmente, a mais estudada anatomicamente, quimicamente e farmacologicamente (BUDEL et al., 2005; CAMPOS et al., 2016; RODRIGUEZ et al., 2010), reconhecida como fitoterápico pela Farmacopéia Brasileira 5ª ed. (2010) e pela ANVISA (2011).

Diante disso, este estudo visa auxiliar no conhecimento farmacobotânico, químico e biológico de *Baccharis glaziovii* Baker, corroborando

ao grupo das carquejas, uma vez que é comum a confusão entre diferentes espécies, conhecidas pelo mesmo nome popular (ALVES, 2013).

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Avaliar sob aspecto morfoanatômico, químico e biológico da espécie *Baccharis glaziovii* Baker (Asteraceae).

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

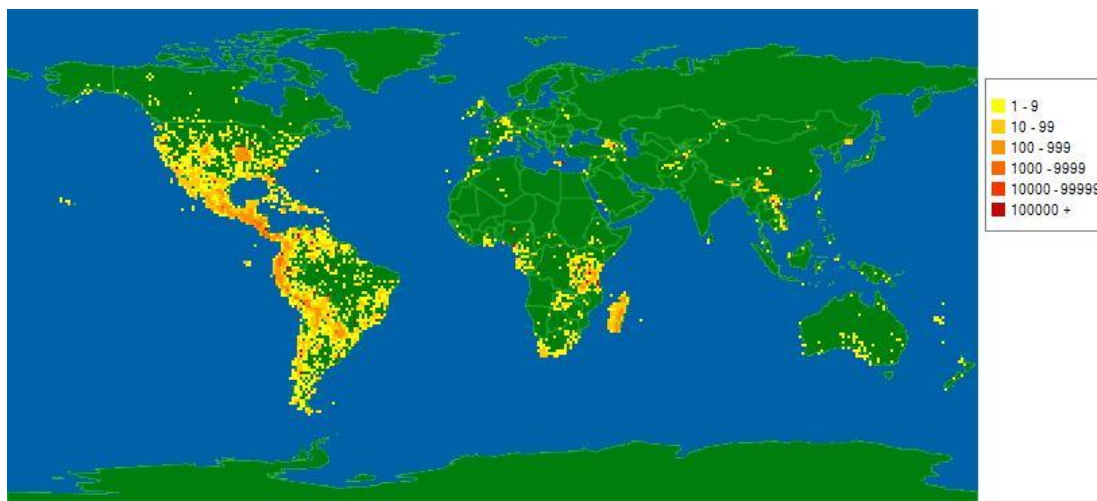
- ✓ Coletar flores, folhas e cladódios da espécie *Baccharis glaziovii*;
- ✓ Realizar estudos morfoanatômicos das folhas e cladódios;
- ✓ Extrair os óleos essenciais das flores e cladódios da planta masculina e feminina;
- ✓ Realizar a caracterização química por CG-DIC e CG-EM dos óleos essenciais;
- ✓ Obter e fracionar os extratos dos cladódios por técnicas cromatográficas;
- ✓ Identificar os metabólitos secundários dos extratos, frações e compostos isolados por técnicas espectroscópicas de RMN e EM;
- ✓ Realizar ensaio de atividade antimicrobiana *in vitro* de óleos essenciais e extratos;
- ✓ Realizar ensaios de atividade anti-inflamatória *in vitro* e antiulcerogênica *in vivo* dos extratos;
- ✓ Realizar ensaios de atividades antiproliferativas em formas promastigotas e amastigotas axênica de *Leishmania amazonensis*, e na forma tripomastigotas e amastigotas de *Trypanosoma cruzi*.

3 REVISÃO DA LITERATURA

3.1 FAMÍLIA ASTERACEAE

Asteraceae é a maior família das Eucotiledôneas e reúne aproximadamente 8-10% das Angiospermas. Compreende mais de 1.600 gêneros e 23.600 espécies, que se distribuem de forma ampla pelas regiões tropicais, subtropicais e temperadas do mundo, exceto na Antártida (FIGURA 1) (JEFFREY, 2006; PANERO e FUNK, 2008). O sistema de classificação estabelecido recentemente reconhece 12 subfamílias e 28 tribos, dentre as quais a tribo *Asterae* está distribuída amplamente em regiões temperadas e tropicais, com cerca de 205 gêneros e 3.080 espécies (NESOM e ROBINSON, 2006; PANERO e FUNK, 2008). *Asterae* está dividida em 18 subtribos. Dentre estas, a subtribo *Baccharidinae* Less., é exclusivamente americana formada por espécies monoicas, polígamo-dioicas, dioicas e trioicas (BARROSO e BUENO, 2002) e inclui os gêneros *Archibaccharis* Heering (32 espécies) e *Baccharis* L. (340 espécies) (MÜLLER, 2006).

FIGURA 1 - DISTRIBUIÇÃO GEOGRÁFICA DAS ESPÉCIES DA FAMÍLIA ASTERACEAE NO MUNDO



FONTE: <http://www.tropicos.org/>; Acesso em: jan. 2016

Esta família é representada principalmente por pequenos arbustos, subarbustos e raramente encontrada em porte de árvore, geralmente terrestres, raro epífitas ou aquáticas. O caule é geralmente cilíndrico, raramente alado. As

folhas são também muito variadas, inteiras ou fendidas, de disposição alternas, opostas, alterno-opostas, ou menos comumente verticiladas (BARROSO, 1991; JOLY, 1998; ROQUE e BAUTISTA, 2008; SOUZA e LORENZI, 2005). As inflorescências são em capítulo, podendo ser capítulos solitários no ápice do pedúnculo floral ou formando sinflorescência cimosa, corimbiforme, panícula-tirsoide, racemo, ou agrupados em sinflorescência, livres ou fundidos entre si (sincefalia de capítulos). O capítulo se apresenta modificado, ovário é bicarpelar ínfero que se desenvolve em cipsela com óvulo basal e reto, com anteras sinânteras (JANSEN e PALMER, 1987). As flores podem ser bissexuais, unissexuais (plantas monoicas, raro dioicas), estéreis (gineceu e androceu estéreis) ou neutras (sem androceu e gineceu), não apresenta cálice ou ser modificado em pápus, que serve para disseminação do fruto. O fruto, classificado como seco indeiscente, tipo aquênio, disperso pelo vento ou encerrado no capítulo (BARROSO, 1991; JOLY, 1998; ROQUE, 2008; SOUZA e LORENZI, 2005).

O sucesso evolutivo do táxon pode ser atribuído à morfologia especializada e a diversidade de metabólitos secundários, como sendo parte de um mecanismo químico de defesa que inclui uma combinação de poliacetilenos e lactonas sesquiterpênicas (BREMER, 1994; CRONQUIST, 1988; EMERENCIANO et al., 1986; JUDD et al., 1999). Destaca-se também na produção de flavonoides, alcaloides (CRONQUIST, 1981), óleos essenciais (AGOSTINI et al., 2005), antocianinas (TAKEDA, HARBORNE, SELF, 1986), diterpenos (BATISTA, BRAGA e OLIVEIRA, 2005), cumarinas, benzofuranos e benzopiranos (BOHLMANN e ZDERO, 1990; SEAMANN, 1982; SEAMANN et al., 1990). A classe dos flavonoides tem se mostrado como bons marcadores para as tribos e subtribos da família (EMERENCIANO, 2001; SHARP et al., 2001).

Na medicina tradicional, Asteraceae destaca-se por ser utilizada nos processos inflamatórios, digestivos, antioxidantes, como alelopático, espasmolítico, antimicrobiana, antiviral, aleloquímica, citotóxica, inseticida, gastroprotetora, antileucêmica, antibacteriana, antifúngica, vasorelaxante, moluscida, antimutagênica, hepatoprotetora, antitumoral, antileishmania e antidepressivo (KIKKO et al, 2009; VERDI, BRIGHENTE e PIZZOLATTI, 2005). Além dos propósitos medicinais, a exemplo de *Baccharis* spp., *Matricaria recutita*

L., *Stevia rebaudiana* (Bertoni) Bertoni, *Achillea millefolium* L. e *Mikania* spp., muitas são cultivadas como ornamentais, destacando-se *Leucanthemum vulgare* Lam. e *Chrysanthemum* spp. Também inclui inúmeras espécies invasoras, como *Baccharis dracunculifolia* DC., *Bidens pilosa* L., *Sonchus oleraceus* L. e *Taraxacum officinale* F.H. Wigg. (SOUZA e LORENZI, 2005).

Na TABELA 1 são mostrados exemplos de espécies de Asteraceae utilizadas popularmente e suas atividades biológicas comprovadas cientificamente.

TABELA 1 - USOS POPULARES E ATIVIDADES FARMACOLÓGICAS COMPROVADAS DE ALGUMAS ESPÉCIES PERTENCENTES À FAMÍLIA ASTERACEAE

(continua)

Espécie	Uso popular	Atividade comprovada
<i>Achillea millefolium</i> L. (mil-folhas)	Tratar hemorróidas, dispepsia, dismenorréia, febres, problemas gástricos (MIRALDI, FERRI, MOSTAGHIMI, 2001; SHARMA, CHAUHAN, LAL, 2004)	Antimicrobiano, antiflogístico, hepatoprotetor, antiespasmolítico (STOJANOVIC´ et al., 2005; YAEESH et al., 2006), anti malárico (KAUR et al, 2009; LEHANE e SALIBA, 2008).
<i>Achyrocline satureioides</i> (Lam.) DC. (marcela)	Problemas de estômago, reduzir a dor e a inflamação (ARREDONDO et al., 2004; COSENTINO et al., 2008; DEL VITTO et al., 2009; GUGLIUCCI e MENINI, 2002; KADARIAN et al., 2002)	Anti-inflamatório, asma, ansiedade, úlcera gástrica (COSENTINO et al., 2008; DEL VITTO et al., 2009; FERRARO et al, 2008; GUGLIUCCI e MENINI, 2002; KADARIAN et al., 2002; SANTIN et al., 2010)
<i>Chamomilla recutita</i> (L.) Rausch (camomila)	Flatulência, cólica, febre (TYIHAK et al., 1962), anti-inflamatório, antisséptico, antiespasmódico, levemente sudorífico (MERICLI, 1990)	Anti-inflamatória (AL-HINDAWI et al., 1989; SCHREIBER, CARLE e REINHARD, 1990), ansiolítica (MCKAY e BLUMBERG, 2006), antiúlcera (KHAYYAL et al., 2001); hepatoprotetor (GRUPTA e MISRA, 2006)
<i>Tanacetum vulgare</i> L. (caatinga-de-mulata)	Vermífugo, anti-inflamatório (ROSSELLI et al., 2012), enxaqueca, dor, reumatismo, anti-helmintico, repelente de insetos (ONOZATO et al., 2009)	Vermífugo, emenagogo (EVANS, 1996), anti-inflamatório (MORDUJOVICH-BUSCHIAZZO et al., 1996), antioxidante (JUAN-BADATURUGE et al., 2009), antiviral (ÁLVAREZ et al., 2011)

TABELA 1 - USOS POPULARES E ATIVIDADES FARMACOLÓGICAS COMPROVADAS DE ALGUMAS ESPÉCIES PERTENCENTES À FAMÍLIA ASTERACEAE

(conclusão)

Espécie	Uso popular	Atividade comprovada
<i>Cynara scolymus</i> L. (alcachofra)	Colerético, colagogo (ORTEGA, et al., 1989), diurético (FRANCE, 1990)	Hipocolesterolêmica (LIETTI, 1977), protetor do hepatócito (ADZET et al., 1987; GEBHARDT, 1997)
<i>Bidens pilosa</i> L. (picão)	Dor, febre, angina, diabetes, edema, infecções, inflamações, tumores (FRANCO e FONTANA, 2004; KUMARI, 2009; VALDÉS e REGO, 2001)	Antimalárica (OLIVEIRA et al., 2004), antitumoral (KVIECINSKI et al., 2008), anti-diabética (CHIEN et al., 2009; HSU et al., 2008), anti-inflamatório (PEREIRA et al., 1999), antiúlcera (TAN, DIMO e DONGO, 2000)
<i>Baccharis trimera</i> (Less.) DC. (carqueja)	Desordens do fígado, diarreia, febre, reumatismo, angina, desordens renal e diabetes (LORENZI e MATOS, 2008)	Antidiabético (OLIVEIRA et al., 2005), antileishmania (LUIZE et al., 2005), antiulcerogênico (BIONDO et al., 2011; DIAS et al., 2009); anti-inflamatório (OLIVEIRA et al., 2012; PAUL et al., 2009), antimicrobiano (BETONI et al., 2006; FABRI et al., 2011)
<i>Baccharis articulata</i> (Lam.) Pers. (carquejinha)	Doenças de pele, lepra, feridas, úlceras e feridas sifilíticas (HIERONYMUS, 1881)	Anti-inflamatório (FLORÃO et al., 2012); antimicrobiano (LUPU et al., 2009; VIVOT et al., 2012), antioxidante (BORGIO et al., 2010), antiviral (TORRES et al., 2011)
<i>Calendula officinalis</i> L. (calêndula)	Afeções dermatológicas, e extratos das flores tem uso externo: antiinflamatório e cicatrizante (KASKONIENÉ et al., 2011)	Bactericida, fungistático, virucida, tricomonocida, cicatrizante, imunoestimulante (ISSAC, 1992), hipoglicemiante, gastroprotetora (YOSHIKAW et al., 2001)
<i>Mikania laevigata</i> Sch. Bip ex Baker (guaco)	Doenças respiratórias, balsâmico, antiofídico, estimulante do apetite, antiespasmódico, expectorante (ALICE et al., 1995; COIMBRA, 1942; LUCAS, 1942; NAPIMOGA e YATSUDA, 2010; NEVES e SÁ, 1991).	Anti-inflamatório, anti-alérgicos, broncodilatadores (FIERRO et al., 1999; GRAÇA et al., 2007; MOURA et al., 2002; SUYENAGA et al., 2002)
<i>Sphagneticola trilobata</i> (L.) Pruski (arnica)	Dor de cabeça. Febre, infecções e patologias do trato respiratório (HOWARD et al., 1990; ROQUE et al., 1987)	Anti-inflamatório (MALDINI et al., 2009); mutagênico (CZECZOT et al., 1990); cicatrizante (BALEKAR et al., 2012); Antioxidante (TOREL e CILLARD, 1986)

FONTE: O autor (2016).

3.2 GÊNERO *Baccharis* L.

Baccharis L. compreende atualmente 354 espécies (MÜLLER, 2013) distribuídas nas Américas, do sul do Canadá até o sul da América do Sul (FIELDING, 2001; GIULIANO, 2001). Neste continente habitam em condições ecológicas diversificadas, lugares úmidos até ambientes muito áridos, podendo atingir desenvolvimento pleno ao nível do mar até grandes altitudes (HEIDEN, BAUMGRATZ e ESTEVES, 2012).

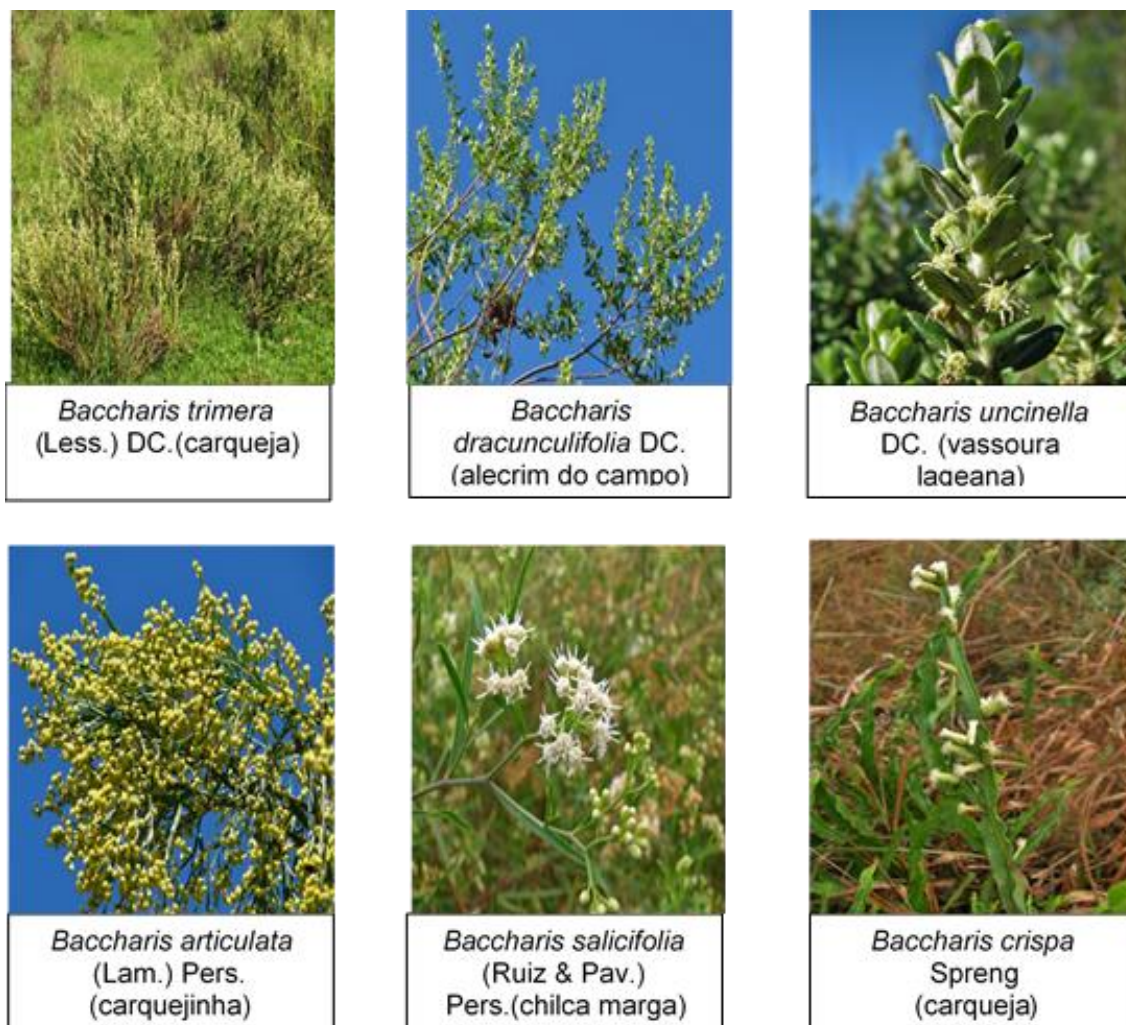
No Brasil, existem atualmente 178 espécies de *Baccharis*, pertencentes a quatro subgêneros e 21 seções (classificação infragenérica), o gênero ocorre em todos os biomas brasileiros, sendo que a maioria das espécies são encontradas nas regiões Sul, Sudeste e Centro-Oeste (HEIDEN e SCHNEIDER, 2014). Os principais centros de diversidade coincidem com áreas montanhosas na Serra Geral (PR, RS, SC), Serra da Mantiqueira (ES, MG, RJ, SP), Serra da Canastra (MG, GO) e Serra do Espinhaço (MG, BA) (FIELDING et al., 2001; GIULIANO et al., 2001; HEIDEN, IGANCI, MACIAS, 2009; MÜLLER, 2006). As espécies mais comuns são *Baccharis trimera*, *B. dracunculifolia*, *B. uncinella* DC., *B. salicifolia* (Ruiz & Pav.) Pers., *B. articulata* e *B. crispa* Spreng. (FIGURA 2).

No estado do Paraná foram relatadas cerca de 87 espécies, sendo um dos principais centros de diversidade do gênero, encontrados em refúgios ecológicos montanos (afloramentos rochosos e cristalinos) e altimontanos (campos de altitude), embora também ocorram espécies características de florestas altimontanas e submontanas ou de restingas (HEIDEN, BAUMGRATZ e ESTEVES, 2012; HEIDEN, LEONI e NAKAJIMA, 2014, HEIDEN e SCHNEIDER, 2014; JASINSKI et al., 2014).

As espécies são subarbustivas e arbustivas em sua maioria e a altura varia em média de 0,5 a 4 m. Popularmente conhecidas como “vassouras” ou “vassourinhas”, ao passo que as de caule alado são chamadas de “carquejas” ou “carquejinhas”. Ajudam no combate à erosão e chegam a predominar na fisionomia dos campos sulinos do Brasil, formando os chamados “vassourais”. Podem ser utilizadas como plantas ornamentais (*Baccharis hamilifolia*), mas também podem apresentar-se como pragas de difícil combate em pastagens, podendo envenenar o gado (*Baccharis coridifolia*, mio-mio; *B. artemisioides*

Hook & Arn.; *B. megapotamica* Spreng.). Contudo, o destaque maior da sua utilização está na medicina caseira (CARNEIRO e FERNANDES, 1996; JARVIS et al., 1991).

FIGURA 2 - ESPÉCIES DO GÊNERO *Baccharis*



FONTE: HEIDEN e SCHNEIDER (2014).

O estudo da morfologia fornece características relevantes na identificação e diferenciação das espécies de *Baccharis*, e apresenta um conjunto de parâmetros, que são: hábito, indumento, caule e ramos, folhas, capitulescências, capítulos, flores masculinas, flores femininas e cipselas. Estes tem sido utilizados na investigação, com o propósito de tentar esclarecer dúvidas resultantes da confusão entre diferentes representantes conhecidos pelo mesmo nome popular e usados indiscriminadamente para a mesma finalidade terapêutica. Tendo como base o tipo de indumento, Hellwing (1992) separou as

espécies de *Baccharis* em três grupos: o primeiro, com táxons providos de tricomas unisseriados, sustentados por uma única célula basal, clavados, flagelados e filiformes; o segundo, inclui espécies com tricomas bisseriados e geralmente com função secretora (tricomas glandulares); o terceiro, reúne espécies com tricomas em pedestal com base multisseriada e ápice unisseriado. Giuliano (2005) avaliou os tipos de tricomas, utilizando como caráter morfológico importante para a definição de seções e séries dentro de *Baccharis*.

A pesquisa das espécies de *Baccharis* é complexa devido ao polimorfismo, à grande semelhança entre as espécies, à grande quantidade de binômios descritos com superficialidade e, especialmente, ao caráter dioico na maioria das espécies (GIULIANO, 2004). Poucas espécies do gênero são monoicas (*Baccharis breviseta* DC., *B. vulneraria* Baker), imperfeitamente dioicas [*Baccharis aliena* (Spreng.) Müller, *B. hyemalis* Deble, *B. psiadioides* (Less.) Müller], polígamo-dioicas (*Baccharis dúbia* L. P. Deble & A. S. de Oliveira) ou trioicas [*Baccharis pohlii* (Baker) Deble & An. S. de Oliveira], que envolve diferenças entre os detalhes florais de indivíduos masculinos e femininos (GIULIANO, 2001, 2004, 2005).

Levantamentos etnobotânicos realizados em diversas comunidades sulamericanas, que utilizam plantas para o tratamento de enfermidades, indicaram o uso de representantes de *Baccharis* no combate das mais variadas enfermidades. São consumidas, principalmente, na forma de chás para males do estômago, fígado, para facilitar a digestão, anemias, controle da hipertensão, inflamações, problemas no fígado, diabetes e doenças da próstata, diarreia, inflamação do trato urinário, amigdalite, vermes, entre outros (CORRÊA, 1984; HEIDEN et al., 2006; HEIDEN, IGANCI e MACIAS, 2009; SIMÕES et al., 2004; VERDI, BRIGHENTE e PIZZOLATTI, 2005).

Inúmeros são os trabalhos publicados que confirmaram os usos da sabedoria popular no que diz respeito as ações farmacológicas dessas plantas. Foram testados substâncias isoladas e/ou extratos e frações que, após serem submetidos a testes biológicos, demonstraram possuir ação como anti-inflamatória (FLORÃO et al., 2012; PAUL et al., 2009), antibacteriana (BETONI et al., 2006; VIVOT et al., 2012), antifúngica (LUPI et al., 2009; FABRI et al., 2011; VANNINI et al., 2012), antiprotozoário (LUIZE et al., 2005), antioxidante (BORGO et al., 2010; DE TOLEDO DIAS et al., 2009; MENDES, TABACH e

CARLINI, 2007; OLIVEIRA et al., 2004; PÁDUA et al., 2010), antiproliferativa e mutagênica (DE PINHO et al., 2010; FACHINETTO e TEDESCO, 2009; RODRIGUES et al., 2009), antiobesidade (SOUZA et al., 2012), anticâncer (DE OLIVEIRA et al., 2013), antiproteolítica e anti-hemorrágico (JANUÁRIO et al., 2004), antidiabético (OLIVEIRA et al., 2005), antissecretor (BIONDO et al., 2011), efeitos toxicológicos (GRANCE et al., 2008; NOGUEIRA et al., 2011; PADÍN et al., 2013; RODRIGUES et al., 2009), e alelopático (XAVIER et al., 2012).

Conforme levantamento bibliográfico realizado, apenas cerca de 119 espécies de *Baccharis* apresentaram algum tipo de estudo morfoanatomico, químico e/ou atividade biológica (ABAD e BERMEJO, 2007; BUDEL et al., 2005; CAMPOS et al., 2016; FREIRE, URTUBEY e GIULIANO, 2007; JASINSKI et al., 2014; MARTINEZ, BESSA e BENITO, 2005; MOREIRA et al., 2014; VERDI, BRIGHENTE e PIZZOLATTI, 2005).

3.3 ASPECTOS QUÍMICOS E BIOATIVIDADES DE ACORDO COM A CLASSIFICAÇÃO INFRAGENÉRICA DE *Baccharis* L.

As espécies pertencentes ao gênero *Baccharis* (Asteraceae) são caracterizadas pela ocorrência de ácidos fenólicos, cumarinas, terpenos, sesquiterpenos, monoterpenos, diterpenos, flavonoides (TABELA 2). Dentre os flavonoides, os mais encontrados são do tipo flavonóis, flavononas, isoflavonas, flavonas, entre outros.

A TABELA 2 estão relacionados os estudos publicados nas últimas décadas de investigação, de 50 espécies pertencentes ao gênero *Baccharis*, levando em consideração os constituintes químicos, as atividades biológicas e estão separadas de acordo com a classificação infragenérica, chamada de seções. Das 50 espécies investigadas, 45 espécies estão inseridas em 17 seções: *Angustifoliae*, *Cuneifoliae*, *Discolores*, *Cylindricae*, *Baccharis*, *Nitidae*, *Paniculate*, *Caulopterae*, *Pseudobaccharis*, *Trinervatae*, *Molinae*, *Racemosae*, *Baccharidastrum*, *Tridentatae*, *Canescentes*, *Retusae* e *Involucratae*. Cinco das 50 espécies estão realocados para outras seções (GIULIANO, 2001; GIULIANO e FREIRE, 2011).

TABELA 2 - ATIVIDADES BIOLÓGICAS E CONSTITUENTES QUÍMICOS DESCRITOS EM ESTUDOS DE VÁRIAS SEÇÕES COM ESPÉCIES DO GÊNERO *Baccharis*

(continua)

Espécie	Extrato ativo, fração ou composto isolado	Atividade	Referências
Seção <i>Angustifoliae</i> Baker			
<i>B. darwini</i>	Cumarinas	Antifúngico	KURDELAS et al., 2010
<i>B. subulata</i>	Ext. aquoso	Anti-inflamatório	DÁVALOS, JIMÉNEZ e ALMANZA, 2007
	Ext. hexânico, diclorometano, etanólico e aquoso	Anti-inflamatório	ABAD et al., 2006
<i>B. ulicina</i>	Ext. aquoso	Anti-inflamatório	DÁVALOS, JIMÉNEZ e ALMANZA, 2007
Seção <i>Cuneifoliae</i> DC.			
<i>B. elaeoides</i>	Extrato metanólico	Antibacteriano/Citotoxi-cidade	SIMONSEN et al., 2009
	Ext. diclorometano:metanol	Antimicrobiano	MØLGAARD et al., 2011
<i>B. incarum</i>	Ext. metanólico, aquoso, flavonóides e ácidos fenólicos	Antioxidante/Antimicro-biano	ZAMPINI, ISLA e SCHMEDA-HIRSCHMANN, 2009
	Ext. hidroetanólico	Antioxidante/Antimicro-biano	NUÑO et al., 2012
<i>B. magellanica</i>	Ext. metanólico	Antibacteriano	SIMONSEN et al., 2009
<i>B. santelicis</i>	Derivado do ác. <i>p</i> -cumárico	Antioxidante	VILLAGOMÉS, MOLLINEDO e ALMANZA, 2006
	Ext. etanólico e éter dietílico	Antiproliferativo	RODRIGO et al., 2010
<i>B. triangularis</i>	Flavonoides e dilactona	Não ensaiados	PETENATTI et al., 2007

TABELA 2 - ATIVIDADES BIOLÓGICAS E CONSTITUINTES QUÍMICOS DESCRITOS EM ESTUDOS DE VÁRIAS SEÇÕES COM ESPÉCIES DO GÊNERO *Baccharis* (continua)

Espécie	Extrato ativo, fração ou composto isolado	Atividade	Referências
<i>B. tricuneata</i>	Escopolina	Citotoxicidade	CORDERO et al., 2004
		Seção <i>Discolores</i> DC.	
	Ext. aquoso, etanólico e metanólico	Antioxidante/Antimicro-biano	LEITÃO et al., 2004; DIAZ et al., 2010; FABRI et al., 2011; MARTINEZ-CORREA et al., 2012
	Ext. etanólico, metanólico, acetato de etila e ácido fenólico	Antidiabético	CHOI et al., 2011; DE OLIVEIRA et al., 2014a
	Ext. metanólico	Toxicidade dose-dependente	HOCAYEN et al., 2012
	Sesquiterpenóides e monoterpenóides	Citotóxico	FUKUDA et al., 2006
	Ext. hidroalcoólico	Antiúlcera/Hepatoprote-tor	LEMOS et al., 2007; REZENDE et al., 2014
	Flavonoides, ácidos fenólicos e triterpenoides	Imunomodulatório	FIGUEIREDO-RINHEL et al., 2013;
<i>B. dracunculifolia</i>	Ext. diclorometano e acetoacetato de etila, fração hexânica e ácido fenólico	Antigenotóxico	MISSIMA et al., 2007
	Ext. acetoacetate de etila	Genotóxico/Antigenotó-xico	OLIVEIRA et al., 2011; MUNARI et al., 2014
	Ext. hidroalcoólico e ácido fenólico	Mutagenicidade	MUNARI et al., 2010
	Ext. acetato de etila	Anti-inflamatório/ Antinociceptivo	RESENDE et al., 2007
	Ext. etanólico	Antiviral	DOS SANTOS et al., 2010; BACHIEGA et al., 2013
	Triterpenoides e Sesquiterpenoides	Antifúngico/Antileishma- nia/Antiproliferativo	BUFALO et al., 2009
	Ácidos fenólicos		JOHANN et al., 2012
	Ext. aquoso	Anti-inflamatório	DE OLIVEIRA et al., 2014b; DÁVALOS, JIMÉNEZ e ALMANZA, 2007

TABELA 2 - ATIVIDADES BIOLÓGICAS E CONSTITUINTES QUÍMICOS DESCRITOS EM ESTUDOS DE VÁRIAS SEÇÕES COM ESPÉCIES DO GÊNERO *Baccharis* (continua)

Espécie	Extrato ativo, fração ou composto isolado	Atividade	Referências
<i>B. megapotamica</i>	Ext. hidroalcoólico/aquoso	Antiviral/Citotoxicidade	MONTANHA et al., 2004
Seção <i>Cylindricae</i> Heering			
<i>B. flabellata</i>	Derivados diterpenos clerodanos	Antialimentar (adultos- <i>Tribolium castaneum</i>)	HIKAWCZUK et al., 2006
<i>B. pseudotenuifolia</i>	Fração clorofórmica e metanólica, flavonoide e tripenoides	Citotoxicidade	MOREIRA et al., 2003
	Ext. hidroalcoólico e aquoso	Citotoxicidade/Antiviral	MONTANHA et al., 2004
<i>B. rufescens</i>	ent-Kaurano e éster metílico derivado	Antialimentar (adultos- <i>Tribolium castaneum</i>)	SIMIRGIOTIS et al., 2003
<i>B. cordobensis</i> (Syn. <i>B. sessiliflora</i> Vahl, Symb.)	Ext. etanólico	Antialimentar (larvas de <i>Epilachna paenulata</i> Germ)/Germinação inibida (<i>Avena sativa</i>)	PALACIOS et al., 2007
Seção <i>Baccharis</i>			
<i>B. spicata</i>	Ext. hidroalcoólico e aquoso	Citotoxicidade/Antiviral	MONTANHA et al., 2004
	Ext. etanólico, diclorometano e aquoso, fração acetato de etila, n-butanol e aquoso residual	Antioxidante	DE OLIVEIRA et al., 2004
	Ext. orgânico e aquoso	Antitripanosoma	SÜLSEN et al., 2006
<i>B. chilco</i>	Ext. orgânico e aquoso	Antiviral/Citotoxicidade	JAIME et al., 2013
	Ácidos fenólicos	Antioxidante	ARGOTI et al., 2013
Seção <i>Nitidae</i> Cuatrecasas			
<i>B. dentata</i>	Ext. metanólico	Antioxidante/Antimicro-biano	SARTOR et al., 2013
<i>B. nitida.</i>	Nevadensina e xantomicrol	Não ensaiados	CHIDIAC et al., 2007

TABELA 2 - ATIVIDADES BIOLÓGICAS E CONSTITUINTES QUÍMICOS DESCRITOS EM ESTUDOS DE VÁRIAS SEÇÕES COM ESPÉCIES DO GÊNERO *Baccharis* (continua)

Espécie	Extrato ativo, fração ou composto isolado	Atividade	Referências
<i>B. obtusifolia</i>	Ext. aquoso	Anti-inflamatório	DÁVALOS, JIMÉNEZ e ALMANZA, 2007
	Ext. hexânico, diclorometano, etanólico e aquoso	Anti-inflamatório	ABAD et al., 2006
<i>B. semiserrata</i>	Ext. hidroalcoólico e aquoso	Citotoxicidade/Antiviral	MONTANHA et al., 2004
<i>Seção Paniculate</i> Heering emend. Cuatrec.			
<i>B. radicans</i> (Syn. <i>B. gnaphalioides</i>)	Ext. hidroalcoólico e aquoso	Citotoxicidade/Antiviral	MONTANHA et al., 2004
<i>Seção Caulopterae</i>			
	Ext. aquoso, metanólico e etanólico	Antimicrobiano	LUPI et al, 2009; VIVOT et al., 2012
	Extratos de partes aéreas	Antioxidante	BORGO et al., 2010
	Ext. aquoso	Antiviral	TORRES et al., 2011
<i>B. articulata</i>	Ext. aquoso	Antiproliferativo/Muta-gênico	FACHINETTO e TEDESCO, 2009
		Anti-inflamatório	CARIDDI et al., 2012; VERDI et al., 2004;
	Ext. hidroalcoólico e aquoso	Citotoxicidade	DÁVALOS, JIMÉNEZ e ALMANZA, 2007
		Citotoxicidade/Antiviral	MONTANHA et al., 2004
<i>B. cylindrica</i> (Syn. <i>B. crispa</i>)	Ext. hidroalcoólico e aquoso	Citotoxicidade/Antiviral	MONTANHA et al., 2004
<i>B. crispa</i>	Ext. aquoso	Antioxidante	SIMÕES-PIRES et al., 2005b

TABELA 2 - ATIVIDADES BIOLÓGICAS E CONSTITUINTES QUÍMICOS DESCRITOS EM ESTUDOS DE VÁRIAS SEÇÕES COM ESPÉCIES DO GÊNERO *Baccharis* (continua)

Espécie	Extrato ativo, fração ou composto isolado	Atividade	Referências
<i>B. gaudichaudiana</i> (Syn. <i>B. articulata</i> var. <i>gaudichaudiana</i> (DC.) Baker)	Ext. metanólico, flavonóides e ácidos fenólicos	Antioxidante	AKAIKE et al., 2003
	Flavonóide e diterpenóides	Sem fator de crescimento	GUO et al., 2006; GUO et al., 2007;
	Ext. orgânico e Aquoso	Antiviral/Citotoxicidade	JAIME et al., 2013
<i>B. sagittalis</i>	Diterpenos clerodanos	Não testados	HAYASHI et al., 2005
	Ext. acetônico (diterpenos)	Não ensaiados	PETENATTI et al., 2007
	Ext. hidroalcoólico	Antioxidante	MENDES, TABACH e CARLINI, 2007
	Ext. aquoso, diclorometano e metanólico	Vasodilatador	HNATYSZYN et al., 2003
	Ext. hidroalcoólico e aquoso	Citotoxicidade/Antiviral	MONTANHA et al., 2004
	Ext. aquoso	Mutagênico	DE PINHO et al., 2010
	Ext. metanólico	Antifúngico/Antimicrobiano/Anti oxidante	BETONI et al., 2006; FABRI et al., 2011
<i>B. trimera</i>	Ext. metanólico	Antimicrobiano	SOUZA et al, 2012
	Ext clorofórmico e metanol (2:1, v/v)	Antiobesidade	JANUÁRIO et al., 2004
	Ext. aquoso	Anti-proteolítico/Anti-hemorragico	OLIVEIRA et al., 2005
	Ext. hidroalcoólico	Anti-proteolítico/Anti-hemorragico	LUIZE et al., 2005
	Ext. bruto e resina/Ext. bruto, resina, fração clorofórmica, acetato de etila, etanol e hidroalcoólica	Antidiabético,Antileishmania Anti- trypanossoma	DE TOLEDO DIAS et al., 2009; BIONDO et al., 2011
	Ext. aquoso e frações	Anti- trypanossoma	MENDES, TABACH e CARLINI, 2007
	Ext. hidroalcoólico/Ext. aquoso	Antiulcerogênico	DE OLIVEIRA et al., 2004

TABELA 2 - ATIVIDADES BIOLÓGICAS E CONSTITUINTES QUÍMICOS DESCRITOS EM ESTUDOS DE VÁRIAS SEÇÕES COM ESPÉCIES DO GÊNERO *Baccharis* (continua)

Espécie	Extrato ativo, fração ou composto isolado	Atividade	Referências
<i>B. trimera</i>	Ext. aquoso	Antisecretor	DE MORAIS et al., 2009; PÁDUA et al., 2010; ZIELINSKI et al., 2014;
	Ext. aquoso	Antioxidante	ZIELINSKI et al., 2014
	Ext. metanólico	Antiproliferativo/Mutagênico	FACHINETTO e TEDESCO, 2009
	Ext. etanólico	Antiproliferativo/Mutagênico	RODRIGUES et al., 2009
	Ext. hidroetanólico/extrato aquoso e frações	Genotoxicidade/Antigenotóxico/ Antioxidante	PADÍN et al., 2013
	Compostos fenólicos e terpenóides	Genotoxicidade/Antigenotóxico/ Antioxidante	GRANCE et al., 2008; NOGUEIRA et al., 2011
	Ext. diclorometano, acetato, butanol, aquoso, etanólico, saponínico e fenólico	Repelente/Toxicidade (adultos de <i>Tribolium castaneum</i>)	DE OLIVEIRA et al., 2013
	Ext. aquoso	Efeitos toxicológicos	DE OLIVEIRA et al., 2012b
	Ext. aquoso Ext. hidroetanólico	Anticâncer/Citotoxicidade/Anti-inflamatório/Antioxidante	PAUL et al., 2009
	Ext. hidroetanólico	Anti-inflamatório/Imuno-modulatório/Citotóxico Hepatoprotetor	PÁDUA et al., 2014
Ext. diclorometano e fração aquosa	Anti-helmíntico	DE OLIVEIRA et al., 2014c	

TABELA 2 - ATIVIDADES BIOLÓGICAS E CONSTITUINTES QUÍMICOS DESCRITOS EM ESTUDOS DE VÁRIAS SEÇÕES COM ESPÉCIES DO GÊNERO *Baccharis* (continua)

Espécie	Extrato ativo, fração ou composto isolado	Atividade	Referências
<i>B. genistelloides</i>	Ext. etanólico	Antiproliferativo	RODRIGO et al., 2010
	Derivado ác. fenólico, terpeno e diterpeno	Não ensaiados	HENNING et al., 2011
	Ext. aquoso	Antiarrítmico/Hipoglicemiante/Hipotrigliceridêmico	COELHO et al., 2004
	Ext. aquoso	Reduz a ligação ^{99m} Tc/Protege as células de <i>E. coli</i> contra lesão induzida por SnCl ₂	SOARES et al., 2006
Seção <i>Pseudobaccharis</i> (Cabrera) Cuatrec.			
<i>B. boliviensis</i>	Flavonoides e diterpenos	Não ensaiados	CALLE et al., 2012
<i>B. grisebachii</i>	Exsudato – ácidos fenólicos e flavonoides, hexânico, diclorometano, metanólico, éter dietílico (flavonoides), acetato de etila	Antioxidante/Citotoxicidade	TAPIA et al., 2004
	Exsudato– ácidos fenólicos e flavonoides	Antimicrobiano	FERESIN et al., 2003
<i>B. thymifolia</i>	Diterpenos	Atividade inibitória contra as larvas de <i>Tenebrio molitor</i>	HIKAWCZUK et al., 2008
Seção <i>Trinervatae</i> DC.			
<i>B. punctulata</i>	Ext. hidroalcoólico e aquoso	Citotoxicidade/Antiviral	MONTANHA et al., 2004
<i>B. trinervis</i>	Ext. hidroalcoólico e aquoso	Citotoxicidade/Antiviral	MONTANHA et al., 2004
	Ext. aquoso	Antifúngica	OCAMPO et al., 2006

TABELA 2 - ATIVIDADES BIOLÓGICAS E CONSTITUINTES QUÍMICOS DESCRITOS EM ESTUDOS DE VÁRIAS SEÇÕES COM ESPÉCIES DO GÊNERO *Baccharis* (continua)

Espécie	Extrato ativo, fração ou composto isolado	Atividade	Referências
Seção <i>Molinae</i> (Ruiz & Pav.) Pers.			
	Ext. hexânico, diclorometano, etanólico e aquoso	Anti-inflamatório	ABAD et al., 2006
	Ext. aquoso	Anti-inflamatório	
<i>B. latifolia</i>	Ext. etanólico	Toxicidade aguda e subaguda	DÁVALOS, JIMÉNEZ e ALMANZA, 2007
	Ext. etanólico, fenólico e diclorometano	Antiproliferativo	ALMANZA et al., 2011
	Ext. etanólico (diclorometano, insolúvel em água, fração acetato de etila e solúvel em isobutanol)	Anti-inflamatório	RODRIGO et al., 2010
	Ext. aquoso	Sem atividade	GONZÁLEZ et al., 2007; OCAMPO et al., 2006
<i>B. marginalis</i>	Ext. diclorometano	Ensaio de inibição da acetilcolinesterase	SAN-MARTÍN et al., 2010
	Ext. etanólico, flavonoides, diterpenoides, cumarina e ácidos fenólicos	Ensaio fitotóxico (<i>Panicum miliaceum</i>)	DEL CORRAL et al., 2012
<i>B. salicifolia</i>	Ext. aquoso	Anti-inflamatório	DÁVALOS, JIMÉNEZ e ALMANZA, 2007
	Ext. aquoso	Anti-helmíntico	SALAZAR et al., 2007
Seção <i>Racemosae</i> Ariza			
<i>B. erioclada</i>	Ext. aquoso e hidroetanólico	Antiviral/Citotoxicidade	MONTANHA et al., 2004

TABELA 2 - ATIVIDADES BIOLÓGICAS E CONSTITUINTES QUÍMICOS DESCRITOS EM ESTUDOS DE VÁRIAS SEÇÕES COM ESPÉCIES DO GÊNERO *Baccharis* (continua)

Espécie	Extrato ativo, fração ou composto isolado	Atividade	Referências
<i>B. uncinella</i>	Ext. aquoso/Ext. hidroetanólico	Citotoxicidade/Antiviral	MONTANHA et al., 2004
	Ext. aquoso/Ext. hidroalcoólico	Citotoxicidade/Antiviral	MONTANHA et al., 2004
	Ext. etanólico, ác. olenólico e ursólico, pectolonaringenina, ác. cafêico e ferúlico	Anti-inflamatório	ZALEWSKI et al., 2011
	Ext. etanólico, flavonóide, ácidos fenólicos e triterpenos Fração triterpênica	Antileishmania/Citotoxicidade	PASSERO et al., 2011
	Fração triterpênica	Anti-leishmania	YAMAMOTO et al., 2014
	Ext. etanólico, ác. olenólico e ursólico, pectolonaringenina, hispidulina, diidrooroxilina, ác. cafêico e ferúlico	Não testados	GRECCO et al., 2010
Seção <i>Baccharidastrum</i> (Cabr.) Nesom			
<i>B. glutinosa</i>	Ext. metanólico e fração	Antifúngico	ROSAS-BURGOS et al., 2011
Seção <i>Tridentatae</i> Giuliano			
<i>B. illinita</i>	Ext. hidroalcoólico, clorofórmio e aquoso, flavonoides	Gastroprotetor	FREITAS et al., 2008; BAGGIO et al., 2003
	Ext., triterpenoide e diterpenoide	Anti-inflamatório	BOLLER et al., 2010
	Ext. das flores e folhas	Antidepressivo	KIKKO et al., 2009
	Ext. etanólico	Anticoagulante	PIZZOLATTI et al., 2006
	Ext. hidroalcoólico, etanólico e clorofórmico, flavonóides	Antioxidante	BRIGHENTE et al., 2007
	Ext. clorofórmico/etanol (flavonoides e diterpenos)	Não testados	VERDI et al., 2004
Seção <i>Canescentes</i> Giuliano			
<i>B. patens</i>	Ext. hidroalcoólico e aquoso	Citotoxicidade/Antiviral	MONTANHA et al., 2004

TABELA 2 - ATIVIDADES BIOLÓGICAS E CONSTITUINTES QUÍMICOS DESCRITOS EM ESTUDOS DE VÁRIAS SEÇÕES COM ESPÉCIES DO GÊNERO *Baccharis* (conclusão)

Espécie	Extrato ativo, fração ou composto isolado	Atividade	Referências
Seção <i>Retusae</i> A. S. de Oliveira-Deble			
<i>B. retusa</i>	Compostos fenólicos, flavonoides	Antifúngico	GRECCO et al., 2012; GRECCO et al., 2014
<i>B. salzmannii</i>	Ext. etanólico	Não avaliado	RIBEIRO et al, 2013
Seção <i>Involucratae</i>			
	Ext. etanólico, flavonoides e composto fenólico	Antioxidante	ESCOBAR et al., 2009
<i>B. papillosa</i>	Ext. etanólico	Toxicidade aguda e subaguda	ALMANZA et al., 2011
	Ext. etanólico e ext. etanólico de média polaridade	Antiproliferativo	RODRIGO et al., 2010
Outras Seções			
	Ext. aquoso	Anti-inflamatório	DÁVALOS, JIMÉNEZ e ALMANZA, 2007
<i>B. pentlandii</i>	Ext. etanólico, flavonoides	Não testados	TARQUI, SEGURA e VEGA, 2012
	Ext. etanólico	Antiproliferativo	RODRIGO et al., 2010
	Ext. hexânico, diclorometano, etanólico e aquoso	Anti-inflamatório	ABAD et al., 2006
<i>B. platypoda</i>	Ext. hidroalcoólico, etanólico e clorofórmico	Antioxidante	BRIGHENTE et al., 2007
	Ext. etanólico	Anti-leishmania	DE SOUZA MOREIRA et al., 2014
<i>B. conyzoides</i>	Ext. hidroalcoólico e aquoso	Citotoxicidade/Antiviral	MONTANHA et al., 2004
<i>B. erigeroides</i>	Ext. hidroalcoólico e aquoso	Citotoxicidade/Antiviral	MONTANHA et al., 2004
<i>B. mesoneura</i>	Ext. hidroalcoólico e aquoso	Citotoxicidade/Antiviral	MONTANHA et al., 2004

3.4 QUÍMICA DOS VOLÁTEIS E ATIVIDADES BIOLÓGICAS NO GÊNERO *Baccharis* L.

Os óleos essenciais são quimicamente constituídos por monoterpenos, sesquiterpenos, fenilpropanoides e outras substâncias de baixo peso molecular. São produzidos por órgãos anatômicos especializados (tricomas glandulares, células parenquimáticas diferenciadas, canais oleíferos) que podem estar distribuídos por toda a planta ou em algum órgão específico (COUTINHO et al., 1998; JANSSEN, SCHEFFER, BAERHEIM-SVENDSEN, 1987; QUEIROGA, FUKAI, MARSAIOLI, 1990; ROBBERS, SPEEDIE e TYLER, 1997; SIMÕES et al., 2000). A composição destes óleos podem variar segundo a localização em uma mesma planta, tempo de coleta, condições climáticas e do solo, localização geográfica, ciclo vegetativo das espécies e o processo de obtenção (MEJDOUB e KATSIOTIS, 1998; ROBBERS, SPEEDIE e TYLER, 1997; SIANI et al., 2000; SIMÕES et al., 2000; TAVARES et al., 2005; WIRTHENSOHN e SEDGLEY, 1998). Biologicamente, agem na adaptação da planta ao meio ambiente, atuando na atração de polinizadores, na defesa contra predadores ou patógenos, perda de água, aumento de temperatura e também desempenhando funções ecológicas, especialmente como inibidoras de germinação. Essas características tornam as plantas poderosas fontes de agentes bactericidas, fungicidas e inseticidas (CRAVEIRO e MACHADO, 1986; FERESIN et al., 2001; HARBONE, 1993; JASSIM e NAJI, 2003).

Baccharis é uma rica fonte de óleos essenciais e o número de espécies cujos óleos essenciais foram estudados é muito pequeno, considerando que este gênero botânico contém cerca de 354 espécies relatadas (GIULIANO, 2001; MÜLLER, 2013; NESOM e ROBINSON, 2006). Pesquisas realizadas com os óleos essenciais de *Baccharis* demonstraram que estes possuem um alto percentual de compostos, principalmente monoterpenos e sesquiterpenos (BOLDT, 1989; HARBONE, 1988a). Outros estudos relataram atividades biológicas como antifúngica, antibacteriana (ABAD, BERMEJO, 2007; COBOS et al., 2001; DEMO et al., 2005), antiulcerogênica (KLOPELL et al., 2007), repelente de insetos (ABAD e BERMEJO, 2007; GARCÍA et al., 2005), entre outros. A espécie *Baccharis dracunculifolia* é a espécie mais citada e, a partir das folhas, é extraído o óleo essencial, de alto valor para a indústria de

fragrâncias (CASSEL et al., 2000; MOLT e TRKA, 1983; QUEIROGA, FUKAI e MARSAIOLI, 1990). Além disso, tem sido a fonte botânica mais importante para produção de própolis verde (KUMAZAWA et al., 2003; MIDORIKAWA et al., 2001; PARK, ALENCAR e AGUIAR, 2002).

Campos e colaboradores (2016) realizaram uma revisão bibliográfica da última década de investigação das espécies pertencentes ao gênero *Baccharis*, que levou em consideração os constituintes químicos dos óleos essenciais e as atividades biológicas relacionadas (ANEXO 2, página 177).

3.5 *Baccharis* SEÇÃO *Caulopterae*

A Subtribo Baccharidinae Less. (Astereae) é exclusivamente americana, sendo constituída pelos gêneros *Archibaccharis* Heering e *Baccharis* L. (MÜLLER, 2006). *Baccharis* L. compreende cerca de 354 espécies (MÜLLER, 2013), com 32 espécies catalogadas pertencentes ao gênero *Baccharis* da seção *Caulopterae* e são conhecidas como carquejas (GIULIANO, 2001; GIULIANO e FREIRE, 2011; WATANABE, RAMBO, MARQUES, 2005). Estas plantas apresentam semelhantes características fenológicas (HEIDEN, BAUMGRATZ e ESTEVES, 2012; HEIDEN, IGANCI e MACIAS, 2009; HEIDEN e SCHNEIDER, 2011; HEIDEN e SCHNEIDER, 2014; SCHNEIDER, HEIDEN e BOLDRINI, 2009, 2011) e são de difícil identificação, até mesmo para os especialistas. São plantas que apresentam caules providos de alas longitudinais chamados de cladódios. Algumas espécies apresentam pequenas folhas, com importância fotossintética durante as primeiras fases de desenvolvimento, e em maior número quando jovem. A medida que a planta vai se desenvolvendo, as folhas vão se reduzindo, mostrando-se ineficazes no aproveitamento da energia luminosa e nas trocas gasosas (SÁ e NEVES, 1996).

É importante salientar, que uma mesma espécie vegetal possa ter diversos nomes populares, entretanto, um nome comum pode ser empregado para designar diversas espécies vegetais (DEGEN et al., 2005; LORENZI e MATOS, 2008; TOIGO et al., 2004).

Muitos são os trabalhos publicados que sustentam os usos da sabedoria popular no que diz respeito as ações farmacológicas da carqueja. De um modo

geral são ingeridas na forma de decocto ou infusão, ou adicionadas ao chimarrão (BARROSO e BUENO, 2002). Utilizadas como anti-helmíntica, antirreumática, depurativa do sangue, emagrecedora, estomáquica, para o fígado, no tratamento de anemia, anorexia, cálculos biliares, hipercolesteremia, diabetes, diarreia, gastroenterites, gota, hipertensão, má circulação do sangue, reumatismo, gripe e resfriado, digestivo, diurética e tônica. Também são utilizadas em lavagens para tratar feridas e ulcerações. Existem relatos como substitutas do lúpulo na fabricação de cerveja. Sua maior contribuição econômica atualmente se deve a comercialização de ramos desidratados puros ou misturados a outras plantas medicinais, na composição de produtos diuréticos e emagrecedores, (CORRÊA, 1984; HEIDEN et al., 2006; HEIDEN, IGANCI e MACIAS, 2009; SIMÕES et al., 2004).

A espécie mais popular e investigada sob os aspectos morfológicos externos, anatômicos, farmacológicos e químicos, é *Baccharis trimera* (Less.) DC. É uma planta na forma de um arbusto perene, podendo atingir 1 m de altura e apresenta cladódios tripartidos, sem folhas ou reduzidas. A análise fitoquímica evidenciou a presença de flavonoides, terpenos, ácidos fenólicos, saponinas, cumarinas, alcaloides e taninos. Estudos biológicos demonstraram atividades antimicrobianas, moluscida, anti-hepatotóxica, ação anti-inflamatória, antimutagênica, entre outros (BIONDO et al., 2011; DE PINHO et al., 2010; DOS SANTOS-FILHO et al., 1980; GENE, MARIN e ADZET, 1992; NAKASUGI e KOMAI, 1998; OLIVEIRA et al., 2012; SOICKE e LENG-PESCHLOW, 1987; VERDI, BRIGHENTE e PIZZOLATTI, 2005; XAVIER et al., 2012). De acordo com a Farmacopéia Brasileira 5ª ed. (2010), *B. trimera* tem sido indicada como fitoterápico e encontra-se inserida na Relação Nacional de Plantas Medicinais de Interesse do SUS (RENISUS) (MS, 2010).

Devido à facilidade de acesso e à grande semelhança morfológica entre as espécies pertencentes ao gênero *Baccharis* sect. *Caulopterae* (HEIDEN, IGANCI e MACIAS, 2009), estas plantas são coletadas em beira de estradas e barrancos, podendo estar misturadas e confundidas com outras, gerando um risco potencial à saúde da população, uma vez que o seu consumo é realizado sem qualquer método de identificação, controle de qualidade, segurança e eficácia (BONA et al., 2002; BONA et al., 2003; HEIDEN et al., 2006; MARTINS et al., 1995; RODRIGUEZ et al., 2012).

As atividades do chá da carqueja foram confirmadas em estudos farmacológicos e estes foram correlacionados com os efeitos de compostos isolados a partir dos extratos e frações (CAMPOS et al., 2016; HEIDEN, IGANCI e MACIAS, 2009; VERDI, BRIGHENTE e PIZZOLATTI, 2005). Há estudos toxicológicos que sugerem que o chá da carqueja deve ser evitado por mulheres grávidas e pacientes submetidos a tratamento médico com problemas de pressão arterial (ANVISA, 2011). Estes estudos enfatizam a necessidade de ampliar o conhecimento sobre a forma de como estas plantas medicinais têm sido usadas tanto para confirmar o valor do seu uso tradicional, mas também para garantir a utilização segura no futuro.

Quimicamente, foram estudadas cerca de 16 espécies de *Baccharis* L. Seção *Caulopterae* DC. São elas: *B. articulata* (Lam.) Pers. (heterotípico *Baccharis gaudichaudiana* DC.), *B. gaudichaudiana* DC. (Syn.: *Baccharis articulata* var. *gaudichaudiana* (DC.) Baker), *B. crispa* Spreng (heterotípico *Baccharis cylindrica* (Less.) DC.), *B. genistelloides* subsp. *crispa* (Spreng) Joch. Müll., *B. microcephala* (Less.) DC., *B. milleflora* (Less.) DC., *B. myriocephala* DC., *B. pentaptera* (Less.) DC., *B. regnelli* Sch. Bip. ex Baker, *B. sagittalis* (Less.) DC., *B. stenocephala* Baker, *B. trimera* (Less.) DC., *B. usterii* Heering, *B. vincifolia* Baker (identificada como *B. vincaefolia*- FERRACINI et al., 1995), *B. penningtonii* Heering, *B. phyteumoides* (Less.) DC. (AGOSTINI, et al., 2005; DAI et al., 1993; DE OLIVEIRA et al., 2003; MORAIS e CASTANHA, 2011; RETTA et al., 2009; SIMÕES-PIRES et al., 2005a, SIMÕES-PIRES et al., 2005b). Estes estudos químicos apresentam resultados que contribuem na obtenção de informações, para que estas carquejas possam ser identificadas e utilizadas com fins medicinais (ALVES, 2013).

Atualmente, as carquejas identificadas taxonomicamente estão inseridas no sistema da Lista de Espécies da Flora do Brasil, e é parte integrante do Programa Re flora. Este programa conta com atualizações periódicas de informações sobre nomenclatura (nomes aceitos vs sinônimos) e distribuição geográfica, também inclui informações sobre formas de vida, substrato, tipos de vegetação entre outros (HEIDEN e SCHNEIDER, 2014). Muitas das carquejas registradas neste sistema ainda não apresentam nenhum tipo de estudo, como no caso da *Baccharis glaziovii* Baker. Esta planta apresenta aparência similar quando comparada com a mais estudada, *B. trimera*.

3.5.1 Análise morfoanatômica de partes vegetativas aéreas de *Baccharis* seção *Caulopterae*

As plantas do gênero *Baccharis* seção *Caulopterae* apresentam-se como arbustos ou subarbustos; dioicos. O caule é cilíndrico, estriado ou alado, com alas ou estrias decorrentes no limbo foliar (BARROSO, 1976; BUDEL *et al.*, 2005; WATANABE, RAMBO, MARQUES, 2005). Apresenta folhas trinervadas ou peninervadas, às vezes, reduzidas a brácteas inconspícuas. O idumento é geralmente em tufos, composto por tricomas unisseriados flageliformes e bisseriados glandulares, raro tricomas em pedestal. Possuem capitulescências sésseis, dispostas em espigas ou racemos terminais e capítulos femininos cilíndricos a campanulados, com muitas flores. O receptáculo é glandular, desprovidos de páleas, as flores femininas com corola filiforme, de ápice truncado, breve-ligulado ou ligulado, *pappus* das flores femininas, unisseriado, por vezes acrescente, aquênios glabros ou pubérulos, 5-18-costados, com epiderme papilosa e estriada. Os capítulos masculinos são oblongos a campanulados multifloridos, flores masculinas de corola tubulosa, 5-lobada, estigma de ramas lanceoladas aderidas ou não, *pappus* das flores masculinas com cerdas crespas, espessadas no ápice (HEIDEN, IGANCI e MACIAS, 2009).

Estudos da morfologia polínica em quatro espécies do gênero *Baccharis* foram realizados por Figueiredo e Nogueira (1981) e identificaram na espécie *B. microcephala* o pólen na forma esférica, enquanto que nas espécies *B. articulata*, *B. milleflora* DC. e *B. myriocephala* apresentaram grãos de pólen na forma oblato-esferoidal. Entretanto, todas inseridas na classe subesferoidal.

Estudo macro e microscópicos foram realizados com amostras de *B. articulata* por Siqueira, Alice e Thiesen (1988) e concluíram que os ramos apresentam alas articuladas com extremidades arredondadas e coloração acinzentada, nas regiões do mesófilo e nervura central destas alas encontraram cristais prismáticos de oxalato de cálcio, drusas e ráfides. Tricomas glandulares ocorrem em depressões e contêm essência. Na análise fitoquímica evidenciaram a presença de flavonoides, glicosídeos cardiotônicos e taninos.

Estudo realizado por Jorge, Pereira e Silva (1991), identificaram histologicamente órgãos fotossintetizantes presentes em algumas espécies brasileiras de Asteraceae de emprego medicinal, entre elas *B. trimera*.

Cortadi e colaboradores (1999) estudaram as características morfoanatômicas dos caules alados e dos órgãos vegetativos de *Baccharis articulata*, *B. crispa* e *B. trimera* e concluíram que estes parâmetros podem ser utilizadas no controle de qualidade desses vegetais fragmentados ou inteiros.

Gianello e colaboradores (2000) estudaram os caracteres anatômicos e composição fitoquímica de extratos e óleos essenciais de *Baccharis articulata*, *B. crispa* e *B. trimera*. As três espécies de carquejas se diferenciaram pelo número e índice de estômatos, que segundo os autores podem ser usados no controle de qualidade de produtos fitoterápicos reduzidos a pó.

Baccharis articulata foi analisada sob os aspectos morfo-histológicos e fitoquímicos por Ortins e Akisue (2000), que determinaram as constantes físicas e análises cromatográficas da planta visando o controle de qualidade.

Budel e colaboradores (2003) analisaram os caracteres macro e microscópicos de quatro espécies de *Baccharis* (*B. articulata*, *B. cylindrica*, *B. gaudichaudiana* – heterotípico de *B. articulata* (Lam.) Pers. e *B. trimera*) com o objetivo de colaborar com a análise dessas plantas e complementar o conhecimento taxonômico. Concluíram que os aspectos encontrados coincidem com as características descritas para o grupo *Trimera*, conforme classificação de De Candolle (1836) e Barroso (1976).

Estudos morfoanatomicos realizados por Budel, Duarte e Santos (2004) em *B. cylindrica*, pertencente ao grupo *Trimera*, encontraram presença de caule trialado, estômato anomocítico, tricomas tectores e glandulares, dutos secretores e cristais de oxalato de cálcio.

Budel e colaboradores (2005) realizaram estudos botânicos e de controle de qualidade de espécies de *Baccharis* conhecidas como carquejas, e a espécie mais estudada, é *B. trimera* seguida de *B. articulata*, utilizadas na medicina popular como diuréticas e estomáquicas.

B. sagittalis (Less.) DC. e *B. triangularis* do centro-oeste argentino, foram objeto de estudos farmacognósticos, farmacobotânicos e fitoquímicos por Petenatti e colaboradores (2007) a fim de caracterizar estas plantas, contribuindo na diferenciação e no controle de qualidade.

Estudos de controle de qualidade foram realizados em amostras de *B. trimera* comercializadas em Curitiba e Região Metropolitana por Ferrante e

colaboradores (2007). As análises macroscópicas e microscópicas evidenciaram contaminação por outras espécies de plantas, fungos e pequenos insetos.

Estudo morfológico com 38 espécies de *Baccharis* usada na medicina tradicional foi realizado por Freire e colaboradores (2007) para fornecer caracteres epidérmicos com a finalidade de contribuir para o conhecimento do gênero. O estudo revelou que existem diferentes tipos de tricomas e estômatos, os quais podem ser utilizados para diferenciar espécies similares como *B. trimera* e *B. articulata*.

Rodriguez, Gattuso e Gattuso (2008) analisaram os caracteres exo e endomorfológicos das espécies de *B. crispa* e *B. trimera*. Concluíram que os caracteres micromorfológicos diacríticos qualitativos e quantitativos forneceram informações relevantes para caracterização e diferenciação entre *B. crispa* e *B. trimera*.

Análises da morfologia externa e anatomia dos caules alados de *B. trimera* e *B. microcephala* foram realizadas por Budel e Duarte (2009). Os cladódios de *B. microcephala* apresentam alas mais estreitas em comparação com *B. trimera*. Os tricomas tectores em *B. microcephala* terminam em ponta alongada e afilada e em *B. trimera* na forma de T. A presença dos cristais de oxalato de cálcio na forma piramidal em *B. microcephala* e prismáticos de diferentes tamanhos em *B. trimera*. Concluíram que as características morfoanatômicas apresentadas fornecem subsídios para auxiliar na diferenciação, caracterização e controle de qualidade dessas espécies.

Os caracteres macro e microscópicos dos órgãos vegetativos aéreos de *Baccharis usterii* Heering (carqueja) foram estudados por Budel e Duarte (2010). Macroscopicamente, verificou-se caule trialado, aos quais se inserem pequenas folhas. As alas e as folhas apresentaram-se semelhantes com presença de dutos secretores e tricomas glandulares.

A caracterização de três espécies de *Baccharis* sect. *Caulopterae* (*B. gaudichaudiana* - heterotípico de *B. articulata* (Lam.) Pers., *B. articulata* e *B. trimera*) através de estudos morfoanatômicos realizados por Rodriguez e colaboradores (2010), apresentaram discordância quanto a diferenciação entre as espécies.

Estudos farmacognósticos em *Baccharis milleflora* DC. foram realizados por Pereira e colaboradores (2014) e compararam as características descritas

para o grupo *Trimeria*. As análises revelaram presença de caule trialado, estômatos actinocítico e anomocítico, tricomas tectores flageliformes com células da base que se alargam em direção ao ápice, tricomas glandulares bisseriados e ductos secretores.

Estudo farmacobotânico de *Baccharis pentaptera* foi realizado por Budel e colaboradores (2015) e observaram cladódio trialado com arranjo irregular, epiderme unisseriada, parênquima paliçádico em ambos os lados da epiderme, parênquima esponjoso atravessado por feixes vasculares menores na região central, presença de tricomas tectores e cristais prismáticos e estiloides na zona perimedular.

A morfologia externa e o tipo de tricomas são as características que se apresentam mais relevantes na identificação e diferenciação das espécies do gênero *Baccharis*.

3.5.2 Química dos óleos essenciais de *Baccharis* seção *Caulopterae*

As espécies de plantas pertencentes ao gênero *Baccharis* seção *Caulopterae* são dióicas e revelaram aspectos que determinam a qualidade nutricional em relação aos insetos herbívoros (FERRACINI et al., 1995). Alguns estudos químicos dos óleos voláteis têm demonstrado diferenças discretas no metabolismo secundário de espécimes masculinos e femininos o que possivelmente aponta certa preferência dos insetos herbívoros por ramos masculinos. Outro estudo realizado por observações de campo demonstrou que plantas masculinas apresentam ramos maiores e menor número de inflorescências do que plantas femininas, apresentando uma interrelação de efeito em espécimes masculino e feminino via meio ambiente (CARNEIRO et al., 2006; LAGO et al., 2008b). A presença de componentes voláteis nestas plantas desempenha um fator ecológico importante, especialmente na atração de insetos polinizadores e na defesa contra insetos herbívoros e, frequentemente, apresentam composições complexas que podem conter cerca de 100 compostos. Estes constituintes podem pertencer as mais diversas classes de compostos, sendo os terpenos e os fenilpropanoides os mais comumente encontrados.

Estão catalogadas no Brasil cerca de 32 espécies pertencentes a seção *Caulopterae* (HEIDEN, IGANCI e MACIAS, 2009; HEIDEN e SCHNEIDER, 2011; HEIDEN, BAUMGRATZ e ESTEVES, 2012; HEIDEN e SCHNEIDER, 2014; SCHNEIDER, HEIDEN e BOLDRINI, 2009, 2011). Destas, 13 espécies tiveram seus óleos essenciais estudados, sendo cinco o número das espécies mais exploradas, as quais, foram coletas em diferentes locais do Sul do Brasil. São elas, *B. articulata* (Lam.) Pers. (AGOSTINI et al., 2005; GIANELLO et al., 2000; SIMIONATTO et al., 2008; SIMÕES-PIRES et al., 2005a; TONN, GIANELLO e GUIDUGLI, 1987; ZUNINO et al., 1998; ZUNINO et al., 2004), *B. crispa* Spreng. (GIANELLO et al., 2000; SIMÕES-PIRES et al., 2005a; TONN, GIANELLO e GUIDUGLI, 1987; ZUNINO et al., 1997), *B. genistelloides* (Lam.) Pers. (BAUER et al., 1978; CHIALVA e DOGLIA, 1990; NAVES, 1959), *B. trimera* (BESTEN et al., 2013; DE FERRANTE et al., 2007; GIANELLO et al., 2000; LAGO et al., 2008a; LAGO et al., 2008b; SILVA et al., 2007; SIMÕES-PIRES et al., 2005a) e *B. myriocephala* DC. (FERRACINI et al., 1995; QUEIROGA et al., 1996; SIMÕES-PIRES et al., 2005a).

Existem oito relatos na literatura que analisaram separadamente a composição química dos óleos voláteis das partes aéreas dos espécimes masculinos e femininos de *Baccharis* sendo que, muitos são de *Baccharis* que não pertencem à seção *Caulopterae* (BAILAC et al., 2001; BESTEN et al., 2012; BESTEN et al., 2013; FERRACINI et al., 1995; LAGO et al., 2008b; MENDES et al., 2008; PRADO et al., 2003; ZUNINO et al., 2004). Estes estudos descrevem os óleos obtidos de folhas, cladódios e inflorescências separadamente, outros estudos especificaram apenas como partes aéreas. O estudo de Ferracini e colaboradores (1995) analisaram os óleos de inflorescências masculino e feminino de *B. dracunculifolia* Sect. *Discolores*, verificando a razão de monoterpenos/sesquiterpenos durante o período de um dia ensolarado, mas não caracterizou os principais componentes dos óleos. Este estudo foi realizado com sete espécies de *Baccharis* (*B. caprariaefolia*, *B. dracunculifolia*, *B. erioclada*, *B. myriocephala*, *B. tridentata* e *B. vincaefolia*) encontradas no cerrado brasileiro. Apenas *B. myriocephala* e *B. vincaefolia* pertencem a seção *Caulopterae* e não foi caracterizado o óleo essencial de macho e fêmea separadamente. Os óleos essenciais das partes aéreas foram obtidos por hidrodestilação e examinado por CG/EM. Os principais constituintes de *B. myriocephala* foram δ -cadineno

(9,44%), espatulenol (9,44%), (*E*)-nerolidol (9,01%), e de *B. vincaefolia* δ -cadineno (8,88%), β -cariofileno (8,66%) e γ -cadineno (6,5%) (FERRACINI et al., 1995).

O óleo essencial de *Baccharis coridifolia* DC. (Seção *Coridifoliae* – GIULIANO e FREIRE, 2011), obtido por hidrodestilação das partes aéreas em florescimento-frutificação da planta feminina, foram analisados por CG (índice de retenção) e CG/EM. As análises revelaram a presença de 29 compostos, correspondendo 89,2%, dos quais isocariofileno (34,3%), β -cariofileno (10,8%), óxido de cariofileno (9,8%) e β -selineno (8,2%) foram os principais componentes (BAILAC et al., 2001).

Em estudo realizado das partes aéreas floridas masculinas e femininas de *B. tandilensis* Spreng. (Syn. *B. dracunculifolia*, Seção *Discolores* segundo GIULIANO e FREIRE, 2011), foram identificados por CG/EM aproximadamente 90% dos constituintes, sendo que os principais compostos detectados foram em plantas masculinas e femininas: β -pineno (33,1% e 30,0%), α -pineno (7,4% e 4,5%), limoneno (3,7% e 12,3%), β -cariofileno (1,7% e 0,8%), espatulenol (7,0% e 8,4%), biciclogermacreno (4,0% e 3,2%) e viridiflorol (15,8% e 17,0%), respectivamente (PRADO et al., 2003).

Nos óleos essenciais das folhas de espécimes femininos e masculinos de *B. articulata* (Seção *Caulopterae*) coletadas em Córdoba, Argentina, os principais componentes dos óleos da planta feminina foram: β -pineno (14,7%), espatulenol (27,3%) e *E*-nerolidol (10,1%); e para a planta masculina: espatulenol (30,3%), β -cariofileno (9,5%), biciclogermacreno (8,9%) e *E*-nerolidol (8,1%). As razões para as diferenças encontradas nas composições mencionadas podem estar relacionadas a questões de odor, desempenhando um papel importante na atração de insetos polinizadores (ZUNINO et al., 2004).

Segundo Lago e colaboradores (2008b), foram identificados 37 compostos nos óleos essenciais dos ramos inteiros frescos e floridos de *B. trimera* (Seção *Caulopterae*) correspondendo aproximadamente 90% do total do óleo. Sesquiterpenos foram os principais derivados e nove compostos (β -elemeno, (*E*)-cariofileno, aromadendreno, biciclogermacreno, δ -cadineno, germacreno-B, óxido de cariofileno, *epi*- α -muurolol e α -cadinol) foram encontrados nas amostras. No óleo do espécime feminino, foram identificados 23 compostos, os principais foram (*E*)-cariofileno (16,1%), α -cadineno (11,6%),

α -cadinol (8,5%), óxido de cariofileno (7,5%) e biciclogermacreno (7,8%). Dos 25 compostos identificados para o espécime masculino, os compostos majoritários foram: (*E*)-cariofileno (10,2%), α -humuleno (20,3%), germacreno D (12,9%), germacreno A (7,8%), mirceno (6,6%), óxido de cariofileno (6,1%).

Estudo realizado com os óleos essenciais das folhas de espécimes femininos e masculinos de *B. semiserrata* (Seção *Nitidae*) coletadas no estado do Paraná, apresentaram baixo conteúdo em monoterpenos e os sesquiterpenos majoritários para espécime masculino e espécime feminino foram espatulenol (50,75%-42,65%), aromadendreno (9,61-2,33%), α -muuroleno (8,88-2,38%) e δ -cadineno (9,52-3,93%), respectivamente (MENDES et al., 2008).

Os óleos essenciais das folhas de espécimes masculinos e femininos de cinco espécies do gênero *Baccharis*: *B. caprariaefolia*, *B. dracunculifolia*, *B. semiserrata* var. *elaegnoides*, *B. coridifolia* e *B. pentaptera* (Seção *Caulopterae*) foram coletadas no Segundo Planalto do Paraná, foram estudadas quanto às suas composições químicas. Os principais componentes para os óleos da planta feminina de *B. pentaptera* espatulenol (43,6%), óxido de cariofileno (9,2%), α -cadinol (7,6%) e para masculino: espatulenol (48,4%), óxido de cariofileno (18,6%), β -cariofileno (3,8%). Além de ter demonstrado grande similaridade entre óleos essenciais de espécimes masculinas e femininas das cinco espécies estudadas, também todas apresentaram baixos níveis de monoterpenos oxigenados (BESTEN et al., 2012).

Análises por CG/EM e CG/DIC dos óleos voláteis de cladódios e inflorescências de *B. trimera* masculinos e femininos, foram coletados nos estados do Paraná e Santa Catarina, Brasil. Mostrou que o acetato de carquejila foi o componente volátil majoritário para cladódios em amostras de planta masculina e feminina (73,3 e 73,5%) e para inflorescências masculina e feminina (51,1 e 45,6%), respectivamente. Os dados foram submetidos à análise de agrupamento hierárquico e de componentes principais, confirmou que as composições químicas de todas as amostras foram semelhantes. Estes dados corroboram com a ocorrência de quimiotipos nos três estados do sul do Brasil, sendo o composto acetato de carquejila o principal marcador químico da *B. trimera* (BESTEN et al., 2013).

O número de espécies de *Baccharis* com óleos essenciais estudados pode ser ainda menor, já que alguns binômios botânicos são considerados

sinônimos. Um dos casos de sinonímia mais importantes em discussão na literatura botânica brasileira, trata-se da carqueja *B. trimera*, pela importância sócio-econômica que esta espécie desempenha no Brasil (BARROSO, 1976; CUATRECASAS, 1967; GIULIANO, 2001; SIMÕES-PIRES et al., 2005a,b). A questão sobre a sinonímia botânica da carqueja *B. trimera* continua em aberto, com evidente prejuízo para a qualidade dos produtos farmacêuticos industriais preparados com base nesta espécie vegetal. Nos primeiros trabalhos científicos sobre o óleo essencial da carqueja brasileira, a espécie foi identificada como *B. genistelloides*, encontrando-se carquejol e/ou acetato de carquejila como principal componente e de ocorrência restrita à espécie *B. trimera* (BAUER et al., 1978; CHIALVA e DOGLIA, 1990; HENNING et al., 2011; NAVES et al., 1959). Mais recentemente, análises de óleos de *B. trimera* coletada em vários locais do estado do Rio Grande do Sul também apresentaram acetato de carquejila (SIMÕES-PIRES et al., 2005a; VARGAS et al., 2006) o que não ocorre com o material botânico coletado ou cultivado nas regiões Sudeste e Centro-Oeste do Brasil (LAGO et al., 2008a; LAGO et al., 2008b; SILVA et al., 2007). O óleo essencial de *B. trimera* tem aplicações terapêuticas, como digestivo, anti-reumática atribuída aos compostos carquejol e ao acetato de carquejila. Ele também é usado em casos de diarreia, problemas hepáticos e do estômago (DE FERRANTE et al., 2007; SILVA JÚNIOR, 1997).

Analisando os dados disponíveis na literatura, torna-se evidente a necessidade de mais estudos químicos sobre os óleos essenciais produzidos por espécies do gênero *Baccharis* Sect. *Caulopterae*, cuja característica marcante é o relacionamento intenso com inúmeros seres vivos, especialmente insetos (FAGUNDES et al., 2005; DAMASCENO et al., 2010; ROSSO, MAIER e BERTONI, 2000), como no caso da planta em estudo.

3.6 *Baccharis glaziovii* BAKER

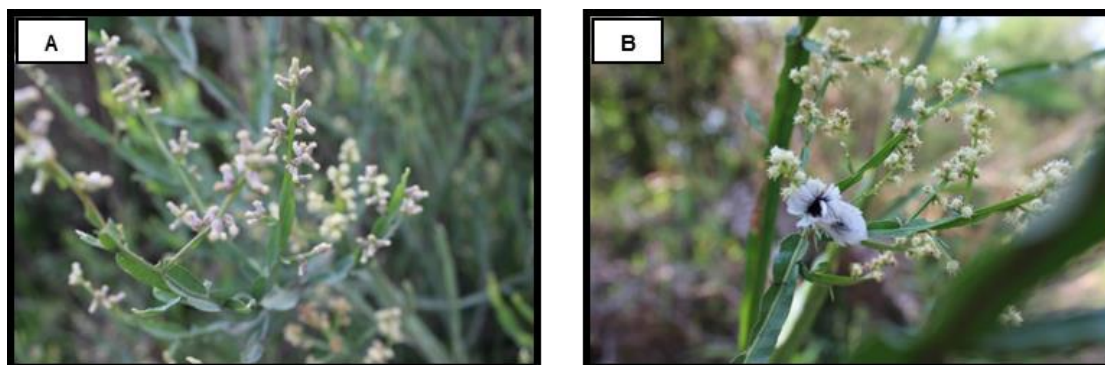
Baker (1882) descreveu *B. glaziovii* com base em dois exemplos, mas ambos apresentavam capítulos imaturos (*Glaziou 5900* e *Glaziou 4838*). O epíteto homenageia Auguste François Marie Glaziou (1828-1906), coletor da espécie.

A espécie de *B. glaziovii* (FIGURA 3), conhecida como carqueja ou carqueja-arbustinho, pertence a seção *Caulopterae*, é um arbusto nativo do Brasil, com até 2,5 m de altura. Apresenta caule triado chamado cladódio, e pequenas folhas e inflorescências masculinas e femininas em plantas separadas (BARROSO, 1976; BARROSO e BUENO, 2002; FARMACOPÉIA BRASILEIRA 5ª ed., 2010). Cresce no leste do Paraguai, Brasil e sudeste da Argentina. No Brasil, ocorre nas Regiões Sul (PR, SC, RS), Sudeste (MG, RJ, SP) e Centro-oeste (MS), no Bioma Floresta Atlântica, formando populações esparsas, com indivíduos arbustivos apoiantes ou escandentes, tem seu desenvolvimento, em ambientes sombreados nas bordas de florestas altimontanas, ou densas, com espécimes arbustivos eretos em bordas de matas nebulares e em campos de altitude, prefere locais com umidade, como vertentes e brejos, ou encostas (HEIDEN, IGANCI e MACIAS, 2009; HEIDEN, BAUMGRATZ e ESTEVES, 2012).

Floresce de junho a março, com pico de floração entre setembro e dezembro, frutificando em seguida. O limbo foliar apresenta-se desenvolvido em indivíduos jovens e estéreis, havendo redução com o desenvolvimento da planta. Em alguns casos, chega a reduzir-se em escamas nos ramos reprodutivos (HEIDEN, IGANCI e MACIAS, 2009; HEIDEN, BAUMGRATZ e ESTEVES, 2012; HEIDEN e SCHNEIDER, 2014).

Baccharis glaziovii foi avaliada quanto ao estado de conservação conforme os critérios da lista vermelha das espécies ameaçadas de extinção (IUCN, 2014). Esta espécie foi incluída na categoria “Quase Ameaçada”. Embora esta espécie cresça densamente, ela restringe a poucas localidades ou ocorrem em áreas limitadas, e que algum impacto adverso poderia causar a extinção de populações isoladas sem possibilidade de regeneração.

FIGURA 3 - *Baccharis glaziovii*. A) INFLORESCÊNCIAS FEMININAS, B) INFLORESCÊNCIAS MASCULINAS



FONTE: O autor (2012).

Até o presente momento, não há relato de investigação realizada com esta espécie. Porém, de acordo com estudos de outras espécies do mesmo gênero, substâncias importantes farmacologicamente têm sido isoladas, o que justifica o interesse na investigação química, morfoanatômica e biológica desta espécie. Considerando a categoria na qual a espécie está situada, buscou-se o manejo adequado para que nenhum fator afetasse negativamente a qualidade de desenvolvimento de seu habitat.

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 SUPORTE PARA CROMATOGRAFIA

- **Cromatografia por adsorção em coluna (CCA):** Os fracionamentos cromatográficos foram realizados em coluna de vidro, utilizando como fase estacionária sílica gel 60 com partículas entre 0,063-0,200 mm (70-230 mesh ASTM) da Merck. O comprimento e diâmetro das colunas variaram de acordo com as quantidades de amostras a serem cromatografadas (MATOS, 1997).

- **Cromatografia em camada delgada analítica (CCDA):** As análises em camada delgada analítica foram realizadas em cromatofolhas Merck, sílica gel 60, com indicador de fluorescência F_{254} , com suporte em alumínio e 0,2 mm de espessura.

- **Cromatografia por exclusão:** Foi realizada utilizando como suporte Sephadex LH-20, da GE Healthcare Bio-Sciences AB.

- **Reveladores:** As manchas foram visualizadas por fluorescência em luz ultravioleta 254 e 365 nm, e em seguida, como revelador cromatográfico foi usado $FeCl_3$ (5% em MeOH) para compostos fenólicos e $H_2SO_4/MeOH$ (1:1) seguido de aquecimento a 100°C para revelar substâncias orgânicas em geral.

4.2 REAGENTES E EQUIPAMENTOS

- **Solventes:** Os solventes P.A. (hexano, diclorometano, acetato de etila, metanol) utilizados nas preparações dos extratos e nos fracionamentos passaram pelo processo de destilação, para a retirada de impurezas.

- **Microscopia óptica e eletrônica de varredura:** As fotomicrografias foram realizadas no microscópio fotônico Olympus CX 31, acoplado à unidade C 7070. As análises foram realizadas no Laboratório de Farmacognosia, do Departamento de Farmácia, da Universidade Estadual de Ponta Grossa. Foi realizada a análise estrutural de superfície por microscopia eletrônica de varredura (MEV) (SOUZA, 1998) em alto vácuo. Para tal procedimento, as amostras foram fixadas em FAA 70 que compõe-se de formalina, ácido acético e álcool etílico 70°, desidratadas em série etanólica crescente e pelo ponto crítico

no equipamento Balzers CPD 030 e, após montagem em suporte, submetidas à metalização com ouro no aparelho Balzers Sputtering SCD 030. As eletromicrografias foram realizadas no microscópio eletrônico de varredura Jeol JSM 6360 LV, no Centro de Microscopia Eletrônica, da Universidade Federal do Paraná.

- **Cromatografia à gás (CG):** As análises qualitativas das amostras foram realizadas em um cromatógrafo à gás hifenado a um espectrômetro de massas CG-EM (Shimadzu, modelo QP5050A), equipado com um autoinjeter AOC-20i (Shimadzu). As condições de análise foram: coluna capilar de sílica fundida Agilent J&W GC Columns RTX-5SilMS (30 m X 0,25 mm d.i, 0,25 µm d.p.) composta por 5%-fenil-95%-dimetilpolisiloxano; gás de arraste hélio (99,999%) com fluxo constante de 52,2 mL.min⁻¹; temperatura programada mantendo 40 °C por 4 min, seguida de um aumento de 4 °C.min⁻¹ até atingir a temperatura de 240°C, com posterior aumento de 10 °C.min⁻¹ até atingir a temperatura de 280 °C, a qual se manteve por 2 min. O volume de injeção foi de 1,0 µL da amostra solubilizada em diclorometano com taxa de concentração de 1,0:50; a temperatura do injetor e detector foi de 250 °C e 280 °C, respectivamente; para a obtenção dos espectros de massa foi utilizado um detector de captura iônica operando por impacto eletrônico e energia de impacto de 70 eV com um intervalo de 0,5 s e fragmentos de 41 a 550 Da, totalizando em uma corrida de 60,0 min. Os índices de retenção foram obtidos com uma solução padrão de *n*-alcanos (C8-C18). Componentes de óleo essencial foram identificados por comparação dos tempos de retenção (RT) dos picos de CG e espectro de massas (EM) com a literatura da biblioteca NIST (National Institute of Standards and Technology) e por Adams (2007).

As análises quantitativas dos constituintes voláteis presentes nos óleos essenciais foram realizadas em um cromatógrafo gasoso equipado com detector de ionização de chamas (CG-DIC), utilizando um equipamento Shimadzu GC-17A. A separação dos compostos foi conseguida empregando uma coluna capilar de sílica fundida ZB-5MS (30,0 m x 0,25 mm d.i. X 0,25 µm d.p.) revestidas com 5% de fenil-arileno-95%-dimetilpolisiloxano. O gás hélio foi usado como gás de arraste com vazão de 1,0 mL.min⁻¹. O programa de temperatura da coluna foi de 40 °C.4 min⁻¹, a uma taxa de 4 °C.min⁻¹ até 240 °C, em seguida a 10°C.min⁻¹ até 280 °C, e a 280 °C.2min⁻¹. As temperaturas do injetor e do

detector foi de 250 °C e 280 °C, respectivamente. As amostras (10 mg.mL⁻¹ em CH₂Cl₂) foram injetados o volume de injeção de 1,0 µL com uma razão de 1:50 de separação. Índices de retenção foram gerados com uma solução padrão de n-alcanos (C8-C18). As áreas de pico e tempos de retenção foram medidos por um integrador eletrônico. As quantidades relativas de compostos individuais foram calculados a partir de áreas de pico do sem a correção do fator de resposta do DIC.

- **Ressonância Magnética Nuclear (RMN):** Os espectros de ressonância magnética nuclear 1D e 2D foram registrados no aparelho Bruker de 400 e 600 MHz operando a 14,1 Tesla (T). Os experimentos foram realizados no centro de RMN da UFPR no Departamento de Química. Foram utilizados cerca de 10 a 20 mg de amostras solubilizadas em 600 µL de solvente deuterado conforme a polaridade das substâncias, como: clorofórmio deuterado (CDCl₃), metanol deuterado (CD₃OD) e a misturas destes, água deuterada (D₂O) e dimetilsulfóxido deuterado (DMSO-*d*₆), utilizando o tetrametilsilano (TMS) como padrão de referência interna ($\delta = 0$ ppm). Os deslocamentos químicos (δ) foram expressos em ppm e as constantes de acoplamento (*J*) foram registradas em Hertz (Hz). Os espectros foram adquiridos no software *TopSpin 3.1*.[®] e utilizando o programa *FOMSC3_rmr*[®] para simular as multiplicidades dos acoplamentos.

- **Espectrometria de Massas (EM):** Os espectros de massas foram obtidos por infusão direta por espectrometria de massas (DIMS) nos equipamentos:

- LRMS, Thermo Scientific LTQ XL Ion Trap Mass Spectrometer, equipado com fonte de ionização do tipo ESI. Voltagem do capilar (IS, +/-): 5/ - 4,5 kV, temp. 250-280 °C, gás de nebulização: 8 psi, gás auxiliar: 2 psi e voltagens da lente: 70-110 V. Os experimentos foram realizados no laboratório de massas do Departamento de Química da UFPR.

- HRMS, Thermo Scientific LTQ Orbitrap Velos, equipado com fonte de ionização do tipo ESI. Voltagem do capilar (IS, -): - 3 kV, temperatura 250 °C, gás de nebulização: 20 psi e voltagens da lente: 110 V. Os experimentos foram realizados no Departamento de Bioquímica da UFPR.

Os espectros foram obtidos nos modos negativo e positivo, conforme a ionização da molécula, utilizando como solventes o metanol com e sem formiato de amônia para o modo negativo e no modo positivo metanol com e sem ácido

fórmico. As soluções das amostras variaram de concentração, para as frações de 0,01-0,1 $\mu\text{g.mL}^{-1}$ e para os extratos 0,1-0,5 $\mu\text{g.mL}^{-1}$.

Para a aquisição e análise de dados foi utilizado o software *Thermo Xcalibur Qual Browser 2.1*[®] para LRMS e para HRMS *Data Analysis Viewer 4.1*[®]. A faixa de aquisição utilizada foi de m/z 100-1000.

4.3 COLETA E IDENTIFICAÇÃO BOTÂNICA

O projeto foi submetido ao CNPq para solicitar a autorização de acesso e de remessa de amostra de componente de Patrimônio Genético (CGEN), ao qual foi registrado sob o número: 010304/2013-4, também foi submetido à uma autorização para atividade com finalidade científica (SISBIO) sob o número: 39124-2. As partes aéreas de *Baccharis glaziovii* Baker foram coletadas em novembro de 2012, no Sítio do Sr. Vitor Jasinski, na Colônia Dulcio próximo à cidade de Mallet, Paraná – Brasil, cujas as coordenadas foram 25°48'26.99" L e 50°52'54.91" O, altitude de 881 m.

A identificação botânica do material foi realizada pelo botânico Osmar dos Santos Ribas, tendo sido depositadas amostras de cada espécime no Herbário do Museu Botânico Municipal de Curitiba (MBM), da Universidade Federal do Paraná, Curitiba, PR, sob os números de *vouchers* MBM381048-Feminino e MBM381049-Masculino. Foram enviadas também amostras de cada espécime para outros dois herbários. No Herbário da Universidade Federal do Rio Grande do Sul (ICN), a identificação botânica foi realizada pelo Dr. Nelson Ivo Matzenbacker, tendo sido depositadas sob os números de *vouchers* ICN191190-Feminino e ICN191189-Masculino e no Herbário do Departamento de Botânica da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (RBR) a identificação botânica foi realizada pelo especialista Dr. Gustavo Heiden, tendo sido depositadas sob os números de *vouchers* RBR35685-Feminino e RBR35686-Masculino.

4.4 ESTUDO MORFOANATÔMICO

As pesquisas referentes aos caracteres morfoanatômicos foram efetuadas com folhas e caules de *Baccharis glaziovii*, a partir de 5 cm do ápice da planta. O material vegetal foi fixado em FAA 70 (JOHANSEN, 1940) e estocado em etanol a 70% (v/v) (BERLYN e MIKSCHE, 1976). O trabalho foi desenvolvido no Laboratório de Farmacognosia, do Departamento de Farmácia, da Universidade Estadual de Ponta Grossa (UEPG) sob orientação e supervisão da Profa. Dra. Rosi Zanoni da Silva e da Profa. Dra. Jane Manfron Budel. Para a descrição morfológica foi utilizada a obra de Barroso (1976) e Barroso e Bueno (2002) e para a classificação dos estômatos foram utilizadas as categorias gerais descritas por Metcalfe e Chalk (1950).

4.4.1 Lâminas semipermanentes

Foram preparadas lâminas semipermanentes com o material seccionado nos sentidos transversal e longitudinal, à mão livre, submetido à coloração azul de Astra e fucsina básica (ROESER, 1972) ou de azul de toluidina (O'BRIEN, FEDER e McCULLY, 1964). As lâminas foram montadas com glicerina diluída a 50% (v/v) (BERLYN e MIKSCHE, 1976) e para a lutagem foi utilizado esmalte incolor. As análises foram realizadas no Laboratório de Farmacognosia, do Departamento de Farmácia, da Universidade Estadual de Ponta Grossa.

4.4.2 Testes microquímicos

Para os testes microquímicos foram feitas secções transversais à mão livre do material fixado. Os reativos empregados foram: floroglucina clorídrica para verificação da lignina (FOSTER, 1949), Sudan III para compostos lipofílicos (SASS, 1951), cloreto férrico para compostos fenólicos (JOHANSEN, 1940), lugol para amido (BERLYN e MIKSCHE, 1976) e ácido sulfúrico para verificação da natureza química dos cristais (OLIVEIRA e AKISUE, 1997).

Os resultados foram registrados por meio fotomicrografias no microscópio fotônico Olympus CX 31, acoplado à unidade C 7070. As análises

foram realizadas no Laboratório de Farmacognosia, do Departamento de Farmácia, da Universidade Estadual de Ponta Grossa.

4.4.3 Microscopia eletrônica de varredura

Foi realizada a análise ultraestrutural de superfície por microscopia eletrônica de varredura (MEV) (SOUZA, 1998) em alto vácuo. Para tal procedimento, as amostras foram fixadas em FAA 70, desidratadas em série etanólica crescente e pelo ponto crítico no equipamento Balzers CPD 030 e, após montagem em suporte, submetidas à metalização com ouro no aparelho Balzers Sputering SCD 030. As eletromicrografias foram realizadas no microscópio eletrônico de varredura Jeol JSM 6360 LV, no Centro de Microscopia Eletrônica, da Universidade Federal do Paraná.

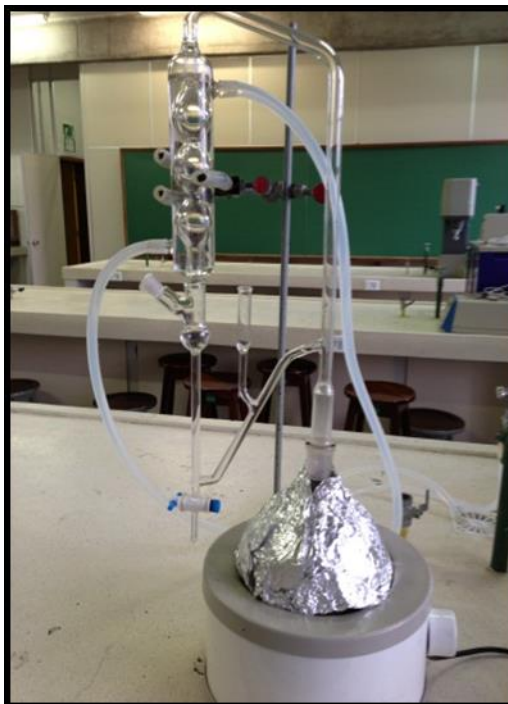
4.5 SECAGEM E MOAGEM DO MATERIAL BOTÂNICO

O material botânico coletado foi seco em estufa de ar circulante aproximadamente 40 °C e depois reduzido a fragmentos, seguido de pulverização em moinho de facas para posterior extração.

4.6 OBTENÇÃO DOS ÓLEOS ESSENCIAIS

A extração dos óleos do material fresco das flores (100 g) e cladódios (200 g) masculinos e femininos de *B. glaziovii*, denominados **BgFF** (Flor Feminina), **BgFM** (Flor Masculina), **BgCF** (Cladódio Feminino) e **BgCM** (Cladódio Masculino) foi realizada por hidrodestilação em triplicata, diluídos em 1 L de água destilada, durante 4 h cada, mantendo a temperatura a 100°C, utilizando um extrator do tipo Clevenger modificado (FIGURA 4). Os óleos essenciais foram secos sobre sulfato de sódio anidro e o conteúdo percentual foi calculado com base no peso do material seco da planta. Os óleos essenciais foram armazenados em congelador até a análise. A análise química dos óleos foi realizada na Universidade Federal de Sergipe, sob a responsabilidade do Prof. Dr. Emmanoel Vilaça Costa.

FIGURA 4 - APARATO CLEVINGER MODIFICADO



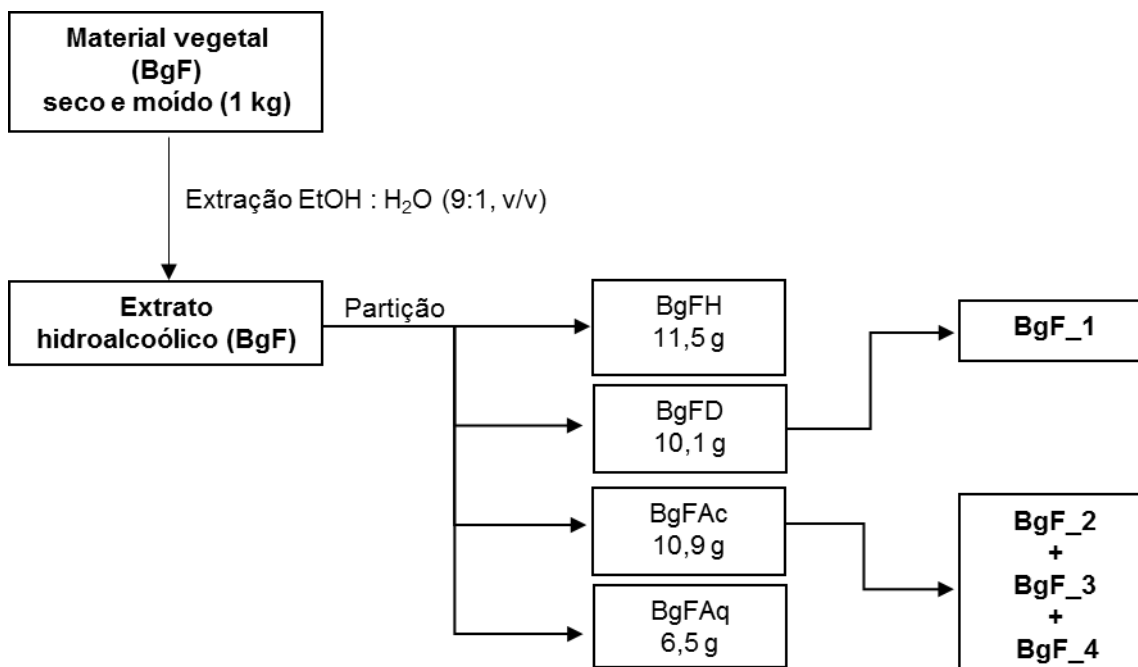
FONTE: O autor (2012).

4.7 OBTENÇÃO DOS EXTRATOS

As partes aéreas (folhas e cladódios) de *B. glaziovii* femininos (**BgF**) e *B. glaziovii* masculinos (**BgM**) foram secas, moídas (1 kg de cada) e maceradas em etanol (90%) em intervalos de três dias cada por três vezes. Os extratos foram reunidos, concentrados em rotaevaporador à temperatura controlada. Após retirada de todo o álcool o extrato bruto foi liofilizado. Os extratos de **BgF** e **BgM** foram analisados por RMN de 1D e 2D e optou-se por fazer o estudo com o extrato **BgF**. O extrato **BgF** foi suspenso com uma mistura etanol:água (1:2, v/v) e, posteriormente, fracionados com solventes de polaridade crescente, obtendo-se as frações em hexano (**BgFH**), diclorometano (**BgFD**) e acetato de etila (**BgFAc**), sendo que a porção restante foi denominada de fração aquosa residual (**BgFAq**). Todas as frações foram rotaevaporadas e armazenadas em geladeira, com exceção da fração remanescente **BgFAq** que foi liofilizado. Todas as frações foram analisadas por RMN de 1D e 2D. Em **BgFD** foi identificado nesta fração bruta e em mistura a substância **BgF_1**, em **BgFAc** foram identificados nesta fração bruta e em mistura as substâncias **BgF_2** + **BgF_3** + **BgF_4** (ESQUEMA 1).

O ESQUEMA 1 mostra o fluxograma de obtenção das frações e as quantidades obtidas dos extratos e frações da amostra **BgF**.

ESQUEMA 1 - OBTENÇÃO DOS EXTRATOS E FRAÇÕES



FONTE: O autor (2013).

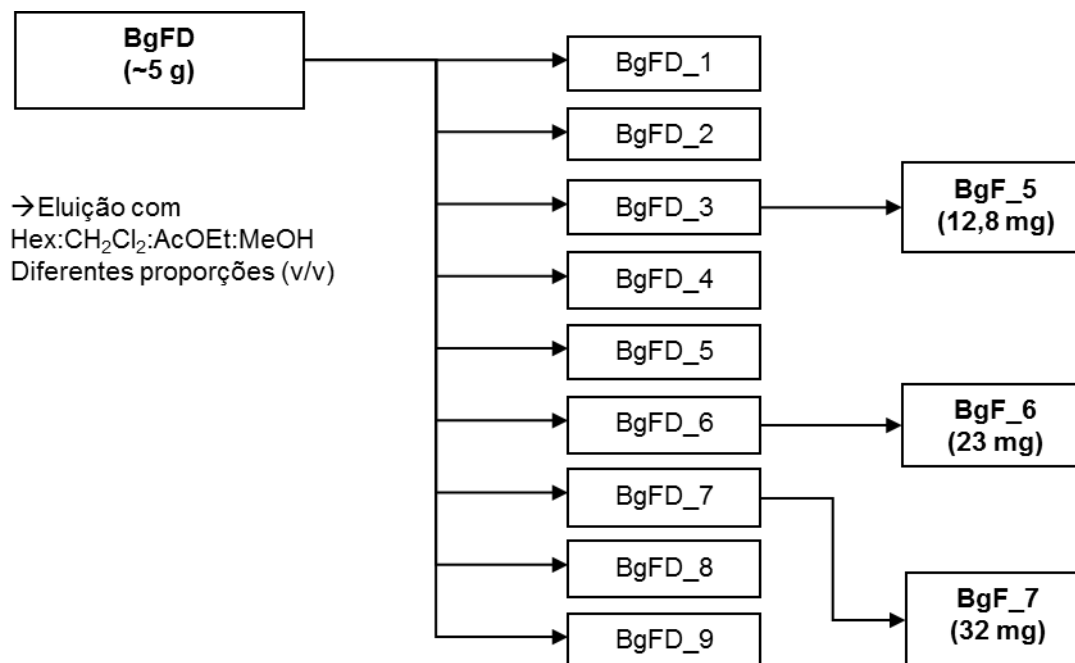
4.7.1 Fracionamento cromatográfico

4.7.2 Fração BgFD

Uma parte de **BgFD** (5,0 g) foi inicialmente submetida ao fracionamento através de uma coluna cromatográfica (CC, altura x ϕ = 33 x 3,3 cm) de sílica gel (0,063-0,200 mm, 100 g), eluída com hexano, diclorometano, acetato de etila e metanol em misturas de polaridades crescentes. Obteve-se 123 frações de 25 mL cada, reunidas em 10 grupos (**BgFD_1** a **BgFD_10**) de acordo com os seus respectivos Rfs e posteriormente analisadas por RMN 1D e 2D, e na fração bruta, **BgFD_3**, foi identificada em mistura a substância **BgF_5**, na fração bruta **BgFD_6** foi identificada em mistura a substância **BgF_6**, e na fração bruta **BgFD_7** foi identificada em mistura a substância **BgF_7** (ESQUEMA 2).

O ESQUEMA 2 representa a obtenção das frações pela coluna cromatográfica de **BgFD**.

ESQUEMA 2 - FRACIONAMENTO CROMATOGRÁFICO DE BgFD

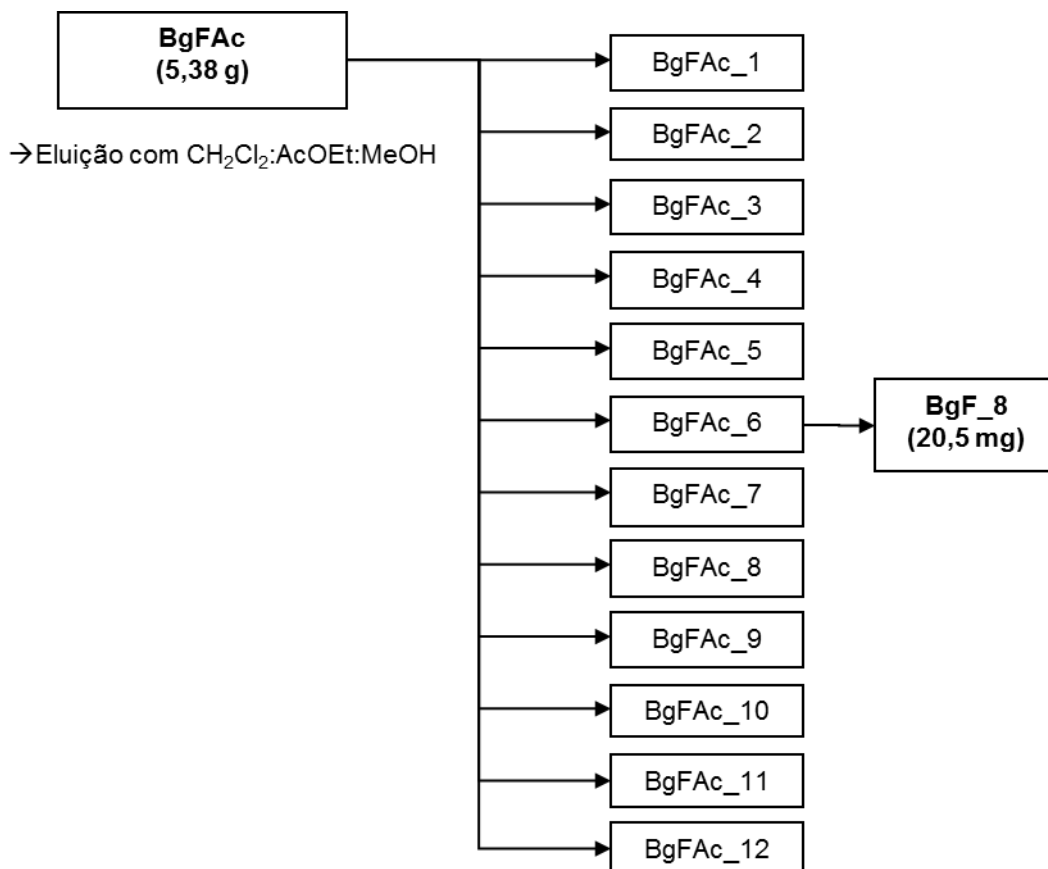


FONTE: O autor (2013).

4.7.3 Fração BgFAc

Uma parte de **BgFAc** (5,38 g) foi submetida ao fracionamento através de cromatografia por exclusão, utilizando fase estacionária Sephadex LH-20 (CC, altura x ϕ = 75 x 2,7 cm) e fase móvel diclorometano, acetato de etila e metanol em misturas de polaridades crescentes. Foram obtidas 62 frações de 25 mL cada, reunidas em 12 grupos (**BgFAc_1** a **BgFAc_12**) de acordo com os seus respectivos Rfs. As frações obtidas foram analisadas por CCDA. Todas as frações foram analisadas por RMN de 1D e 2D, e na fração **BgFAc_6** foi identificado em mistura a substância **BgF_8**. O ESQUEMA 3 apresenta as frações obtidas pela coluna cromatográfica de **BgFAc**.

ESQUEMA 3 - FRACIONAMENTO CROMATOGRÁFICO DE BgFAC



FONTE: O autor (2013).

4.8 ENSAIOS BIOLÓGICOS

4.8.1 Ensaio antimicrobiano

Para os ensaios biológicos *in vitro* frente a bactérias (gram-positivas e gram-negativas) e leveduras, cepas padrão e de campo, foram utilizados 20 mg de cada óleo (**BgFF**, **BgFM**, **BgCF** e **BgCM**) e extratos hidroalcoólicos (**BgF** e **BgM**). As ações antibacteriana e antifúngica foram determinadas pelo método de difusão em ágar, realizado através da técnica de poço em camada dupla e pelo método de microdiluição (CIM) de acordo com as normas internacionais do manual *Clinical and Laboratory Standards Institute* (CLSI), (ANVISA, 2013; ESPINEL-INGROFF et al., 1995; NCCLS, 1993; NCCLS, 1998; OKEKE et al., 2001; PUJOL et al., 1996; SALVADOR et al., 2003; SALVADOR et al., 2004; SALVADOR, 2005).

Para a execução dos ensaios foram utilizadas bactérias e leveduras, todas cepas padrão da *American Type Culture Collection* (ATCC): bactérias gram-negativas: *Escherichia coli* (ATCC 10538), *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853); bactérias gram-positivas: *Staphylococcus aureus* (ATCC 14458), *Staphylococcus epidermidis* (ATCC 12228), *Enterococcus faecalis* (ATCC 10100), [cultivadas por 24 horas a 37 °C em ágar Müller Hinton (MH)]; leveduras: utilizadas foram *Candida tropicalis* (ATCC 157), *Candida glabrata* (ATCC 30070) e *Candida parapsilosis* (ATCC 22019), (cultivadas por 24 horas a 37 °C em ágar Sabouraud dextrose). Todas as cepas foram mantidas como culturas puras no Laboratório de Farmacognosia, Bioensaios e Tecnologia Fitofarmacêutica do Curso de Farmácia/IB/DFV/UNICAMP.

No plaqueamento para as bactérias, a camada base foi preparada pela adição de 20 mL de meio Müller Hinton (MH), Difco e ágar Brain Heart Infusion agar (Difco)-BH1a, em placas de 20 x 150 mm. Após a solidificação adicionaram-se 5,0 mL do meio MH, a cerca de 50 °C, inoculado com as cepas padrão (5×10^6 UFC.mL⁻¹) obtendo-se, assim, a camada *seed*. A seguir foram confeccionados poços com 5,0 mm de diâmetro. No caso dos fungos, para o plaqueamento utilizou-se uma mistura contendo 20 mL de ágar base glicosado concentrado, e 20 mL da solução contendo meio RPMI 1640 (Gibco - BRL), tampão MOPS, a cerca de 50 °C, inoculados (5×10^6 UFC.mL⁻¹), com as cepas de leveduras em placas de 20 x 150 mm. A seguir foram confeccionados poços com 5,0 mm de diâmetro.

Em cada poço foram aplicados 20 µL das soluções controle (positivo e negativo) e amostras-teste, soluções estas preparadas em propilenoglicol/RPMI-1640 (1:19, v/v) nas concentrações de 5,00 mg.mL⁻¹ para os extratos hidroalcoólicos (**BgF** e **BgM**) e 1,0 mg.mL⁻¹ para os óleos essenciais (**BgFF**, **BgFM**, **BgCF** e **BgCM**). Como controle positivo foram utilizados cloranfenicol (0,20 UI.mL⁻¹) para as bactérias e cetoconazol (100,0 µg.mL⁻¹) para os fungos e como controles negativos propilenoglicol/RPMI-1640 esterilizado (1:19, v/v). Para as amostras-teste que se mostraram ativas na triagem inicial procedeu-se a determinação da Concentração Inibitória Mínima (CIM), de acordo com a metodologia preconizada pela Anvisa (2013) e Salvador e colaboradores (2004). Foi considerada como CIM a menor concentração, e observou a presença de inibição de 50% do desenvolvimento microbiano. Em caso de dúvida quanto à

presença de inibição total, coletou-se material do poço contendo a amostra-teste e inoculou-se em placas contendo meio Müller Hinton (MH) para a verificação se o efeito era biocida ou não.

As placas-testes do método de difusão foram mantidas à temperatura ambiente por cerca de 2 horas, padronizando-se este tempo para a difusão das amostras-teste. As placas contendo as amostras-teste foram incubadas a 37°C por cerca de 24 a 48 horas para as bactérias e leveduras, respectivamente. Decorrido o período de incubação, as zonas de inibição do desenvolvimento microbiano foram mensuradas em termos de diâmetro (halo) e aro da borda do poço à início do desenvolvimento em milímetros na triagem inicial e CIM em $\mu\text{g.mL}^{-1}$. Os experimentos foram realizados em duplicata, para cada cepa indicadora utilizada.

4.8.2 Ensaio anti-inflamatório *in vitro*

A avaliação da atividade anti-inflamatória *in vitro* dos extratos hidroalcoólicos (**BgF** e **BgM**) foi realizada utilizando, para triagem das amostras, o método de desnaturação de albumina soro bovino (BSA), de acordo com MIZUSHIMA e KOBAYASHI (1968), com modificações. Este experimento está baseado na capacidade do extrato inibir a desnaturação da proteína (BSA), sendo a desnaturação de proteínas de tecido uma das causas de inflamação em doenças inflamatórias e artríticas (BHASKAR e MOHITE, 2010; CHOPADE et al., 2012).

Para tanto, 1,0 mg dos extratos brutos foram dissolvidos em 20 μL de DMSO e 980 μL de tampão fosfato (pH 7,0), obtendo-se uma solução de amostra-teste de 1,0 mg.mL^{-1} . A solução estoque de BSA 10% foi obtida adicionando 10 μg de BSA em 100 mL de tampão fosfato (pH 7,0). Os experimentos foram realizados em placas de microtitulação de 96 poços, onde as amostras-teste foram analisadas nas concentrações finais de 400, 200, 100, 50, 25 e 12,5 $\mu\text{g.mL}^{-1}$. O controle negativo foi obtido utilizando-se 20 μL de água destilada associado a 180 μL de solução BSA a 10%. O controle positivo foi obtido utilizando-se 1 mg de diclofenaco de sódio dissolvido em 1000 μL de

tampão fosfato (pH 7,0) e diluído em várias concentrações. Todas as amostras foram analisadas em triplicata.

Após a montagem da placa, esta foi incubada a 37 °C por 15 min em uma estufa BOD e depois a desnaturação proteica foi realizada, mantendo-se a placa de microtitulação a 60 °C em banho maria durante 10 min. Após cinco minutos de resfriamento, procedeu-se a leitura da absorbância das amostras no $\lambda = 660$ nm em leitor de microplaca Bio-tek. A percentagem de inibição da desnaturação proteica foi calculada utilizando a equação abaixo.

$$\% \text{ de inibição de desnaturação} = \frac{[(\text{Média de absorção da amostra teste}) - 1] \times 100}{\text{Média de absorção do controle negativo}}$$

Estes ensaios foram realizados na Universidade Estadual de Campinas sob a responsabilidade do Prof. Dr. Marcos José Salvador.

4.8.3 Avaliação da atividade antiúlcera

A avaliação da atividade antiúlcera *in vivo* do extrato hidroalcoólico de *Baccharis glaziovii* feminina (**BgF**) foi realizada de acordo com a literatura de Ferreira (2005), Glavin e Szabo (1992), Hayden, Thomas e West (1978), Mota e colaboradores (2008) e Szabo e Brown (1987). Todos os procedimentos seguiram as recomendações do Conselho Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA), respeitando a legislação vigente e sob a autorização do Comitê de Ética no Uso de Animais (Processo CEUA – 015/2013) da Universidade Estadual de Ponta Grossa (protocolo n° 12989/2013).

4.8.4 Atividade antiproliferativa em formas promastigotas e amastigotas axênica de *Leishmania amazonenses*

4.8.4.1 Cultura de parasitos e macrófagos

Promastigotas de *Leishmania amazonensis* (cepa WHOM/BR/75/JOSEFA) foram mantidas e cultivadas em meio Warren (infusão de cérebro e coração (Difco®) adicionado de hemina e ácido fólico), pH 7,2, suplementado com 10% de soro fetal bovino (SFB – Gibco) e incubados a 25 °C.

Amastigotas axênicas de *L. amazonensis* obtidas a partir de cultura de promastigotas (UEDA-NAKAMURA, ATTIAS e SOUZA, 2001) foram cultivadas em meio Schneider (Sigma, St Louis, MO, USA), pH 4,5, suplementado com 20% de SFB e incubados a 32 °C.

Macrófagos de linhagem J774.A1 foram mantidos em meio RPMI1640 (Roswell Park Memorial Institute Medium – Sigma, St Louis, MO, USA), pH 7, suplementado com 10% de SFB e incubado a 37 °C, em tensão de 5% de CO₂.

4.8.4.2 Ensaios antiproliferativos *in vitro*

A atividade antiproliferativa *in vitro* contra formas promastigotas e amastigotas axênicas de *Leishmania amazonensis* foi realizada utilizando o mesmo processo. Promastigotas (1×10^6 parasitas.mL⁻¹) em fase log de crescimento (48 h), foram colocadas na presença de concentrações crescentes dos extratos (BgF, BgM) e óleos essenciais (BgFF, BgFM, BgCF e BgCM), previamente solubilizados em, no máximo, 1% de DMSO (dimetilsulfóxido - Sigma Chemical Co, St Louis, MO, USA) para os extratos e 1% para os compostos isolados. Os ensaios foram realizados em placas estéreis de 24 poços, em duplicata. O mesmo foi feito com amastigotas axênicas (1×10^6 parasitas.mL⁻¹) em fase log do crescimento (72 h), em placas estéreis de 12 poços. Após incubação de 72 h, em 25 e 32°C para promastigotas e amastigotas axênicas, respectivamente, a contagem de células foi feita em hemocitômetro. A média dos resultados de três experimentos independentes foram plotados em um gráfico relacionando concentração do composto e porcentagem de inibição

do crescimento, para cálculo da concentração capaz de inibir 50% do crescimento do parasito em relação ao controle (CI_{50}) (BRITTA et al., 2012). Anfotericina B foi utilizada como controle positivo. Todos experimentos foram realizados em triplicata.

4.8.4.3 Ensaios de citotoxicidade *in vitro*

Macrófagos de linhagem J774.A1 (5×10^5 células.mL⁻¹), cultivados em meio RPMI suplementado com 10% de soro fetal bovino, foram dispensados em placas de 96 poços e incubados por 24 h, em tensão de 5% de CO₂, a fim de promover a adesão e multiplicação das células no fundo dos poços. Após 24 h de incubação foram adicionadas 100 µL das várias concentrações crescentes das soluções dos extratos (**BgF**, **BgM**) e óleos essenciais (**BgFF**, **BgFM**, **BgCF** e **BgCM**) de *B. glaziovii* e incubadas por mais 48 h. O crescimento celular foi avaliado através do método colorimétrico de sulforodamina B previamente descrito (SKEHAN et al., 1990) com poucas modificações. As células foram fixadas com 50 µL de ácido tricloroacético a 10% em temperatura de 4 °C por 1 h, lavadas 5 vezes com água corrente e secas. Em seguida foram adicionados 50 µL de solução de sulforodamina B (0,4% p/v em de ácido acético aquoso 1%) em cada poço e a placa foi incubada por 30 min, em temperatura ambiente e ao abrigo da luz. O corante foi removido lavando-se os poços 4 vezes com ácido acético 1%. Para avaliação do crescimento celular foram adicionados 150 µL de Tris base a 10 mM em cada poço, a fim de determinar a concentração tóxica para 50% das células em relação ao controle (CC_{50}). A placa foi agitada por 15 min e a leitura realizada em espectrofotômetro (BIO-TEK Power WaveXS), em 530 nm. Os experimentos foram realizados em triplicata.

4.8.5 Atividade antiproliferativa na forma tripomastigotas de *Trypanosoma cruzi*

4.8.5.1 Parasitos

Para a realização dos experimentos foram utilizadas formas amastigotas e tripomastigotas de *Trypanosoma cruzi* cepa Y. Formas tripomastigotas foram

obtidas a partir da punção cardíaca de camundongos Balb-c com uma semana de infecção. Os parasitos presentes no sangue foram utilizados para a infecção de células LLCMK₂ em crescimento confluyente, sendo mantidos em meio Dulbecco's Modified Eagle – DMEM (Gibco) a 37 °C e atmosfera úmida com 5% de CO₂.

4.8.5.2 Células de mamíferos

Células de linhagem contínua VERO (células epiteliais do rim de *Macaco verde*) e macrófagos murinos J774.A1 foram mantidas em meios DMEM e RPMI 1640, respectivamente, suplementados com 2 mM de L-glutamina, 10% de SFB, e tamponado com bicarbonato de sódio, pH 7,6 e mantidos a 37 °C em atmosfera úmida com 5% de CO₂.

4.8.5.3 Ensaio de viabilidade de formas tripomastigotas de *T. cruzi*

O sobrenadante da cultura de células LLCMK₂ no pico parasistêmico (sexto dia de infecção) foi centrifugado para obtenção das formas tripomastigotas de *T. cruzi*. A seguir, as mesmas foram ressuspensas em meio DMEM, chegando-se a uma concentração de $1,0 \times 10^7$ parasitos.mL⁻¹. Cada compartimento das placas de 96 poços utilizadas para o ensaio recebeu, além da suspensão de protozoários, uma alíquota das frações (**BgFH**, **BgFD**, **BgFAc**, **BgFAq** e a mistura de substâncias **BgF_2 + BgF_3 + BgF_4**) a serem avaliados em diferentes concentrações, e também dos controles positivo (Benzonidazol®) e negativo (somente meio DMEM), obtendo-se um volume final de 200 µL por poço. As placas foram mantidas em estufa úmida por 24 h a 37 °C e atmosfera de 5% de CO₂. Ao fim do experimento a contagem de tripomastigotas viáveis foram realizada pelo método de Pizzi-Brener (BRENER *et al.*, 1962). Para tal, alíquotas de 5 µL do conteúdo de cada poço homogeneizado foram transferidos para uma lâmina de vidro, coberto por uma lamínula e imediatamente foram contados 50 campos do microscópio óptico, quantificando o número de tripomastigotas em movimento. Os dados obtidos foram utilizados para o cálculo

do CE_{50} , concentração de extratos que proporcionou diminuição de 50% na viabilidade dos parasitos.

4.8.5.4 Ensaio antiproliferativo em formas amastigotas intracelulares de *T. cruzi*

Suspensão de células LLCMK₂ ($2,5 \times 10^5$ células.mL⁻¹) cultivadas em DMEM suplementado com 10% de soro fetal bovino, foram dispensadas em placas de 24 poços contendo lamínulas de vidro estéreis. A placa foi, em seguida, incubada em estufa úmida a 37 °C e 5% de tensão de CO₂ até atingir crescimento confluyente, durante 24 h, a fim de promover a adesão e proliferação dessas células sobre a lamínula. A monocamada de células foi infectada com formas tripomastigotas, cultivadas a partir de tripomastigotas sanguíneas, na razão parasito:célula de 10:1. Após 24 h de incubação nas mesmas condições citadas anteriormente, os poços foram lavados com tampão salina fosfato (PBS) para remover os parasitos não interiorizados. Em seguida, as células infectadas foram tratadas com os extratos hidroalcoólico de *B. glaziovii* (**BgF** e **BgM**) e incubadas durante 96 h, a 37 °C e 5% de tensão de CO₂. As lamínulas foram, então, fixadas com metanol e coradas com May-Grunwald Giemsa por 20 min e preparadas em lâminas permanentes com Entellan® (Merk, Alemanha). Um total de 200 células foram contadas usando microscópio óptico e a percentagem de células infectadas e o número de parasitos intracelular foram estimados. O produto entre a média de amastigotas e a percentagem de células infectadas foi calculado, constituindo o índice de sobrevivência (IS). A partir do IS foi possível calcular o CE_{50} .

4.8.5.5 Ensaios de toxicidade celular frente a células VERO

Para a avaliação da atividade citotóxica, uma suspensão de células VERO em fase log do crescimento (96 h), na concentração de $2,5 \times 10^5$ células.mL⁻¹, foi dispensada em placa estéril de 96 poços e incubados por 24 h, a 37 °C e 5% de tensão de CO₂. Após esse período, necessário para a adesão e multiplicação das células nos poços, o sobrenadante foi desprezado e foram

adicionadas frações (**BgFH**, **BgFD**, **BgFAc**, **BgFAq** e a mistura de substâncias **BgF_2 + BgF_3 + BgF_4**) a serem avaliados em diferentes concentrações. Os resultados foram obtidos, após 96 h de incubação nas mesmas condições citadas anteriormente, por meio da metodologia de redução do MTT (Amresco®) (3-(4,5 dimetiltiazol-2il) 2,5-difenil tetrazólio brometo). Para isso, as frações (**BgFH**, **BgFD**, **BgFAc**, **BgFAq** e a mistura de **BgF_2 + BgF_3 + BgF_4**) em suspensão foram retirados e os poços foram lavados com TPS (tampão fosfato salina), sendo adicionado, posteriormente, 50 µL de MTT (1 mg.mL⁻¹ em TPS) e incubados na ausência de luz, a 37 °C. Após 4 h, foram adicionados 150 µL de DMSO, a fim de romper as células e solubilizar os cristais de púrpura de formazan, provenientes do MTT metabolizado pelas enzimas mitocondriais das células viáveis, seguindo-se da leitura em espectrofotômetro (BIO-TEK Power WaveXS spectrophotometer) a 570 nm (MOSMANN, 1983). A média dos resultados de três experimentos independentes foram plotados em um gráfico relacionando a porcentagem de células não viáveis e a concentração das frações (**BgFH**, **BgFD**, **BgFAc**, **BgFAq** e a mistura de **BgF_2 + BgF_3 + BgF_4**). Assim, foi possível determinar graficamente a concentração de cada extrato testado, capaz de inviabilizar 50% das células aderidas (CC₅₀) em relação ao controle.

A toxicidade sobre células de mamíferos e a atividade contra o protozoário foram comparadas através da razão denominada índice de seletividade (IS), que consiste na razão entre CC₅₀ sobre protozoário e IC₅₀ sobre células VERO. Matematicamente, considerou-se valores menores que um relativos à maior seletividade para atividade contra o protozoário, enquanto valores maiores que um expressariam maior toxicidade sobre as células de mamíferos.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 ANÁLISE MORFOLÓGICA EXTERNA

Baccharis glaziovii (FIGURA 5A) apresentou na forma de arbustos com 0,5 a 3 m de altura, eretos ou apoiantes. O caule apresenta três alas, ramos alados espiciformes de 0,5 a 5 cm de comprimento, alas 1–19 × 0,5–1,3 cm de largura, aplanadas ou levemente onduladas, levemente resinosas, alas e folhas aparentemente glabras (FIGURA 5B). As folhas mediram de 0,5–6 × 0,5–2,7 cm, desenvolvidas, subsésseis, lâmina papirácea, oblonga a ovada, ápice obtuso a agudo, margens inteiras, revolutas, base cuneada a arredondada, penínérvea. Foram evidenciadas três nervuras, sendo que a central é proeminente na face abaxial. As panículas mediram de 7–17 × 3–7,5 cm, piramidais, ramos espiciformes 1–4 cm compr., brácteas foliáceas ou escamiformes, características que condizem com o relatado na literatura para o gênero *Baccharis* Seção *Caulopterae* (BUDEL et al., 2005; BUDEL e DUARTE, 2010; RODRIGUEZ, GATTUSO e GATTUSO, 2008; SCHNEIDER e BOLDRINI, 2008a; SCHNEIDER e BOLDRINI, 2008b; SCHNEIDER, HEIDEN e BOLDRINI, 2011).

FIGURA 5 - *Baccharis glaziovii* BAKER ASTERACEAE. A. ASPECTO GERAL; B. RAMOS VEGETATIVOS INDICANDO ALAS (al). BARRA: 1cm (A, B)



FONTE: O autor (2012).

5.2 ANÁLISE ANATÔMICA

De acordo com Heiden, Baumgratz e Esteves (2012), a seção *Caulopterae* corresponde aos grupo *Organensis* e grupo *Trimeria* de Barroso (1976) e grupo *Baccharis genistelloides* de Müller (2006). As espécies de *Baccharis* que têm hastes aladas (cladódios) são popularmente conhecidas como carquejas (BUDEL et al., 2005). Existem algumas espécies, como *B. flexuosiramosa* A. A. Schneid. & Boldrini (SCHNEIDER e BOLDRINI, 2008b), *B. opuntioides* Mart. ex Baker (SCHNEIDER e BOLDRINI, 2008a; SCHNEIDER, HEIDEN e BOLDRINI, 2011), *B. trimera* (Less.) DC. (RODRIGUEZ, GATTUSO e GATTUSO, 2008) e *B. usterii* Heering (BUDEL e DUARTE, 2010) que, além os cladódios, apresentam folhas. As folhas, quando existem, são morfológicamente diferentes e auxiliam na identificação e diferenciação das carquejas.

Baccharis glaziovii (FIGURA 6A) apresentou caule com três alas discretas, planas ou ligeiramente onduladas, que mediram 1-19 x 0,5-1,3 cm de largura (FIGURA 6B). As folhas foram pouco peciolada, e têm a consistência de papel, forma oblonga, as margens inteiras e revolutas, vértice obtuso e base cuneiforme, sendo peninervias, medindo 0,5-2,7 x 0,5-6 cm de largura.

As carquejas podem ter cladódios com duas ou três alas que são dispostas regular ou irregularmente ao eixo do caule (BARROSO e BUENO, 2002). Em seção transversal, as três alas de *B. glaziovii* estão dispostas quase regularmente, e existem pequenas costelas entre elas (FIGURA 6C).

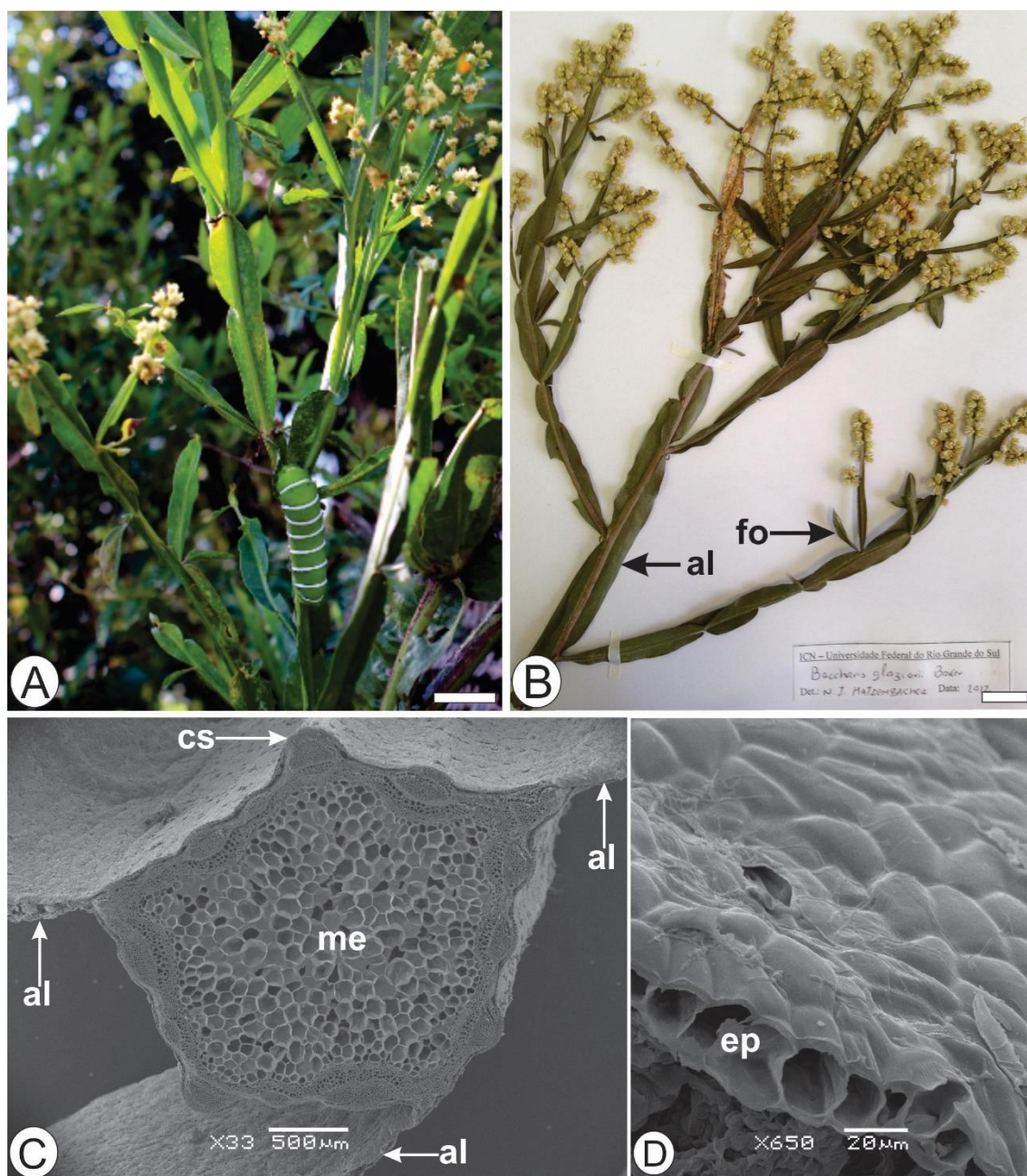
Anatomicamente, a epiderme é unisseriada nas alas (FIGURA 6D) e revestida por cutícula delgada e levemente estriada (FIGURA 7B). Em vista frontal, as células da epiderme são poligonais (FIGURA 7A) e têm paredes anticlinais finas. Estômatos anomocíticos (FIGURA 7A) foram localizados um pouco acima das outras células epidérmicas. Essas características estão de acordo com os dados obtidos a partir do estudo com outras carquejas (BUDEL et al, 2005; BUDEL e DUARTE, 2010; PETENATTI et al, 2007).

No que diz respeito aos tricomas glandulares de *B. glaziovii*, eles apresentam-se capitados (FIGURA 7E) e formados de 8-12 células, cobertos por uma cutícula espessa e citoplasma denso, similar aos tricomas glandulares que foram encontrados em *B. articulata* e *B. gaudichaudiana* (RODRIGUEZ et al.,

2010), *B. crispa* (BUDEL, DUARTE e SANTOS, 2004) e *B. microcephala* (BUDEL e DUARTE, 2009). Além disso, tricomas glandulares unisseriados capitados foram encontrados em *B. sagittalis* e *B. triangularis* (PETENATTI et al., 2007), contudo os tricomas glandulares capitados não foram observadas em *B. usterii* (BUDEL e DUARTE, 2010).

O óleo essencial que está presente em carquejas pode ser encontrado em tricomas glandulares e condutos secretores (BUDEL et al., 2012). Budel, Farago e Duarte (2013) relataram que as células de base dos tricomas não glandulares em *B. cognata* DC. reagiram positivamente no exame de compostos lipofílicos com Sudan III (KRAUS e ARDUIN, 1997). Estes autores sugeriram que as células podem armazenar óleo essencial. Neste estudo, foram apenas os tricomas glandulares capitados bisseriados que reagiram com Sudan III.

FIGURA 6 - *Baccharis glaziovii* BAKER, ASTERACEAE. ASPECTO GERAL; A. GERAL; B. APARÊNCIA DE CLADÓDIOS, INDICANDO FOLHAS (fo) E ALAS (al); C. VISTA FRONTAL DE CLADÓDIOS, EXIBINDO MEDULA (me), COSTELAS (cs) E ALAS (al) EM MEV (MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA); D. VISTA FRONTAL DA EPIDERME DA ALA (ep) (MEV). BARRA: 1,5 CENTÍMETROS (A), 1 CM (B)



FONTE: O autor (2013).

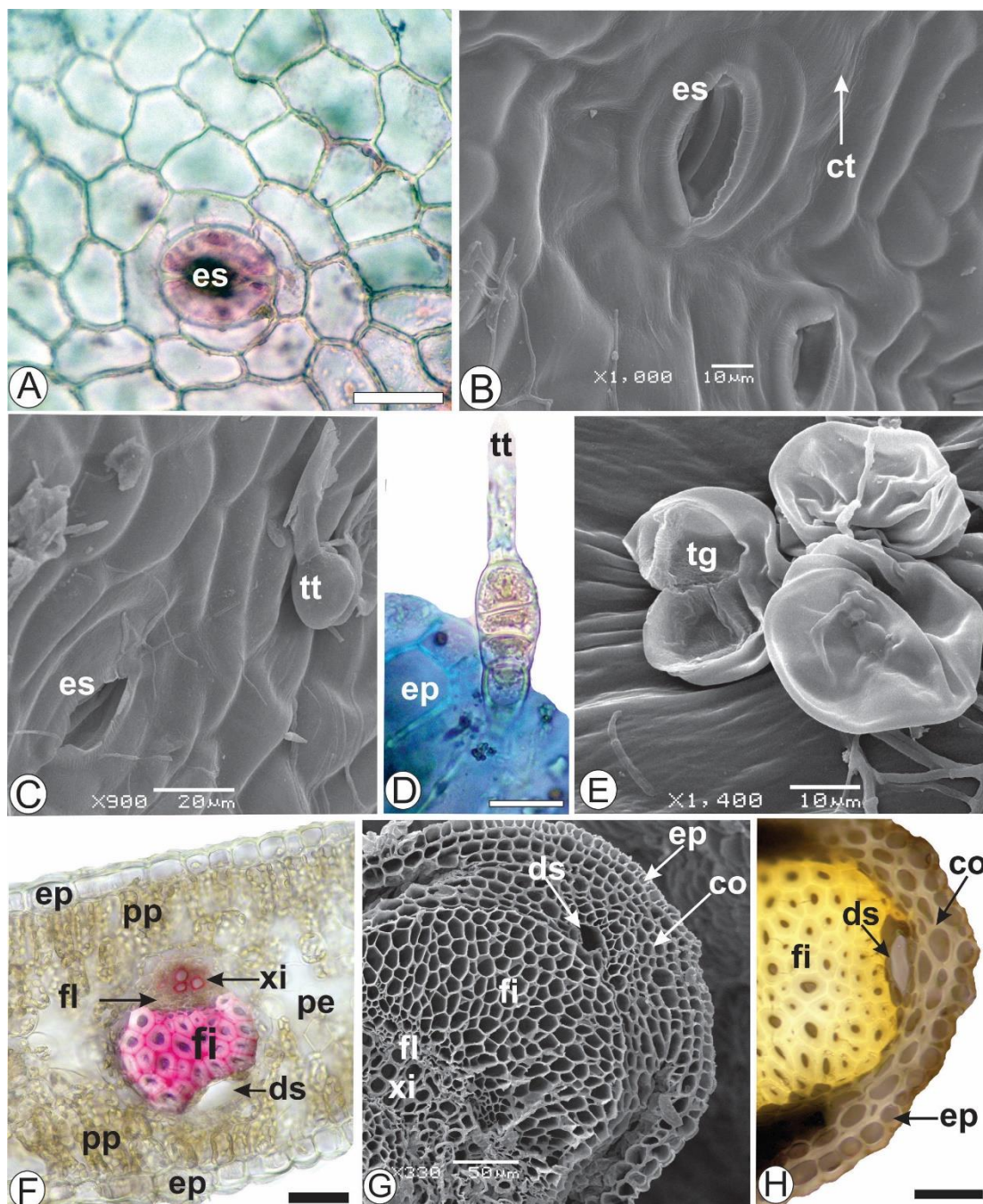
O clorênquima se apresenta formado de parênquima paliçádico e estabelece 3-4 camadas em posição adjacente a epiderme, e parênquima esponjoso na região mediana (FIGURA 7F). Esta disposição também tem sido encontrada em algumas carquejas (BUDEL, DUARTE e SANTOS, 2004; BUDEL e DUARTE, 2009; PETENATTI et al, 2007). No entanto, apenas parênquima paliçádico é observado nas alas dos cladódios de *B. trimera* (CORTADI et al.,

1999). Neste estudo, os feixes vasculares colaterais menores circundados por uma endoderme estão localizados no parênquima esponjoso (FIGURA 7F), e tiveram uma distribuição alternada, isto é, quando num feixe o xilema está voltado para uma face, no feixe vizinho está localizado em direção à superfície oposta. Essas mesmas características foram encontradas em *B. myriocephala* (SÁ e NEVES, 1996) e *B. usterii* (BUDEL e DUARTE, 2010). Adicionalmente, um feixe de fibras perivasculares bem desenvolvidas são encontradas adjacentes ao floema (FIGURA 7F).

Em *B. glaziovii*, os dutos secretores (FIGURA 7F) estavam localizados perto dos feixes vasculares. Eles exibem epitélio uniestratificado constituído de 8-12 células com citoplasma denso e contém óleo essencial. Dutos secretores semelhantes foram encontrados em carquejas (BUDEL e DUARTE, 2009, 2010; CORTADI et al., 1999; RODRIGUEZ, GATTUSO e GATTUSO, 2008; SÁ e NEVES, 1996). No entanto, *B. crispa* só apresentou canais secretores na borda das alas e não acompanharam os feixes vasculares (CORTADI et al., 1999).

No bordo da ala de *B. glaziovii* ocorrem algumas camadas de colênquima abaixo da epiderme, um feixe vascular colateral, um de fibras perivasculares adjacentes ao floema e dutos secretores (FIGURAS 7G, 7H). Essas características foram amplamente divulgadas para carquejas (BUDEL e DUARTE, 2009, 2010; RODRIGUEZ, GATTUSO e GATTUSO, 2008).

FIGURA 7 - *Baccharis glaziovii* BAKER, ASTERACEAE – ALA DE CLADÓDIOS. A. VISTA FRONTAL DAS CÉLULAS EPIDÉRMICAS, MOSTRANDO ESTÔMATO ANOMOCÍTICO (es); B. VISTA FRONTAL DAS CÉLULAS EPIDÉRMICAS, MOSTRANDO ESTÔMATO E CUTÍCULA LEVEMENTE ESTRIADA (ct) EM MEV (MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA); C. VISTA FRONTAL, INDICANDO ESTÔMATO (es) E TRICOMA TECTOR (tt); D. VISTA FRONTAL, EXIBINDO TRICOMA TECTOR (tt); E. VISTA FRONTAL, INDICANDO TRICOMAS GLANDULARES (tg); F. SECÇÃO TRANSVERSAL, MOSTRANDO EPIDERME (ep), FIBRAS (fi), PARÊNQUIMA PALIÇÁDICO (pp), FLOEMA (fl), DUCTOS SECRETORES (ds), PARÊNQUIMA ESPONJOSO (pe) E XILEMA (xi); G. BORDO DA ALA EM SECÇÃO TRANSVERSAL, MOSTRANDO EPIDERME (ep), COLÊNQUIMA (co), FIBRAS (fi), DUCTO SECRETOR (ds), FLOEMA (fl) E XILEMA (xi) EM MEV; H. BORDO DA ALA EM SECÇÃO TRANSVERSAL, EVIDENCIANDO EPIDERME (ep), COLÊNQUIMA (co), FIBRAS (fi), E DUCTO SECRETOR (ds). BARRA: 20 μ m (A, D, F), 50 μ m (H)

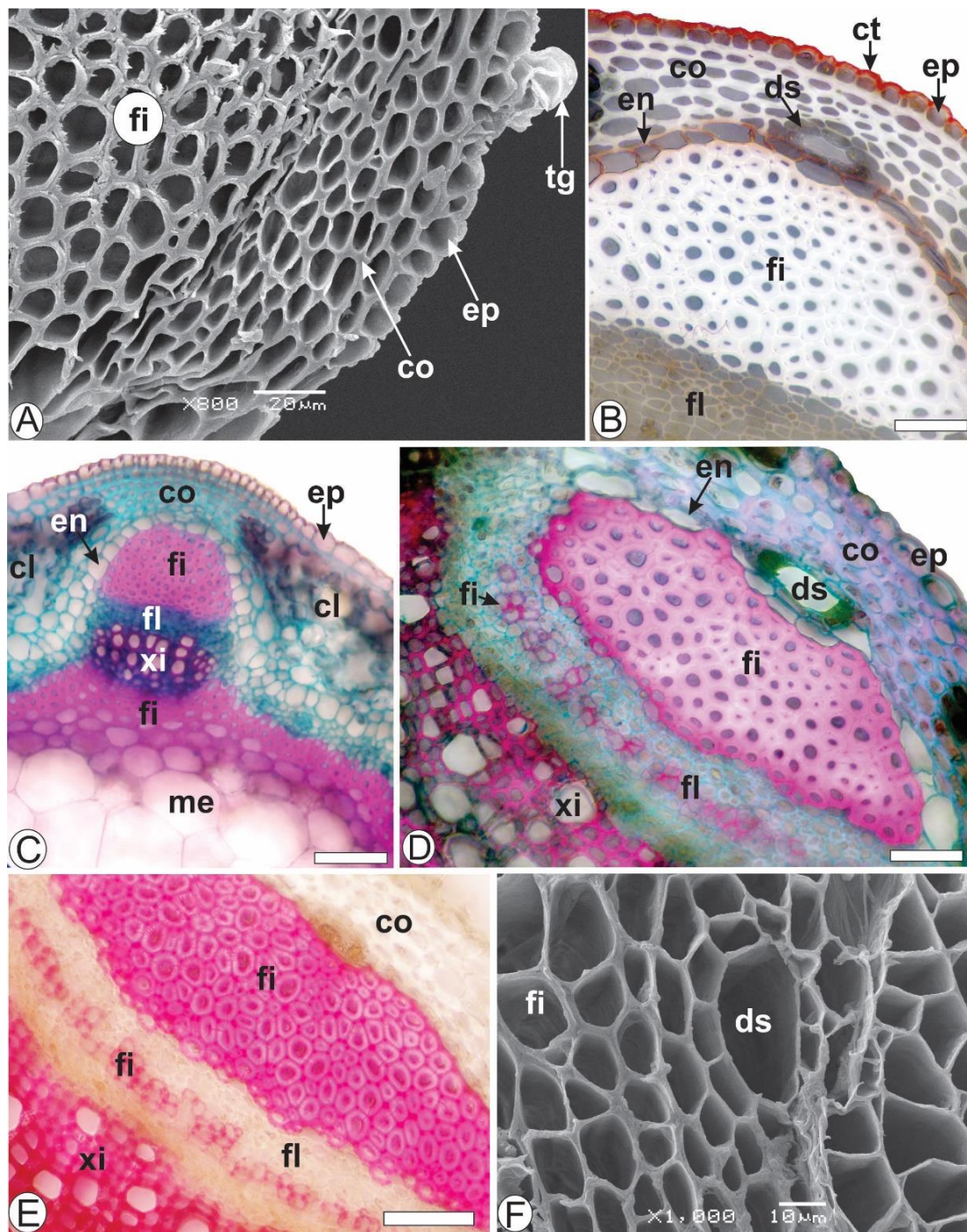


FONTE: O autor (2013).

No eixo do caule de *B. glaziovii*, a epiderme (FIGURA 8A) mostrou características semelhantes ao das alas (FIGURA 8A). A cutícula reagiu na presença de Sudan III (FIGURA 8B). Subjacente ao sistema de revestimento, foi evidenciado parênquima alternando com colênquima (FIGURA 8C). Este, na direção dos feixes vasculares, apresentou cerca de 1-5 camadas (FIGURAS 8A, 8B, 8C). Dutos secretores similares aos das alas foram encontrados perto da endoderme (FIGURAS 8B, 8D, 8F). São observadas impregnações de compostos lipofílicos (FIGURA 8B) nas paredes de células da endoderme (FIGURAS 8B, 8C, 8D).

O sistema vascular foi constituído por um cilindro no qual se distinguem feixes vasculares colaterais, estabelecendo uma região medular (FIGURAS 6C, 8C). No floema, as fibras apresentaram diferentes estágios de lignificação (FIGURAS 8D, 8E). As calotas de fibras perivasculares foram encontradas opostas ao floema (FIGURAS 8A, 8B, 8C, 8D e 8E). Estas reagiram positivamente quando em contato com floroglucina clorídrica que serve para corar células com lignina (FIGURA 8E). Estas características estão de acordo com o gênero *Baccharis* (BUDEL e DUARTE, 2009, 2010; CORTADI et al, 1999; PETENATTI et al, 2007; SÁ e NEVES, 1996). Em *B. glaziovii*, a medula é composta de células de vários tamanhos e com paredes finas. Essas células ocupam a maior parte do volume do eixo (FIGURAS 6C, 8C).

FIGURA 8 - *Baccharis glaziovii* BAKER, ASTERACEAE – EIXO DE CLADÓDIOS EM SECÇÃO TRANSVERSAL. A. DETALHE DO EIXO, MOSTRANDO COLÊNQUIMA (co), EPIDERME (ep), FIBRA (fi) E TRICOMAS GLANDULAR (tg) EM MEV; B. EIXO EM REAÇÃO COM SUDAN III, INDICANDO, COLÊNQUIMA (co), CUTÍCULA (ct), ENDODERME (en), EPIDERME (ep), FIBRAS (fi), FLOEMA (fl), E DUTOS SECRETORES (ds); C. DETALHE DO EIXO, EXIBINDO CLORÊNQUIMA (cl), COLÊNQUIMA (co), EPIDERME (ep), ENDODERME (en), FIBRAS (fi), FLOEMA (fl), XILEMA (xi) E MEDULA (me); D. EIXO CAULINAR EM DIREÇÃO AO COLÊNQUIMA (co), EXIBINDO EPIDERME (ep), ENDODERME (en), FIBRAS (fi), DUCTO SECRETOR (ds), FLOEMA (fl), E XILEMA (xi); E. EIXO CAULINAR EM REAÇÃO COM FLOROGLUCINA, INDICANDO COLÊNQUIMA (co), FIBRAS (fi), FLOEMA (fl), E XILEMA (xi); F. DETALHE DA FIBRA (fi) E DO DUTO SECRETOR EM MEV (ds). BARRA: 50 μ m (B, D, E), 100 μ m (C)



FONTE: O autor (2013).

As formas dos cristais de oxalato de cálcio são diferentes e são frequentemente descritas como drusas, ráfides, estiloides, prismas e areia cristalina (FRANCESCHI e NAKATA, 2005). O tipo, a presença ou ausência de cristais pode ser utilizada como uma característica taxonômica (LERSTEN e HORNER, 2000; MERIC, 2009). A ocorrência de cristais de oxalato de cálcio na medula é comum em carquejas, no entanto, diferentes formas podem ajudar na diferenciação de espécies. Por conseguinte, vários tipos de cristais de oxalato de cálcio foram encontrados em carquejas, tais como ráfides e dois tipos de prismas hexagonais, e tetragonal em *B. triangularis*; ráfides e prismas tetragonais em *B. sagittalis*, cristais de areia e dipirâmides quadradas em *B. usterii* (BUDEL e DUARTE, 2010), dipirâmides quadradas alongadas em *B. articulata* (PETENATTI et al., 2007), dipirâmides alongadas quadradas, dipirâmides quadradas, cubos, prismas tetragonais em *B. crispa* e *B. trimera* (BUDEL e DUARTE, 2009; CORTADI et al., 1999) e dipirâmides quadradas em *B. microcephala* (BUDEL e DUARTE, 2009). Neste estudo em visualização no MEV, os cristais de oxalato de cálcio encontrados são do tipo ráfides (FIGURAS 9A, 9B), estiloides (FIGURA 9A) e dipirâmides quadradas alongadas (FIGURAS 9A, 9C).

A lâmina foliar de *B. glaziovii* mostra uma epiderme com as mesmas características descritas para a ala. Em relação à presença de estômatos, a folha é anfiestomática. O mesófilo é isobilateral, e formado por 2-3 camadas de parênquima paliçádico e cerca de três camadas de parênquima esponjoso na região central. Feixes vasculares estão dispersos no parênquima esponjoso e (FIGURA 9D) na região mediana, e estão circundados por endoderme, que pode estar acompanhada de dutos secretores em posição externa ao floema. Esses aspectos também foram encontrados em folhas de *B. sagittalis* (PETENATTI et al., 2007) e *B. usterii* (BUDEL e DUARTE, 2010).

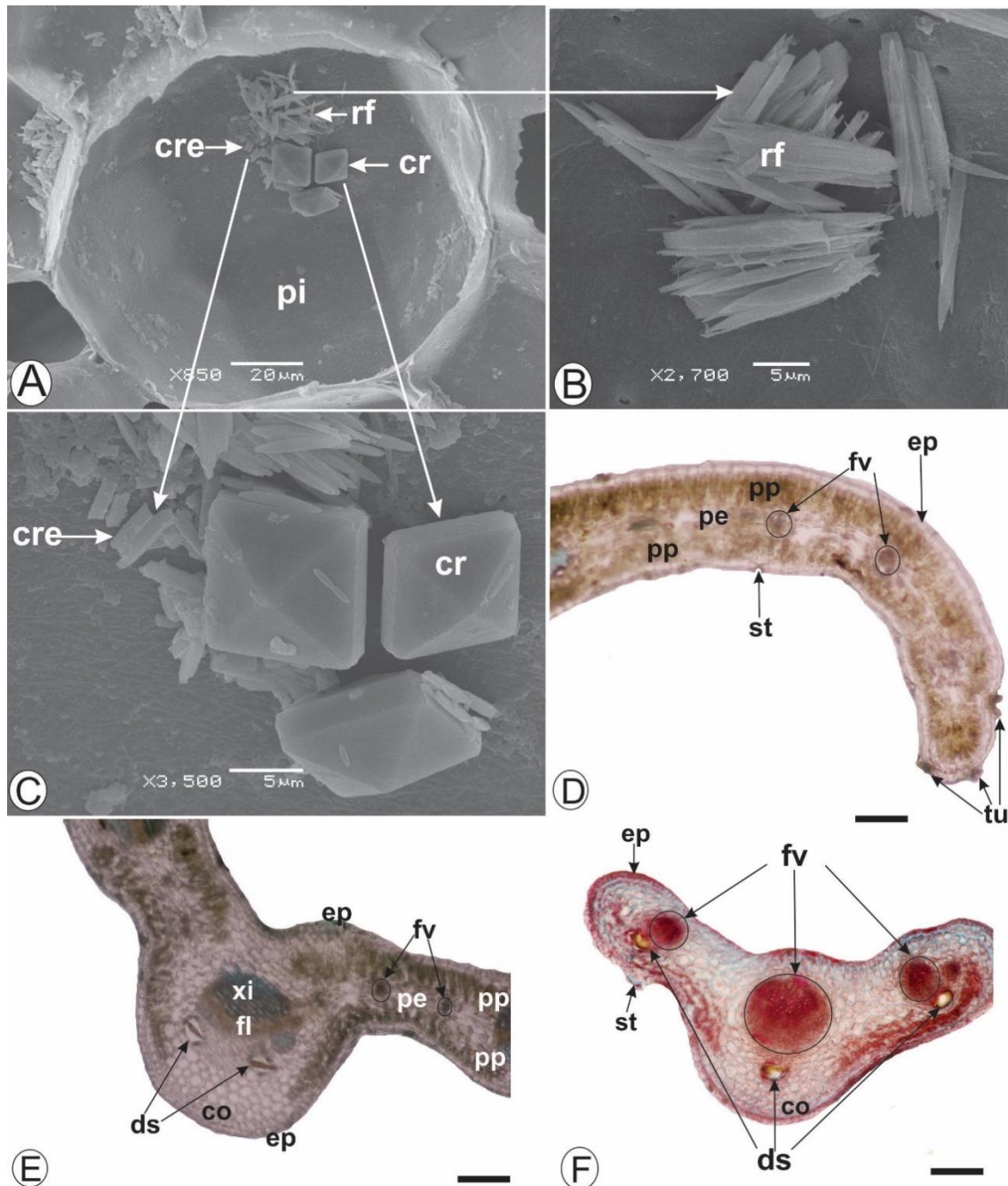
A nervura central, em secção transversal, é côncava-convexa. Um único estrato epidérmico é recoberto por cutícula delgada e, em vista frontal é levemente estriada. Subjacente ao sistema de revestimento, em ambas as faces, existem duas camadas de colênquima angular (FIGURA 9E). Um único feixe vascular colateral está localizado no parênquima fundamental. Uma endoderme envolve o feixe vascular, que pode estar acompanhado de dutos secretores que se posicionam externamente ao floema (FIGURA 9E). Em contraste com este

estudo, *Baccharis usterii* provou ser levemente convexa na face adaxial e convexa na superfície abaxial, com base em dados obtidos a partir dos estudos de Budel e Duarte (2010).

Na literatura, as carquejas que apresentam folhas, têm sido descritas como sésseis (BUDEL e DUARTE, 2010; PETENATTI et al, 2007). Em *B. glaziovii*, as folhas são pecioladas e o pecíolo, quando visto em corte transversal, é côncavo, com uma ligeira saliência na face adaxial e convexo com três projeções na superfície abaxial, sendo a parte central mais proeminente. O revestimento epidérmico exhibe as mesmas características da folha. O colênquima do tipo angular e com faixas contínuas de 1-3 séries de células. Existem canais secretores em uma posição externa ao floema (FIGURA 9F).

No geral, os cladódios das espécies de carquejas têm características semelhantes. Neste estudo, a morfoanatomia foliar de *B. glaziovii* auxiliou na identificação e na diferenciação das outras espécies do gênero *Baccharis* Seção *Caulopterae*, incluindo também aquelas que têm folhas. Além disso, quando avaliado de forma geral, as principais características observadas nos cladódios e folhas de *B. glaziovii* contribuem na identificação do fármaco e fornecem subsídios taxonômicos ao gênero, dando suporte para o controle da qualidade de drogas vegetais. Para este estudo, os caracteres mais relevantes foram: presença de ramos trialados, mostrando alas dispostas de maneira regular a partir do eixo caulinar; folhas pecioladas, formato oblongo, margens inteiras e revolutas, ápice obtuso, base cuneiforme e nervação peninérvia; cladódios e lâmina foliar, com tricomas tectores e flageliformes simples formados por quatro células da base que se alargam em direção ao ápice, nervura central com formato côncavo-convexo, pecíolo com formato côncavo, e uma leve projeção na face adaxial e convexo com três projeções sobre a superfície abaxial, sendo a central mais proeminente; na região perimedular do eixo do caule, estão presentes os cristais de oxalato de cálcio na forma de ráfides, estiloides e dipiramides quadradas alongadas.

FIGURA 9 - *Baccharis glaziovii* BAKER, ASTERACEAE. A-C. EIXO EM MEV. A. ZONA PERIMEDULAR (pi) APRESENTANDO CRISTAIS DE OXALATO DE CÁLCIO (cre), MOSTRANDO CRISTAIS DO TIPO RÁFIDES (rf) E BIPIRAMIDES QUADRADOS ALONGADOS (cr) E ESTILÓIDES (cre); B. DETALHE DA FIGURA A, INDICANDO RÁFIDES (rf); C. DETALHE DA FIGURA A, MOSTRANDO CRISTAIS BIPIRAMIDIAIS QUADRADOS ALONGADOS (cr); ORGANIZAÇÃO DA LÂMINA FOLIAR, REVELANDO MESOFILO ISOBILATERAL E MOSTRANDO EPIDERME (ep), ESTÔMATOS (es), PARÊNQUIMA PALIÇÁDICO (pp), PARÊNQUIMA ESPONJOSO (pe), TUFSOS DE TRICOMAS (tu), E FEIXE VASCULAR (fv); E. NERVURA, MOSTRANDO COLÊNQUIMA (co), EPIDERME (ep), FLOEMA (fl), DUTOS SECRETORES (ds), XILEMA (xi) E FEIXES VASCULARES (fv); F. PECÍOLO EM SEÇÃO TRANSVERSAL, INDICANDO, COLÊNQUIMA (co), ESTÔMATOS (es), EPIDERME (ep), DUTOS SECRETORES (ds), E FEIXES VASCULARES (fv). BARRA: 50 μ m (D, E), 100 μ m (F)



FONTE: O autor (2013).

Os dados das análises morfoanatômicas externa e interna foram publicados na Revista Brasileira de Farmacognosia (ANEXO 1, página 177).

5.3 ANÁLISE DOS ÓLEOS ESSENCIAIS

A hidrodestilação dos cladódios (feminino - **BgCF**; masculino - **BgCM**) e flores feminino - **BgFF**; masculino - **BgFM**) de *B. glaziovii* foram realizadas em triplicata com exceção de **BgCM**, e resultaram em óleos essenciais com coloração amarelo claro, com rendimentos de 0,20% (**BgCF**), 0,16% (**BgCM**), 0,08% (**BgFF**) e 0,19% (**BgFM**) (v/v), respectivamente, em relação ao peso seco do material da planta.

A caracterização dos óleos essenciais foi feita pela comparação das massas das substâncias e dos índices de retenção com dados da literatura (ADAMS, 2007) e também da biblioteca NIST (Instituto Nacional de Padrões e Tecnologia). Como demonstrado nas TABELAS 3 e 4, foi possível identificar em **BgCF** 38 compostos e para **BgCM** 37 compostos. Enquanto em **BgFF** foram identificados 41 compostos e 28 em **BgFM**.

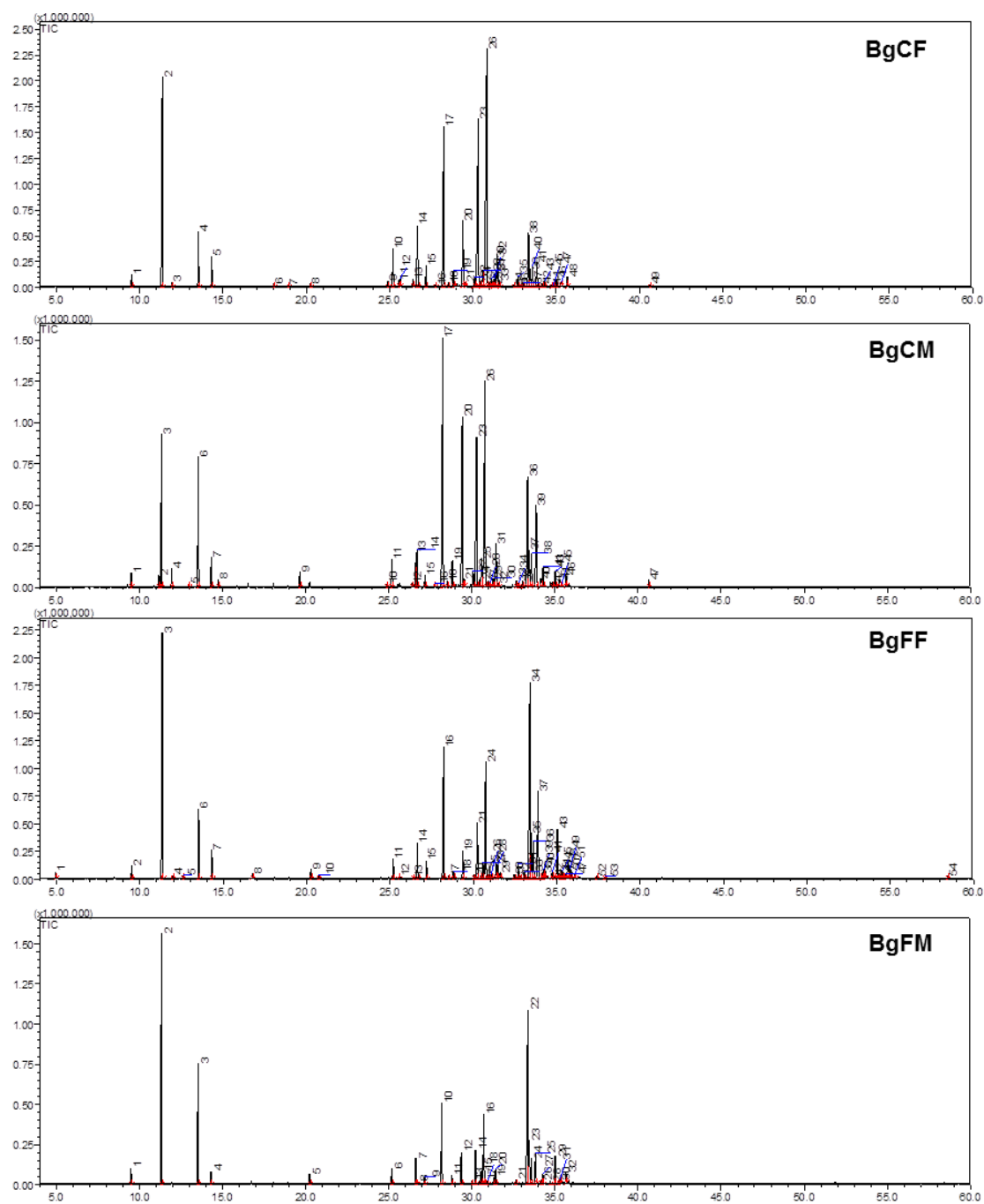
Os óleos essenciais foram constituídos por sesquiterpenos, com 73,4% em **BgCF**, 79,0% em **BgCM**, 76,4% em **BgFF** e 68,9% **BgFM**. Os cromatogramas de **BgCF**, **BgCM**, **BgFF** e **BgFM** estão demonstrados na FIGURA 10.

Os principais compostos identificados no óleo essencial de cladódios de espécimes femininos (**BgCF**) foram biciclogermacreno (16,0%), β -pineno (15,2%), (*E*)-cariofileno (12,0%), germacreno D (11,9%), α -humuleno (6,8%), espatulenol (6,3%), limoneno (5,0%) e viridiflorol (2,7%). No óleo essencial de cladódios de espécimes masculinos (**BgCM**) foram encontrados (*E*)-cariofileno (15,8%), biciclogermacreno (13,7%), α -humuleno (10,0%), germacreno D (8,8%), β -pineno (6,5%), espatulenol (6,4%), limoneno (5,9%) e viridiflorol (5,0%) (TABELA 3).

Quando se comparou os óleos essenciais de cladódios de espécimes masculinos e femininos os cinco componentes majoritários foram os mesmos observados tanto no macho como na fêmea, com apenas uma diferença, que na fêmea o β -pineno é o dobro da quantidade observada no macho. A proporção

do β -pineno no óleo dos espécimes masculinos foi de 6,5%, bem inferior aos 15,2% presentes no óleo dos espécimes femininos. Também se observa uma leve diminuição de germacreno D e biciclogermacreno, enquanto que o limoneno e espatulenol se mantêm, e um leve aumento no (*E*)-cariofileno e α -humuleno.

FIGURA 10 - CROMATOGRAMAS DE CG DE *Baccharis glaziovii* BAKER, ASTERACEAE. (BgCF, BgCM, BgFF e BgFM)



FONTE: O autor (2014).

TABELA 3 - COMPOSIÇÃO DO ÓLEO ESSENCIAL DE CLADÓDIOS DE *Baccharis glaziovii* FEMININOS (BgCF) E MASCULINOS (BgCM)

	Compostos	%			
		IR ^a	IR ^b	BgCF	BgCM
1	α -Pineno	930	932	0,84 \pm 0,21	0,56
2	Sabinene	971	969	-	0,52
3	β -Pineno	976	974	15,19 \pm 2,82	6,52
4	Mirceno	990	988	0,28 \pm 0,01	0,77
5	α -Terpineno	1015	1014	-	0,15
6	Limoneno	1028	1024	5,00 \pm 2,00	5,86
7	(<i>E</i>)- β -Ocimeno	1048	1044	1,14 \pm 0,32	1,23
8	γ -Terpineno	1058	1054	-	0,32
9	Linalol	1101	1095	0,25 \pm 0,22	-
10	<i>trans</i> -Pinocarveol	1140	1135	0,27 \pm 0,06	-
11	Pinocarvone	1162	1160	0,10 \pm 0,10	-
12	Terpinen-4-ol	1181	1174	-	0,72
13	Silfiperfol-5-eno	1324	1326	0,11 \pm 0,19	0,13
14	Presilfiperfol-7-eno	1333	1334	1,25 \pm 1,02	1,32
15	7- <i>epi</i> -Silfiperfol-5-eno	1343	1345	0,12 \pm 0,21	-
16	Silfineno	1345	1345	0,12 \pm 0,21	-
17	Silfiperfol-6-eno	1375	1377	2,29 \pm 2,23	1,72
18	α -Copaeno	1376	1374	0,72 \pm 0,62	1,50
19	β -Elemeno	1390	1389	1,10 \pm 0,11	0,53
20	(<i>E</i>)-Cariofileno	1422	1417	12,00 \pm 0,50	15,77
21	β -Copaeno	1430	1430	0,26 \pm 0,05	0,26
22	Aromadendreno	1439	1439	0,80 \pm 0,14	1,29
23	α -Humuleno	1457	1452	6,78 \pm 2,40	10,12
24	allo-Aromadendreno	1461	1458	0,20 \pm 0,04	0,30
25	γ -Muuroleno	1478	1478	0,67 \pm 0,02	0,83
26	Germacreno D	1485	1484	11,93 \pm 1,42	8,79
27	γ -Amorpheno	1493	1495	1,35 \pm 0,04	-
28	Viridifloreno	1493	1496	-	1,99
29	Biciclogermacreno	1500	1500	16,03 \pm 4,99	13,66
30	Germacreno A	1509	1508	0,43 \pm 0,08	0,16
31	δ -Amorpheno	1515	1511	0,47 \pm 0,07	0,49
32	Cameroonan-7- α -ol	1518	1510	0,34 \pm 0,59	0,44
33	δ -Cadineno	1521	1522	1,91 \pm 0,09	2,06
34	Silfiperfolan-7- β -ol	1525	1519	0,14 \pm 0,25	0,18
35	Germacreno B	1560	1559	0,71 \pm 0,12	0,31
36	Espatulenol	1581	1577	6,01 \pm 1,90	6,37
37	Óxido de Cariofileno	1585	1582	1,56 \pm 0,28	1,97
38	Globulol	1589	1590	1,26 \pm 0,08	1,96
39	Viridiflorol	1597	1592	2,66 \pm 0,68	4,97
40	Humulenoepoxi II	1612	1608	0,94 \pm 0,51	1,06
41	1- <i>epi</i> -Cubenol	1631	1627	0,11 \pm 0,10	0,22
42	<i>epi</i> - α -Muurolol	1648	1640	0,63 \pm 0,12	0,67
43	α -Cadinol	1659	1652	0,78 \pm 0,18	0,59
	Monoterpenos			23,0	16,4
	Sesquiterpenos			73,4	79,0
	Total identificados			96,4	95,4

Nota: ^aIR: índice de retenção relativo calculado usando coluna ZB-5MS, calculado de acordo com Van Den Dool e Kratz (1963), ^b índice de retenção de acordo com Adams (2007), (-): não detectado. FONTE: O autor (2014).

Os principais compostos identificados no óleo essencial em espécimes de flores femininas (**BgFF**) foram: espatulenol (22,6%), biciclogermacreno (9,2%), (*E*)-cariofileno (7,8%), β -pineno (7,6%), viridiflorol (7,0%), germacreno D (4,0%), óxido de cariofileno (4,0%), globulol (3,0%), α -humuleno (2,8%), e limoneno (2,2%). Considerando o óleo essencial obtido de espécimes masculinos (**BgFM**), os constituintes foram espatulenol (22,3%), β -pineno (16,2%), limoneno (8,3%), (*E*)-cariofileno (7,8%), biciclogermacreno (6,1%), α -humuleno (4,4%), óxido de cariofileno (5,1%), viridiflorol (4,3%), globulol (2,1%), e germacreno D (3,2%) (TABELA 4). Comparando os espécimes de flores, os compostos majoritários foram os mesmos observados tanto no macho como na fêmea, destacando-se os compostos espatulenol, (*E*)-cariofileno e germacreno D. As diferenças encontradas foram no macho o β -pineno e α -humuleno apresentam o dobro da quantidade observada na fêmea, e em relação a quantidade de limoneno o triplo, com exceção dos compostos bicicligermacreno, viridiflorol e globulol, que apresentaram uma leve redução.

Comparando cladódios e flores a quantidade de β -pineno foi invertida nos espécimes masculinos e femininos, sendo uma quantidade cerca de 50% superior no macho das flores do que nos cladódios. Outro fator importante foi a quantidade de espatulenol, não ocorrendo variação de quantidade independente se for espécime macho ou fêmea. Entretanto se comparar as flores e cladódios, há uma diferença expressiva nas flores com cerca de 22% comparado aos 6% nos cladódios. As altas proporções encontradas aqui para o sesquiterpeno espatulenol indicam que flores de *B. glaziovii* pode ser uma excelente fonte para esta substância.

As TABELA 3 e 4 mostram a composição química dos óleos essenciais dos cladódios e flores de *B. glaziovii*, mostraram similaridade razoável na composição, diferindo apenas nas concentrações dos seus componentes. A química dos constituintes voláteis dos espécimes masculino e feminino identificados neste estudo, foram também relatados em óleos essenciais de outras espécies de *Baccharis* da seção *Caulopterae*. Estes resultados confirmaram que *B. glaziovii* pertence a família Asteraceae, e está inserida no gênero *Baccharis* na seção *Caulopterae*. (BESTEN et al., 2012; BESTEN et al., 2013; FERRACINI et al., 1995; LAGO et al., 2008b; ZUNINO et al., 2004). Outros estudos relatados não levaram em consideração os espécimes de macho e

fêmea separadamente e demonstraram variações significativas na composição química dos óleos essenciais das espécies deste gênero (AGOSTINI et al., 2005; FLORÃO et al., 2012; DE OLIVEIRA et al., 2012a; GIANELLO et al., 2000; QUEIROGA, FERRACINI e MARSAIOLI, 1996; SIMÕES-PIRES et al., 2005a; ZUNINO et al., 1997).

As diferenças na composição química dos óleos essenciais das espécies de *Baccharis* seção *Caulopterae* têm sido observados para avaliar quali e quantitativamente, a fim de verificar a eficiência dos processos de extração e tentar esclarecer a semelhança que há entre as espécies. Os óleos essenciais são geralmente obtidos por hidrodestilação e analisados por GC-EM, e seus constituintes são identificados por comparação dos seus índices de retenção (IR) e espectros de massas. Cerca de 60 substâncias foram caracterizadas a partir dos óleos essenciais de 16 espécies do gênero *Baccharis* seção *Caulopterae*, com predomínio de sesquiterpenos e monoterpenos. Os principais compostos com concentrações superiores a 14% foram espatulenol, β -pineno, globulol, óxido de cariofileno, τ -gurjuneno, germacreno D, γ -elemeno, β -cariofileno, α -cariofileno, biciclogermacreno e β -cubeneno. Entre eles, espatulenol, β -pineno e globulol são os compostos mais abundantes (AGOSTINI, et al., 2005; DAI et al., 1993; DE OLIVEIRA et al., 2003; MORAIS e CASTANHA, 2011; RETTA et al., 2009; SIMÕES-PIRES et al., 2005a, SIMÕES-PIRES et al., 2005b). Muitos são os aspectos naturais que envolvem a biossíntese dos compostos. As prováveis diferenças podem ser devidas ao estágio de desenvolvimento da planta e a condições ambientais e geográficas em geral (PRICE e PRICE, 1999; SIMÕES e SPITZER, 2000). A química dos óleos voláteis são potencialmente importantes para atrair insetos polinizadores e repelir predadores, os quais possuem alta capacidade para detectarem voláteis mesmo em baixas concentrações, mas que não é detectado pelo homem (BOLDT, 1989; HARBONE, 1988b; KEARS e INOUE, 1993). Portanto, esta sinalização na composição e variações químicas observadas nos óleos dos cladódios e das flores de espécimes masculinas e femininas de *B. glaziovii* deve estar relacionada à sua estratégia reprodutiva e defensiva.

TABELA 4 - COMPOSIÇÃO DO ÓLEO ESSENCIAL DE FLORES DE *Baccharis glaziovii* FEMININOS (BgFF) E MASCULINOS (BgFM)

	Compostos	%			
		IR ^a	IR ^b	BgFF	BgFM
1	Hexanal	804	801	0,12±0,20	-
2	α-Pineno	930	932	0,22±0,39	0,75±0,32
3	β-Pineno	975	974	7,62±6,96	16,21±6,18
4	Mirceno	990	988	0,09±0,15	-
5	n-Octanal	1006	998	0,07±0,12	-
6	Limoneno	1028	1024	2,18±1,47	8,27±1,68
7	(E)-β-Ocimeno	1048	1044	0,69±0,72	0,63±0,55
8	n-Nonanal	1107	1100	0,07±0,12	-
9	<i>trans</i> -Pinocarveol	1141	1135	0,05±0,09	-
10	n-Decanal	1209	1202	0,09±0,15	-
11	Presilfiperfol-7-eno	1332	1334	0,82±0,29	1,57±0,69
12	7- <i>epi</i> -Silfiperfol-5-eno	1343	1345	0,04±0,06	-
13	Silfiperfol-6-eno	1374	1377	1,70±0,66	3,02±1,84
14	α-Copaeno	1375	1374	0,31±0,29	0,06±0,10
15	β-Elemeneno	1390	1389	1,01±0,06	0,69±0,09
16	(E)-Cariofileno	1420	1417	7,77±0,98	7,78±0,42
17	β-Copaeno	1430	1430	0,13±0,12	-
18	Aromadendreno	1439	1439	0,52±0,23	0,59±0,17
19	α-Humuleno	1456	1452	2,84±1,29	4,38±1,92
20	γ-Muuroleno	1476	1478	0,23±0,22	0,35±0,02
21	Germacreno D	1482	1484	3,96±1,24	3,21±0,45
22	Viridifloreno	1492	1496	1,35±0,49	1,07±0,24
23	Biciclogermacreno	1498	1500	9,19±2,39	6,12±1,95
24	Germacreno A	1508	1508	0,26±0,24	-
25	δ-Amorpheno	1514	1511	0,17±0,29	-
26	Cameroonan-7-α-ol	1517	1510	0,67±0,17	0,86±0,49
27	δ-Cadineno	1520	1522	1,26±0,50	1,35±0,25
28	Silfiperfolan-7-β-ol	1525	1519	0,22±0,19	0,22±0,38
29	Germacreno B	1560	1559	0,88±0,19	0,60±0,35
30	Espatuleno	1583	1577	22,64±7,50	22,31±1,03
31	Óxido de Cariofileno	1585	1582	4,07±2,10	5,17±1,12
32	Globulol	1590	1590	3,05±0,95	2,14±0,52
33	Viridiflorol	1599	1592	6,99±0,80	4,29±1,14
34	Humuleno epoxi II	1612	1608	1,36±0,56	1,53±1,06
35	1- <i>epi</i> -Cubenol	1631	1627	0,35±0,11	0,22±0,38
36	<i>epi</i> -α-Cadinol	1646	1638	0,42±0,44	0,41±0,42
37	<i>epi</i> -α-Muurolol	1648	1640	1,06±0,55	0,39±0,44
38	<i>cis</i> -Guaia-3,9-dien-11-ol	1654	1648	0,43±0,09	-
39	α-Cadinol	1660	1652	2,35±0,97	1,14±0,07
40	Selin-11-en-4-α-ol	1663	1658	0,79±0,12	-
41	Isobiciclogermacre nol	1736	1733	0,16±0,15	-
	Monoterpenos			11,2	25,7
	Sesquiterpenos			76,4	68,9
	Total identificados			87,6	94,6

Nota: ^aIR: índice de retenção relativo calculado usando coluna ZB-5MS, calculado de acordo com Van Den Dool e Kratz (1963), ^b índice de retenção de acordo com Adams (2007), (-): não detectado. FONTE: O autor (2014).

Analisando-se todos os dados disponíveis na literatura, torna-se evidente a necessidade de mais estudos químicos sobre os óleos essenciais

produzidos por espécies do gênero *Baccharis*, especialmente os da seção *Caulopterae*, cuja característica marcante é a interação intensa com inúmeros seres vivos, especialmente insetos (DAMASCENO et al., 2010; FAGUNDES, NEVES e FERNANDES, 2005; ROSSO et al., 2000).

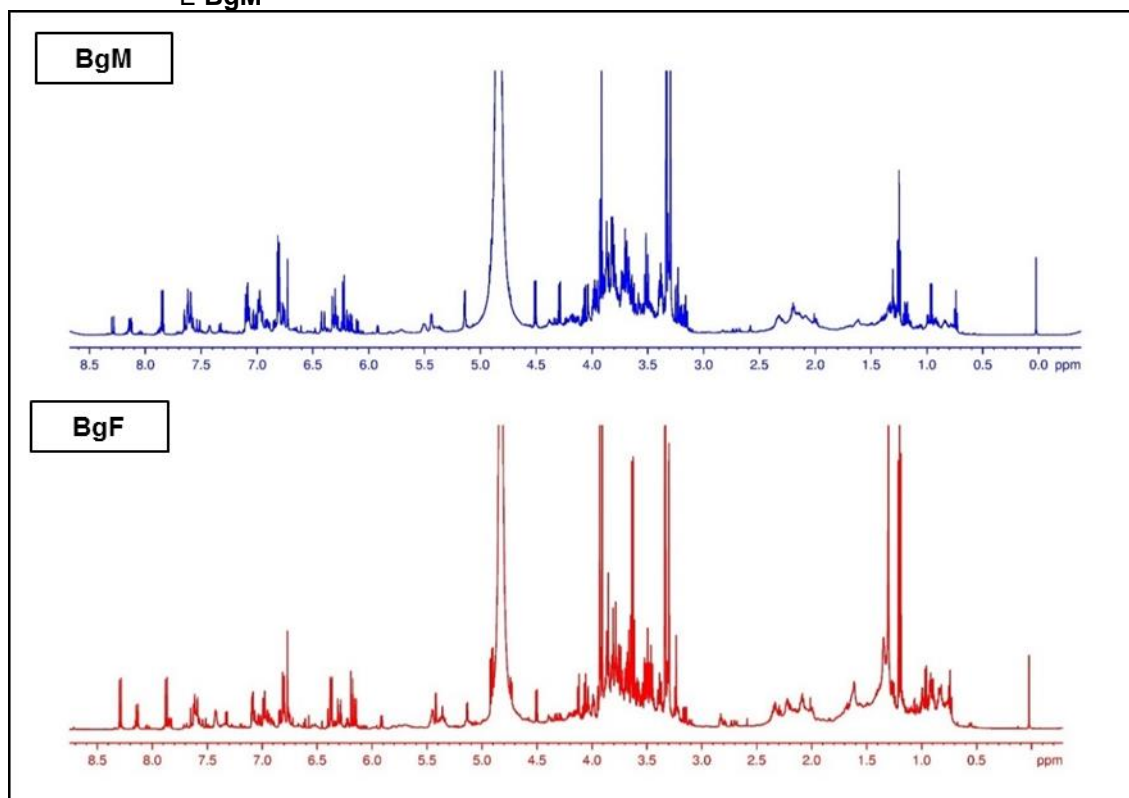
Estudos referentes à atividade biológica dos óleos essenciais de *Baccharis* encontrados na literatura relataram que a maioria dos compostos majoritários identificados nos óleos de plantas do gênero *Baccharis* apresentam promissoras atividades biológicas como anti-inflamatórios, antimicrobianos, antifúngicos, antiprotozoário, antiúlcera, entre outros. Uma revisão recente foi realizada por Campos e colaboradores (2016) e os dados estão publicados na Revista Chemistry & Biodiversity (ANEXO 2, página 177).

5.4 ANÁLISE DO PERFIL QUÍMICOS DOS EXTRATOS DE *B. glaziovii* (**BgF** E **BgM**) POR RMN DE ¹H

As partes aéreas (folhas e cladódios) de *B. glaziovii* femininos (**BgF**) e *B. glaziovii* masculinos (**BgM**) resultaram em 119,4 g de extrato bruto seco de **BgF** e 158,4 g de extrato bruto seco de **BgM**, o que equivale a 11,9% e 15,8% de rendimento, respectivamente. Os espectros de RMN de ¹H (ESPECTRO 1) obtidos dos extratos **BgF** e **BgM** foram comparados pela semelhança química entre as espécimes. E os espectros foram ampliados na região dos sinais dos hidrogênios aromáticos (8,0 – 6,0 ppm), sendo observados sinais muito semelhantes, mas com algumas variações de intensidades, tendo apresentado uma maior proporção e sinais mais definidos no espectro de **BgF** (ESPECTRO 2). Por esta razão, o mesmo foi escolhido para dar continuidade ao trabalho, embora ambos os extratos apresentem igual complexidade. Em plantas dioicas, as espécimes femininas requerem mais energia e nutrientes, em função do alto investimento metabólico que elas precisam para a produção de frutos e sementes, e também são menos atacadas por insetos, exibindo um padrão diferenciado de crescimento com relação as plantas masculinas. Em consequência plantas femininas são mais frágeis em *habitats* estressados (pobres em nutrientes, áridos e com temperaturas altas) e para não competirem com as plantas masculinas, “migram” para *habitats* úmidos e com mais recursos

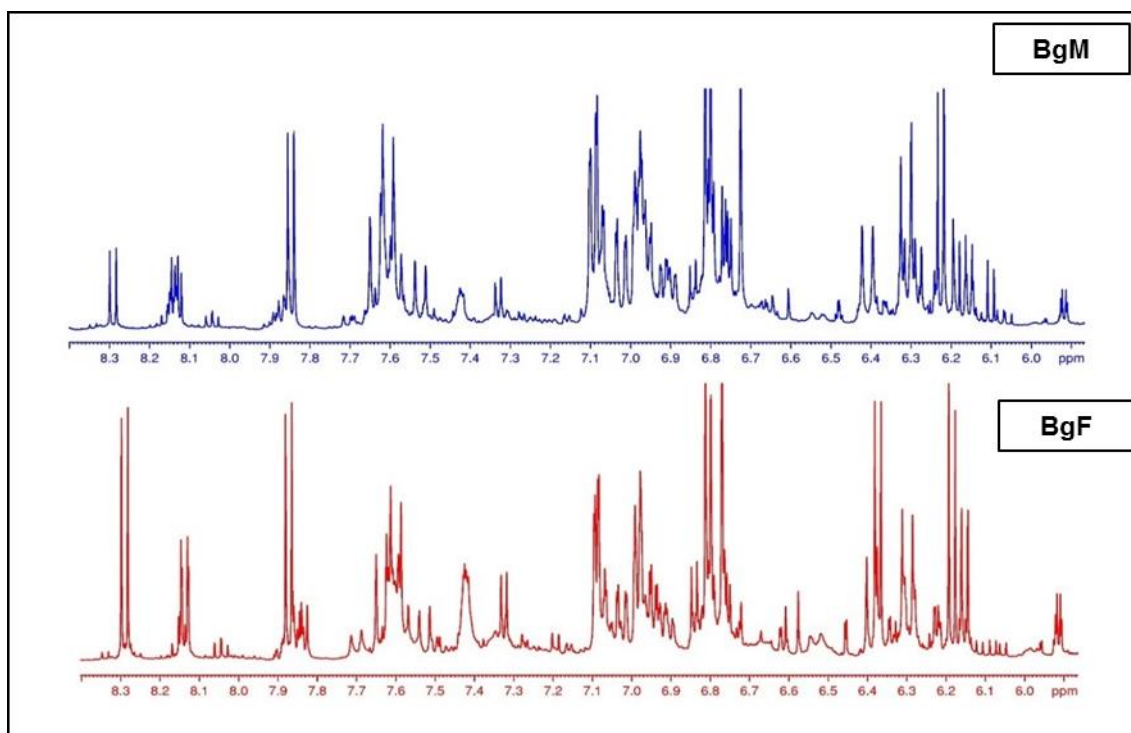
minerais, como ocorre com plantas do gênero *Baccharis*. Isto poderia justificar as diferenças nas concentrações dos teores de metabólitos secundários na espécime feminina de *B. glaziovii* (ARAÚJO, CARNEIRO e FERNANDES, 2003; CARNEIRO e FERNANDES, 1996). Espírito-Santo e colaboradores (1999) avaliaram o perfil de taninos em *B. dracunculifolia*, os resultados mostraram não haver diferenças entre indivíduos masculinos e femininos. Sousa e colaboradores (2014) estudaram o teor de flavonóides totais em *B. genistelloides* subsp. *crispa*, expresso em quercetina e verificaram não haver diferenças entre plantas dióicas. Segundo De Oliveira e colaboradores (2014d) ensaiaram pelos métodos de quimiluminescência luminol, DPPH colorimétrico e ABTS, a fim de determinar a atividade anti-radicalar dos extratos de espécimes masculino e feminino de *Baccharis burchelli* e *Baccharis crispa*, e observaram que existem diferenças na constituição dos extratos de plantas masculinos e femininos de ambas as espécies.

ESPECTRO 1 - COMPARAÇÃO DE ESPECTROS DE RMN DE ^1H (600 MHz, CD_3OD) DE **BgF** E **BgM**



FONTE: O autor (2013).

ESPECTRO 2 - COMPARAÇÃO DE ESPECTROS DE RMN de ^1H AMPLIADOS NA REGIÃO DE 8,3-6,0 ppm (600 MHz, CD_3OD) DE **BgF** E **BgM**



FONTE: O autor (2013).

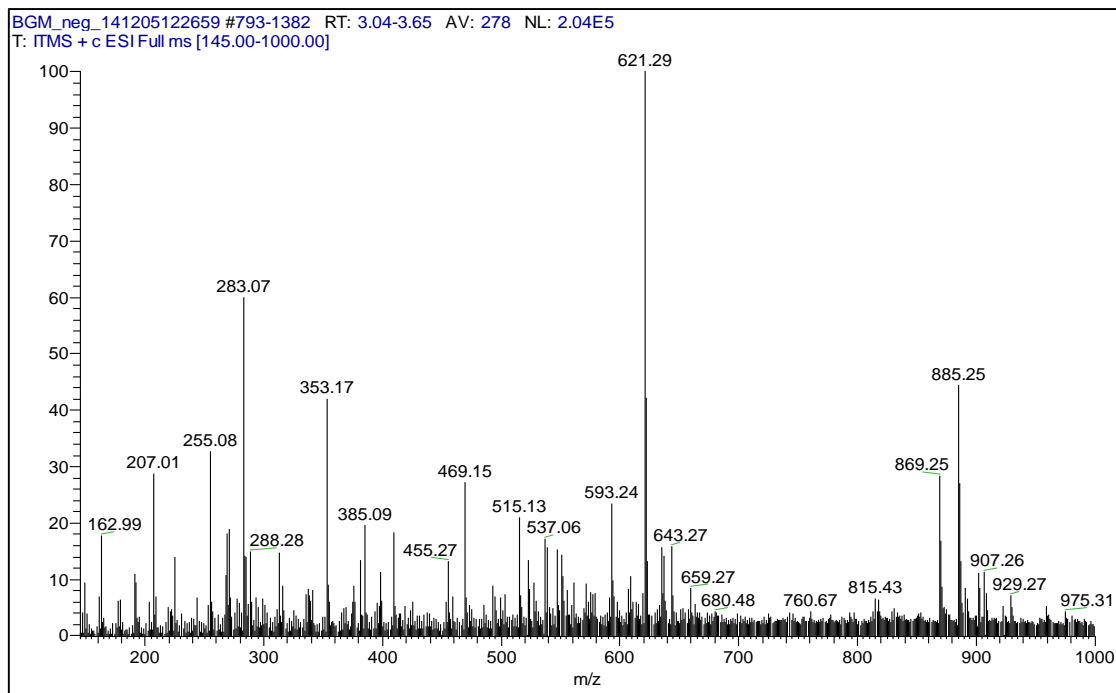
5.5 ANÁLISE DO PERFIL QUÍMICOS DOS EXTRATOS DE *B. glaziovii* (**BgF** E **BgM**) POR DIMS

Os extratos de plantas são misturas orgânicas complexas em que a ionização é obtida através da protonação $[\text{M} + \text{H}]^+$ ou desprotonação $[\text{M} - \text{H}]^-$, sendo analisadas com grande rapidez, sensibilidade, seletividade e preparo mínimo da amostra (CABRAL et al., 2013).

A análise qualitativa do perfil químico dos extratos **BgF** e **BgM** foi obtida por espectrometria de massas direta utilizando a técnica de ionização por electrospray (ESI). Os espectros DIMS foram obtidos no modo negativo de ionização para o extrato **BgM** (ESPECTRO 3) e no modo positivo de ionização para o extrato **BgF** (ESPECTRO 4), foram adquiridos na faixa de m/z 100 a 1000. Os espectros de massas de razão m/z no MS obtido dos extratos **BgF** e **BgM** mostra o perfil *full scan* de uma mistura complexa de compostos, sugerindo a presença de uma série de metabólitos secundário descrito na literatura para o gênero *Baccharis*. Dentre eles podem-se citar os diterpenos, ácidos fenólicos, cumarinas e flavonoides. Esses compostos possuem ação antimicrobiana, anti-

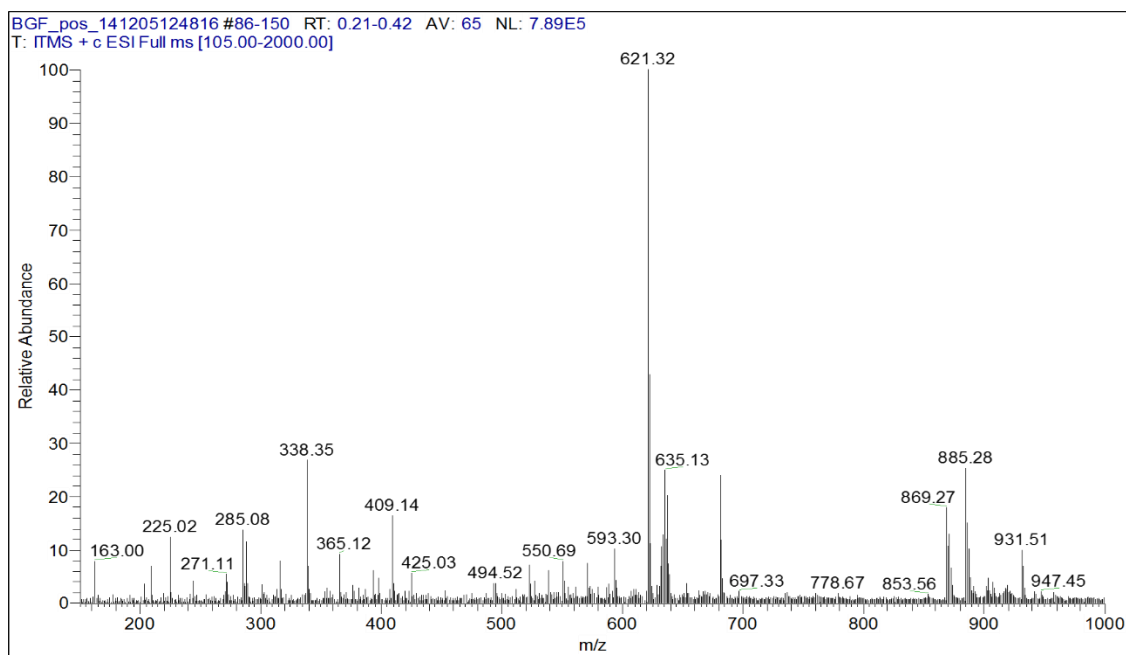
inflamatório, antileishmania, tripanocida, descrito na literatura e encontrados em *Baccharis* (CAMPOS et al., 2016).

ESPECTRO 3 - ESPECTRO DE LRMS NO MODO NEGATIVO DE IONIZAÇÃO DE **BgM**
(METANOL)



FONTE: O autor (2015).

ESPECTRO 4 - ESPECTRO DE LRMS NO MODO POSITIVO DE IONIZAÇÃO DE **BgF**
(METANOL 1% DE ÁCIDO FÓRMICO)



FONTE: O autor (2015).

5.6 FRACIONAMENTO CROMATOGRÁFICO DO EXTRATO **BgF**

O fracionamento cromatográfico das frações BgFD e BgFAc, resultou na identificação de oito substâncias, denominadas **BgF_1**, **BgF_2**, **BgF_3**, **BgF_4**, **BgF_5**, **BgF_6**, **BgF_7**, **BgF_8**. As substâncias foram identificadas através de análises de espectro de RMN uni e bidimensionais, e foram confirmadas por espectrometria de massas, juntamente com os dados da literatura.

5.6.1 Determinação estrutural de **BgF_1**

A fração **BgFD** (ESQUEMA 1, página 65) foi analisada por RMN de 1D e 2D, sendo possível identificar diretamente nesta fração a substância **BgF_1** como sendo o composto em maior proporção. A análise do espectro de RMN de ^1H (ESPECTRO 5) indicou tratar-se de um flavonoide (FIGURA 10). O anel A contém somente os hidrogênios ligados aos carbonos C-6 e C-8, observados como dupletos em 6,20 ppm (H-6, $J = 2,1$ Hz) e 6,43 ppm (H-8, $J = 2,1$ Hz). A constante de acoplamento pequena em $J = 2,1$ Hz confirmou o acoplamento entre esses hidrogênios *meta*, mostrando tratar-se de um flavonóide 5,7-di-hidroxilado. Foi observado também um simpleto em 6,55 ppm que indica um hidrogênio que não possui acoplamento com outro hidrogênio, atribuído ao H-3 da flavona. Os sinais foram comparados com os dados publicados por Agrawal (1989), Harborne (1996) e Miyazawa e Hisama (2003).

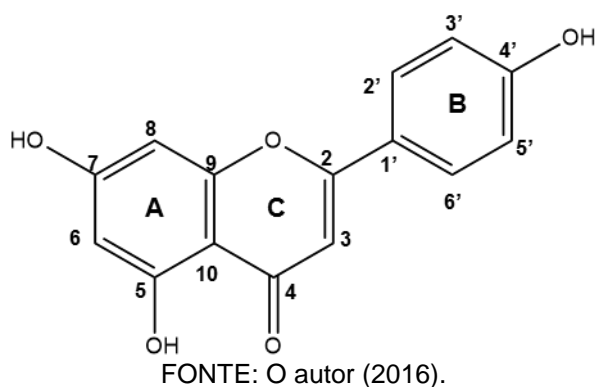
As atribuições dos sinais de RMN de ^{13}C foram realizadas pela análise de mapas de correlação HSQC (ESPECTRO 6) e HMBC (ESPECTRO 7). No espectro de HSQC (ESPECTRO 6) observou-se 13 sinais referentes aos carbonos da flavona e foi comparado com dados publicados por Agrawal (1989). O sinal em 183,9 ppm foi atribuído ao carbono da carbonila α,β -insaturada (C4) e o sinal característico do carbono C-3 em 103,9 ppm indicou substituição por um oxigênio.

Para o anel B, devido a sua simetria, apenas quatro sinais, foram observados. Isto devido ao fato dos sinais dos carbonos das posições 3' e 5' (116,8 ppm) e os carbonos das posições 2' e 6' (129,4 ppm) apresentarem equivalência em deslocamento químico.

A TABELA 5 apresenta os dados de deslocamentos de RMN de ^1H e ^{13}C , correlações de HMBC e comparação com a literatura. Portanto, os dados apresentados, confirmaram que se trata da 5,7,4'-tri-hidroxi-flavona, chamada de Apigenina (FIGURA 10). Este flavonóide geralmente é encontrado no gênero *Baccharis* e já foi relatado nas espécies *B. gaudichaudiana* (espécie pertencente a seção *Cauloperae* segundo Giuliano, 2001), *B. dentata*, *B. illinita*, *B. retusa*, *B. salzmännii*, *B. salicifolia*, *B. pseudotenuifolia* e *Baccharis tola* (DEL CORRAL et al., 2012; GRECCO et al., 2012; GUO et al., 2007; MOREIRA et al., 2003; RIBEIRO et al., 2013; SAN-MARTIN, ROVIROSA e CASTILLO, 1983; SARTOR et al., 2013; VERDI et al., 2004).

O flavonoide apigenina foi identificado em *B. crispera* e *B. notoserigila*, e apresentou atividade antimicrobiana, sendo verificado também nas espécies *B. rufescens* e *B. medulosa*, comprovando o uso dessas plantas na medicina popular para a cura de feridas e infecções microbianas (COBOS et al., 2001; FERESIN et al., 2001; PALACIOS et al., 1983; VERDI, BRIGHENTE e PIZZOLATTI, 2005).

FIGURA 11 - ESTRUTURA MOLECULAR DA APIGENINA (BgF_1)



Estudo realizado por Close e McArthur (2002) constatou que as plantas para se protegerem podem aumentar a produção fenólica em resposta direta contra o estresse oxidativo causado pelo excesso de luz, e verificaram, que a concentração de apigenina é maior nas estações da primavera e verão indicando a efetividade deste composto. Confirmando a presença de apigenina em *B. glaziovii*.

Agati e colaboradores (2012) estudaram os flavonóides antioxidantes como a apigenina e observaram que estes podem controlar etapas fundamentais

do crescimento e diferenciação de células que atuam regulando o desenvolvimento da planta inteira e/ou órgãos individuais.

Foram realizados ensaios biológicos com apigenina isolada em *B. gaudichaudiana*, nos quais apresentaram atividade fraca a moderada contra certas linhagens de células de cancro humano (FULLAS *et al.*, 1994).

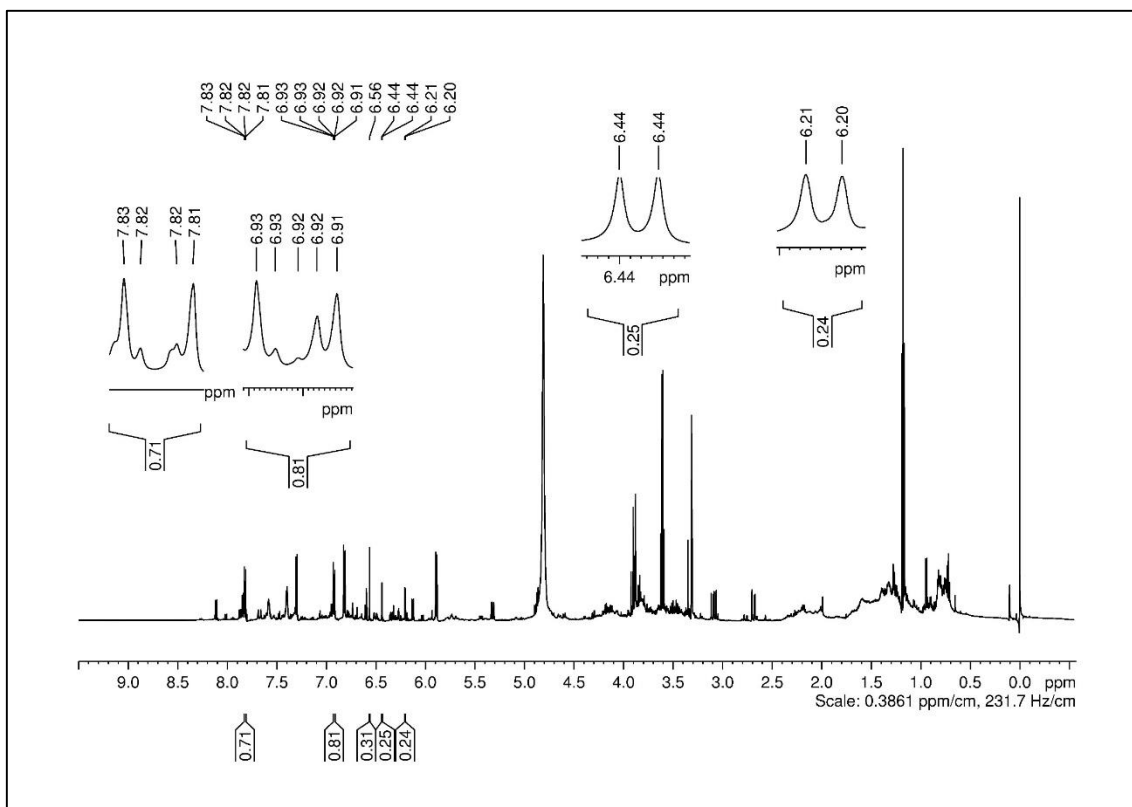
Soike e Leng-Peschlow (1987) estudaram o extrato de *B. trimera* (carqueja), identificaram o flavonóide apigenina e determinaram a atividade anti-hepatotóxica, utilizando ratos como modelo.

Nakasugi e Komai (1998) estudaram o extrato metanólico das folhas de *B. trimera* e isolaram quatro flavonóides, dos quais a apigenina foi identificada e mostrou atividade antimutagênica.

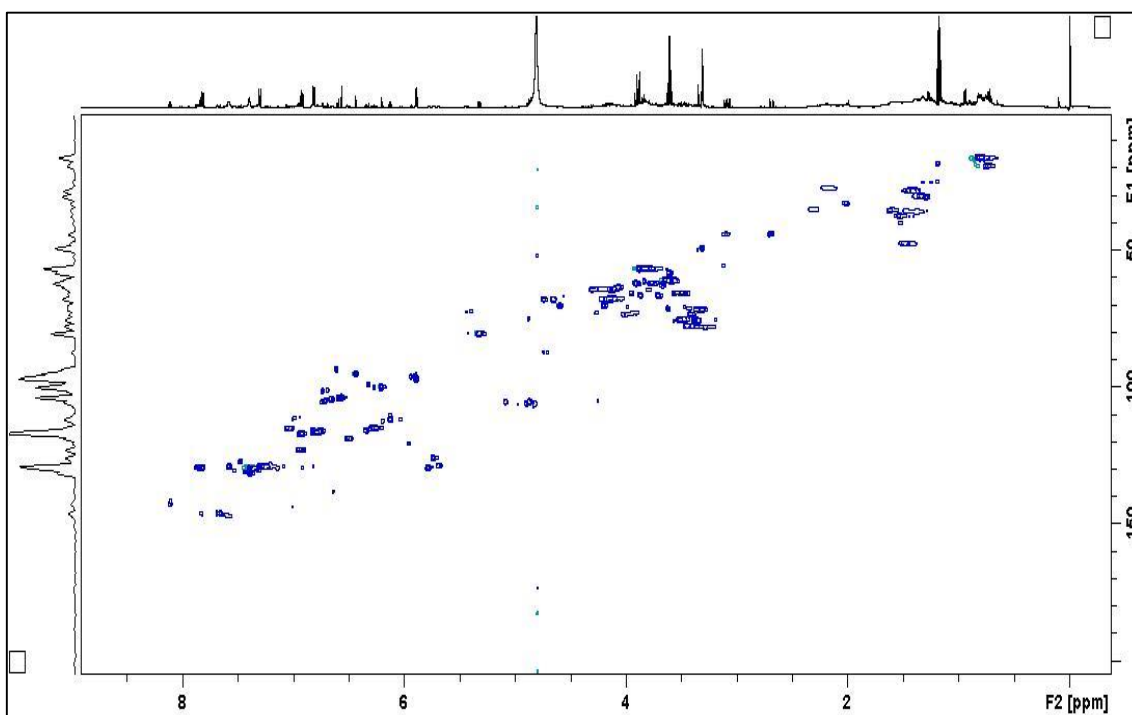
TABELA 5 - DADOS DE RMN DE 1D E 2D DE BgF_1

Posição	BgF_1 ^a			apigenina ^b	
	¹ H (ppm) (multiplicidade; J em Hz)	¹³ C (ppm)	HMBC	¹ H (ppm) (multiplicidade; J em Hz)	¹³ C (ppm)
2	-	166,4		-	163,0
3	6,55 s	103,9	2,4,10	6,68 s	100,2
4	-	183,9		-	181,8
5	12,60 s	163,6		12,90	161,2
6	6,20 1H, d (2,1)	100,1	5,8,10	6,20 1H, d (2,0)	99,7
7	-	166,4		-	164,5
8	6,43 1H, d (2,1)	95,1	6,7,9,10	6,44 1H, d (2,0)	94,8
9	-	159,5		-	157,0
10	-	105,5		-	103,2
1'	-	117,2		-	119,1
2'	7,82 1H, d (8,9)	129,4	2,1',2',4'	7,92 1H, d (9,0)	121,5
3'	6,92 1H, d (8,9)	116,8	1',4',6'	6,90 1H, d (9,0)	116,0
4'	-	162,6		-	161,1
5'	6,92 1H, d (8,9)	116,8	1',4',6'	6,90 1H, d (9,0)	116,0
6'	7,82 1H, d (8,9)	129,4	2,1',2',4'	7,92 1H, d (9,0)	121,5

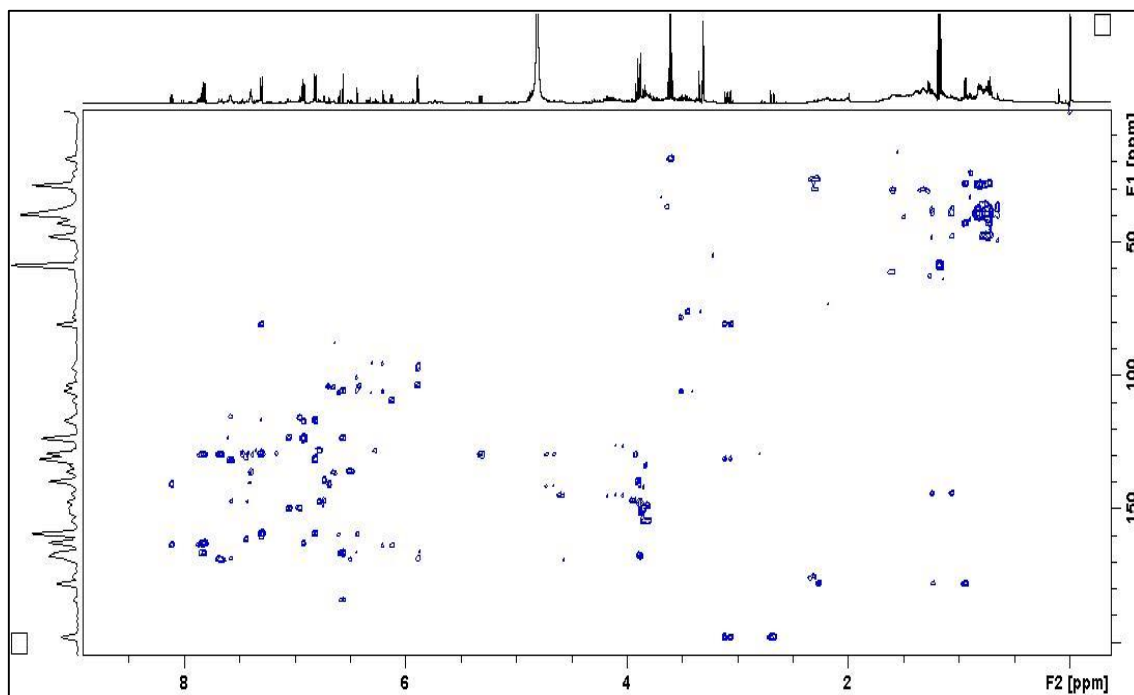
^aExperimento realizado a 600 MHz para ¹H, HSQC e HMBC em CDCl₃, utilizando TMS como referencia interna. As atribuições de ¹³C foram obtidas através da análise dos mapas de correlação HSQC e HMBC. ^bComparação com a literatura (MIYAZAWA e HISAMA, 2003), em DMSO-*d*₆ FONTE: O autor (2015).

ESPECTRO 5 - ESPECTRO DE RMN DE ^1H (600 MHz, CDCl_3) DA FRAÇÃO **BgF_1**

FONTE: O autor (2015).

ESPECTRO 6 - MAPA DE CORRELAÇÃO DE HSQC (600 MHz, CDCl_3) DA FRAÇÃO **BgF_1**

FONTE: O autor (2015).

ESPECTRO 7 - MAPA DE CORRELAÇÃO DE HMBC (600 MHz, CDCl₃) DA FRAÇÃO **BgF_1**

FONTE: O autor (2015).

5.6.2 Determinação estrutural da mistura **BgF_2 + BgF_3 + BgF_4**

Na fração **BgFAc** foram identificados por RMN 1D e 2D uma mistura de três substâncias, nomeadas de **BgF_2 + BgF_3 + BgF_4**, e foram confirmadas por espectrometria de massas, juntamente com os dados da literatura (ESQUEMA 1, página 65).

Os mapas de correlações HSQC (ESPECTRO 9) e HMBC (ESPECTRO 10) foram intensificados para a identificação dos três compostos em mistura e estão sendo mostrados nas páginas 104 e 105 (ESPECTRO 9 e ESPECTRO 10).

5.6.2.1 Determinação estrutural de **BgF_2**

O composto **BgF_2** foi identificado em mistura com **BgF_3** e **BgF_4**, os quais foram diretamente identificados na fração **BgFAc** (ESQUEMA 1). A análise do espectro de RMN de ¹H (ESPECTRO 8) indicou tratar-se de uma cumarina glicosilada (FIGURA 11), e mostraram sinais de hidrogênios alifáticos dos quatro grupos acetila e um hidrogênio aromático, e também em 6,35 ppm (*d*, H-3, *J* =

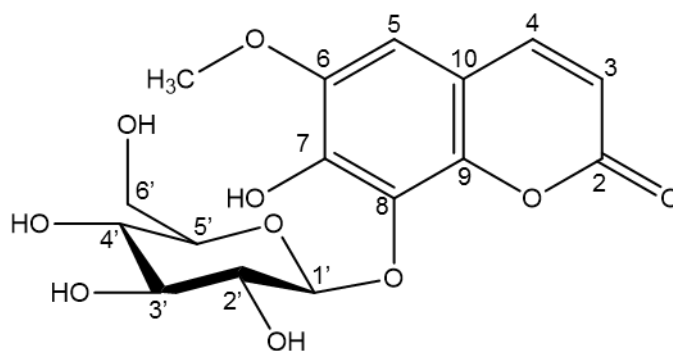
9,5 Hz), 7,85 ppm (*d*, H-4, $J = 9,5$ Hz), 6,75 ppm (*s*, H-5) e para os hidrogênios do grupo metoxila (CH₃O), um simpleto em 3,89 ppm. Ainda foram observados os sinais de hidrogênios metino hemiacila e do hidrogênio anomérico da glicose, em 4,90 ppm (*d*, H-1', $J = 7,7$ Hz). Os sinais dos demais hidrogênios da glicose foram em 3,56 ppm (*d*, H-2', $J = 7,7$ e 9,0 Hz), 3,44 ppm (*s*, H-3'), 3,47 ppm (*s*, H-4'), 3,28 ppm (*s*, H-5'), e na forma de dois dupletos 3,79 ppm (*dd*, H_{eq}-6', $J = 2,5$ e 12,0 Hz) e 3,72 ppm (*dd*, H_{ax}-6', $J = 4,6$ e 12,0 Hz).

As atribuições de ¹³C foram realizadas pela análise dos mapas de correlação HSQC (ESPECTRO 9) e HMBC (ESPECTRO 10).

A fórmula molecular C₁₆H₁₈O₁₀ foi deduzida com base nos dados obtidos do espectro de massas DIMS modo positivo de ionização (ESPECTRO 11), o qual apresentou o íon molecular de m/z 371.09727 [M + H]⁺.

A TABELA 6 mostra os deslocamentos de RMN de ¹H, ¹³C, correlações de HMBC e comparação com a literatura. Portanto, os dados acima apresentados sugerem que **BgF_2** seja a cumarina fraxetin-7-β-D-glucopiranosídeo, chamada de isofraxosídeo.

FIGURA 12 - ESTRUTURA MOLECULAR DO ISOFRAXOSÍDEO (**BgF_2**)



FONTE: O autor (2016).

Há poucas informações sobre cumarinas em *Baccharis*. Kurdelas e colaboradores (2010) avaliaram os extratos de *B. darwinii* e identificaram três cumarinas: 5'-hidroxiaurapteno, aurapteno e 5'-oxoaurapteno. Estes compostos foram ensaiados frente à bactérias e fungos, e mostraram atividade antifúngica. Outras cumarinas, como a escopolina, foram isoladas em *B. tricuneata* (CORDERO et al., 2004) e a escopoletina foi encontrada em *B. magellanica* (CORDANO, DE LA PEÑA e MEDINA, 1982), *B. tola* (SAN MARTÍN et al., 1980),

B. tricuneata (WAGNER, SEITZ e LOTTER, 1978), *B. megapotamica* (JARVIS et al., 1986) e *B. salicifolia* (DEL CORRAL et al., 2012).

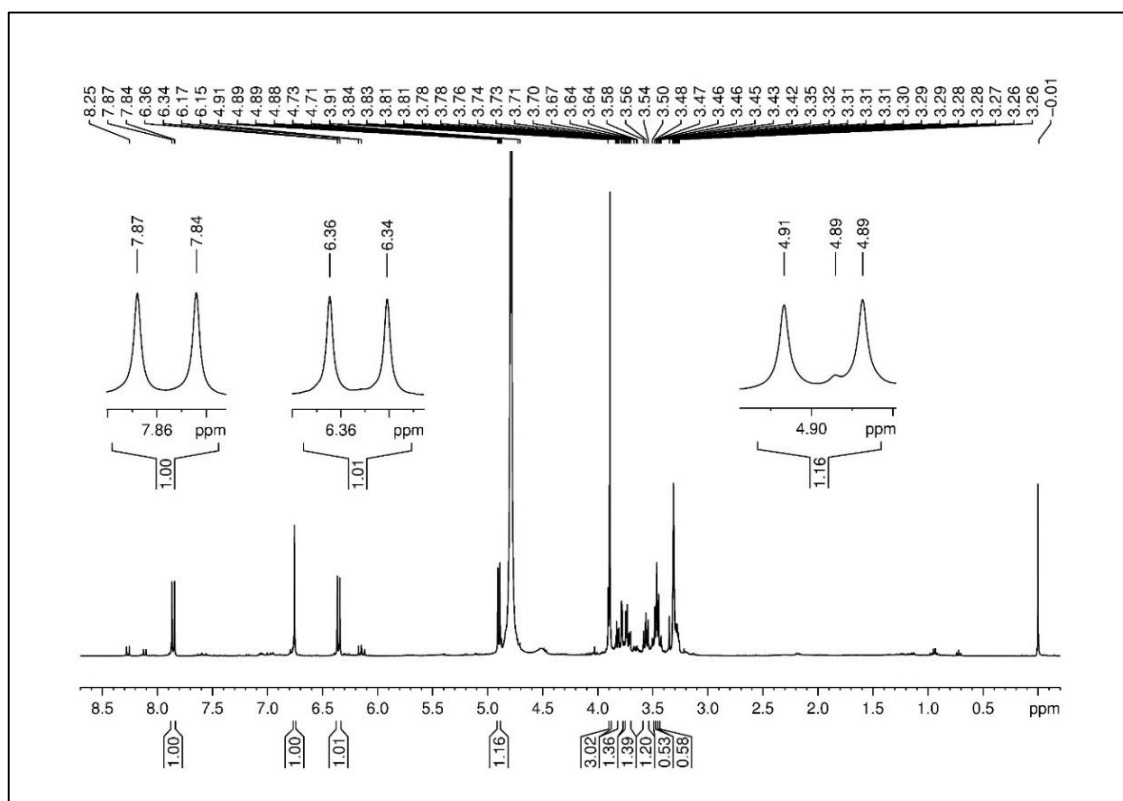
O composto **BgF_2** representa um derivado cumarínico glicosilado raramente encontrado em um pequeno número de espécies de plantas (GÖDECKE, KALOGA e KOLODZIEJ, 2005; WU et al., 1995). Sua presença no gênero *Baccharis* Seção *Caulopterae* é inédita. Então, buscou realizar ensaios biológicos com a mistura de substâncias **BgF_2 + BgF_3 + BgF_4**, no item 5.11, página 133.

TABELA 6 - DADOS DE RMN DE 1D E 2D DE **BgF_2**

Posição	BgF_2^a			isofraxosídeo^b	
	¹ H (ppm) (multiplicidade; J em Hz)	¹³ C (ppm)	HMBC	¹ H (ppm) (multiplicidade; J em Hz)	¹³ C (ppm)
2	-	163,0		-	165,5
3	6,35 <i>d</i> (9,5)	116,1	2,10	5,96 <i>d</i> (9,0)	107,1
4	7,85 <i>d</i> (9,5)	145,9	2,5,9,10	7,79 <i>d</i> (9,0)	146,3
5	6,75 <i>s</i>	101,5	4,6,7,9	6,77 <i>s</i>	105,0
6	-	151,3		-	150,8
7	-	138,5		-	147,3
8	-	-		-	134,8
9	-	139,8		-	156,5
10	-	117,1		-	-
1'	4,90 <i>d</i> (7,7)	106,0	7,2',3'	4,72 <i>d</i> (7,6)	102,1
2'	3,56 <i>dd</i> (7,7; 9,0)	75,3		3,4-3,54 <i>m</i>	75,6
3'	3,44 <i>s</i>	77,7	2',4'	-	78,4
4'	3,47 <i>s</i>	70,8	3',6'	-	71,1
5'	-	78,4		-	78,6
6'	3,72 H _{ax} , <i>dd</i> (4,6; 12,0)	62,3	4',5'	3,4-3,54 <i>m</i>	62,6
6'	3,79 H _{eq} , <i>dd</i> (2,5; 12,0)	62,3	4',5'	3,4-3,54 <i>m</i>	62,6
OCH₃	3,89 <i>s</i>	56,9	1	3,82 <i>s</i>	56,4

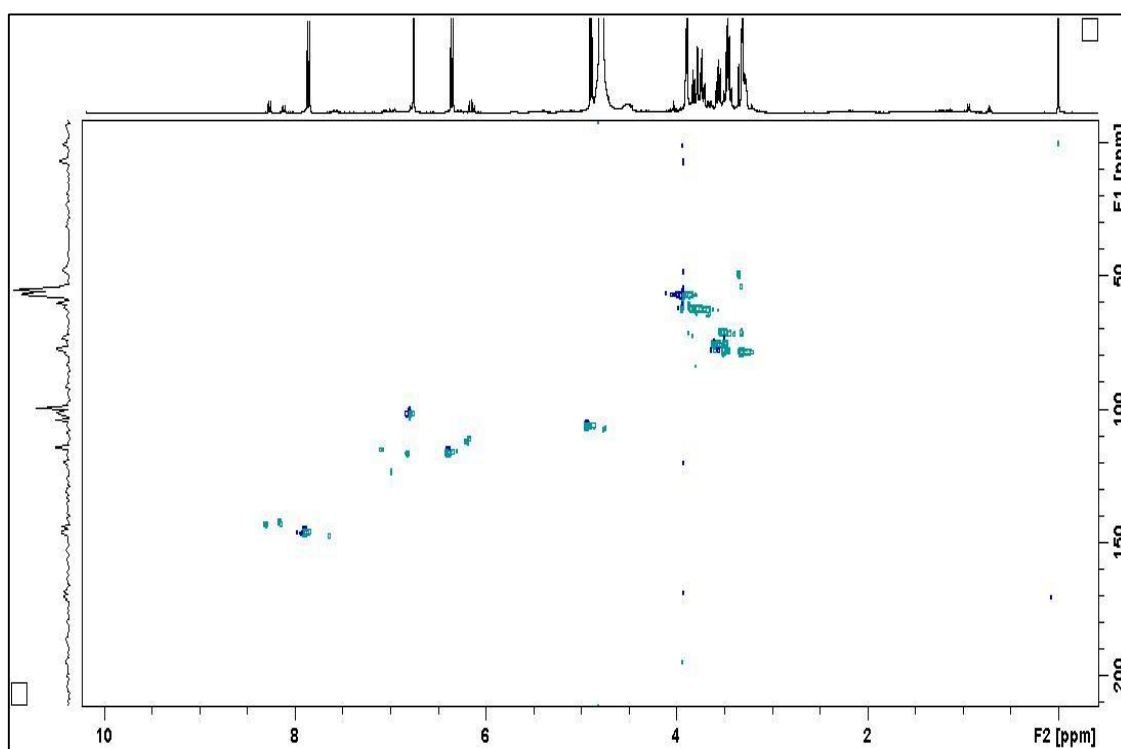
^aExperimento realizado a 600 MHz para ¹H, HSQC e HMBC em MeOD, utilizando TMS como referência interna. As atribuições de ¹³C foram obtidas através da análise dos mapas de correlação HSQC e HMBC. ^bComparação com a literatura em CD₃OD (GÖDECKE, KALOGA e KOLODZIEJ, 2005). FONTE: O autor (2015).

ESPECTRO 8 - ESPECTRO DE RMN DE ^1H (600 MHz, MeOD) DA MISTURA **BgF_2** + **BgF_3** + **BgF_4** E EXPANSÃO DOS SINAIS EM 6,35 ppm; 7,85 ppm; 4,90 ppm



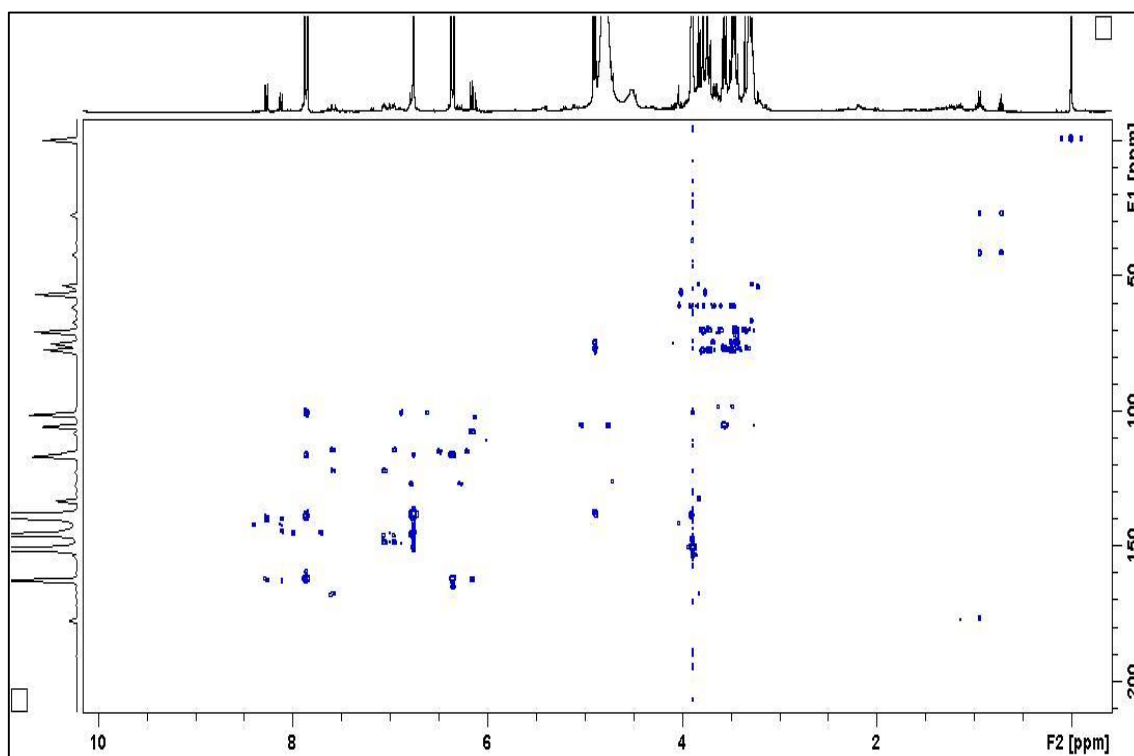
FONTE: O autor (2015).

ESPECTRO 9 - MAPA DE CORRELAÇÃO DE HSQC (600 MHz, MeOD) DA MISTURA **BgF_2** + **BgF_3** + **BgF_4**



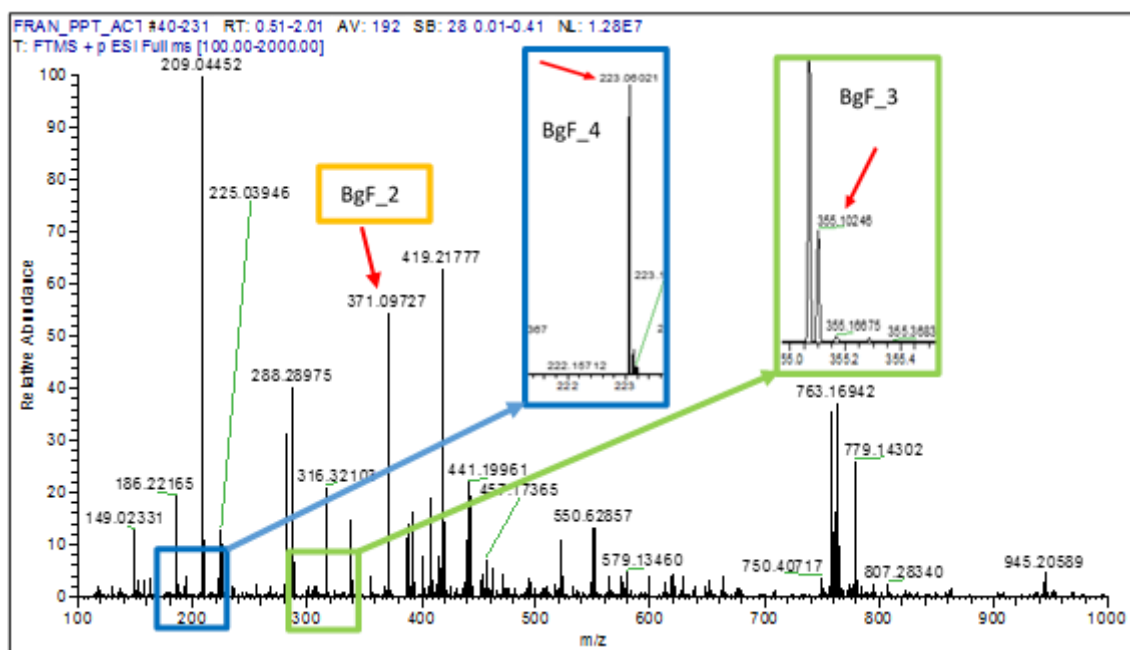
FONTE: O autor (2015).

ESPECTRO 10 - MAPA DE CORRELAÇÃO DE HMBC (600 MHz, MeOD) DA MISTURA **BgF_2**
+ **BgF_3** + **BgF_4**



FONTE: O autor (2015).

ESPECTRO 11 - EXPERIMENTO DE HRMS DA MISTURA **BgF_2** + **BgF_3** + **BgF_4**
(METANOL 1% DE ÁCIDO FÓRMICO)



FONTE: O autor (2015).

5.6.2.2 Determinação estrutural de **BgF_3**

O composto **BgF_3** foi identificado em mistura com **BgF_2** e **BgF_4**, os quais foram diretamente identificados no extrato **BgF** (ESQUEMA 1, página 65).

A análise do espectro de RMN de ^1H (ESPECTRO 12) indicou tratar-se de uma cumarina glicosilada (FIGURA 12), mostrando sinais de hidrogênios alifáticos dos quatro grupos acetila, em 6,16 ppm (*d*, H-3, $J = 9,7$ Hz), 8,27 ppm (*d*, H-4, $J = 9,7$ Hz), 6,78 ppm (*s*, H-5), 6,77 ppm (*s*, H-8) e para CH_3O um simpleto em 3,90 ppm.

Os sinais de hidrogênios metino hemiacila e dos hidrogênios anoméricos da glicose apresentaram-se, em 4,88 ppm (*d*, H-1', $J = 7,5$ Hz), 3,56 ppm (*d*, H-2', $J = 7,7$ e 9,0 Hz), 3,42 ppm (*s*, H-3'), 3,47 ppm (*s*, H-4'), 3,27 ppm (*s*, H-5'), e na forma de dois dupletos 3,80 ppm (*dd*, $\text{H}_{\text{eq}}\text{-6}'$, $J = 2,5$ e 12,0 Hz) e 3,72 ppm (*dd*, $\text{H}_{\text{ax}}\text{-6}'$, $J = 4,6$ e 12,0 Hz).

As atribuições de ^{13}C foram obtidas através da análise dos mapas de correlações de HSQC (ESPECTRO 9, página 104) e HMBC (ESPECTRO 10, página 105).

A posição do grupo metoxila, atribuída em C-7 do anel aromático, foi estabelecida através das correlações a longa distância no experimento de HMBC, para 6,77 ppm (*s*, H-8) e 6,78 ppm (*s*, H-5). Conectividades adicionais no HMBC foram verificadas para o sinal em 6,78 ppm (*s*, H-5) e com os C-4 e C-7.

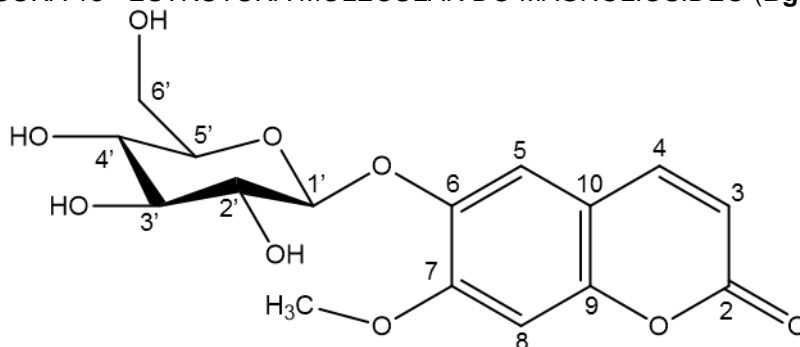
A fórmula molecular $\text{C}_{16}\text{H}_{18}\text{O}_9$ foi deduzida com base nos dados obtidos pelo espectro de massas DIMS modo positivo de ionização (ESPECTRO 13), o qual apresentou o íon molecular de m/z 355.10246 $[\text{M} + \text{H}]^+$.

A TABELA 7 mostra os deslocamentos de RMN de ^1H , ^{13}C , correlações de HMBC e comparação com a literatura. Portanto, os dados acima apresentados sugerem que **BgF_3** seja a cumarina a 7-metoxicoumarina-6- β -D-glucopiranosídeo, chamado de magnoliosídeo.

Assim como no composto anterior, este composto está sendo relatada pela primeira vez entre as espécies de *Baccharis* Sect. *Caulopterae*. Lee e colaboradores (2003) isolaram o derivado cumarínico magnoliosídeo do extrato de *Angelica gigas* Nakai e relataram que este apresentou atividade

neuroprotetora. Em um estudo realizado por Moon e colaboradores (2011) também isolaram o Magnoliosídeo no extrato de *A. gigas* e mostrou atividade *in vitro* antiplasmódica, mas não apresentou citotoxicidade frente as células da linhagem de câncer SK-OV-3.

FIGURA 13 - ESTRUTURA MOLECULAR DO MAGNOLIOSÍDEO (**BgF_3**)



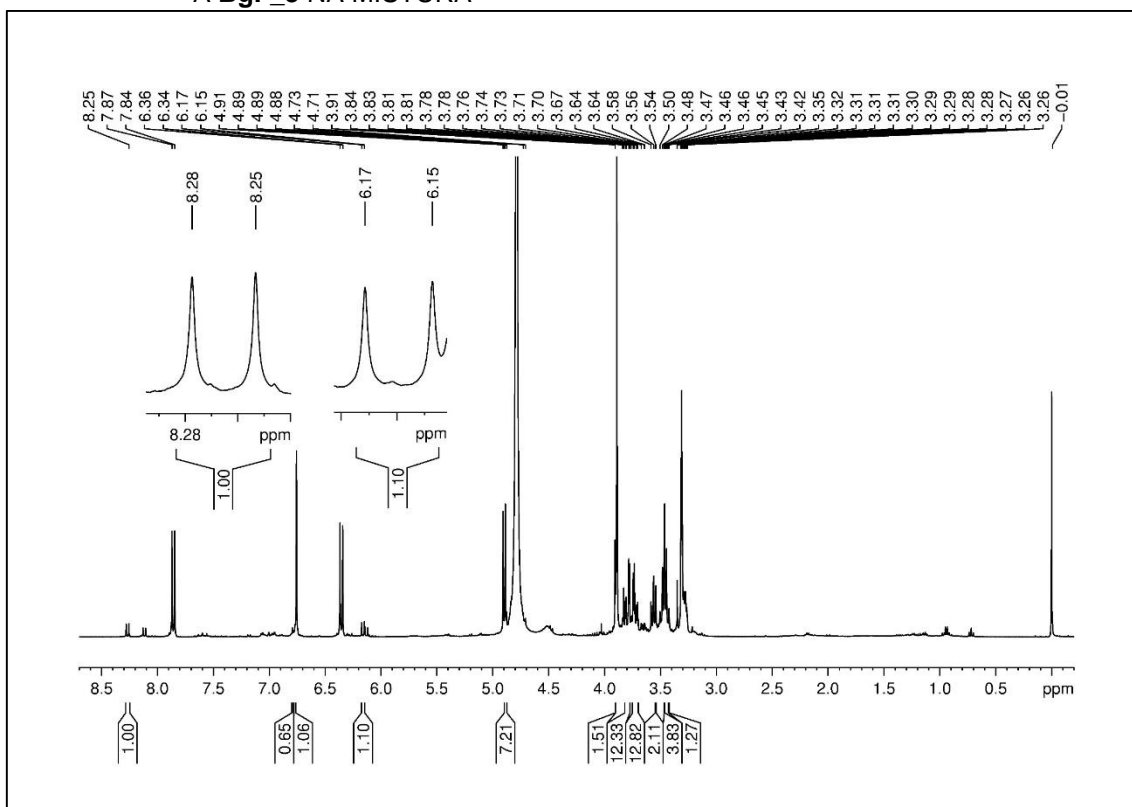
FONTE: O autor (2016).

TABELA 7 - DADOS DE RMN DE 1D E 2D DE **BgF_3**

Posição	BgF_3^a			magnoliosídeo^b	
	¹ H (ppm) (multiplicidade; J em Hz)	¹³ C (ppm)	HMBC	¹ H (ppm) (multiplicidade; J em Hz)	¹³ C (ppm)
2	-	-		-	163,6
3	6,16 <i>d</i> (9,7)	111,6		6,31 <i>d</i> (9,5)	114,6
4	8,27 <i>d</i> (9,7)	143,4	3,5	7,90 <i>d</i> (9,5)	145,7
5	6,78 <i>s</i>	116,6	4	7,21 <i>s</i>	110,9
6	-	156,6		-	151,8
7	-	148,2		-	148,3
8	6,77 <i>s</i>	101,6		7,18 <i>s</i>	105,3
9	-	-		-	151,1
10	-	-		-	114,6
1'	4,88 <i>d</i> (7,5)	-		5,07 <i>d</i> (7,3)	102,1
2'	3,56 <i>dd</i> (7,7; 9,0)	74,6		3,4-3,54 <i>m</i>	74,8
3'	3,42 <i>s</i>	77,8		-	77,9
4'	3,47 <i>s</i>	70,8		-	71,3
5'	-	-		-	78,5
6'	3,72 <i>H_{ax}</i> , <i>dd</i> (4,6; 12,0)	-		3,4-3,54 <i>m</i>	62,5
6'	3,80 <i>H_{eq}</i> , <i>dd</i> (2,5; 12,0)	-		3,4-3,54 <i>m</i>	62,5
OCH₃	3,89 <i>s</i>	56,9		3,90 <i>s</i>	57,1

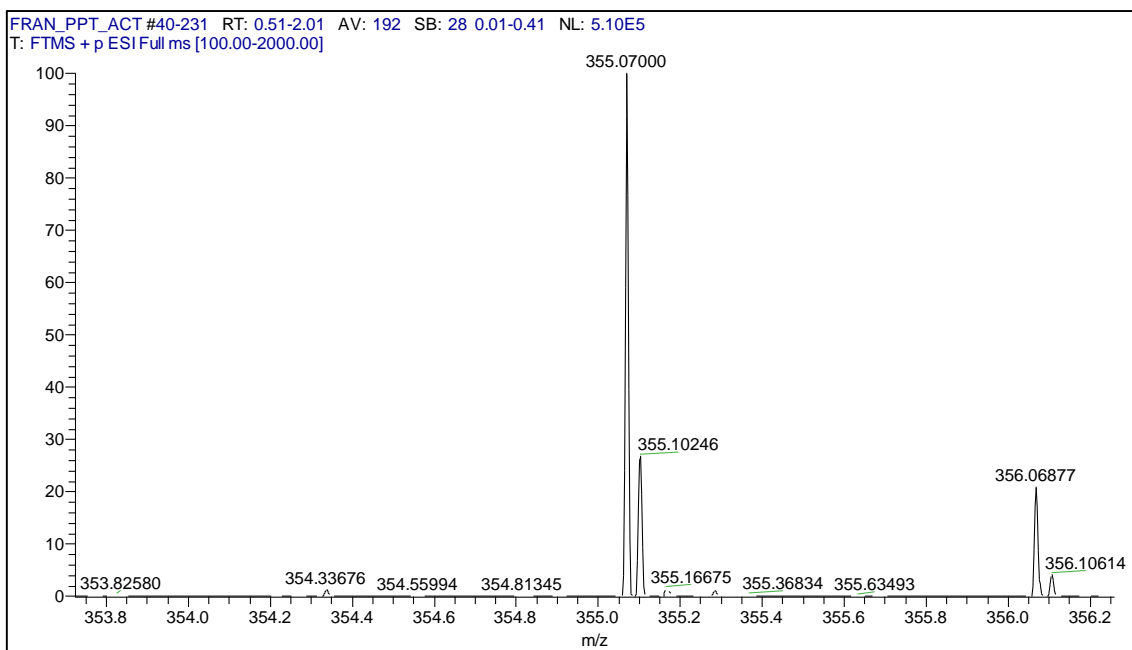
^aExperimento realizado a 600 MHz para ¹H, HSQC e HMBC em MeOD, utilizando TMS como referencia interna. As atribuições de ¹³C foram obtidas através do mapa de correlação de HSQC e HMBC. ^bComparação com a literatura em CD₃OD (GÖDECKE, KALOGA e KOLODZIEJ, 2005).
FONTE: O autor (2015).

ESPECTRO 12 - ESPECTRO DE RMN DE ^1H (600 MHz, MeOD) DA MISTURA **BgF_2** + **BgF_3** + **BgF_4** E EXPANSÃO DOS SINAIS EM 8,27 ppm E 6,16 ppm, REFERENTE A **BgF_3** NA MISTURA



FONTE: O autor (2015).

ESPECTRO 13 - AMPLIAÇÃO DO ESPECTRO DE MASSAS NA FAIXA DE m/z 352-356 DO EXPERIMENTO DE HRMS DA MISTURA **BgF_2** + **BgF_3** + **BgF_4** (METANOL 1% DE ÁCIDO FÓRMICO)



FONTE: O autor (2015).

5.6.2.3 Determinação estrutural de **BgF_4**

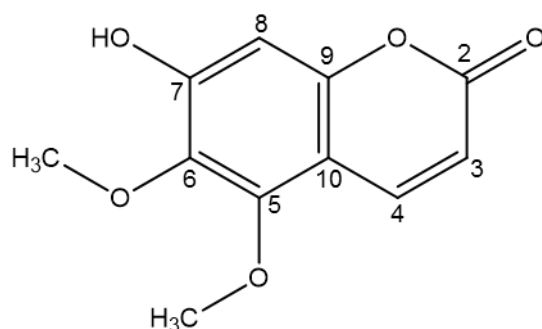
O composto **BgF_4** foi identificado em mistura com **BgF_2** e **BgF_3**, os quais foram diretamente identificados no extrato **BgF** (ESQUEMA 1, página 65).

A análise do espectro de RMN de ^1H (ESPECTRO 14) indicou tratar-se de uma cumarina (FIGURA 14). As atribuições de ^{13}C foram obtidas através da análise dos mapas de correlação de HSQC (ESPECTRO 9) e HMBC (ESPECTRO 10). A TABELA 8 relaciona os dados espectrais, com as constantes de acoplamento entre H-3 e H-4 ($J = 9,7 \text{ Hz}$). Os sinais característicos de grupos metoxila em C-5 e C-6, foram observados em 3,82 ppm e 3,90 ppm, respectivamente. Esta é a primeira vez que este composto é relatado em espécie de *Baccharis*.

A fórmula molecular $\text{C}_{11}\text{H}_{10}\text{O}_5$ foi deduzida com base nos dados obtidos pelo espectro de massas DIMS modo positivo de ionização (ESPECTRO 15), o qual apresentou o íon molecular de m/z 223.06021 $[\text{M} + \text{H}]^+$.

O composto **BgF_4** foi definido como 7-hidroxi-5,6-dimetoxicoumarina, chamado de uncalina. Estudo de Kayser e Kolodziej (1997) comparou as atividades antimicrobianas de raízes, folhas e de alguns compostos cumarínicos isolados como a uncalina, de *Pelargonium sidoides* e *P. reniforme*. Houve destaque para a uncalina, que representa a cumarina com maior ação para todas as bactérias testadas.

FIGURA 14 - ESTRUTURA MOLECULAR DA UNCALINA (**BgF_4**)

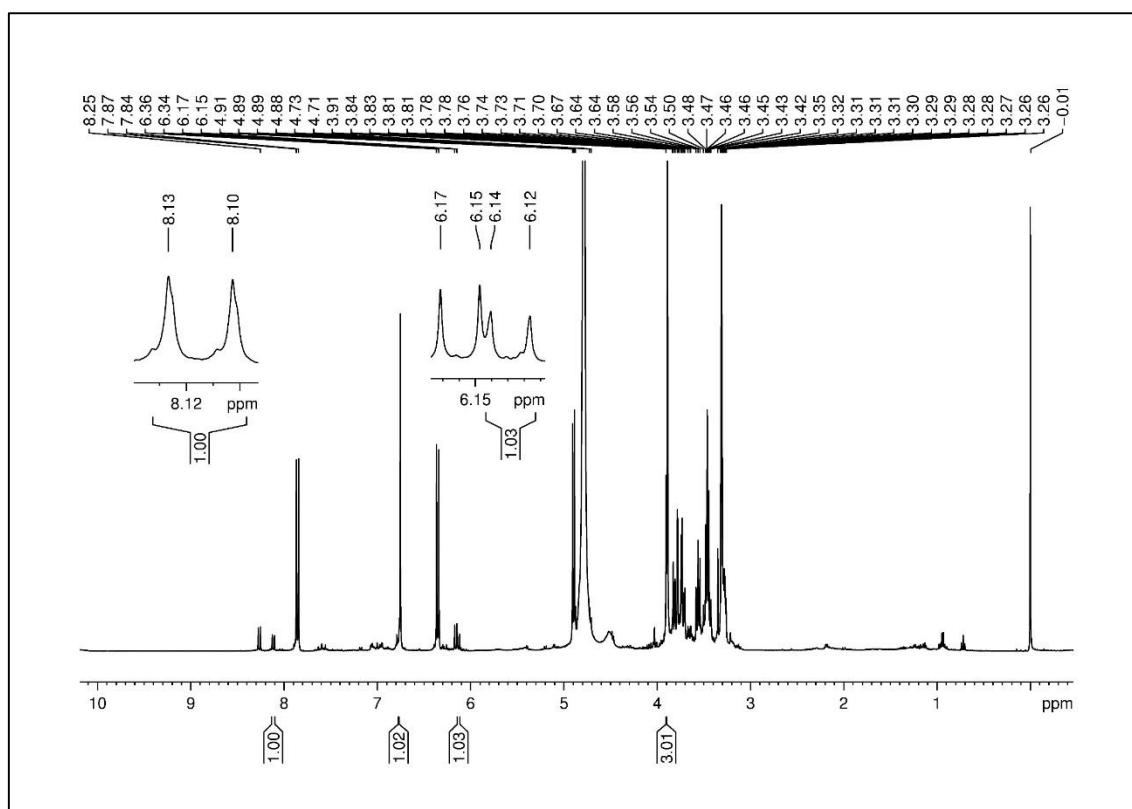


FONTE: O autor (2016).

TABELA 8 - DADOS DE RMN DE 1D E 2D DE BgF_4

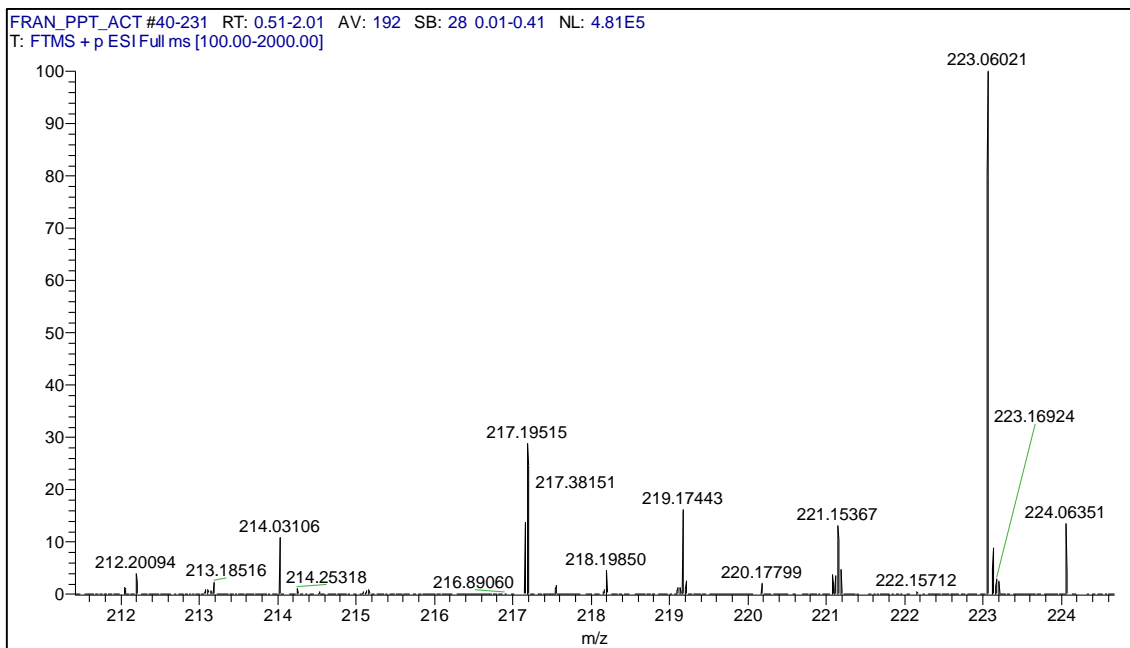
Posição	BgF_4 ^a			uncalina ^b	
	¹ H (multiplicidade; J em Hz)	¹³ C (ppm)	HMBC	¹ H (multiplicidade; J em Hz)	¹³ C (ppm)
2	-	163,0		-	162,2
3	6,12 <i>d</i> (9,7)	111,2		6,12 <i>d</i> (9,6)	112,5
4	8,11 <i>d</i> (9,7)	142,0		7,96 <i>d</i> (9,6)	139,6
5	-	151,3		6,59 <i>s</i>	155,9
6	-	138,5		-	138,1
7	-	-		-	152,5
8	6,76 <i>s</i>	101,3		-	99,6
OCH ₃	3,82 <i>s</i>	56,8		3,86 <i>s</i>	61,3
OCH ₃	3,90 <i>s</i>	57,1		4,01 <i>s</i>	62,0

^aExperimento realizado a 600 MHz para ¹H, HSQC e HMBC em MeOD, utilizando TMS como referência interna. As atribuições de ¹³C foram obtidas através da análise dos mapas de correlação de HSQC e HMBC. ^bComparação com a literatura em acetona-*d*₆ (KAYSER e KOLODZIEY, 1995) FONTE: O autor (2015).

ESPECTRO 14 - ESPECTRO DE RMN DE ¹H (600 MHz, MeOD) DA MISTURA BgF_2 + BgF_3 + BgF_4 E EXPANSÃO DOS SINAIS EM 8,11 ppm e 6,12 ppm

FONTE: O autor (2015).

ESPECTRO 15 - AMPLIAÇÃO DO ESPECTRO DE MASSAS NA FAIXA DE M/Z 210-227 DO EXPERIMENTO DE HRMS DA MISTURA **BgF_2** + **BgF_3** + **BgF_4** (METANOL 1% DE ÁCIDO FÓRMICO)



FONTE: O autor (2015).

5.6.3 Determinação estrutural de **BgF_5** a **BgF_7**

A fração de 66_75 (**BgFD_3**) de 12,8 mg foi analisada por CCDA e rendeu a substância **BgF_5** em mistura. A fração de 85_88 (**BgFD_6**) de 23 mg foi analisada por CCDA e rendeu a substância **BgF_6** em mistura. A fração de 90_91 (**BgFD_7**) de 32 mg foi analisada por CCDA e rendeu a substância **BgF_7** em mistura (ESQUEMA 2, página 66). As substâncias foram analisadas por RMN de 1D e 2D, identificadas e foram confirmadas por espectrometria de massas, juntamente com os dados da literatura.

5.6.3.1 Determinação estrutural de **BgF_5**

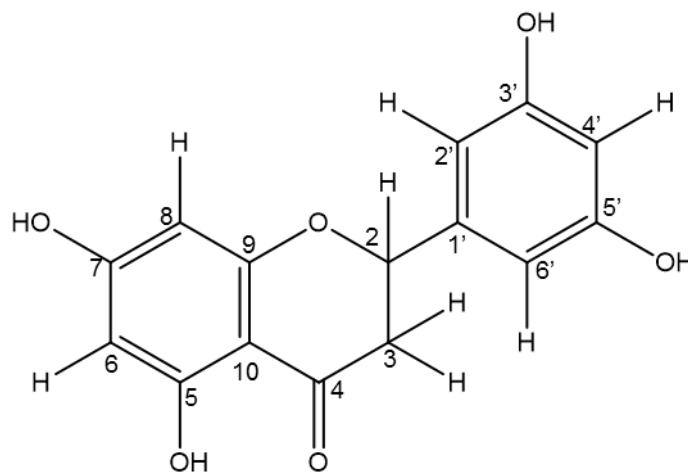
O composto **BgF_5** foi identificado na mistura da fração de 66_75 (**BgFD_3**) do ESQUEMA 2, página 66. Pela análise do espectro de RMN de ^1H (600 MHz, CDCl_3/TMS) (ESPECTRO 16), verificou a presença de dois sinais referentes de hidrogênios do anel aromático, um dos quais em 5,98 ppm (1H, s) e o outro em 5,96 ppm (1H, s), característico de hidrogênios *meta* e três sinais em 7,42, 7,43 e 7,42 ppm (H-2', H-4' e H-6', respectivamente) sugerindo a

presença de um anel aromático trissubstituído. Além disso, observou-se um sinal em 5,37 ppm (1H, *dd*, $J = 3,1$ e $13,0$ Hz) referente a um hidrogênio metílico oxigenado; dois sinais em 3,05 ppm (1H, *dd*, $J = 13,0$ e $17,0$ Hz) (H-2) e 2,80 ppm (1H, *dd*, $J = 3,1$ e $17,1$ Hz) (H-3) referentes a dois hidrogênios diastereotópicos. Observou-se também um sinal em 12,00 ppm (1H, *s*) referente a hidroxila fenólica quelada (-OH em C-5).

No mapa de correlação heteronuclear HSQC (ESPECTRO 17) foi possível associar de forma inequívoca os sinais de todos os hidrogênios e seus respectivos carbonos. A TABELA 9 relaciona os deslocamentos de RMN de ^1H e de ^{13}C , correlações de HMBC (ESPECTRO 18) e comparação com a literatura. As atribuições de ^{13}C foram feitas pela análise de espectros de HSQC (ESPECTRO 17) e HMBC (ESPECTRO 18).

Os dados de **BgF_5** juntamente com os dados da literatura foi possível identificá-lo como a substância 5,7,3',5'-tetra-hidroxiflavona (FIGURA 14), pertencente à classe dos flavonóides. Este flavonoide é relatado pela primeira vez em *Baccharis*, seção *Cauloperae*.

FIGURA 15 - ESTRUTURA MOLECULAR DE 5,7,3',5'-TETRA-HIDROXIFLAVONA (**BgF_5**)

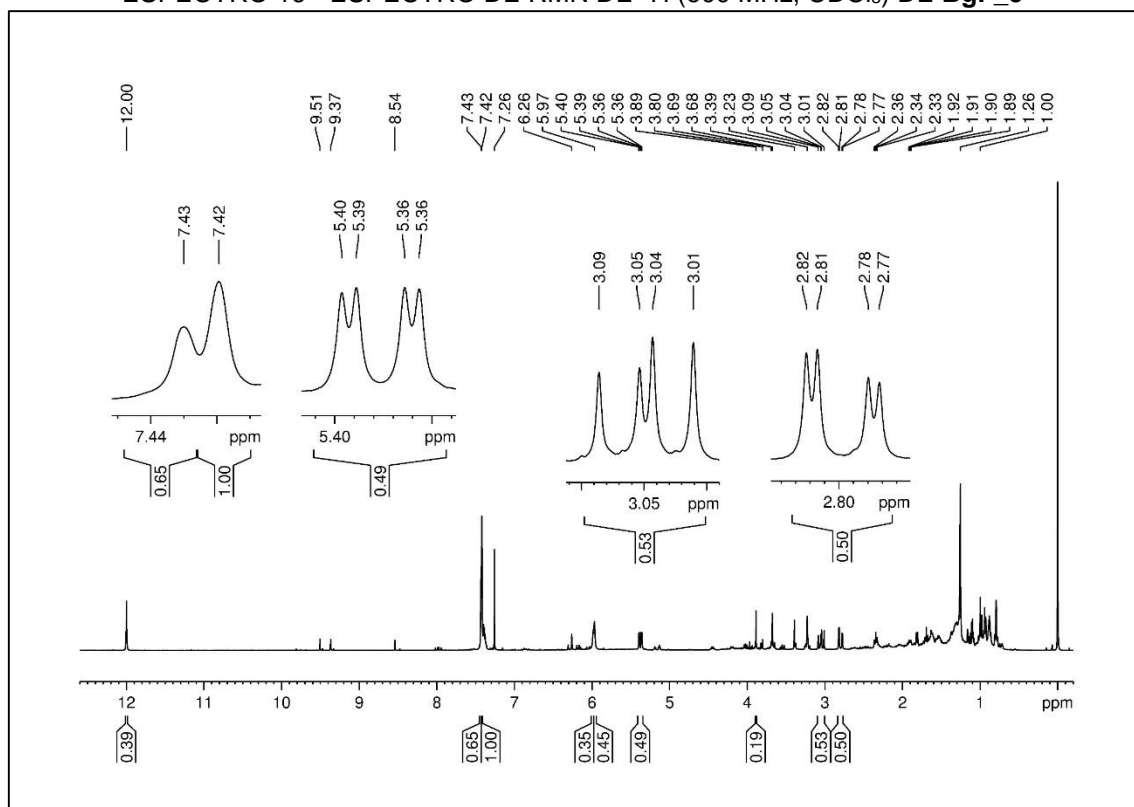


FONTE: O autor (2016).

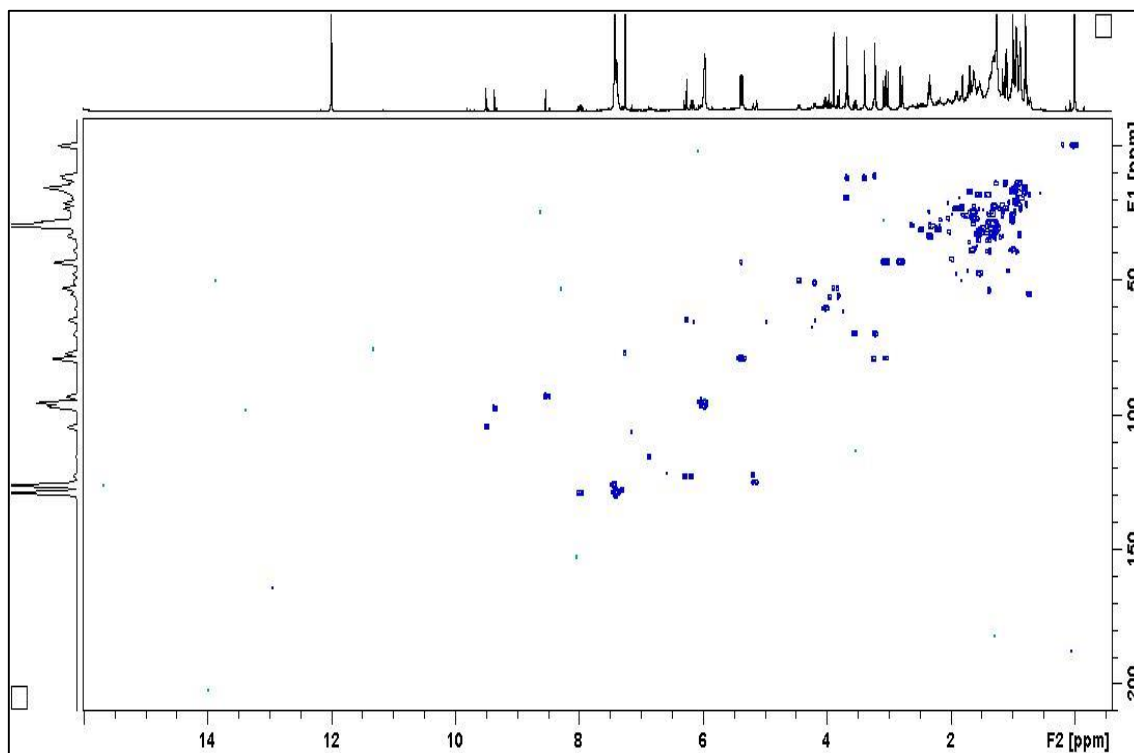
TABELA 9 - DADOS DE RMN DE 1D E 2D DE BgF_5

Posição	BgF_5 ^a			5,7,3',5'-tetra-hidroxi-flavona ^b	
	¹ H (ppm) (multiplicidade; J em Hz)	¹³ C (ppm)	HMBC	¹ H (ppm) (multiplicidade; J em Hz)	¹³ C (ppm)
1	-	-	-	-	-
2	5,37 1H, <i>dd</i> (13,0; 3,1)	79,2	2',6'	5,37 1H, <i>dd</i> (12,5; 3,0)	78,5
3a	3,05 1H, <i>dd</i> (13,0; 17,1)	43,3	2,4,1'	3,19 1H, <i>dd</i> (17,1; 12,5)	42,1
3b	2,80 1H, <i>dd</i> (3,1; 17,1)	43,3	4	2,67 1H, <i>dd</i> (17,1, 3,0)	42,1
4	-	195,6	-	-	196,5
5	12,00 s	164,1	-	12,97 s	163,0
6	5,98 1H, s	96,6	8	5,88 1H, s	95,9
7	-	165,1	-	-	166,7
8	5,96 1H, s	95,4	6,7,9,10	5,88 1H, s	95,1
9	-	163,1	-	-	163,6
10	-	102,8	-	-	101,9
1'	-	-	-	-	129,6
2'	7,42 1H, s	126,0	2,1',4'	6,75 1H, s	114,5
3'	-	-	-	-	145,8
4'	7,43 1H, s	128,7	2',6'	6,88 1H, s	118,1
5'	-	-	-	-	145,8
6'	7,42 1H, s	126,0	2,1',4'	6,75 1H, s	115,5

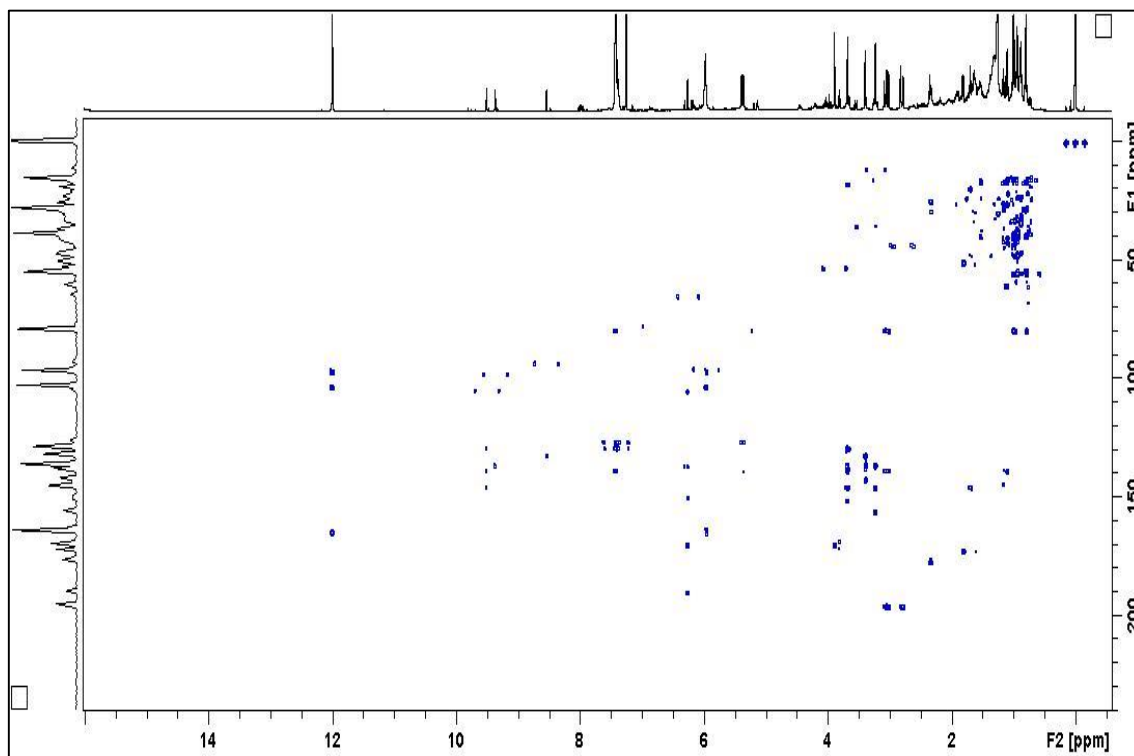
^aExperimento realizado a 600 MHz para ¹H, HSQC e HMBC em CDCl₃, utilizando TMS como referência interna. As atribuições de ¹³C foram obtidas através da análise dos mapas de correlação de HSQC e HMBC. ^bComparação com a literatura em DMSO-*d*₆ (NESSA et al., 2004).
 FONTE: O autor (2015).

ESPECTRO 16 - ESPECTRO DE RMN DE ¹H (600 MHz, CDCl₃) DE BgF_5

FONTE: O autor (2015).

ESPECTRO 17 - MAPA DE CORRELAÇÃO DE HSQC (600 MHz, CDCl_3) DE **BgF_5**

FONTE: O autor (2015).

ESPECTRO 18 - MAPA DE CORRELAÇÃO DE HMBC (600 MHz, CDCl_3) DE **BgF_5**

FONTE: O autor (2015).

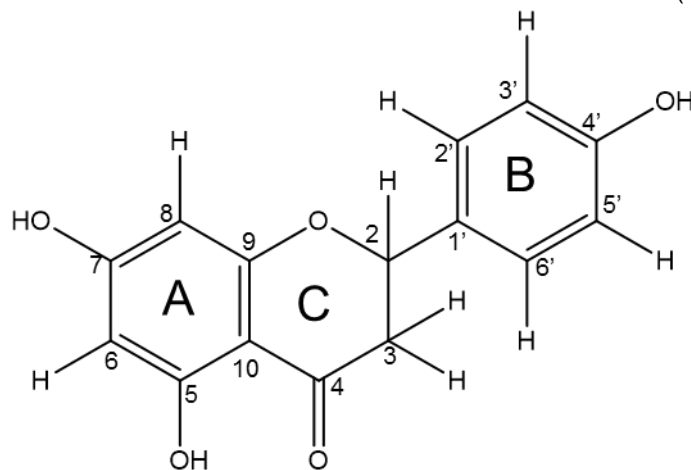
5.6.3.2 Determinação estrutural de **BgF_6** na mistura

Pela análise do espectro de RMN de ^1H (ESPECTRO 19) foi possível observar a presença dos dupletos em 7,32 ppm (H-2', H-6', $J = 8,6$ Hz) e 6,88 ppm (H-3', H-5', $J = 8,6$ Hz) característicos de acoplamento de segunda ordem e substituição em *para* no anel aromático. O duplete em 5,99 ppm com $J = 2,2$ Hz acoplado na posição *meta* com duplete em 5,97 ppm com $J = 2,2$ Hz, relacionados aos hidrogênios ligados aos C-6 e C-8. O duplo duplete em 5,35 ppm com $J = 13,0$ Hz e 3,0 Hz de hidrogênio ligado ao C-2, acoplado com o hidrogênio ligado ao C-3a, em 3,08 ppm ($J = 13,0; 17,1$ Hz) e no hidrogênio ligado ao C3b 2,78 ppm ($J = 17,1; 3,0$ Hz). O composto **BgF_6** foi identificado em mistura e analisado por RMN de 1D e 2D.

A TABELA 10 relaciona os deslocamentos químicos de RMN de ^1H e de ^{13}C , correlações de HMBC e comparação com a literatura. As atribuições de ^{13}C foram obtidas através da análise dos mapas de correlação de HSQC (ESPECTRO 20) e HMBC (ESPECTRO 21).

A fórmula molecular $\text{C}_{15}\text{H}_{12}\text{O}_5$ foi deduzida com base nos experimentos de HR-FTMS no modo positivo de ionização (ESPECTRO 22), o qual apresentou o íon molecular de m/z 273.07559 $[\text{M} + \text{H}]^+$.

Com os dados de **BgF_6**, juntamente com os dados da literatura foi possível identificá-lo como a substância 4',5,7-tri-hidroxi-flavanona (FIGURA 15), conhecido como naringenina, pertencente à classe dos flavonóides. Este flavonóide geralmente é encontrado no gênero *Baccharis* e já foi relatado nas espécies *B. dracunculifolia*, *B. illinita*, *B. pseudotenuifolia*, *B. retusa* e *B. salzmännii*, porém pela primeira vez nas espécies da seção *Cauloperae* (DE OLIVEIRA et al., 2003, FUKUDA et al., 2006, GRECCO et al., 2012, MOREIRA et al., 2003, RIBEIRO et al., 2013, VERDI et al., 2004).

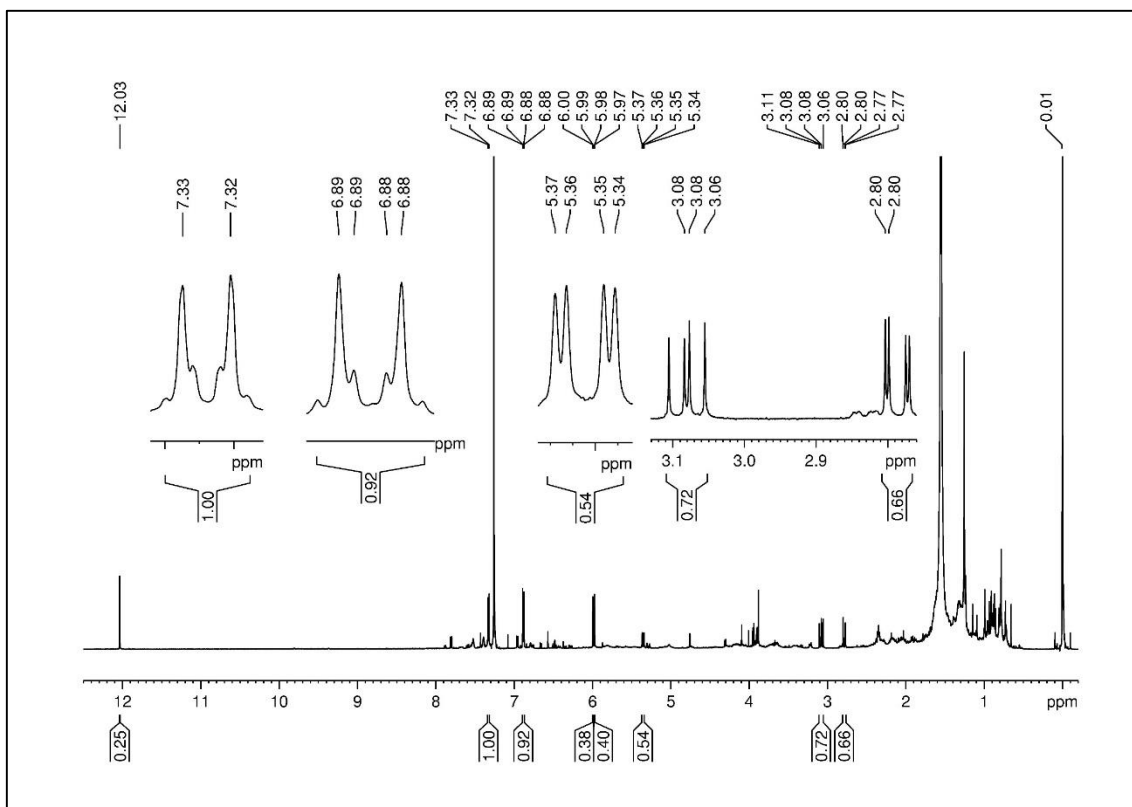
FIGURA 16 - ESTRUTURA MOLECULAR DE NARINGENINA (**BgF_6**)

FONTE: O autor (2016).

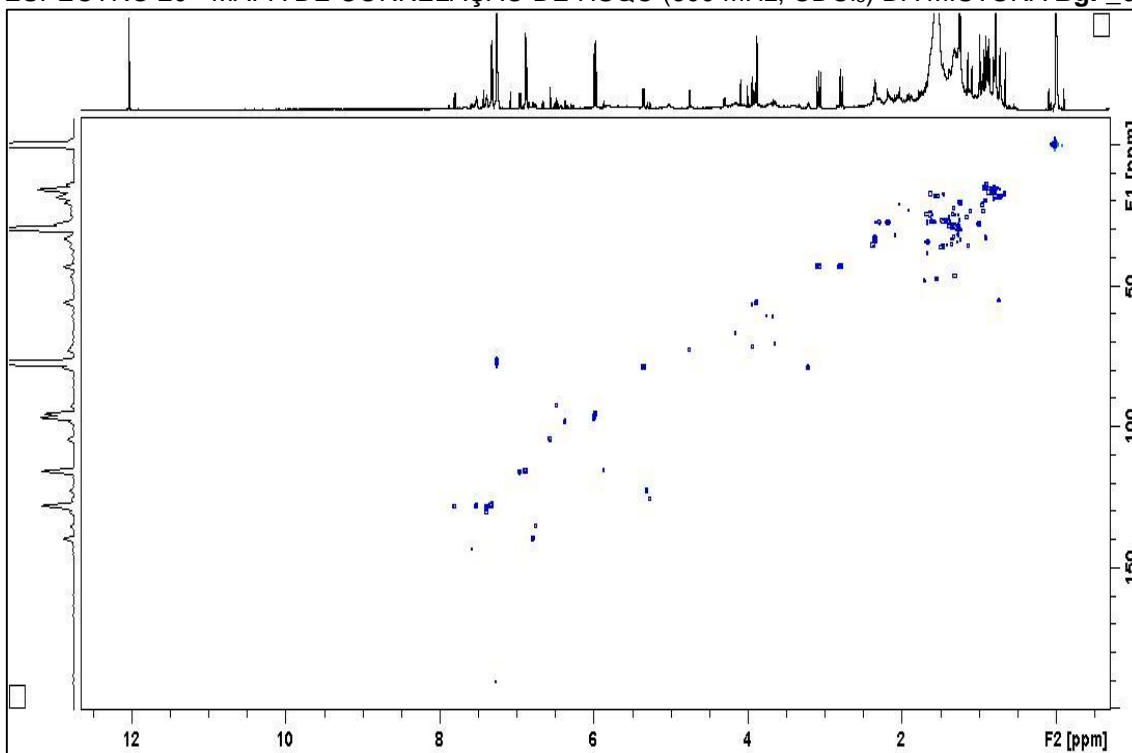
TABELA 10 - DADOS DE RMN DE 1D E 2D DE **BgF_6**

Posição	BgF_6^a			naringenina^b	
	¹ H (ppm) (multiplicidade; J em Hz)	¹³ C (ppm)	HMBC	¹ H (ppm) (multiplicidade; J em Hz)	¹³ C (ppm)
1	-	-		-	-
2	5,35 1H, <i>dd</i> (13,0; 3,0)	78,9		5,45 1H, <i>dd</i> (12,9; 3,1)	79,9
3a	3,08 1H, <i>dd</i> (13,0; 17,1)	43,1	2,4,1'	3,18 1H, <i>dd</i> (17,1; 12,9)	43,4
3b	2,78 1H, <i>dd</i> (3,0; 17,1)	43,1	4	2,72 1H, <i>dd</i> (17,1, 3,1)	43,4
4	-	196,3		12,1 1H, <i>s</i>	197,3
5	12,03 <i>s</i>	164,6	5,6,10	-	165,2
6	5,99 1H, <i>d</i> (2,2)	96,9	5,8,10	5,96 2H, <i>s</i>	96,7
7	-	165,6		-	167,3
8	5,97 1H, <i>d</i> (2,2)	95,7	6,7,9,10	5,96 2H, <i>s</i>	95,8
9	-	163,3		-	164,3
10	-	103,5		-	103,1
1'	-	130,9		-	130,7
2'	7,32 2H, <i>d</i> (8,6)	127,9		7,41 2H, <i>d</i> (8,3)	128,9
3'	6,88 2H, <i>d</i> (8,6)	115,7	1',3',4'	6,92 2H, <i>d</i> (8,3)	116,1
4'	-	156,4		-	158,6
5'	6,88 2H, <i>d</i> (8,6)	115,7		6,92 2H, <i>d</i> (8,3)	116,1
6'	7,30 2H, <i>d</i> (8,6)	127,9	2,2',4'	7,41 2H, <i>d</i> (8,3)	128,9

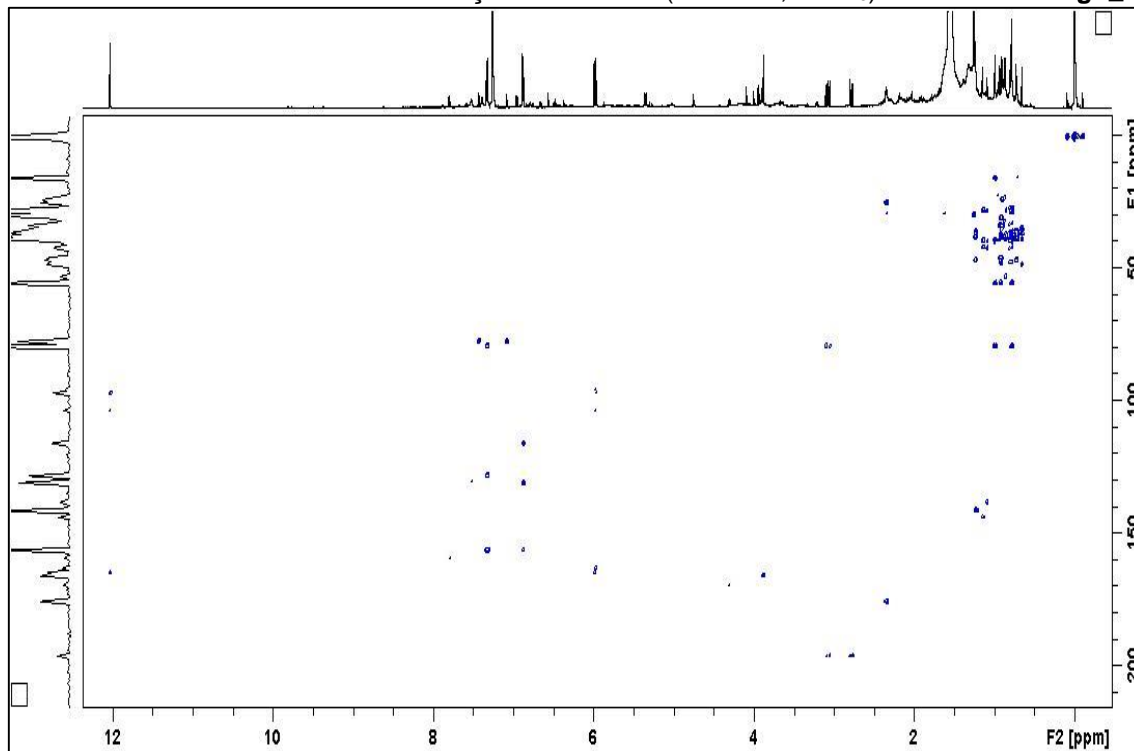
^a Experimento realizado a 600 MHz para ¹H, HSQC e HMBC em CDCl₃, utilizando TMS como referência interna. As atribuições de ¹³C foram obtidas através dos mapas de correlação de HSQC e HMBC. ^b Comparação com a literatura em D₂O (FRONTANA-URIBE et al., 2011). FONTE: O autor (2015).

ESPECTRO 19 - ESPECTRO DE RMN DE ^1H (600 MHz, CDCl_3) DA MISTURA **BgF_6**

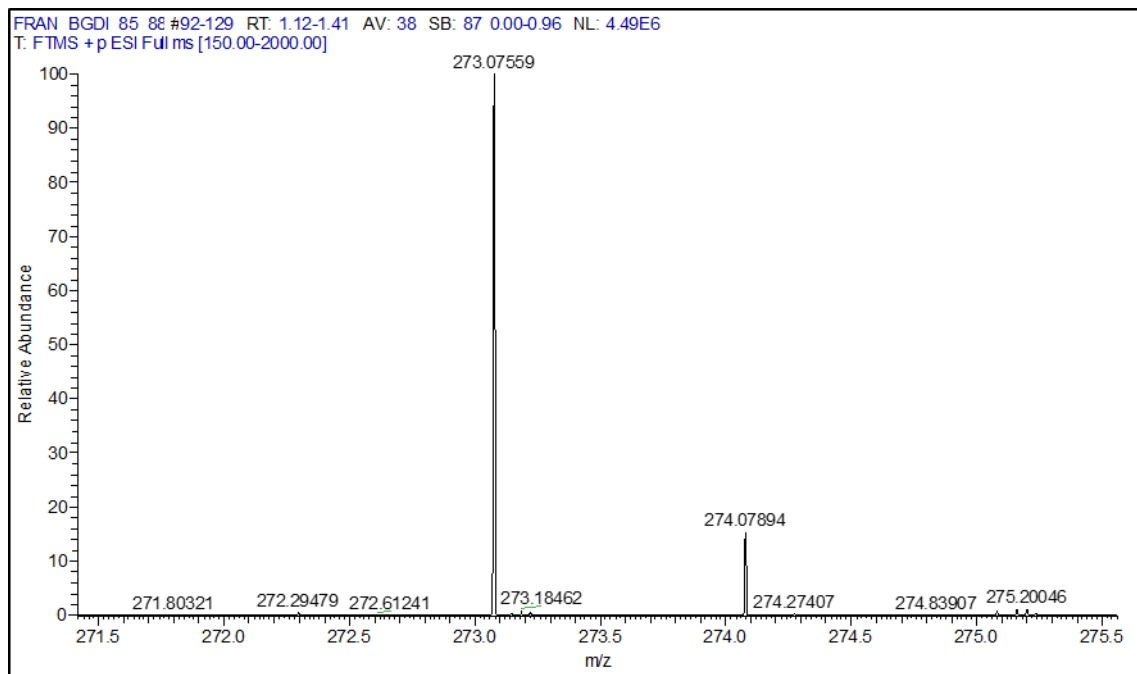
FONTE: O autor (2015).

ESPECTRO 20 - MAPA DE CORRELAÇÃO DE HSQC (600 MHz, CDCl_3) DA MISTURA **BgF_6**

FONTE: O autor (2015).

ESPECTRO 21 - MAPA DE CORRELAÇÃO DE HMBC (600 MHz, CDCl₃) DA MISTURA **BgF_6**

FONTE: O autor (2015).

ESPECTRO 22 - AMPLIAÇÃO DO ESPECTRO DE MASSAS NA FAIXA DE M/Z 271-275.5 DO EXPERIMENTO DE HRMS DE **BgF_6** (METANOL 1% DE ÁCIDO FÓRMICO)

FONTE: O autor (2015).

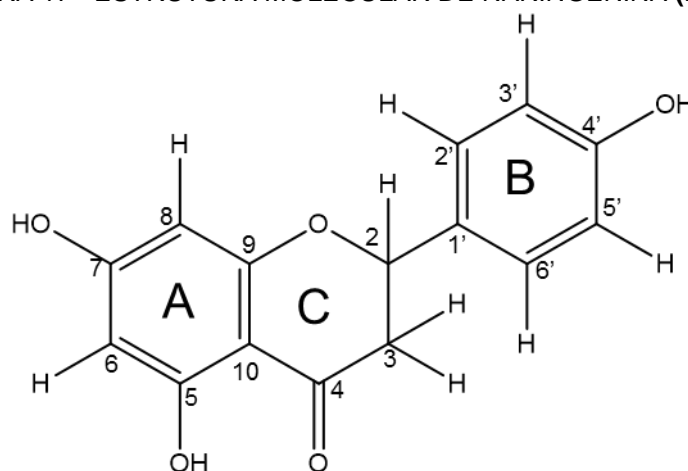
5.6.3.3 Determinação estrutural de **BgF_7**

Pela análise do espectro de RMN de ^1H (ESPECTRO 23) foi possível observar a presença dos dupletos em 7,30 ppm (H-2', H-6', $J = 8,5$ Hz) e 6,87 ppm (H-3', H-5', $J = 8,5$ Hz), característicos de acoplamento de segunda ordem e substituição em *para* no anel aromático. O duplete em 6,00 ppm com $J = 2,2$ Hz acoplado na posição *meta* com duplete em 5,97 ppm com $J = 2,2$ Hz, relacionados aos H-6 e H-8. O duplo duplete em 5,33 ppm com $J = 12,9$ Hz e 2,9 Hz para o hidrogênio ligado ao carbono C-2, acoplado com os hidrogênios ligados ao carbono em 3,06 ppm ($J = 12,9; 17,0$ Hz) (H-3a) e no hidrogênio ligado ao carbono em 2,76 ppm ($J = 17,0; 2,9$ Hz) (H-3b). A TABELA 11 mostra os deslocamentos de RMN de ^1H e de ^{13}C , correlações de HMBC e comparação com a literatura. As atribuições de ^{13}C foram obtidas através da análise dos mapas de correlação de HSQC (ESPECTRO 24) e HMBC (ESPECTRO 25).

A fórmula molecular $\text{C}_{15}\text{H}_{12}\text{O}_5$ foi deduzida com base nos dados obtidos pelo espectro de massa ESI/MS modo positivo de ionização (ESPECTRO 26), o qual apresentou o íon molecular de m/z 273.07577 $[\text{M} + \text{H}]^+$.

Com os dados de **BgF_7**, juntamente com os dados da literatura foi possível identifica-lo como sendo a substância 4',5,7-tri-hidroxi-flavanona, conhecido como naringenina (FIGURA 16), pertencente à classe dos flavonóides. Este flavonoide já foi descrito anteriormente e identificado em **BgF_6**.

FIGURA 17 - ESTRUTURA MOLECULAR DE NARINGENINA (**BgF_7**)

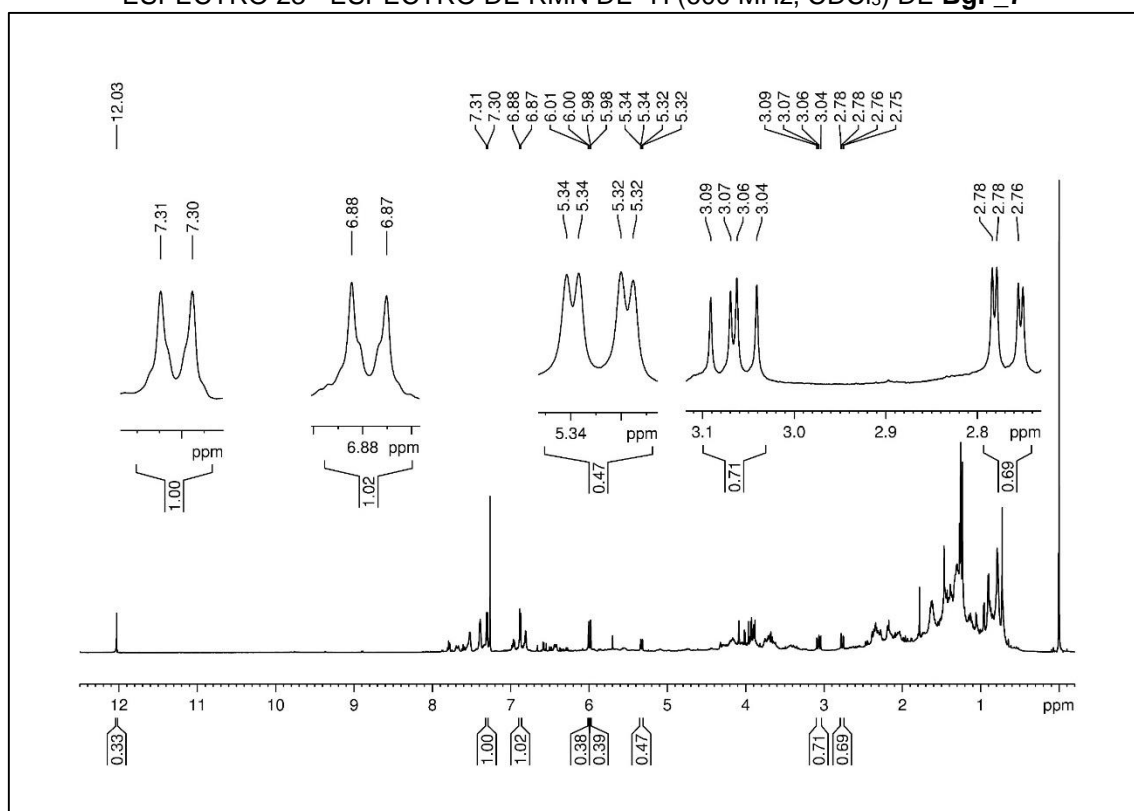


FONTE: O autor (2016).

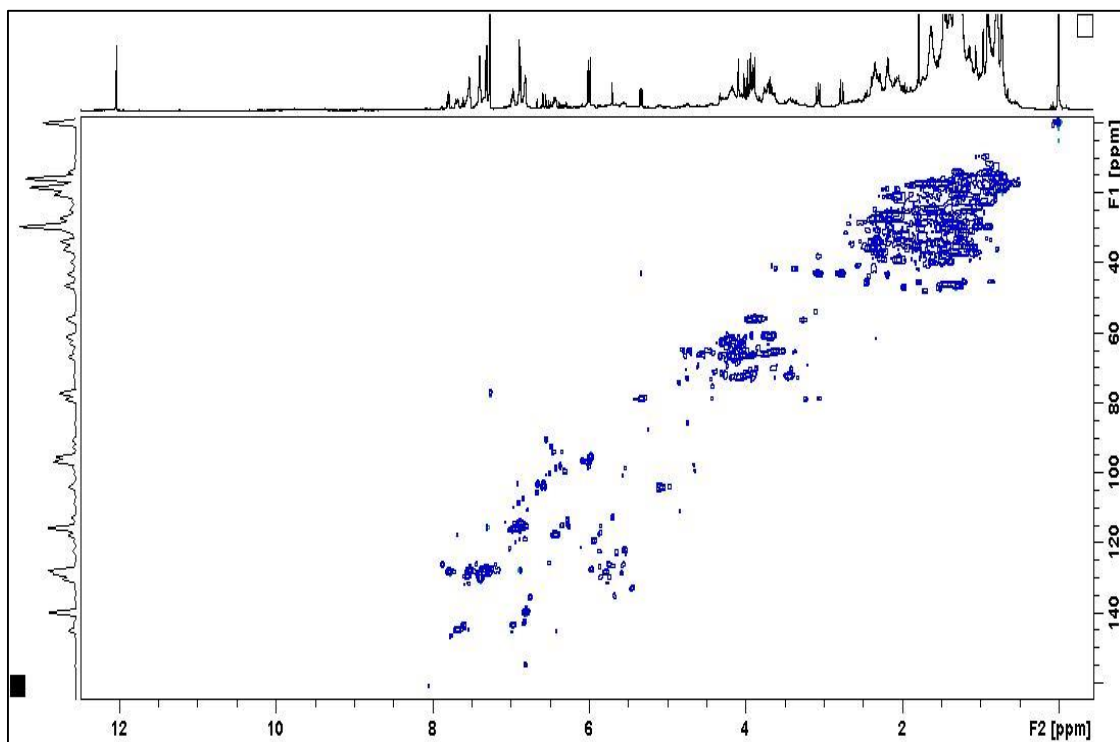
TABELA 11 - DADOS DE RMN DE 1D E 2D DE BgF_7

Posição	BgF_7 ^a			narigenina ^b	
	¹ H (ppm) (multiplicidade; J em Hz)	¹³ C (ppm)	HMBC	¹ H (ppm) (multiplicidade; J em Hz)	¹³ C (ppm)
1	-	-	-	-	-
2	5,33 1H, <i>dd</i> (12,9; 2,9)	79,1		5,45 1H, <i>dd</i> (12,9; 3,1)	79,9
3 ^a	3,06 1H, <i>dd</i> (12,9; 17,0)	43,1	2,4,1'	3,18 1H, <i>dd</i> (17,1; 12,9)	43,4
3 ^b	2,76 1H, <i>dd</i> (2,9; 17,0)	43,1	4	2,72 1H, <i>dd</i> (17,1, 3,1)	43,4
4	-	196,3		12,1 1H, <i>s</i>	197,3
5	12,03 <i>s</i>	164,1	5,6,10	-	165,2
6	6,00 1H, <i>d</i> (2,2)	96,8	5,8,10	5,96 2H, <i>s</i>	96,7
7	-	165,9		-	167,3
8	5,97 1H, <i>d</i> (2,2)	95,5	6,7,9,10	5,96 2H, <i>s</i>	95,8
9	-	163,2		-	164,3
10	-	103,2		-	103,1
1'	-	-		-	130,7
2'	7,30 2H, <i>d</i> (8,5)	128,0		7,41 2H, <i>d</i> (8,3)	128,9
3'	6,87 2H, <i>d</i> (8,5)	116,0	1',3',4'	6,92 2H, <i>d</i> (8,3)	116,1
4'	-	156,4		-	158,6
5'	6,87 2H, <i>d</i> (8,5)	116,0		6,92 2H, <i>d</i> (8,3)	116,1
6'	7,30 2H, <i>d</i> (8,5)	128,0	2,2',4'	7,41 2H, <i>d</i> (8,3)	128,9

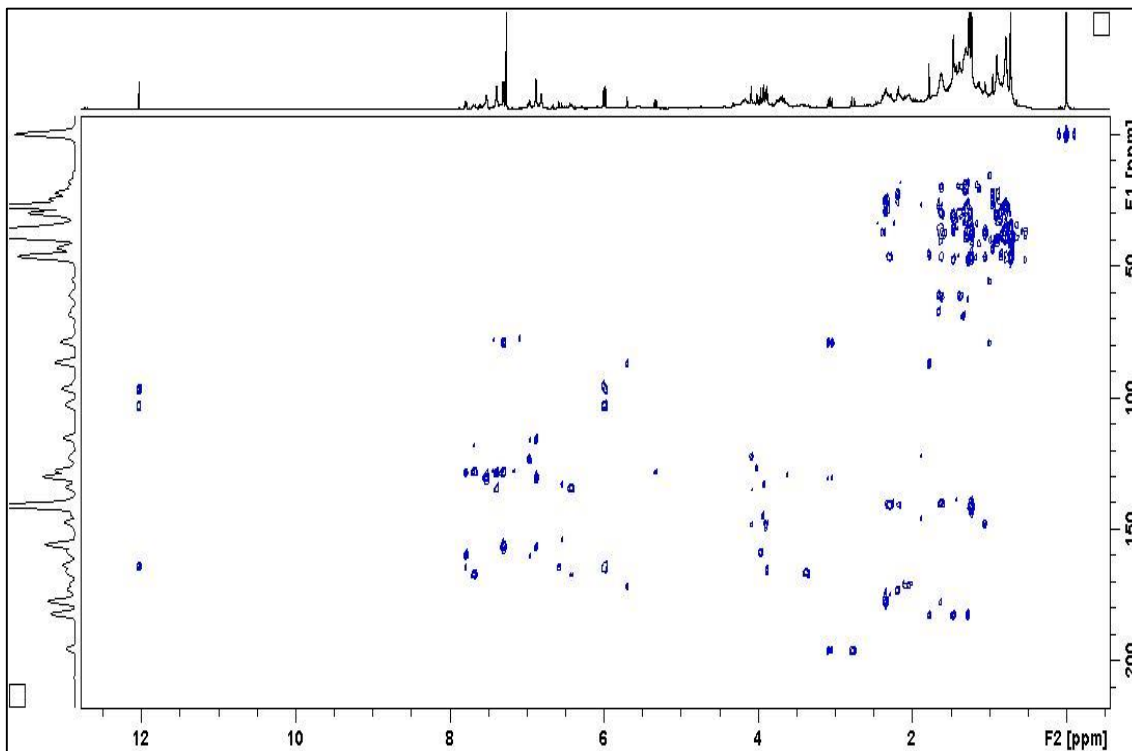
^aExperimento realizado a 600 MHz para ¹H, HSQC e HMBC em CDCl₃, utilizando TMS como referência interna. As atribuições de ¹³C foram obtidas através da análise dos mapas de correlação de HSQC e HMBC. ^bComparação com a literatura em D₂O (FRONTANA-URIBE et al., 2011). FONTE: O autor (2015).

ESPECTRO 23 - ESPECTRO DE RMN DE ¹H (600 MHz, CDCl₃) DE BgF_7

FONTE: O autor (2015).

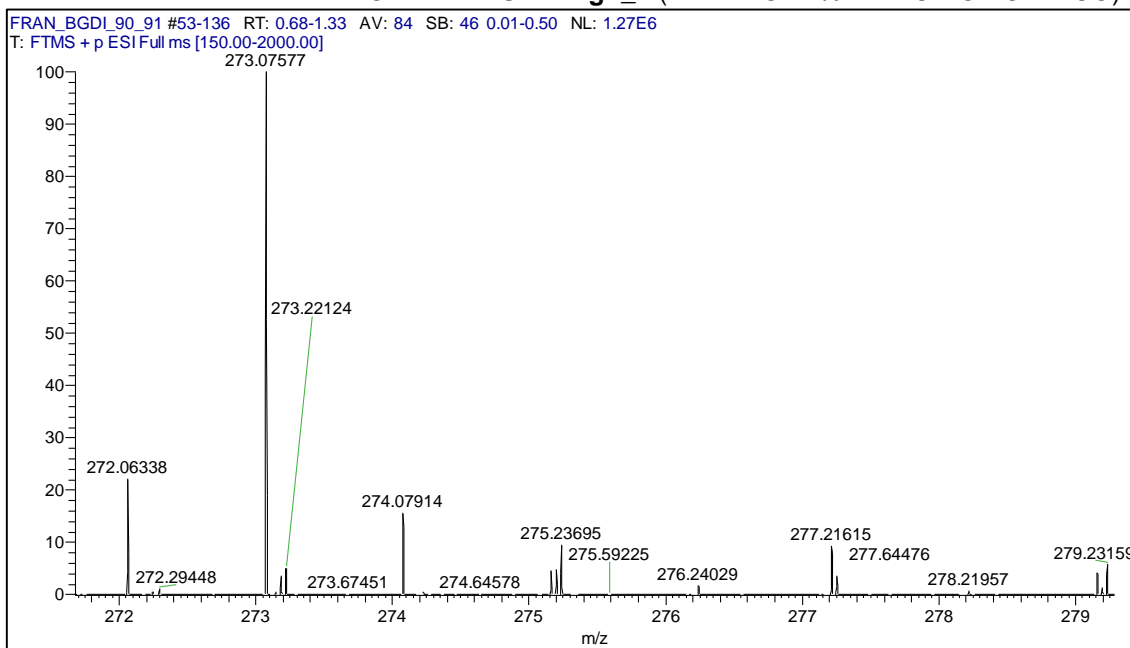
ESPECTRO 24. MAPA DE CORRELAÇÃO DE HSQC (600 MHz, CDCl_3) DE **BgF_7**

FONTE: O autor (2015).

ESPECTRO 25 - MAPA DE CORRELAÇÃO DE HMBC (600 MHz, CDCl_3) DE **BgF_7**

FONTE: O autor (2015).

ESPECTRO 26 - AMPLIAÇÃO DO ESPECTRO DE MASSAS NA FAIXA DE m/z 271-279 DO EXPERIMENTO DE HRMS DE **BgF_7** (METANOL 1% DE ÁCIDO FÓRMICO)



FONTE: O autor (2015).

5.6.4 Determinação estrutural de **BgF_8**

A fração de 45_47 (**BgFAc_6**), de 20,5 mg, foi analisada por CCDA e observou-se tratar de uma mistura que foi renomeada de **BgF_8**. Esta amostra foi analisada por RMN de 1D e 2D e por espectrometria de massas.

Pela análise do espectro de RMN de ^1H (ESPECTRO 27) apresentou duas unidades cafeoíla como mostraram os sinais para hidrogênios olefínicos em relação de acoplamento *trans* em 6,16 ppm (H-2', *d*, $J = 15,9$ Hz) e 7,48 ppm (H-3', *d*, $J = 15,9$ Hz) e em 6,25 ppm (H-2'', *d*, $J = 15,8$ Hz) e 7,49 ppm (H-3'', *d*, $J = 15,8$ Hz). Os sinais de hidrogênios aromáticos foram observados, como dupletos em 6,78 ppm (H-8', $J = 8,1$ Hz), 6,77 ppm (H-8'', $J = 8,2$ Hz), 6,98 ppm (H-9', $J = 8,1$ Hz), 6,99 ppm (H-9'', $J = 8,2$ Hz), 7,09 ppm (H-5', $J = 1,9$ Hz) e 7,06 ppm (H-5'', $J = 1,9$ Hz). Além destes sinais foram observados a presença de sinais de três hidrogênios ligados a carbonos sp^3 oxigenados em 5,13 ppm (H-3, *dd*, $J = 9,9$ e $6,1$ Hz), 4,97 ppm (H-5, *dd*, $J = 7,8$ e $2,9$ Hz) e 3,85 ppm (H-4, *m*) e de sinais multipletos em 1,91 ppm (H-6eq) e em 2,16 ppm (H-6ax), em 1,99 ppm (H-2eq, *d*, $J = 12,2$ Hz) e 2,15 ppm (H-2ax, *dd*, $J = 9,9$ e $6,1$ Hz), característicos de hidrogênios metilênicos (TABELA 12).

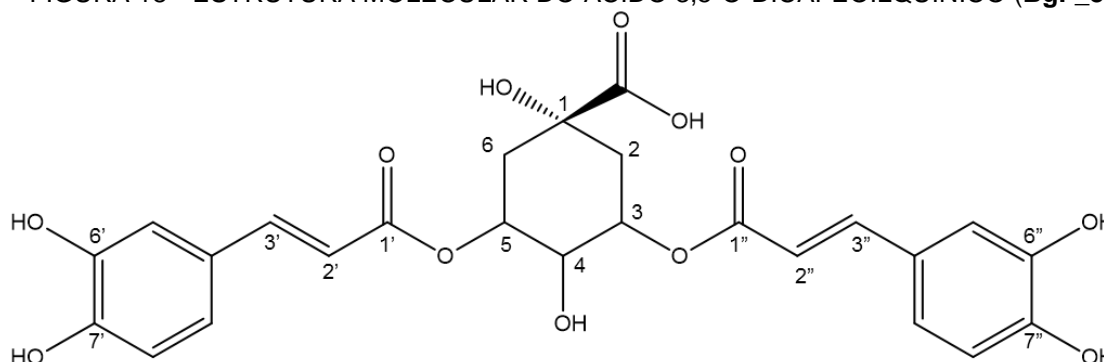
No mapa de correlação heteronuclear HSQC (ESPECTRO 28) e HMBC (ESPECTRO 29) foram observadas as correlações entre carbonos carbonílicos C-9' e C-9'' com os hidrogênios H-3 e H-5 do grupo quínico, confirmando o posicionamento dos substituintes cafeóila nas posições 3 e 5 deste grupo.

A fórmula molecular $C_{25}H_{24}O_{12}$ foi deduzida com base nos dados obtidos pelo espectro de massa ESI/MS modo positivo de ionização (ESPECTRO 30), o qual apresentou o íon molecular de m/z 517.13380 $[M + H]^+$.

Com os dados de **BgF_8**, juntamente com os dados da literatura foi possível identificar o ácido 3,5-O-dicafeoilquínico (FIGURA 17), pertencente à classe dos ácidos fenólicos. Este composto também foi identificado em *B. chilco*, *B. gaudichaudiana*, *B. incarum*, *B. retusa*, *B. trimera* (ABOY et al., 2012, AKAIKE et al., 2003, ARGOTI et al., 2013, GRECCO et al., 2012, ZAMPINI et al., 2009).

Akaike e colaboradores (2003) investigaram o efeito antioxidante frente a DPPH (difenilpicrilidrazila), do composto ácido 3,5-O-dicafeoilquínico isolado em *B. gaudichaudiana* e mostrou moderada atividade (valor TEAC 1,2 mM).

FIGURA 18 - ESTRUTURA MOLECULAR DO ÁCIDO 3,5-O-DICAFEUILQUÍNICO (**BgF_8**).

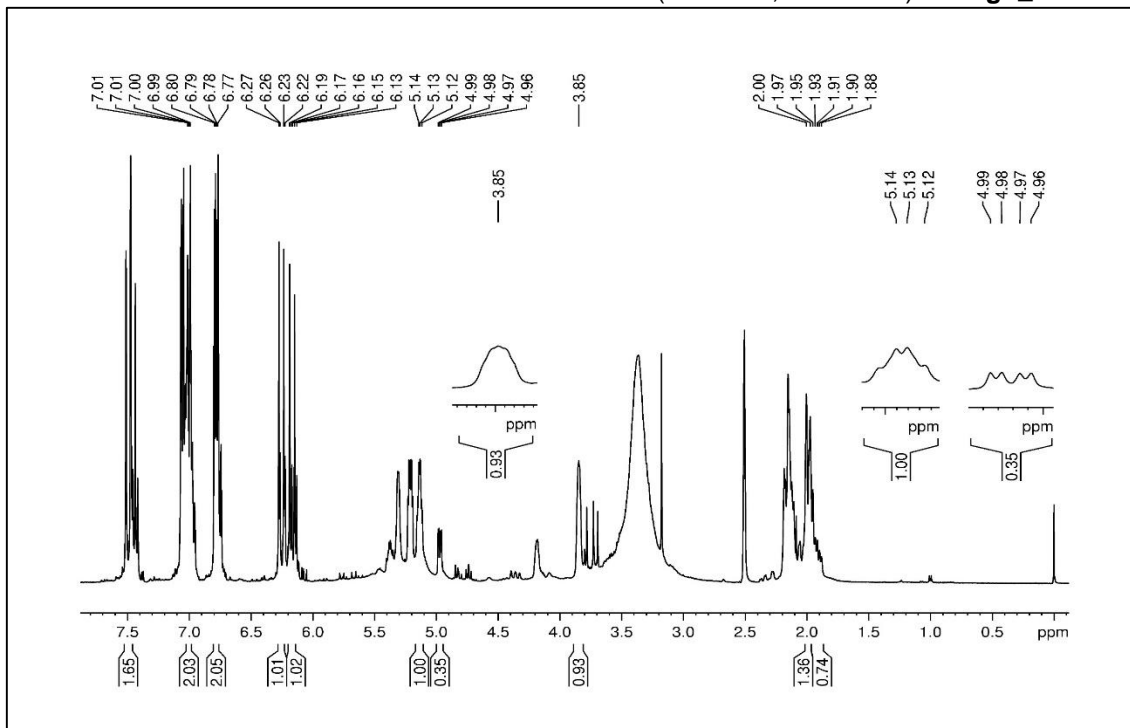


FONTE: O autor (2016).

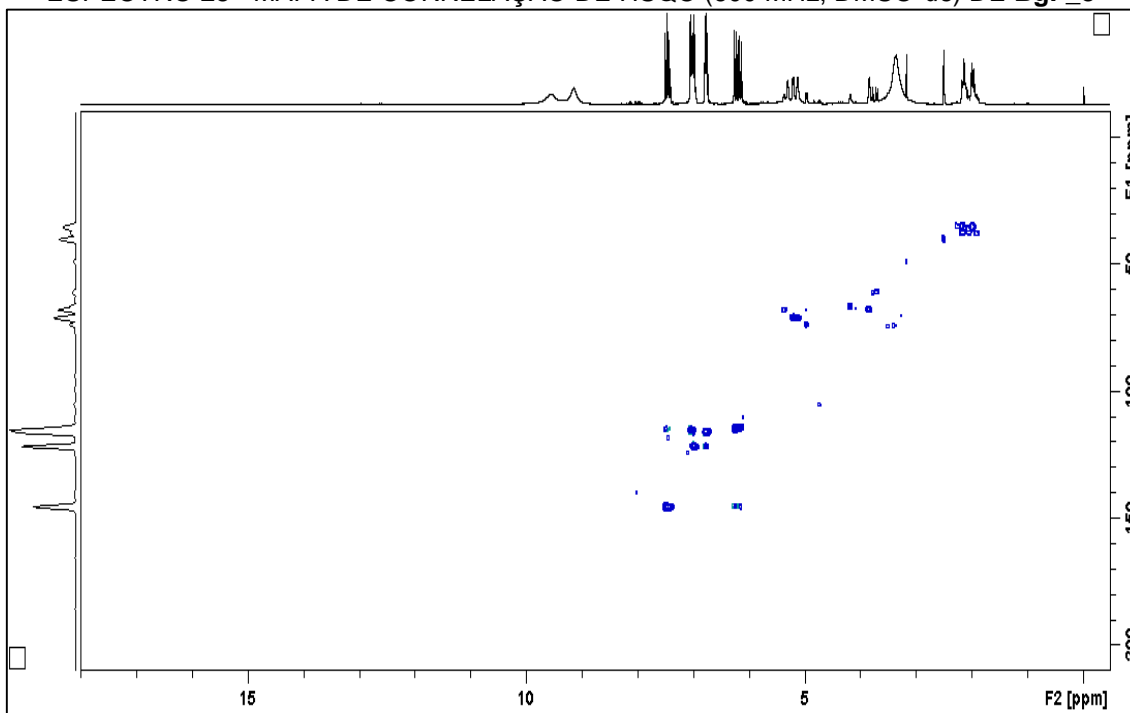
TABELA 12 - DADOS DE RMN DE 1D E 2D DE BgF_8

Posição	BgF_8 ^a			3,5-O-dicafeoilquinico ^b	
	¹ H (ppm) (multiplicidade; J em Hz)	¹³ C (ppm)	HMBC	¹ H (ppm) (multiplicidade; J em Hz)	¹³ C (ppm)
1	-	72,9		-	76,3
2	2,15 1H _{ax} , <i>dd</i> (12,2; 3,9) 1,99 1H _{eq} , <i>d</i> (12,2)	35,3	4,3,1 4,3,1	2,18 1H, <i>m</i>	40,1
3	5,13 1H, <i>dd</i> (9,9; 6,1)	71,2	1,1'	3,47 1H, <i>td</i> (9,0; 7,0)	72,7
4	3,85 1H, <i>m</i>	67,8		3,94 1H, <i>dd</i> (9,0; 3,5)	73,0
5	4,97 1H, <i>dd</i> (7,8; 2,9)	73,7	4,3,1"	5,41 1H, <i>dt</i> (4,5; 3,5)	74,3
6	2,16 1H _{ax} , <i>m</i> 1,91 1H _{eq} , <i>m</i>	37,8	5 5,4	2,30 1H _{ax} , <i>dd</i> (15,0; 4,0) 2,12 1H _{eq} , <i>dd</i> (15,0; 5,5)	37,6
1'	-	166,0		-	169,4
2'	6,16 1H, <i>d</i> (15,9)	114,5	4',1'	6,28 1H, <i>d</i> (16,0)	116,1
3'	7,48 1H, <i>d</i> (15,9)	145,6	9',5',4',1'	7,58 1H, <i>d</i> (16,0)	147,8
4'	-	125,9		-	128,5
5'	7,09 1H, <i>d</i> (1,9)	115,3	9',7',6',3'	7,08 1H, <i>d</i> (1,8)	115,9
6'	-	145,9		-	147,4
7'	-	148,7		-	150,2
8'	6,78 1H, <i>d</i> (8,1)	116,2	9',7',6',4'	6,77 1H, <i>d</i> (8,0)	117,2
9'	6,98 1H, <i>d</i> (8,1)	121,8	7',5',3'	6,96 1H, <i>br d</i> (8,0)	123,7
1"	-	166,2		-	169,9
2"	6,25 1H, <i>d</i> (15,8)	115,1	4",1"	6,38 1H, <i>d</i> (16,0)	116,5
3"	7,49 1H, <i>d</i> (15,8)	145,5	9",5",4", 2",1"	7,61 1H, <i>d</i> (16,0)	147,6
4"	-	125,8		-	128,7
5"	7,06 1H, <i>d</i> (1,9)	115,3	9",7",6", 3"	7,06 1H, <i>d</i> (1,8)	115,9
6"	-	145,9		-	147,4
7"	-	148,7		-	150,1
8"	6,77 1H, <i>d</i> (8,2)	116,2	9",7",6", 4"	6,78 1H, <i>d</i> (8,0)	117,2
9"	6,99 1H, <i>d</i> (8,2)	121,8	7",5",3"	6,95 1H, <i>br d</i> (8,0)	123,7
COOH	-	175,6		-	180,3

^aExperimento realizado a 600 MHz para ¹H, HSQC e HMBC em DMSO-*d*₆, utilizando TMS como referência interna. As atribuições de ¹³C foram obtidas através da análise dos mapas de correlação de HSQC e HMBC. ^bComparação com a literatura em MeOD (BASNET et al., 1996).
 FONTE: O autor (2016).

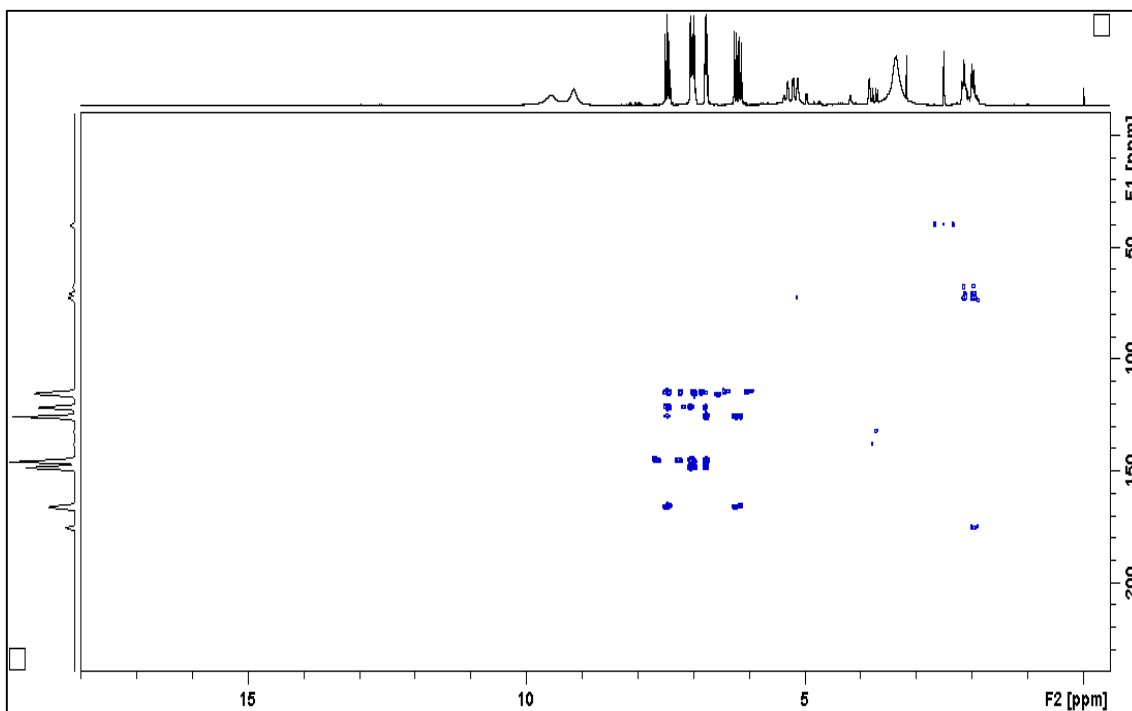
ESPECTRO 27 - ESPECTRO DE RMN DE ^1H (600 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) DE **BgF_8**

FONTE: O autor (2015).

ESPECTRO 28 - MAPA DE CORRELAÇÃO DE HSQC (600 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) DE **BgF_8**

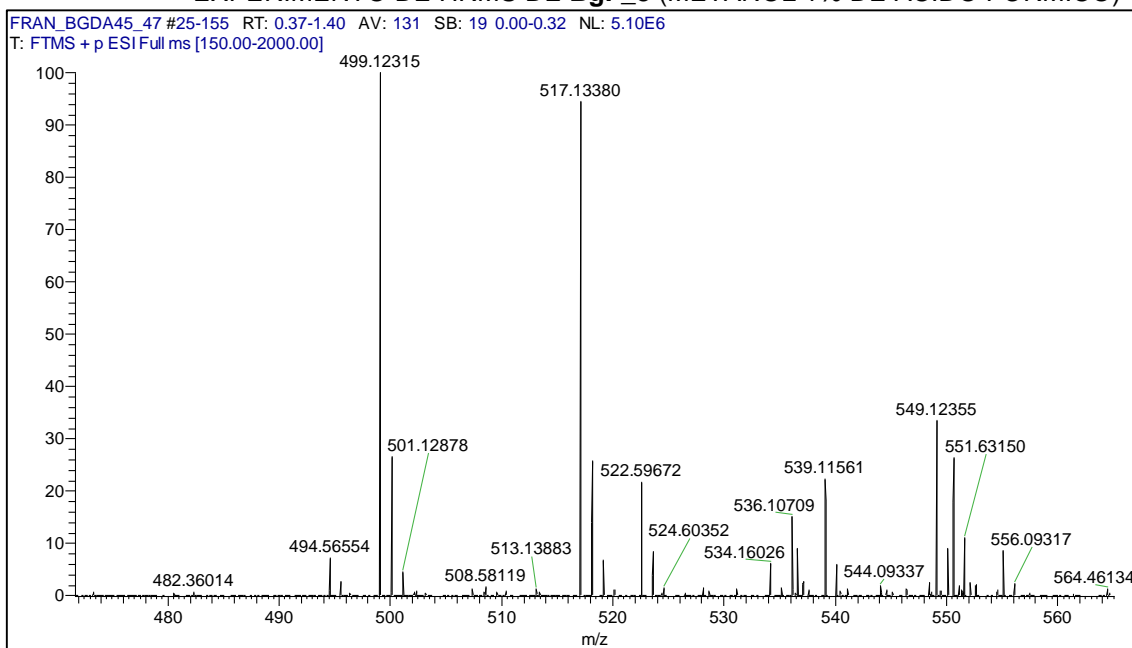
FONTE: O autor (2015).

ESPECTRO 29 - MAPA DE CORRELAÇÃO DE HMBC (600 MHz, DMSO-*d*₆) DE **BgF_8**



FONTE: O autor (2015).

ESPECTRO 30 - AMPLIAÇÃO DO ESPECTRO DE MASSAS NA FAIXA DE *M/Z* 470-562 DO EXPERIMENTO DE HRMS DE **BgF_8** (METANOL 1% DE ÁCIDO FÓRMICO)



FONTE: O autor (2015).

5.7 ATIVIDADE ANTIMICROBIANA

Foram analisados os extratos hidroalcoólicos de cladódios e folhas de *B. glaziovii* masculinos (**BgM**) e femininos (**BgF**), óleos essenciais de cladódios masculinos (**BgCM**) e femininos (**BgCF**) e óleos essenciais de flores masculinas (**BgFM**) e flores femininas (**BgFF**). Os resultados são apresentados na TABELA 13.

O óleo essencial de **BgFF** apresentou resultados positivos de atividades antibacteriana e antifúngica frente a todos os microrganismos testados. Esta atividade pode estar relacionada com a alta concentração de espatulenol (22,6%), e concentrações moderadas de biciclogermacreno (9,2%), (*E*)-cariofileno (7,8%), β -pineno (7,6%) e viridiflorol (7,0%), no óleo. Esta seletividade do extrato **BgFF** pode estar relacionada ao possível sinergismo destes. Vannini e colaboradores (2012) demonstrou a atividade antibacteriana e antifúngica do óleo de *B. semiserrata* contendo (25,1%) de espatulenol.

O óleo de **BgFM** apresentou como principais constituintes de seu óleo volátil espatulenol (22,3%), β -pineno (16,2%), limoneno (8,3%), (*E*)-cariofileno (7,8%). Este óleo apresentou atividade antifúngica contra todas as leveduras e atividade antibacteriana contra todas as cepas *gram* negativas testadas, porém não apresentou atividade antibacteriana frente a *Enterococcus faecalis*.

O óleo volátil de **BgCM** apresentou como componentes principais os constituintes (*E*)-cariofileno (15,8%) e biciclogermacreno (13,7%). Este óleo apresentou atividade antibacteriana contra todas as cepas *gram* negativas testadas, também apresentou atividade antifúngica contra todas as leveduras testadas. No entanto, não apresentou atividade frente *Staphylococcus aureus* e *Enterococcus faecalis*.

Outro óleo essencial de *B. glaziovii* que apresentou atividade antifúngica contra *Candida tropicalis*, *C. glabrata* e *C. parapsilosis* foi **BgCF**. Seus principais constituintes foram biciclogermacreno (16,0%), β -pineno (15,2%).

Os resultados apresentados mostraram atividade antibacteriana e antifúngica do extrato de **BgM** sobre todas as bactérias *gram* negativas e leveduras testadas, com exceção da bactéria *gram* positiva *Enterococcus faecalis*, que não apresentou atividade na faixa de concentração avaliada de

0,012 a 1,0 mg.mL⁻¹. Observou-se também ação inibitória do extrato de **BgF** sobre as bactérias *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus* e sobre todas as leveduras testadas.

TABELA 13 - ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DOS ÓLEOS ESSENCIAIS E EXTRATOS DE *Baccharis glaziovii*

Microrganismo	CIM ^a (mg.mL ⁻¹)						C ⁺
	BgF	BGM	BgFF	BgFM	BgCF	BgCM	
<i>Staphylococcus aureus</i> (ATCC 14458)	0,75	0,75	0,125	0,75	>1,0	>1,0	0,025
<i>Staphylococcus epidermidis</i> (ATCC 12228)	>1,0	0,75	0,05	0,05	>1,0	0,05	0,050
<i>Enterococcus faecalis</i> (ATCC 10100)	>1,0	>1,0	0,75	>1,0	>1,0	>1,0	0,050
<i>Escherichia coli</i> (ATCC 10799)	0,75	0,75	0,75	0,75	>1,0	0,75	0,050
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> (ATCC 27853)	>1,0	0,25	0,125	0,25	>1,0	0,75	0,012
<i>Candida tropicalis</i> (ATCC 157)	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50	0,012
<i>Candida glabrata</i> (ATCC 30070)	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50	0,012
<i>Candida parapsilosis</i> (ATCC 22019)	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50	0,012

>1,0: sem atividade na faixa de concentração avaliada de 0,012 a 1,0 mg.mL⁻¹. C⁺: controle positivo cloranfenicol para as bactérias e cetoconazol para os fungos. Como controle negativo (diluyente) foi empregado propilenoglicol/RPMI-1640 (1:19, v/v). FONTE: O autor (2014).

Todos os óleos essenciais testados com as cepas de *Candida tropicalis*, *C. glabrata* e *C. parapsilosis* apresentaram resultados similares. Estes óleos possuem em sua composição biciclogermacreno, β -pineno, (*E*)-cariofileno, germacreno D, α -humuleno, espatulenol, limoneno e viridiflorol os quais possivelmente tenham colaborado para a ação antifúngica observada. Também quanto aos extratos testados, eles se mostraram nas análises químicas serem ricos em compostos da classe dos flavonoides, cumarinas e terpenos, os quais possuem atividades antimicrobianas e antifúngicas já relatados na literatura (BETONI et al., 2006; FERESIN et al., 2003; GRECCO et al., 2014; LUIZE et al., 2005; ZAMPINI, ISLA e SCHMEDA-HIRSCHMANN, 2009).

Estes resultados sugerem o uso de óleos essenciais e extratos de *B. glaziovii* como alternativa ao uso de antimicrobianos no tratamento de infecções bacterianas e fúngicas, estimulando a investigação da aplicação destes produtos naturais de forma isolada ou combinada a outros medicamentos de forma segura.

5.8 ATIVIDADE ANTI-INFLAMATÓRIO *in vitro*

Um dos métodos para o screening de atividade anti-inflamatória *in vitro*, considera que alguns anti-inflamatórios inibem a desnaturação de proteínas, e baseia-se na proteção contra a desnaturação proteica (MIZUSHIMA e KOBAYASHI, 1968). A desnaturação proteica é simultaneamente causa e consequência da resposta inflamatória. O diclofenado de sódio e outros fármacos anti-inflamatórios possuem a capacidade de inibir a desnaturação de proteínas. Os extratos de *B. glaziovii* (**BgF** e **BgM**) obtidos foram analisados pelo teste de inibição da desnaturação da albumina de acordo com o método descrito por Mizushima e Kobayashi (1968), com algumas modificações. O ensaio baseia-se na desnaturação proteica provocada pela temperatura elevada. As consequências da perda estrutural das proteínas desnaturadas resultam na diminuição da solubilidade em água. Estas características são avaliadas em espectrofotômetro em $\lambda=660$ nm. Quanto mais elevada for a absorbância, maior é o grau de desnaturação. Estes resultados obtidos neste teste estão expressos na TABELA 14.

TABELA 14 - ATIVIDADE ANTI-INFLAMATÓRIA *IN VITRO* DOS EXTRATOS DE *B. glaziovii*, EXPRESSA EM PORCENTAGEM DE INIBIÇÃO DA DESNATURAÇÃO DE ALBUMINA BSA

Amostra	Média	Desvio padrão	% de Inibição da desnaturação de albumina BSA
Controle -	0,106	0,001	
Controle +	0,233	0,003	84,40%
Diclofenaco 400 $\mu\text{g.mL}^{-1}$			
BgM			
400 $\mu\text{g.mL}^{-1}$	0,172	0,004	62,20%
200 $\mu\text{g.mL}^{-1}$	0,167	0,008	57,50%
100 $\mu\text{g.mL}^{-1}$	0,154	0,004	45,30%
50 $\mu\text{g.mL}^{-1}$	0,139	0,004	31,10%
25 $\mu\text{g.mL}^{-1}$	0,125	0,005	17,90%
12,5 $\mu\text{g.mL}^{-1}$	0,111	0,004	4,70%
BgF			
400 $\mu\text{g.mL}^{-1}$	0,174	0,004	64,15%
200 $\mu\text{g.mL}^{-1}$	0,167	0,002	58,20%
100 $\mu\text{g.mL}^{-1}$	0,162	0,002	52,80%
50 $\mu\text{g.mL}^{-1}$	0,135	0,001	27,80%
25 $\mu\text{g.mL}^{-1}$	0,118	0,002	11,60%
12,5 $\mu\text{g.mL}^{-1}$	0,106	0,001	0,60%

FONTE: O autor (2014).

Os extratos de *B. glaziovii* masculino (**BgM**) e feminino (**BgF**) mostraram atividade anti-inflamatória quando comparados ao controle positivo diclofenaco de sódio ($400 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$), sendo satisfatório nas mesmas concentrações, para ambos os extratos. Estes apresentaram uma percentagem de inibição da desnaturação de albumina BSA de 62,20% para **BgM** e de 64,15% para **BgF**.

Os resultados apresentados neste trabalho sugerem que alguns destes extratos obtidos contêm substâncias com atividade anti-inflamatória. Esta atividade pode estar relacionada com a presença de terpenóides e flavonóides isolados, já relatada em outros estudos, em espécies de *Baccharis* (BACHIEGA et al., 2013; BOLLER et al., 2010; DOS SANTOS et al., 2010; MISSIMA et al., 2007; OLIVEIRA et al., 2012; ZALEWSKI et al., 2011). Uma promissora análise, incluindo a purificação dos extratos e caracterização química dos compostos isolados, deve permitir a identificação desses compostos que possuem estas atividades específicas. Estas investigações, juntamente com outros estudos estão sendo realizados em nosso laboratório.

5.9 ATIVIDADE ANTIÚLCERA EM MODELOS AGUDOS

Estudos antiúlcera tem sido realizados com extratos e frações de espécies do gênero *Baccharis* como *B. dracunculifolia*, *B. illinita* e *B. trimera*, estes têm apresentado ação gastropotetora (BAGGIO et al., 2003; BOLLER et al., 2010; DE TOLEDO DIAS et al., 2009; FREITAS et al., 2008; LEMOS et al., 2007, CAMPOS et al., 2016). Nos extratos e frações destas espécies foram encontrados terpenos, flavonóides, cumarinas, óleos voláteis, ácidos fenólicos, entre outros (CAMPOS et al., 2016; VERDI, BRIGHENTE, PIZZOLATTI, 2005), que podem ser atribuído a estes compostos a ação gastroprotetora.

O chá da carqueja (*B. trimera*) é usado popularmente no sul do Brasil para tratamento de úlceras pépticas (HEIDEN, IGANCI e MACIAS, 2009; LEMOS et al., 2007; REZENDE et al., 2014). Neste sentido, uma avaliação da atividade antiúlcera do extrato hidroalcoólico de *B. glaziovii* feminina (**BgF**) foi realizada, e os resultados deste estudo encontra-se em depósito de patente, solicitado junto ao Instituto Nacional da Propriedade Intelectual (INPI) da UFPR, sob número de registro BR1020150243049, data de depósito: 22/09/2015, título: "Atividade antiúlcera de extratos, frações e compostos isolados, processo de obtenção e

uso da espécie *Baccharis glaziovii* Baker (ASTERACEAE)". Em parceria com as Instituição(ões) financiadora(s): Universidade Federal do Paraná (UFPR); Universidade Estadual de Ponta Grossa (UEPG) (ANEXO 3, página 178).

5.10 ATIVIDADE ANTIPROLIFERATIVA E ANTILEISHMANICIDA DE *Baccharis glaziovii*

A avaliação da atividade antiproliferativa foi realizada com extratos hidroalcoólicos **BgM** e **BgF**, e óleos essenciais dos cladódios (feminino - **BgCF**; masculino - **BgCM**) e flores (feminino - **BgFF**; masculino - **BgFM**) de *B. glaziovii* (TABELA 15), contra formas promastigotas de *Leishmania amazonensis*. O extrato **BgFF** mostrou uma atividade expressiva sobre as formas evolutivas do parasito, com uma CI_{50} de $6,42 \mu\text{g.mL}^{-1}$, seguido do extrato **BgCM** com uma CI_{50} de $14,74 \mu\text{g.mL}^{-1}$, o extrato **BgCF** com uma CI_{50} de $16,89 \mu\text{g.mL}^{-1}$ e o extrato **BgFM** com uma CI_{50} de $17,20 \mu\text{g.mL}^{-1}$. Já os extratos **BgF** e **BgM** apresentaram moderada atividade sobre as formas evolutivas do parasito, com uma CI_{50} de $72,81 \mu\text{g.mL}^{-1}$ e CI_{50} de $88,44 \mu\text{g.mL}^{-1}$ respectivamente. Também em alguns casos, os valores de CC_{50} relativos a alguns extratos excederam os CI_{50} das mesmas, sugerindo que a atividade está diretamente relacionada à citotoxicidade. Os extratos **BgM**, **BgF**, **BgCF** e **BgFF** apresentaram índice de seletividade (CC_{50}/IC_{50}) maior que 1, significando que esses extratos são mais ativos contra os protozoários e menos ativos contra as células de mamíferos. No entanto, alguns extratos como **BgCM** e **BgFM**, tiveram uma grande toxicidade sobre células de mamífero quando comparada a atividade sobre os protozoários. Esses extratos apresentaram índice de seletividade (IS) menor que 1. Todos os extratos testados foram submetidos ao ensaio antiproliferativo contra as formas amastigotas axênicas de *L. amazonensis*. Os extratos **BgFF**, **BgFM**, **BgCF** e **BgCM** foram os que apresentaram efetiva atividade sobre as formas amastigotas axênicas, com uma CI_{50} de $11,5 \mu\text{g.mL}^{-1}$, $12,61 \mu\text{g.mL}^{-1}$, $12,90 \mu\text{g.mL}^{-1}$ e $16,25 \mu\text{g.mL}^{-1}$ respectivamente (TABELA 15).

Há uma necessidade de se buscar medicamentos antileishmania eficazes para substituir ou complementar aqueles em uso atual (GOTIJO, 2004). Por isso, alguns estudos foram realizados com extratos de outras espécies do

gênero *Baccharis* como na *B. dracunculifolia*, *B. uncinella*, *B. platypoda* e *B. trimera* (DE SOUZA MOREIRA et al., 2014; JOHANN et al., 2012; LUIZE et al., 2005; PASSERO et al., 2011; YAMAMOTO et al., 2014). Johann e colaboradores (2012) estudaram o extrato hexânico de *B. dracunculifolia* e isolaram quatro compostos, dos quais apenas o ácido ursólico foi ativo frente aos ensaios citotóxicos e mostrou atividade leishmanicida. Luize e colaboradores (2005) testaram o extrato de *Baccharis trimera* frente as formas amastigota axênica e promastigota de *Leishmania amazonensis in vitro*, na concentração de 100 µg.mL⁻¹. O extrato apresentou atividade moderada contra as formas axênicas amastigotas e promastigotas de *L. amazonensis* com 64,6% e 58,3% de inibição de crescimento, respectivamente. Passero e colaboradores (2011) isolaram do extrato etanólico de *B. uncinella* os compostos pectolinarigenina e ácido cafêico e testaram frente a formas amastigotas e promastigotas de *L. amazonensis* e *L. braziliensis*, mostrando atividade inibidora.

Yamamoto e colaboradores (2014) obtiveram das folhas de *B. uncinella* uma fração terpênica rica em ácido oleanólico e ácido ursólico, testaram em camundongos BALB/c infectados com *L. amazonensis*, que mostraram atividades leishmanicida e imunomoduladora. De Souza Moreira e colaboradores (2014) avaliaram o extrato bruto etanólico de folhas de *Baccharis platypoda* e detectaram atividade leishmanicida e sem citotoxicidade.

TABELA 15 - VALORES DE CC_{50} ($\mu\text{g.mL}^{-1}$), IC_{50} ($\mu\text{g.mL}^{-1}$) E IS PARA OS EXTRATOS HIDROALCOÓLICOS E DE ÓLEOS ESSENCIAIS DE *B. glaziovii* FRENTE *Leishmania amazonenses*

Extratos	Citotoxicidade em J774.A1		Promastigotas			Amastigotas		
	CC_{50} ($\mu\text{g.mL}^{-1}$)	CV (%)	CI_{50} ($\mu\text{g.mL}^{-1}$)	CV (%)	IS	CI_{50} ($\mu\text{g.mL}^{-1}$)	CV (%)	IS
BgM	> 1000	ND	88,44 ± 4,54	5,14	> 11,3	72,50 ± 0,71	0,97	> 13,79
BgF	> 1000	ND	72,81 ± 9,03	12,40	> 13,73	34,00 ± 2,12	6,23	> 29,41
BgFM	< 10	ND	17,20 ± 0,83	4,82	< 0,70	12,61 ± 2,46	19,5	< 0,79
BgFF	< 10	ND	6,42 ± 0,39	6,07	< 1,56	11,5 ± 1,57	13,6	< 0,87
BgCM	< 10	ND	14,74 ± 2,20	14,92	< 0,68	16,25 ± 2,36	14,5	< 0,61
BgCF	35 ± 7,07	20,2	16,89 ± 1,16	6,87	2,07	12,90 ± 2,04	15,81	2,71

FONTE: O autor (2015).

Portanto, o presente trabalho apresentou resultados relevantes, sendo a *B. glaziovii* uma fonte promissora de compostos capazes de apresentar atividade contra *L. amazonensis*.

5.11 ATIVIDADE ANTIPROLIFERATIVA E TRIPANOCIDA DE *Baccharis glaziovii*

As frações **BgFH**, **BgFD**, **BgFAc**, **BgFAq** e a mistura das substâncias **BgF_2 + BgF_3 + BgF_4** de *B. glaziovii* foram avaliadas quanto à atividade antiproliferativa contra a forma tripomastigota de *Trypanosoma cruzi* (TABELA 16). As frações avaliadas e a mistura de **BgF_2 + BgF_3 + BgF_4** apresentaram perfil interessante quanto a atividade antiproliferativa. A fração **BgFAc** apresentou atividade antiproliferativa expressiva sobre as formas tripomastigotas (CE_{50} 44,97 $\mu\text{g.mL}^{-1}$). Devido a ação relevante das frações e da mistura foram, então, submetidos ao ensaio de citotoxicidade em células VERO, apresentando uma CC_{50} de 220,59 $\mu\text{g.mL}^{-1}$ para **BgFAc**, 170,47 $\mu\text{g.mL}^{-1}$ para a mistura das substâncias **BgF_2 + BgF_3 + BgF_4** e 162,64 $\mu\text{g.mL}^{-1}$ para **BgFAq**. As frações **BgFAc**, **BgFAq**, **BgFH** e a mistura das substâncias **BgF_2 + BgF_3 + BgF_4**

apresentaram índice de seletividade (CC_{50}/CE_{50}) maior que 1, denotando que esses extratos em particular são mais ativos contra os protozoários e menos ativos contra as células VERO. No entanto, o extrato **BgFD** apresentou uma grande toxicidade sobre células VERO quando comparada a atividade sobre os protozoários, com um IS menor que 1.

TABELA 16 - VALORES DE CC_{50} ($\mu\text{g.mL}^{-1}$), CE_{50} ($\mu\text{g.mL}^{-1}$) E IS PARA OS EXTRATOS E MISTURA DE SUBSTÂNCIA DE *B. glaziovii* FRENTE *Trypanosoma cruzi*

Frações	Citotoxicidade céls. VERO		Tripomastigotas		IS
	CC_{50} ($\mu\text{g.mL}^{-1}$)	CV (%)	CE_{50} ($\mu\text{g.mL}^{-1}$)	CV (%)	
BgF_2 + BgF_3 + BgF_4	170,47 ± 8,76	5,14	74,00 ± 5,66	7,64	2,30
BgFAc	220,59 ± 29,12	13,2	44,97 ± 11,34	25,21	4,90
BgFAq	162,64 ± 5,69	3,50	57,9 ± 2,97	5,13	2,80
BgFH	65 ± 7,07	10,87	37,83 ± 0,23	0,61	1,72
BgFD	34,72 ± 2,41	6,93	86,00 ± 1,41	1,64	0,40

FONTE: O autor (2015).

Estudo anterior demonstrou que o extrato de *Baccharis trimera* frente as formas epimastigota de *Trypanosoma cruzi* *in vitro* na concentração de $100 \mu\text{g.mL}^{-1}$, apresentou atividade moderada contra a forma epimastigota de *T. cruzi*, com 65,8% de inibição de crescimento (LUIZE et al., 2005). Sülsen e colaboradores (2006) também analisaram o extrato orgânico e aquoso das partes aéreas e das raízes de *B. spicata*, avaliaram a atividade tripanocida contra as formas epimastiotas na concentração de $100 \mu\text{g.mL}^{-1}$, apresentou atividade moderada com 71,1% de inibição de crescimento para o extrato orgânico das raízes de *B. spicata*.

Através desses resultados, pôde-se concluir que as frações **BgFAc**, **BgFAq**, **BgFH** e a mistura das substâncias **BgF_2 + BgF_3 + BgF_4** apresentaram uma efetiva atividade sobre a viabilidade da forma tripomastigota do parasito *T. cruzi*.

A avaliação da atividade antiproliferativa dos extratos hidroalcoólicos **BgM** e **BgF** de *B. glaziovii* foram avaliadas quanto à atividade antiproliferativa contra a forma amastigota de *T. cruzi* (TABELA 17). O extrato **BgM** apresentou atividade antiproliferativa expressiva sobre as formas amastigotas (CE_{50} $86,43 \mu\text{g.mL}^{-1}$).

TABELA 17 - VALOR DE CE₅₀ (µg.mL⁻¹) E CV (%) PARA OS EXTRATOS DE *B. glaziovii* FRENTE *Trypanosoma cruzi*

Extratos	Amastigotas	
	CE ₅₀ (µg.mL ⁻¹)	CV (%)
BgM	86,43 ± 5,05	5,84
BgF	52,08 ± 0,59	1,13

FONTE: O autor (2015).

6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Através dos dados das análises realizadas por RMN de ^1H e espectrometria de massas dos extratos de **BgF** e **BgM**, revelou semelhança química entre estes. Devido ao cuidado criterioso no momento da coleta, identificação, preparação dos materiais vegetais, obtenção dos extratos de *Baccharis glaziovii*, permitiu observar esta similaridade entre os espécimes masculinos e femininos.

As características morfoanatômicas encontradas em *B. glaziovii*, incluem ramo trialado, hastes mostrando alas em um arranjo regular em torno do eixo central, folhas curtas e pecioladas, tricomas tectores simples e flageliformes, nervura central, pecíolos com uma forma côncava e uma ligeira projeção na face adaxial e convexo com três projeções na superfície abaxial e cristais de oxalato de cálcio na forma de ráfides, estilóides e piramidal na região perimedular do cladódio, quando avaliada como um todo, fornece suporte para o controle de qualidade da droga vegetal *Baccharis glaziovii*.

As análises por CG e CG-EM dos óleos essenciais das flores (**BgFF** e **BgFM**) e cladódios (**BgCF** e **BgCM**) dos espécimes femininos e masculinos obtidos por arraste de vapor mostraram uma composição semelhante com predominância de sesquiterpenos. Na amostra **BgCF** foi possível identificar 38 compostos e para **BgCM** 37 compostos e na amostra **BgFF** foram identificados 41 compostos e em **BgFM** 28 compostos.

Os principais compostos identificados nos óleos essenciais de cladódios **BgCF/ BgCM** foram biciclogermacreno (16,0/13,7%), β -pineno (15,2/6,5%), (*E*)-cariofileno (12,0/15,8%), germacreno D (11,9/8,8%), α -humuleno (6,8/10,0%), espatulenol (6,3/6,4%), limoneno (5,0/5,9%) e viridiflorol (2,7/5,0%) e para os óleos essenciais das flores **BgFF/BgFM** foram espatulenol (22,6/22,3%), biciclogermacreno (9,2/6,1%), (*E*)-cariofileno (7,8/7,8%), β -pineno (7,6/16,2%), viridiflorol (7,0/4,3%), germacreno D (4,0/3,2%), óxido de cariofileno (4,0/5,1%), globulol (3,0/2,1%), α -humuleno (2,8/4,4%) e limoneno (2,2/8,3%). Todas as análises mostraram uma composição semelhante para os compostos majoritários em ambos os extratos, mas com diferenças no número de compostos identificados no extrato **BgFF** que foi relativamente superior em

relação aos demais extratos. O perfil dos constituintes voláteis majoritários no gênero *Baccharis*, estão em geral de acordo com outros estudos (AGOSTINI et al., 2005; ASCARI et al., 2012; GLEISER, BONINO, ZYEJADLO, 2011; PARREIRA et al., 2010; VANNINI et al., 2012).

O estudo químico do extrato **BgF** levou a identificação de seis substâncias, os flavonóides apigenina, naringenina e 5,7,3',5'-tetra-hidroxi-flavona e as cumarinas isofraxosídeo, magnoliosídeo e uncalina. As últimas quatro substâncias estão sendo relatadas pela primeira vez no gênero *Baccharis*. As identificações foram realizadas diretamente nos extratos e em frações complexas em misturas, através das técnicas de RMN 1D e 2D.

Os resultados obtidos nos ensaios biológicos realizados com o extrato **BgF**, **BgM**, **BgFF**, **BgFM**, **BgCF** e **BgCM** se mostraram muito promissores quanto a suas atividades biológicas. O óleo essencial de **BgFF** apresentou resultados positivos de atividades antibacteriana e antifúngica frente a todos os microrganismos testados.

Os extratos de *B. glaziovii* masculino (**BgM**) e feminino (**BgF**) mostraram atividade anti-inflamatória quando comparados ao controle positivo diclofenaco de sódio (84,4%), sendo satisfatório nas mesmas concentrações para ambos os extratos. Apresentaram uma percentagem de inibição de 62,2% para **BgM** e 64,1% para **BgF**.

Os ensaios realizados com os extratos de *B. glaziovii* (**BgM**, **BgF**, **BgFM**, **BgFF**, **BgCM** e **BgCF**) frente *Leishmania amazonensis* apresentou resultados promissores para desenvolver novos compostos a partir de produtos naturais, capazes de apresentar atividade contra *L. amazonensis*.

As frações **BgFAc**, **BgFAq**, **BgFH** e a mistura das substâncias **BgF_2 + BgF_3 + BgF_4** apresentaram uma efetiva atividade sobre a viabilidade da forma tripomastigota do parasito *T. cruzi*. O extrato **BgM** apresentou atividade antiproliferativa expressiva sobre as formas amastigotas (EC_{50} 86,43 $\mu\text{g.mL}^{-1}$).

Estes resultados contribuem para a diagnose do gênero *Baccharis* Sect. *Caulopterae* e à família Asteraceae. E justificam o uso do extrato hidroalcoólico de *B. glaziovii* para o tratamento de inflamações (**BgF**) e do extrato **BgFF** como antimicrobiano. Deste modo, faz-se necessário e interessante a continuidade do estudo químico e biológico das demais frações e sub-frações da planta.

REFERÊNCIAS

- ABAD, M. J.; BESSA, A. L.; BALLARIN, B.; ARAGÓN, O.; GONZALES, E.; BERMEJO, P. Anti-inflammatory activity of four Bolivian *Baccharis* species (Compositae). **Journal of Ethnopharmacology**, v. 103, p. 338–344, 2006.
- ABAD, M. J.; BERMEJO, P. *Baccharis* (Compositae): a review up date. **Caldasia, Bogotá**, v. 7, p. 76-96, 2007.
- ABOY, A. L.; APEL, M. A.; DEBENEDETTI, S.; FRANCESCATO, L.; ROSELLA, M. A.; HENRIQUES, A. T.; Assay of caffeoylquinic acids in *Baccharis trimera* by reversed-phase liquid chromatography. **Journal of Chromatography A**, v. 1219, p. 147-153, 2012.
- ADAMS, R. P. Identification of essential oil componentes by gas chromatography/mass spectrometry, 4 th Ed. **Allured Publishing Corporation**, p. 804, 2007.
- ADZET, T.; CAMARASA, J.; LAGUNA, J. C. Hepatoprotective activity of polyphenolic compounds from *Cynara scolymus* against CCl₄ toxicity in isolated rat hepatocytes. **Journal of Natural Products**, v. 50, p. 612-17, 1987.
- AGATI, G.; AZZARELLO, E.; POLLASTRI, S.; TATTINI, M. Flavonoids as antioxidants in plants: Location and functional significance. **Plant Science**, v. 196, p. 67– 76, 2012.
- AGOSTINI, F.; SANTOS, A. C. A.; ROSSATO, M.; PANSERA, M. R.; ZATTERA, F.; WASUM, R.; SERAFINI, L. A. Estudo do óleo essencial de algumas espécies do gênero *Baccharis* (Asteraceae) do sul do Brasil. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 15, n. 3, p. 215-220, 2005.
- AGRAWAL, P. K; THAKUR, R. S.; BANSAL, M. C.; MARKHAM, K. R.; PORTER, L. J.; FOO, L. Y. Studies in Organic Chemistry – Carbon -13 NMR of Flavonoids. New York: **Elsevier Science Publishing Company**, p. 564, 1989.
- AKAIKE, S.; SUMINO, M.; SEKINE, T.; SEO, S.; KIMURA, N.; IKEGAMI, F. A New *ent*-Clerodane Diterpene from the Aerial Parts of *Baccharis gaudichaudiana*. **Chemical and Pharmaceutical Bulletin**, v. 51, p. 197—199, 2003.
- AL-HINDAWI, M. K.; AL-DEEN, I. H.; NABI, M. H.; ISMAIL, M. A. Anti-inflammatory activity of some Iraqi plants using intact rats. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 26, p. 163–8; 1989.
- ALBUQUERQUE, M. R. J.; SOUZA, E. B.; LINS, M. U. D. S.; NOGUEIRA, N. A. P.; LEMOS, T. L. G.; SILVEIRA, E. R.; PESSOA, O. D. L. Composition and antimicrobial activity of the essential oil from aerial parts of *Baccharis trinervis* (Lam.) Pers. **Arkivoc**, v. 6, p. 59-65, 2004.

ALICE, C. B.; SIQUEIRA, N. C. S.; MENTZ, L. A.; SILVAG, A. A. B.; JOSÉ, K. F. D. Plantas Mediciniais de Uso Popular, **Atlas Farmacognóstico**, Ulbra, Canoas, Brasil. 1995.

ALLEGRETTI, S. M. *Schistosoma mansoni*: In vitro schistosomicidal activity of essential oil of *Baccharis trimera* (less) DC. **Experimental Parasitology**, v. 132, p. 135–143, 2012.

ALMANZA, R. L.; GUARACHI, L. N.; GAVINCHA, Y. L.; MAMANI, M. M.; MIRANDA, J. L. A.; VEJA, G. A.; DÁVALOS, E. G.; BENITO, P. B. Evaluación de la toxicidad de los extractos etanólicos de *Baccharis latifolia*, *Baccharis papillosa* en animales de experimentación. Toxicity evaluation of ethanolic extracts of *Baccharis latifolia* and *Baccharis papillosa* using laboratory animals. **Biofarbo**, v. 19, p. 22-27, 2011.

ALONSO, J. Tratado de fitomedicina: bases clínicas y farmacológicas. Buenos Aires: **ISIS ediciones SRL**, 1998.

ÁLVAREZ, A. L.; HABTEMARIAM, S.; JUAN-BADATURUGE, M.; JACKSON, C.; PARRA, F. *In vitro* anti HSV-1 and HSV-2 activity of *Tanacetum vulgare* extracts and isolated compounds: An approach to their mechanism of action. **Phytotherapy Reserch**, v. 25, p. 263–301, 2011.

ALVES, L. F. **Revista Virtual de Química**, v.5, p. 450-513, 2013.

Agência Nacional De Vigilância Sanitária (ANVISA), Formulário de Fitoterápicos da Farmacopeia Brasileira, 1ª Edição Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. RDC nº 60, de 10 de novembro de 2011. **Diário Oficial, Brasília**, 11 de Novembro, 2011.

Agência Nacional De Vigilância Sanitária (ANVISA), Manual Clinical And Laboratory Standards Institute – CLSI (antigo NCCLS). **www.anvisa.gov.br/servicos/audite/manuais/clsi.asp**. Acesso em: 02/02/2016.

ARAÚJO, A. P. A.; CARNEIRO, M. A. A.; FERNANDES, G. W. Efeitos do sexo, do vigor e do tamanho da planta hospedeira sobre a distribuição de insetos indutores de galhas em *Baccharis pseudomyriocephala* Teodoro (Asteraceae). **Revista Brasileira de Entomologia**, v. 47, p. 483-490, 2003.

ARGOTI, J. C.; LINARES-PALOMINO, P. J.; SALIDO, S.; RAMÍREZ, B.; INSUASTY, B.; ALTAREJOS, J. On-Line Activity Screening for Radical Scavengers from *Baccharis chilco*. **Chemistry & Biodiversity**, v. 10, p. 189-197, 2013.

ARREDONDO, M. F., BLASINA, C., ECHEVERRY, C., MORQUIO, A., FERREIRA, M., ABIN-CARRIQUIRY, J. A., LAFON, L., DAJAS, F. Cytoprotection by *Achyrocline satureioides* (Lam) D.C. and some of its main flavonoids against oxidative stress, **Journal of Ethnopharmacology**, v. 91, n. 1, p. 13–20, 2004.

ASCARI, J.; SENS, S. L.; NUNES, D. S.; WISNIEWSKI JR., A.; ARBO, M. D.; LINCK, V. M.; LUNARDI, P.; LEAL, M. B.; ELISABETSKY, E. Sedative effects of essential oils obtained from *Baccharis uncinella*. **Pharmaceutical Biology**, v. 50, n. 1, p. 113–119, 2012.

BACHIEGA, T. F.; SOUSA, J. P. B.; BASTOS, J. K.; SFORCIN, J. M. Immunomodulatory/anti-inflammatory effects of *Baccharis dracunculifolia* leaves. **Natural Product Research**, v. 27, p. 1646-1650, 2013.

BAGGIO, C. H.; FREITAS, C. S.; RIECK, L.; MARQUES, M. C. A. Gastroprotective effects of a crude extract of *Baccharis illinita* DC in rats. **Pharmacological Research**, v. 47, p. 93–98, 2003.

BAILAC, P. N.; DELLACASA, A. D.; BERNASCONI, H. O.; PONZI, M. I. Essential oil off female plants of *Baccharis coridifolia* De Candole. **Journal of Essential Oil Research**, v. 13, p. 3-24, 2001.

BAKER, J. G. Compositae. III. Asteroideae, Inuloideae. *In*: Martius, C.F.P. von; Eichler, A. W. & Urban, I. (ed.). *Flora brasiliensis*. München, Wien, **Leipzig**. v. 6, p. 1-442, 1882.

BALEKAR, N.; KATKAMA, N. G.; NAKPHENGA, T.; JEHTAEA, K.; SRICHANA, T. Evaluation of the wound healing potential of *Wedelia trilobata* (L.) leaves. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 141, p. 817–824, 2012.

BARREIRO, E.J.; BOLZANI, V.S. Biodiversidade: Fonte Potencial para a Descoberta de Fármacos. **Química Nova**, v. 32, n. 3, p. 679-688, 2009.

BARROSO, G.M. Compositae-subtribo Baccharidineae Hoffmann. Estudo das espécies ocorrentes no Brasil. **Rodriguesia**, v. 28, n. 40, p. 1-273, 1976.

BARROSO, G. M. Sistemática de angiospermas do Brasil. Viçosa: **Universitária**, v. 3, 1991.

BARROSO, G.M.; BUENO, O. Compostas - 5. Subtribo: Baccharidinae. *In*: Reitz, R. (ed.). *Flora Ilustrada Catarinense*. **Herbário Barbosa Rodrigues**, Itajaí, Fasc. COMP. p. 765-1065, 2002.

BASNET, P.; MATSUSHIGE, K.; HASE, K.; KADOTA, S.; NAMBA, T. Four Di-O-caffeoyl Quinic Acid Derivatives from Propolis. Potent Hepatoprotective Activity in Experimental Liver Injury Models. **Biological & Pharmaceutical Bulletin**, v. 19, p. 1479-1484, 1996.

BATISTA, R.; BRAGA, F. C.; OLIVEIRA, A. B. Quantitative determination by HPLC of ent-kaurenoic and grandifl orenic acids in aerial parts of *Wedelia paludosa* D.C. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 15, p. 119-125, 2005.

- BAUER, L.; SILVA, G. A. A. B.; SIQUEIRA, N. C. S.; BACHA, C. T. M.; SANT'ANA, B. M. S. Os óleos essenciais de *Baccharis dracunculifolia* DC. e *Baccharis genistelloides* Pers. do Rio Grande do Sul. **Revista do Centro de Ciências da Saúde**, Santa Maria, v. 6, p. 7-12, 1978.
- BERLYN, G. P.; MIKSCHE, J. P. Botanical microtechnique and cytochemistry. Ames: **Iowa State University**, 1976.
- BESTEN, M. A.; JASINSKI, V. C. G.; COSTA, A. G. L. C.; NUNES, D. S.; SENS, S. L.; WISNIEWSKI JR.; SIMIONATTO, E. L.; RIVA, D.; DALMARCO, J. B.; GRANATO, D. Chemical composition similarity between the essential oils isolated from male and female specimens of each five *Baccharis* species. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 23, p. 1041-1047, 2012.
- BESTEN, M. A.; NUNES, D. S.; WISNIEWSKI JR., A.; SENS, S. L.; GRANATO, D.; SIMIONATTO, E. L.; SCHARF, D. R.; DALMARCO, J. B.; MATZENBACHER, N. I. Chemical composition of volatiles from male and female specimens of *Baccharis trimera* collected in two distant regions of Southern Brazil: a comparative study using chemometrics. **Quimica Nova**, v. 36, p. 1096-1100, 2013.
- BETONI, J. E. C.; MANTOVANI, R. P.; BARBOSA, L. N.; DI STASI, L. C.; JUNIOR, A. F. Synergism between plant extract and antimicrobial drugs used on *Staphylococcus aureus* diseases. **Mem. Instituto Oswaldo Cruz**, v. 101, p. 387-390, 2006.
- BIONDO, T. M., TANAE, M. M., COLETTA, E. D., LIMA-LANDMAN, M. T. R., LAPA, A. J., SOUCCAR, C. Antisecretory actions of *Baccharis trimera* (Less.) DC aqueous extract and isolated compounds: Analysis of underlying mechanisms. **Journal of Ethnopharmacology**, n. 136, p. 368-373, 2011.
- BOHLMANN, F.; ZDERO, C. Systematics and evolution within the *Compositae*, seen with the eyes of a chemist. **Plant Systematics and Evolution**, v. 171, p. 1-14, 1990.
- BOLDT, P. E. *Baccharis*, (Asteraceae). A Review of Its Taxonomy, Phytochemistry, Ecology, /economic Status, Natural Enemies and Potencial for Its Biological Control in the United States The Texas Agricultural Experiment Station The Texas A&M University System, **College Station. Station. 77843**, 1989.
- BOLLER, S.; SOLDI, C.; MARQUES, M. C. A.; SANTOS, E. P.; CABRINI, D. A.; PIZZOLATTI, M. G.; ZAMPONIO, A. R.; OTUKI, M. F. Anti-inflammatory effect of crude extract and isolated compounds from *Baccharis illinita* DC in acute skin inflammation. **Journal of Ethnopharmacology**. v. 130, p. 262–266, 2010.
- BONA, C. M.; BIASI, L. A.; NAKASHIMA, T.; ZANETTE, F.; CORRÊA JÚNIOR, C. Carqueja: Cultive esta idéia. **Curitiba: SEAB-PR**, 2002.

BONA, C. M.; BIASI, L. A.; COSTA, G.; ZANETTE, F.; NAKASHIMA, T. Calagem e sombreamento na produção de biomassa e rendimento de óleo essencial em carqueja (*Baccharis trimera* A.P. de Candolle). **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, Botucatu, v. 6, p. 28-32, 2003.

BORGO, J.; XAVIER, C. A. G.; MOURA, D. J.; RICHTER, M. F.; SUYENAGA, E. S. Influência dos processos de secagem sobre o teor de flavonoides e na atividade antioxidante dos extratos de *Baccharis articulata* (Lam.) Pers., Asteraceae. **Brazilian Journal Pharmacognosy**, v. 20, p. 12-17, 2010.

BORRELLI, F. e IZZO, A. A. The plant kingdom as a source of anti-ulcer remedies. **Phytotherapy Research**, v. 14, p. 581-591, 2000.

BREMER, K. Asteraceae – Cladistics & Classification. **Portland: Timber Press**, p. 728, 1994.

BRENER, Z. Therapeutic activity and criterion of cure on mice experimentally infected with *Trypanosoma cruzi*. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, v. 4, p. 386-396, 1962.

BRIGHENTE, I. M. C.; DIAS, M.; VERDI, L. G.; PIZZOLATTI, M. G. Antioxidant Activity and Total Phenolic Content of Some Brazilian Species. **Pharmaceutical Biology**, v. 45, p. 156–161, 2007.

BRITTA, E. A.; SILVA, A. P. B.; UEDA-NAKAMURA, T.; DIAS-FILHO, B. P.; SILVA, C. C.; SERNAGLIA, R. L.; NAKAMURA, C. V. Thiosemicarbazone Derived from Limonene Complexed with Copper Induced Mitochondrial Dysfunction in *Leishmania amazonensis*. **Plos One**, v. 7, ed. 8, p. 12, 2012.

BUDEL, J. M.; DUARTE, M. R.; SANTOS, C. A. M.; CUNHA, L. M. Macro and microscopical identification of four species of *Baccharis* from trimera group. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 13, p. 42-43, 2003.

BUDEL, J. M.; DUARTE, M. R., SANTOS, C. A. M. Atem morfo-anatomy of *Baccharis cylindrica* (Less.) DC., Asteraceae. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas de São Paulo**, v. 40, p. 93-99, 2004.

BUDEL, J. M., DUARTE, M. R., SANTOS, C. A.M., FARAGO, P. V., MATZENBACHER, N. I. O progresso da pesquisa sobre o gênero *Baccharis*, Asteraceae: I – estudos botânicos. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 15, p. 268-271, 2005.

BUDEL, J. M., DUARTE, M. R. Análise Morfoanatômica comparative de duas espécies de carqueja: *Baccharis microcephala* DC e *B. trimera* (Less.) DC., Asteraceae. **Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**. Vol 45, n 1, p. 75-85, 2009.

BUDEL, J. M., DUARTE, M. R. Macro and Microscopic Characters of the Aerial Vegetative Organs of Carqueja: *Baccharis usterii* Heering. **Brazilian Archives of Biology and Technology**. Vol. 53, n. 1, p. 123-131, 2010.

BUDEL, J. M.; DUARTE, M. R.; DÖLL-BOSCARDIN, P. M.; FARAGO, P. V.; MATZENBACHER, N. I.; SARTORATTO, A.; SALES MAIA, B. H. L. N. Composition of essential oils and secretory structures of *Baccharis anomala*, *B. megapotamica* and *B. ochracea*. **The Journal of Essential Oil Research**, v. 24, p. 19–24, 2012.

BUDEL, J. M.; FARAGO, P. V.; DUARTE, M. R. Pharmacobotanical study of *Baccharis cognata* DC. (Asteraceae: Astereae). **Latin American Journal of Pharmacy**, v. 32, p. 550-554, 2013.

BUDEL, J. M.; PAULA, J. P.; SANTOS, V. L. P.; FRANCO, C. R. C.; FARAGO, P. V.; DUARTE, M. R. Pharmacobotanical study of *Baccharis pentaptera*. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 25, p. 314-319, 2015.

BÚFALO, M. C., FIGUEIREDO, A. S.; SOUSA, J. P. B.; CANDEIAS, J. M. G.; BASTOS, J. K.; SFORCIN, J. M. Anti-poliovirus activity of *Baccharis dracunculifolia* and propolis by cell viability determination and real-time PCR. **Journal of Applied Microbiology**, v. 107, p. 1669–1680, 2009.

CABRAL, E. C.; DA CRUZ, G. F.; SIMAS, R. C.; SANVIDO, G. B.; GONÇALVES, L. V.; LEAL, R. V. P.; DA SILVA, R. C. F.; DA SILVA, J. C. T.; BARATA, L. E. S.; DA CUNHA, V. S.; FRANÇA, L. F.; DARODA, R. J.; SÁ, G. F.; EBERLIN, M. N. Typification and quality control of the Andiroba (*Carapa guianensis*) oil via mass spectrometry *fingerprinting*. **Analytical Methods**, v. 5, n. 6, p. 1385-1391, 2013.

CALLE, A.; YUPANQUI, J.; FLORES, Y.; ALMANZA, G. R. Flavonoides de *Baccharis boliviensis*. **Revista Boliviana de Química**, v. 29, n. 2, p. 158-163, 2012.

CAMARGO, E. P. Growth and differentiation in *Trypanosoma cruzi*. I. Origin of metacyclic trypanosomes in liquid media. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, v. 6, p. 93-100, 1964.

CAMPOS, F. R.; BRESSAN, J.; JASINSKI, V. C. G.; ZUCCOLOTTO, T.; DA SILVA, L. E.; CERQUEIRA, L. B. *Baccharis* (Asteraceae): Chemical Constituents and Biological Activities. **Chemical Biodiversity**, v. 13, p. 1-18, 2016.

CARDIM, F.; Tratado da Terra e da Gente do Brasil, Itatiaia, **Coleção Brasileira**, v. 168, p. 259, 1978.

CARIDDI, L.; ESCOBAR, F.; SABINI, C.; TORRES, C.; REINOSO, E.; CRISTOFOLINI, A.; COMINI, L.; MONTOYA, S. N.; SABINI, L. Apoptosis and mutagenicity induction by a characterized aqueous extract of *Baccharis articulata* (Lam.) Pers. (Asteraceae) on normal cells. **Food and Chemical Toxicology**, v. 50, p. 155–161, 2012.

CARNEIRO, M. A. A. e FERNANDES, G. W. As relações conflituosas entre plantas e insetos. **Ciência Hoje**, v. 20, p. 33-39, 1996.

CARNEIRO, M. A. A.; FERNANDES, G. W.; DE SOUZA, O. F. F.; SOUZA, W. V. M. Sex-mediated herbivory by galling insects on *Baccharis concinna* (Asteraceae). **Revista Brasileira de Entomologia**, v. 50, p. 394-398, 2006.

CASSEL, E.; FRIZZO, C. D.; VANDERLINDE, R.; ATTI-SERAFINE, L.; LORENZO, D.; DELLACASSA, E. Extraction of *Baccharis* oil by supercritical CO₂. **Industrial & Engineering Chemistry Research**, v. 39, p. 4803-4805, 2000.

CAUTRECASAS, J. Revisión de las especies colombianas del género *Baccharis*. **Revista de la Academia Colombiana de Ciencias Exactas**, v. 13, p. 5-102, 1967.

CHIALVA, F.; DOGLIA, G. J. Essential oil from Carqueja (*Baccharis genistelloides* Pers.). **Journal of Essential Oil Research**, v. 2, p. 173-177, 1990.

CHIEN, S. C.; YOUNG, P. H.; HSU, Y. J.; CHEN, C. H.; TIEN, Y. J.; SHIU, S. Y.; LI, T. H.; YANG, C. W.; MARIMUTHU, P.; TSAI, L. F. L.; YANG, W. C. Anti-diabetic properties of three common *Bidens pilosa* variants in Taiwan. **Phytochemistry**, v.70, p. 1246-1254, 2009.

CHIDIK, S.; GUADA, M.; BUITRAGO, D.; MORALES, A. Flavonoides aislados de la especie *Baccharis nitida* (Ruiz et Pavon Pers). **Ciencia**, v. 15, p. 361-365, 2007.

CHOI, S. S.; CHA, B. Y.; IIDA, K.; LEE, Y. S.; YONEZAWA, T.; TERUYA, T.; NAGAI, K.; WOO, J. T. Artepillin C, as a PPAR γ ligand, enhances adipocyte differentiation and glucose uptake in 3T3-L1 cells. **Biochemical Pharmacology**, v. 81, p. 925–933, 2011.

CLOSE, D. C.; MCARTHUR, C. Rethinking the role of many plant phenolics – protection from photodamage not herbivores? **Oikos**, v. 99, p. 166–172, 2002.

COBOS, M. I.; RODRIGUES, J. L.; OLIVA, M. de las M.; DEMO, M.; FAILLACI, S. M.; ZYGADLO, J. A. Composition and antimicrobial activity of the essential oil of *Baccharis notoserjila*. **Planta Medica**, v. 67, p. 84-86, 2001.

COELHO, M. G. P.; REIS, P. A.; GAVA, V. B.; MARQUES, P. R.; GAYER, C. R.; LARANJA, G. A. T.; FELZENSWALB, I.; SABINO, K. C. C. Anti-arthritis effect and subacute toxicological evaluation of *Baccharis genistelloides* aqueous extract. **Toxicology Letters**, v. 154, p. 69–80, 2004.

COIMBRA, R. Notas de Fitoterapia. L. C. S. A., **Rio de Janeiro, Brasil**, 1942.

CORDANO, G. F.; DE LA PEÑA, A. M.; MEDINA, J. J. Scopoletin and hispidulin in *Baccharis magellanica*. **Journal of Natural Products**, v. 45, p. 653-653, 1982.

- CORDERO, C. P.; GÓMEZ-GONZÁLEZ, S.; LEÓN-ACOSTA, C. J.; MORANTES-MEDINA, S. J.; ARISTIZABAL, F. A. Cytotoxic activity of five compounds isolated from Colombian plants. **Fitoterapia**, v. 75, p. 225–227, 2004.
- CORRÊA, M.P. Dicionário das plantas úteis do Brasil e das exóticas cultivadas VI: CAR-E. **Imprensa Nacional**, Rio de Janeiro, p.173, 1984.
- CORTADI, A.; DI SAPIO, O.; Mc CARGO, J.; SCANDIZZI, A.; GATTUSO, S.; GATTUSO, M. Anatomical studies of *Baccharis articulata*, *Baccharis crispa* and *Baccharis trimera*, “Carquejas” used in folk medicine. **Pharmaceutical Biology**, Lisse, v. 37, p. 357-365, 1999.
- COSENTINO, M., BOMBELLI, R., CARCANO, E., LUINI, A., MARINO, F., CREMA, F., DAJAS, F., LECCHINI, S. Immunomodulatory properties of *Achyrocline satureioides* (Lam.) D.C. infusion: a study on human leukocytes, **Journal of Ethnopharmacology**, v. 116, n. 3, p. 501–507, 2008.
- COUTINHO, T. A.; WINGFIELD, M. J.; ALFENAS, A. C.; CROUS, P. W. Eucalyptus Rust: A Disease with the Potential for Serious International Implications. **Plant Disease**, v. 82, p.819–825, 1998.
- CRAVEIRO, A. A.; MACHADO, M. I. L. De aromas, insetos e plantas. **Ciência hoje**, v. 4, p. 54-63, 1986.
- CRONQUIST, A. An integrated system of classification of flowering plants. **New York: Columbia University Press**. pp. 1262, 1981.
- CRONQUIST, A. The evolution and classification of flowering plants. 2.ed. **New York: New York Botanical Garden**, 1988.
- CZECZOT, H. et al., Isolation and studies of the mutagenic activity in the Ames test of flavonoids naturally occurring in medical herbs. **Mutation Research**, v. 240, p. 209-216, 1990.
- DAI, J.; SUTTISRI, R.; BORDAS, E.; SOEJARTO, D. D.; KINGHORN, A. D. Clerodane diterpenoids from *Baccharis articulata*. **Phytochemistry**, Oxford, v. 34, p. 1087-1090, 1993.
- DAMASCENO, F. C.; NICOLLI, K. P.; CARAMÃO, E. B.; SOARES, G. L. G.; ZINI, C. A. Changes in the Volatile Organic Profile of *Schinus polygamus* (Anacardiaceae) and *Baccharis spicata* (Asteraceae) Induced by Galling Psyllids. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 21, p. 556-563, 2010.
- DÁVALOS, E. G.; JIMÉNEZ, T. V.; ALMANZA, R. L. Evaluación de la actividad antiinflamatoria de ocho especies del género *Baccharis*: *B. articulata*, *B. dracunculifolia*, *B. salicifolia*, *B. ulcina*, *B. latifolia*, *B. pentlandii*, *B. obtusifolia*, *B. subalata*. **Revista Boliviana de Química**, v. 24, p. 41-44, 2007.

DEGEN, R.; SORIA, N.; ORTIZ, M.; BASUALDO, I. Problemática de nombres comunes de plantas medicinales comercializadas en Paraguay.

Dominguezia, Buenos Aires, v. 21, p. 11-16, 2005.

DEL VITTO, L. A., PETENATTI, E. M., PETENATTI, M. E., MAZZA, S. M., MARCHEVSKY, E. J. Major and trace elements contents in crude drug and infusions of two South American species of *Achyrocline* (Asteraceae) named "marcelas", **Latin American Journal of Pharmacy**, v. 28, n. 4, p. 552–559, 2009.

DEMO, M.; OLIVA, M. D., LOPEZ M. L., ZUNINO, M. P., ZYGADLO, J. A. Antimicrobial activity of essential oils obtained from aromatic plants of Argentina. **Pharmaceutical Biology**, v. 43, p. 129-134, 2005.

DE CANDOLLE, A. P. Compositae: *Baccharis*. Prodrromus Systematis Naturalis Regni Vegetabilis. **Paris: Treuttel & Würtz**, v. 5, p. 398-429, 1836.

DE FERRANTE, L. M. S.; MAYER, B.; VASCONCELOS, E. C.; DE OLIVEIRA, C. M. R. GC/FID-based authentication of *Baccharis trimera*: a quality control study of products commercialized in Curitiba and metropolitan region (Brazil). **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 17, p. 356-360, 2007.

DE MORAIS, S. M.; CAVALCANTI, E. S. B.; COSTA, S. M. O.; AGUIAR, L. A. Ação antioxidante de chás e condimentos de grande consumo no Brasil. **Brazilian Journal of Pharmacognosy**, v. 19, p. 315-320, 2009.

DE OLIVEIRA, S. Q.; DAL-PIZZOL, F.; GOSMANN, G.; GUILLAUME, D.; MOREIRA, J. C. F.; SCHENKEL, E. P. Antioxidant Activity of *Baccharis articulata* Extracts: Isolation of a New Compound with Antioxidant Activity. **Free Radical Research**, v. 37, p. 555–559, 2003.

DE OLIVEIRA, S. Q.; DAL-PIZZOL, F.; MOREIRA, J. C. F.; SCHENKEL, E. P.; GOSMANN, G. Antioxidant activity of *Baccharis spicata*, *Baccharis trimera* and *Baccharis usterii*. **Acta Farmacéutica Bonaerense**, v. 23, p. 365-368, 2004.

DE OLIVEIRA, R. N.; REHDER, V. L. G.; OLIVEIRA, A. S. S.; JÚNIOR, M. I.; DE CARVALHO, J. E.; DE RUIZ, A. L. T. G.; JERALDO, V. L. S.; LINHARES, A. X.; FAGUNDES, M.; NEVES, F. S.; FERNANDES, G. W. Direct and indirect interactions involving ants, insect herbivores and parasitoids on the host plant *Baccharis dracunculifolia* (Asteraceae). **Ecological Entomology**, v. 30, p. 18-25, 2005.

DE OLIVEIRA, R. N.; REHDER, V. L. G.; OLIVEIRA, A. S. S.; JÚNIOR, M. I.; DE CARVALHO, J. E.; DE RUIZ, A. L. T. G.; JERALDO, V. L. S.; LINHARES, A. X.; ALLEGRETTI, S. M. *Schistosoma mansoni*: In vitro schistosomicidal activity of essential oil of *Baccharis trimera* (less) DC. **Experimental Parasitology**, v. 132, p. 135–143, 2012a.

DE OLIVEIRA, C. B.; COMUNELLO, L. N.; LUNARDELLI, A.; AMARAL, R. H.; PIRES, M. G. S.; DA SILVA, G. L.; MANFREDINI, V.; VARGAS, C. R.; GNOATTO, S. C. B.; DE OLIVEIRA, J. R.; GOSMANN, G. Phenolic Enriched Extract of *Baccharis trimera* Presents Anti-inflammatory and Antioxidant Activities. **Molecules**, v. 17, p. 1113-1123, 2012b.

DE OLIVEIRA, C. B.; COMUNELLO, L. N.; MACIEL, E. S.; GIUBEL, S. R.; BRUNO, N. A.; CHIELA, E. C. F.; LENZ, G.; GNOATTO, S. C. B.; BUFFON, A.; GOSMANN, G. The Inhibitory Effects of Phenolic and Terpenoid Compounds from *Baccharis trimera* in SiHa Cells: Differences in Their Activity and Mechanism of Action. **Molecules**, v. 18, p. 11022-11032, 2013.

DE OLIVEIRA, T. A.; MICHEL, R. G.; SNAK, A. L.; PEREIRA, R. A.; DA SILVA, L. A.; KAGIMURA, F. Y.; DA CUNHA, M. A. A.; MALFATTI, R. M. *Baccharis dracunculifolia* with high levels of phenol compounds reduces blood glucose in healthy human. **African Journal of Pharmacy and Pharmacology**, v. 8, p. 670-673, 2014a.

DE OLIVEIRA, P. F.; LIMA, I. M. S.; MUNARI, C. C.; BASTOS, J. K.; FILHO, A. A. S.; TAVARES, D. C. Comparative Evaluation of Antiproliferative Effects of Brazilian Green Propolis, Its Main Source *Baccharis dracunculifolia*, and Their Major Constituents Artepillin C and Baccharin. **Planta Medica**, v. 80, p. 490–492, 2014b.

DE OLIVEIRA, R. N.; REHDER, V. L. G.; OLIVEIRA, A. S. S.; JERALDO, V. L. S.; LINHARES, A. X.; ALLEGRETTI, S. M. Anthelmintic activity in vitro and in vivo of *Baccharis trimera* (Less) DC against immature and adult worms of *Schistosoma mansoni*. **Experimental Parasitology**, v. 139, p. 63–72, 2014c.

DE OLIVEIRA, S.; DE SOUZA, G. A.; ECKERT, C. R.; SILVA, T. A.; SOBRAL, E. S.; FÁVERO, O. A.; FERREIRA, M. J. P.; ROMOFF, P.; BAADER, W. J. Evaluation of antiradical assays used in determining the antioxidant capacity of purê compounds and plant extracts. **Química Nova**, v. 37, n. 3, p. 497-503, 2014d.

DE PINHO, D. S.; STURBELLE, R. T.; MARTINO-ROTH, M. G.; GARCIAS, G. L. Avaliação da atividade mutagênica da infusão de *Baccharis trimera* (Less.) DC. em teste de *Allium cepa* e teste de aberrações cromossômicas em linfócitos humanos. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 20, p. 165-170, 2010.

DE DOUZA, G. C.; HAAS, A. P. S.; VON POSER, G. L.; SCHAPOVAL, E. E. S.; ELISABETSKY, E. Ethnopharmacological studies of antimicrobial remedies in the south of Brazil. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 90, p. 135–143, 2004.

DE SOUZA MOREIRA, C. P.; DE OLIVEIRA, D. M.; DOS SANTOS, C. N.; ZANI, C. L.; ALVES, T. M. A. Platypodiol a novel clerodane diterpene from *Baccharis platypoda*. **Tetrahedron Letters**, v. 55, p. 4898–4900, 2014.

DE TOLEDO DIAS, L. F.; DE MELO, E. S.; HERNANDES, L. S.; BACCHI, E. M. Atividades antiúlcera e antioxidante *Baccharis trimera* (Less) DC (Asteraceae). **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 19, p. 305-314, 2009.

DEL CORRAL, S.; CUFFINI, S. L.; CARDOSO, S. G.; BORTOLUZZI, A. J.; PALACIOS, S. M. Phytotoxic halimanes isolated from *Baccharis salicifolia* (Ruiz & Pad.) Pers. **Phytochemistry Letters**, v. 5, p. 280–283, 2012.

DIAS, L. F. D.; De MELO, E. S.; HERNANDES, L. S.; BACCHI, E. M. Antiulcerogenic and antioxidant activities of *Baccharis trimera* (Less) DC (Asteraceae). **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v.19, n.1B, p. 309-14, 2009.

DIAZ, M. A. N.; ROSSI, C. C.; MENDONÇA, V. R.; SILVA, D. M.; RIBON, A. O. B.; AGUILAR, A. P.; MUÑOZ, G. D. Screening of medicinal plants for antibacterial activities on *Staphylococcus aureus* strains isolated from bovine mastites. **Brazilian Journal of Pharmacognosy**, v. 20, p. 724-728, 2010.

DOS SANTOS, D. A.; FUKUI, M. J.; NANAYAKKARA, D. N. P.; KHAN, S. I.; SOUSA, J. P. B.; BASTOS, J. K.; ANDRADE, S. F.; DA SILVA FILHO, A. A.; QUINTÃO, N. L. M. Anti-inflammatory and antinociceptive effects of *Baccharis dracunculifolia* DC. (Asteraceae) in different experimental models. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 127, p. 543–550, 2010.

DOS SANTOS-FILHO, D.; SARTI, S. J.; VICHNEWSKI, W.; BULHÕES, M. S.; LEITÃO-FILHO, H. F. Atividade moluscicida em *Biomphalaria glabrata*, de uma lactona diterpênica e de uma flavona isoladas de *Baccharis trimera* (Less.) A.P. De Candolle. **Revista da Faculdade de Farmácia e Odontologia de Ribeirão Preto**, Ribeirão Preto, v. 17, p. 43-47, 1980.

DUARTE, M. C. T.; LEME, E. E.; DELARMELINA, C.; SOARES, A. A.; FIGUEIRA, G. M.; SARTORATTO, A. Activity of essential oils from Brazilian medicinal plants on *Escherichia coli*. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 111, p. 197–201, 2007.

ELISABETSKY, E., POSEY, D. A. Use of contraceptive and related plants by the Kayapó indians (Brazil). **Journal of Ethnopharmacology**, v. 26, p. 299–316, 1989.

ELISABETSKY, E., POSEY, D. A. Ethnopharmacological search for antiviral compounds: treatment of gastrointestinal disorders by Kayapó medical specialists. In: *Etnobotany and the Search for New Drugs*. 1ª ed. **Londres: John Wiley & Sons Ltda**, v. 185, p. 77–94, 1994.

ELISABETSKY, E., CASTILHOS, Z. C. Plants used as analgesics by amazonian caboclos as a basis for selecting plants for investigation. **International Journal of Crude Drug Research**, v. 28, p. 309–320, 1990.

EMERENCIANO, V. P.; KAPLAN, M. A. C.; GOTTLIEB, O. R.; BONFANTI, M. R. de M.; FERREIRA, Z. S.; COMEGNO, L. M. A. Evolution of sesquiterpene lactones in Asteraceae. **Biochemical Systematics and Ecology**, Oxford, v. 14, n. 6, p. 585-589, 1986.

EMERENCIANO, V. P.; MILITÃO, J. S. L. T.; CAMPOS, C. C.; ROMOFF, P.; KAPLAN, M. A. C.; ZAMBON, M.; BRANT, A. J. C. Flavonoids as chemotaxonomic markers for Asteraceae. **Biochemical Systematics and Ecology**, Oxford, v. 29, p. 947-957, 2001.

ESCOBAR, Z.; FLORES, Y.; TEJEDA, L.; ALVARADO, J. A.; STERNER, O.; ALMANZA, G. R. Phenolic compounds from *Baccharis papillosa* subsp. *papillosa*. **Revista Boliviana de Química**, v. 26, p. 111-117, 2009.

ESPÍRITO-SANTO, M. M.; FERNANDES, G. W.; ALLAIN, L. R.; REIS, T. R. F. Tannins in *Baccharis dracunculifolia* (Asteraceae): Effects of seasonality, water availability and plant sex. **Acta Botanica Brasilica**, v. 13, n. 2, p. 167-174, 1999.

ESPINEL-INGROFF, A.; DAWSON, K.; PFALLER, M.; ANAISSIE, E.; BRESLIN, B.; DIXON, D.; FOTHERGILL, A.; PAETZNICK, V.; PETER, J.; RINALDI, M.; WALSH, T. Comparative and collaborative evaluation of standardization of antifungal susceptibility testing for filamentous fungi. **Antimicrobial Agents Chemotherapy**, v. 39, p. 314-319, 1995.

EVANS, W. C. Trease and Evans' Pharmacognosy, 14th ed.; W.B. **Saunders: London**, UK, p. 288, 1996.

FABRI, R. L.; NOGUEIRA, M. S.; DUTRA, L. B., BOUZADA, M. L. M.; SCIO, E. Potencial antioxidante e antimicrobiano de espécies da família Asteraceae. **Revista Brasileira de Plantas Medicas**, v. 13, n. 2, p. 183-189, 2011.

FACHINETTO, J. M.; TEDESCO, S. B. Atividade antiproliferativa e mutagênica dos extratos aquosos de *Baccharis trimera* (Less.) A. P. de Candolle e *Baccharis articulata* (Lam.) Pers. (Asteraceae) sobre o sistema teste de *Allium cepa*. **Revista Brasileira de Plantas Medicas**, Botucatu, v.11, p.360-367, 2009.

FAGUNDES, M.; NEVES, F. S.; FERNANDES, G. W. Direct and indirect interactions involving ants, insect herbivores and parasitoids on the host plant *Baccharis dracunculifolia* (Asteraceae). **Ecological Entomology**, v. 30, p. 18-25, 2005.

FARMACOPÉIA BRASILEIRA 5ª ed., Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **São Paulo: Atheneu**, [2003-2010].

FERESIN, G. E.; TAPIA, A.; LOPEZ, S. N.; ZACCHINO, S. A. Antimicrobial activity of plants used in traditional medicine of San Juan rovince, Argentine. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 78, p. 103-107, 2001.

FERESIN, G. E.; TAPIA, A.; GIMENEZ, A.; RAVELO, A. G.; ZACCHINO, S.; SORTINO, M.; SCHMEDA-HIRSCHMANN, G. Constituents of the Argentinian medicinal plant *Baccharis grisebachii* and their antimicrobial activity. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 89, p. 73–80, 2003.

FERRACINI, V. L.; PARAIBA, L. C.; LEITÃO-FILHO, H. F.; SILVA, A. G.; NASCIMENTO, L. R.; MARSAIOLI, A. J. Essential oils of seven Brazilian *Baccharis* species. **Journal of Essential Oil Research**, Carol Stream, v. 7, p. 355-367, 1995.

FERRANTE, L. M. S. de; MAYER, B.; VASCONCELOS, E. C.; OLIVEIRA, C. M. R. de. GC/FID-based authentication of *Baccharis trimera*: a quality control study of products commercialized in Curitiba and metropolitan region (Brazil). **Revista Brasileira de Farmacognosia**, João Pessoa, v. 17, p. 356-360, 2007.

FERRARO, G.; ANESINI, C.; OUVINA, A.; RETTE, D.; FILIP, R.; GATTUSO, M.; GATTUSO, S.; HNATYSZYN, O.; BANDONI, A. Total phenolic content and antioxidant activity of extracts of *Achyrocline satureioides* flowers from different zones in Argentina, **Latin American Journal of Pharmacy**, v. 27, n. 4, p. 626–628, 2008.

FERREIRA, A. L. Atividade Antiulcerogênica da espécie *Anacardium humile* St. Hil. (Anacardiaceae) Dissertação de mestrado, Programa de Pós-Graduação em Farmacologia, **Unicamp**, 2005.

FERRONATTO, R.; MARCHESAN, E. D.; BEDNARSKI, F.; ALENCAR, S. M.; ONOFRE, S. B. Atividade antioxidante dos óleos essenciais produzidos por *Baccharis dracunculifolia* D.C. e *Baccharis uncinella* D.C. (Asteraceae). **Arquivo de Ciências da Saúde da Unipar**, Umuarama, v. 10, p. 67-70, 2006.

FERRONATTO, R.; MARCHESAN, E. D.; PEZENTI, E.; BEDNARSKI, F.; ONOFRE, S. B. Atividade antimicrobiana de óleos essenciais produzidos por *Baccharis dracunculifolia* D.C. e *Baccharis uncinella* D.C. (Asteraceae). **Brazilian Journal of Pharmacognosy**, v. 17, p. 224-230, 2007.

FIELDING, R. R. *Baccharis*: a genus of the Asteraceae new to Canada. **Proceedings of the Nova Scotian Institute of Science**, v. 41, p. 214-215, 2001.

FIERRO, I. M.; Da SILVA, A. C. B.; S., Da SILVA LOPES, C.; MOURA, R. S.; BARJA-FIDALGO, C. Studies on the Anti-allergic Activity of *Mikania glomerata*. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 66, n. 1, p. 19-24, 1999.

FIGUEIREDO, S. F. L.; NOGUEIRA, M. I. M. Contribuição ao estudo palinológico de algumas espécies da subtribo Baccharidinae Hoffmann (Compositae). **Revista Brasileira de Biologia**, Rio de Janeiro, v. 41, n. 4, p. 713-716, 1981.

FIGUEIREO-RINHEL, A. S. G.; KABEYA, L. M.; BUENO, P. C. P.; JORGE-TIOSSI, R. F.; AZZOLINI, A. E. C. S.; BASTOS, J. K.; LUCISANO-VALIM, Y. M. Inhibition of the human neutrophil oxidative metabolism by *Baccharis dracunculifolia* DC (Asteraceae) is influenced by seasonality and the ratio of caffeic acid to other phenolic compounds. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 150, p. 655–664, 2013.

FLORÃO, A.; BUDEL, J. M.; DUARTE, J. M.; MARCONDES, A.; RODRIGUES, R. A. F.; RODRIGUES, M. V. N.; SANTOS, C. A. de M.; WEFORT-SANTOS, A. M. Actividad antibacteriana en plantas medicinales de la flora de Entre Ríos (Argentina). **Journal of Essential Oil Research**, v. 24, p. 165-185, 2012.

FLORES, R. C.; PONZI, M.; ARDANAZ, C.; TONN, C. E.; DONADEL, O. J. Chemical composition of essential oil of *Baccharis salicifolia* (Ruiz & Pavon) Pers. and antibacterial activity. **Journal of the Chilean Chemical Society**, v. 54, p. 475-476, 2009.

FOSTER, A. S. Practical plant anatomy. 2. ed. Pinceton; **D. Van Nostrand**, 1949.

FRANCESCHI, V. R.; NAKATA, P. A. Calcium oxalate in plants: formation and function. **Annual Review of Plant Biology**, v. 56, p. 41–71, 2005.

FRANCE, Ministère de la Santé et de l' Action Humanitaire, Direction de la Pharmacie et du Médicament. Herbal Remedies. **Notice to applicants for marketing authorization**. Paris, 1990.

FRANCO, I. J.; FONTANA, V. L. Ervas e plantas: a medicina dos simples. 9.ed. Erechim, RS, Brasil: **Editores Livraria Vida**, 2004.

FREIRE, S. E.; URTUBEY, E.; GIULIANO, D. A. Epidermal characters of *Baccharis* (Asteraceae) species used in traditional medicine. **Caldasia**, v. 29, p. 23-28, 2007.

FREITAS, C. S.; BAGGIO, C. H.; FINAU, J.; ANGINONI, M.; PIZZOLATTI, M. G.; SANTOS, A. R. S.; MARQUES, M. C. A. Inhibition of H⁺/K⁺ ATPase in the gastroprotective effect of *Baccharis illinita* DC. **Journal of Pharmacy and Pharmacology**, v. 60, p. 1105–1110, 2008.

FRONTANA-URIBE, B. A.; ESCÁRCEGA-BOBADILLA, M. V.; ESTRADA-REYES, R.; MORALES-SERNA, J. A.; SALMÓN, M.; CÁRDENAS, J. A new languidulane diterpenoid from *Salvia mexicana* var. mexicana. **Molecules**, v. 16, p. 8866-8873, 2011.

FULLAS, F.; HUSSAIN, R. A.; CHAI, H.; PEZZUTO, J. M.; SOIJARTO, D. D.; DOUGLAS KINGHORN, A. Cytotoxic constituents of *Baccharis gaudichaudiana*. **Journal of Natural Products**, v.57, p. 801-807, 1994.

- FUKUDA, M.; OHKOSHI, E.; MAKINO, M.; FUJIMOTO, Y. Studies on the Constituents of the Leaves of *Baccharis dracunculifolia* (Asteraceae) and their Cytotoxic Activity. **Chemical and Pharmaceutical Bulletin**, v. 54, p. 1465-1468, 2006.
- GALVÃO, L. C. C.; FURLETTI, V. F.; BERSAN, S. M. F.; DA CUNHA, M. G.; RUIZ, A. L. T. G.; DE CARVALHO, J. E.; SARTORATTO, A.; REHDER, L. G.; FIGUEIRA, G. M.; DUARTE, M. C. T.; IKEGAKI, M.; DE ALENCAR, S. M.; ROSALEN, P. L. Antimicrobial Activity of Essential Oils against *Streptococcus mutans* and their Antiproliferative Effects. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**, p. 12, 2012.
- GAMA, J. S. **Revista do Instituto Histórico e Geográfico Brasileiro**, v.38, n. 51, 1875.
- GAMBERINI, M. T. Atividades anti-úlceras e antiácidas do extrato aquoso e frações obtidas da *Baccharis trimera* Mart. (carqueja), **Dissertação de Mestrado-INFAR, USP**, 1992.
- GARCÍA, M.; DONADEL, O. J.; ARDANAZ, C. E.; TONN, C. E.; SOSA, M. E. Toxic and repellent effects of *Baccharis salicifolia* essential oil on *Tribolium castaneum*. **Pest Management Science**, v. 61, p. 612-618, 2005.
- GEBHARDT, R. Antioxidative and protective properties of extracts from leaves of the artichoke (*Cynara scolymus* L.) against hydroperoxide-induced oxidative stress in cultured rat hepatocytes. **Toxicology and Applied Pharmacology**, v.144, p. 279-86, 1997.
- GENE, R. M.; MARIN, E.; ADZET, T. Anti-inflammatory effect of aqueous extracts of three species of the genus *Baccharis*. **Planta Medica**, Stuttgart, v. 58, p. 565-566, 1992.
- GIANELLO, J. C.; CEÑAL, J. P.; GIORDANO, O. S.; TONN, C. E.; PETENATTI, M. E.; PETENATTI, E. M.; DEL VITTO, L. A. Medicamentos herbários en el centro-oeste argentino. II. "Carquejas": control de calidad de las drogas oficiales y sustituyentes. **Latin American Journal of Pharmacy**, La Plata, v. 19, n. 2, p. 99-103, 2000.
- GILLIJ, Y. G.; GLEISER, R. M.; ZYGADLO, J. A. Mosquito repellent activity of essential oils of aromatic plants growing in Argentina. **Bioresource Technology**, v. 99, p. 2507–2515, 2008.
- GIULIANO, D. A. Clasificación infragenérica de las especies Argentinas de *Baccharis* (Asteraceae, Astereae). **Darwiniana**, v. 39, p. 131-154, 2001.
- GIULIANO, D. A. Acerca de la identidad de *Baccharis subsculpta* (Asteraceae: Astereae). **Sida, Dallas**, v.21, p.705–710, 2004.
- GIULIANO, D. A. New infragenera in *Baccharis* (Asteraceae, Astereae). **Novon, San Francisco**, v. 15, p.535-541, 2005.

GIULIANO, D. A.; FREIRE, S. E. Nuevas secciones en *Baccharis* (Asteraceae, Astereae) de América del Sur. **Annals of the Missouri Botanical Garden**, v. 98, p. 331-347, 2011.

GLAVIN, G. B.; SZABO, S. Experimental gastric mucosal injury: laboratory models reveal mechanisms of pathogenesis and new therapeutic strategies, **FASEB J.**, v. 6, p. 825-831, 1992.

GLEISER, R. M.; BONINO, M. A.; ZYGADLO, J. A. Repellence of essential oils of aromatic plants growing in Argentina against *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae). **Parasitology Research**, v. 108, p. 69–78, 2011.

GÖDECKE, T.; KALOGA, M.; KOŁODZIEJ, H. A phenol glucoside, uncommon coumarins and flavonoids from *Pelargonium sidoides* DC. **Verlag der Zeitschrift für Naturforschung**, v. 60b, p. 677-682, 2005.

GONZÁLEZ, M. C.; OSPINA, L. F.; CALLE, J.; RINCÓN, J. Evaluación de extractos y fracciones de plantas colombianas en modelos de inflamación aguda, subcrónica y crónica. **Revista Colombiana Ciencias Químicas Farmacéuticas**, v. 36, p. 166-174, 2007.

GONTIJO, C. M. F.; MELO, M. N. Leishmaniose Visceral no Brasil: quadro atual, desafios e perspectivas. **Revista Brasileira de Epidemiologia**, v. 7, n. 3, p. 338-349, 2004.

GRAÇA, C.; BAGGIO, C. H.; FREITAS, C. S.; RATTMANN, Y. D.; DE SOUZA, L. M.; CIPRIANI, T. R.; SASSAKI, G. L.; RIECK, L.; PONTAROLO, R.; SILVA-SANTOS, J. E.; MARQUES, M. C. *In vivo* Assessment of Safety and Mechanisms Underlying *In vitro* Relaxation Induced by *Mikania laevigata* Schultz Bip. ex Baker in the Rat Trachea. **Journal of Ethnopharmacology**, v.112, n.3, p. 430-439, 2007.

GRANCE, S. R. M.; TEIXEIRA, M. A.; LEITE, R. S.; GUIMARÃES, E. B.; DE SIQUEIRA, J. M.; FILIU, W. F. O.; VASCONCELOS, S. B. S.; VIEIRA, M. C. *Baccharis trimera*: Effect on hematological and biochemical parameters and hepatorenal evaluation in pregnant rats. **Journal of Ethnopharmacology**, v.117, p. 28–33, 2008.

GRECCO, S. S.; GIMENES, L.; FERREIRA, M. J. P.; ROMOFF, P.; FAVERO, O. A.; ZALEWSKI, C. A.; LAGO, J. H. G. Triterpenoids and phenolic derivatives from *Baccharis uncinella* DC. (Asteraceae). **Biochemical Systematics and Ecology**, v. 38, p. 1234–1237, 2010.

GRECCO, S. S.; FERREIRA, M. J. P.; ROMOFF, P.; FAVERO, O. A.; LAGO, J. H. G. Phenolic derivatives from *Baccharis retusa* DC. (Asteraceae). **Biochemical Systematics and Ecology**, v. 42, p. 21–24, 2012.

GRECCO, S. S.; DORIGUETO, A. C.; LANDRE, I. M.; SOARES, M. G.; MARTHO, K.; LIMA, R.; PASCON, R. C.; VALLIM, M. A.; CAPELLO, T. M.; ROMOFF, P.; SARTORELLI, P.; LAGO, J. H. G. Structural Crystalline

- Characterization of Sakuranetin — An Antimicrobial Flavanone from Twigs of *Baccharis retusa* (Asteraceae). **Molecules**, v. 19, p. 7528-7542, 2014.
- GRUPTA, A. K.; MISRA, N. Hepatoprotective activity of aqueous ethanolic extract of *Chamomile capitula* in paracetamol intoxicated albino rats. **American Journal of Pharmacology and Toxicology**, v. 1, p. 17–20, 2006.
- GUGLIUCCI, A., MENINI, T. “Three different pathways for human LDL oxidation are inhibited *in vitro* by water extracts of the medicinal herb *Achyrocline satureoides*,” **Life Sciences**, v. 71, n. 6, p. 693–705, 2002.
- GUO, Y.; LI, Y.; XU, J.; WATANABE, R.; OSHIMA, Y.; YAMAKUNI, T.; OHIZUMI, Y. Bioactive *ent*-Clerodane Diterpenoids from the Aerial Parts of *Baccharis gaudichaudiana*. **Journal of Natural Products**, v. 69, p. 274-276, 2006.
- GUO, Y.; LI, Y.; XU, J.; LI, N.; YAMAKUNI, T.; OHIZUMI, Y. Clerodane Diterpenoids and Flavonoids with NGF Potentiating Activity from the Aerial Parts of *Baccharis gaudichaudiana*. **Chemical and Pharmaceutical Bulletin**, v. 55, p. 1532-1534, 2007.
- GURIB-FAKIM, A. Medicinal plants: traditions of yesterday and drugs of tomorrow. **Molecular Aspects of Medicine**, [S.l.], v. 27, p. 1-93, 2006.
- HADAD, M.; ZYGADLO, J. A.; LIMA, B.; DERITA, M.; FERESIN, G. E.; ZACCHINO, S. A.; TAPIA, A. Chemical composition and antimicrobial activity of essential oil from *Baccharis grisebachii* Hieron (Asteraceae). **Journal of the Chilean Chemical Society**, v. 52, p. 1186-1189, 2007.
- HARBORNE, J. B. Advances in chemical ecology. **Natural Products Reports**, v. 10, p. 327-348, 1993.
- HARBONE, J. B. Introduction to ecological biochemistry. 3^a Ed. **London: Academic**, 1988a.
- HARBONE, J. B. Biochemistry of Plant Pollination in Introduction to **Ecological Biochemistry**. 3^a ed., Academic Press, p. 42-81, 1988b.
- HARBORNE, J. B. The flavonoids: advances in research since 1986. **London: Chapman and Hall**, p. 676, 1996.
- HAYASHI, K.; KANAMORI, T.; YAMAZOE, A.; YAMADA, M.; NOZAKI, H. Gaudichanolides A and B, Clerodane Diterpenes from *Baccharis gaudichaudiana*. **Journal of Natural Products**, v. 68, p. 1121-1124, 2005.
- HAYDEN, L. J.; THOMAS, G.; WEST, G. B. Inhibitors of gastric lesions in the rat. **Journal of Pharmacy and Pharmacology**, v. 30, p. 244 – 246, 1978.
- HEIDEN, G.; BAUMGRATZ, J. F. A.; ESTEVES, R. L. *Baccharis* subgen. Molina (Asteraceae) no Estado do Rio de Janeiro, Brasil. **Rodriguesia**, v. 63, p. 649-687, 2012.

- HEIDEN, G.; IGANCI, J. R. V.; MACIAS, L. *Baccharis* sect.. *Caulopterae* (Asteraceae, Astereae) no Rio Grande do Sul, Brasil. **Rodriguésia**, v. 60, p. 943-983, 2009.
- HEIDEN, G.; LEONI, L. S.; NAKAJIMA, J. N. *Baccharis magnifica* (Asteraceae, Astereae): a striking new species endemic to the summits of Serra do Caparaó, southeastern Brazil. **Phytotaxa**, v. 162, p. 211–216, 2014.
- HEIDEN, G.; MACIAS, L.; BOBROWSKI, V.L.; IGANCI, J. R. V. I. Comercialização de carqueja por ervateiros da zona central de Pelotas, Rio Grande do Sul. **Revista de Biologia e Ciências da Terra**, v. 6, p. 50-57, 2006.
- HEIDEN, G.; SCHNEIDER, A. A. A new species of *Baccharis* sect. *Caulopterae* DC. (Asteraceae) from the high altitude grasslands of Parque Nacional do Caparaó, Southeastern Brazil. **Candollea**, v. 66, p. 337-340, 2011.
- HEIDEN, G.; SCHNEIDER, A. A., *Baccharis*. In: Lista de Espécies da Flora do Brasil. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Available from: <http://floradobrasil.jbrj.gov.br/jabot/floradobrasil/FB5151> (accessed 28 April 2014), 2014.
- HELLWIG, F. H. Untersuchungen zur Behaarung ausgewählter Astereae (Compositae). **Flora**, v. 186, p. 425-444, 1992.
- HENNING, L.; GARCIA, G. M.; GIANNIS, A.; BUSSMANN, R. W. New constituents of *Baccharis genistelloides* (Lam.) Pers. **Arkivoc**, v. 6, p. 74-81, 2011.
- HIERONYMUS, J. *Plantae diaphoricae florum Argentinae*. **Boletín de la Academia Nacional de Ciencias**, Córdoba, v. 4, n. 2, p. 199-589, 1881.
- HIKAWCZUK, V. E. J.; VERRILLI, M. A. L.; BORKOWSKI, E. J.; SOSA, M. E.; GIORDANO, O. S.; SAAD, J. R.; TONN, C. E. Antifeedant activity of neoclerodane diterpenes from *Baccharis flabellata* Hook & Arn var. *flabellata* toward *Tribolium castaneum* Herbst: structure–activity relationships. **Natural Product Research**, v. 20, p. 813–819, 2006.
- HIKAWCZUK, V. E. J.; SAAD, R.; GIORDANO, O. S.; CARCÍA, C.; MARTÍN, T.; MARTÍN, V. S.; SOSA, M. E.; TONN, C. E. Insect Growth Regulatory Effects of Linear Diterpenoids and Derivatives from *Baccharis thymifolia*. **Journal of Natural Products**, v. 71, p. 190–194, 2008.
- HNATYSZYN, O.; MOSCATELLI, V.; GARCIA, J.; RONDINA, R.; COSTA, M.; ARRANZ, C.; BALASZCZUK, A.; FERRARO, G.; COUSSIO, J.D. Argentinian plant extracts with relaxant effect on the smooth muscle of the corpus cavernosum of Guinea pig. **Phytomedicine**, v. 10, p. 669-674, 2003.
- HOCAYEN, P. A. S.; CAMPOS, L. A.; POCHAPSKI, M. T.; MALFATTI, C. R. M. Avaliação da Toxicidade do extrato bruto metanólico de *Baccharis*

dracunculifolia por meio do bioensaio com *Artemia salina*. **Insula**, v. 41, p. 23-31, 2012.

HOWARD, M. D. Cotton boll weevil antifeedant activity and antifungal activity (*Rhizoctonia solani* and *Pythium ultimum*) of extracts of the stems of *Wedelia biflora*. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, v. 38, p. 1591-1594, 1990.

HOYOS, J. M.; ALVES, E.; ROZWALKAS, L. C.; DE SOUZA, E. A.; ZEVIANI, W. M. Antifungal activity and ultrastructural alterations in *Pseudocercospora griseola* treated with essential oils. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 36, p. 270-284, 2012.

HSU, Y. J.; LEE, T. H.; CHANG, C. L. T.; HUANG, Y. T.; YANG, W. C. Anti-hyperglycemic effects and mechanism of *Bidens pilosa* water extract. **Journal of Ethnopharmacology**, v.122, p. 379-383, 2008.

IMS, health, nov/2011.

ISSAC, O. Die Ringelblume. Stuttgart: **Wissenfliche**, 1992.

IUCN. *The IUCN Red List of Threatened Species*. Versão 2.014,3. <www.iucnredlist.org> (consultada em 14/04/2015), 2014.

JAIME, M. F. V.; REDKO, F.; MUSCHIETTI, L. V.; CAMPOS, R. H.; MARTINO, V. S.; CAVALLARO, L. V. In vitro antiviral activity of plant extracts from Asteraceae medicinal plants. **Virology Journal**, v. 10, p. 245, 2013.

JANSEN, R.K.; PALMER, J.D. A chloroplast DNA inversion marks and ancient evolutionary split in the sunflower family (Asteraceae). **Evolution**, v. 84, p. 5818-5822, 1987.

JANSSEN, A. M.; SCHEFFER, J. J. C.; BAERHEIM-SVENDSEN, A. Antimicrobial activity of essential oils: a 1976-1986 literature review. **Planta Medica**, v.53, p. 395-398. 1987.

JANUÁRIO, A. H.; SANTOS, S. L.; MARCUSSI, S.; MAZZI, M. V.; PIETRO, R. C. L. R.; SATO, D. N.; ELLENA, J.; SAMPAIO, S. V.; FRANÇA, S. C.; SOARES, S. M. *neo*-clerodane diterpenoid, a new metalloprotease snake venom inhibitor from *Baccharis trimera* (Asteraceae): anti-proteolytic and anti-hemorrhagic properties. **Chemico-Biological Interactions**, Santa Fe, v. 150, p. 243–251, 2004.

JARVIS, B. B.; PENA, N. B.; CÖMEZÓGLU, S. N.; RAO, M. M. Non-trichothecenes from *Baccharis megapotamica*. **Phytochemistry**, v. 25, p. 533-535, 1986.

JARVIS, B. B.; MOKHTARI-REJALI, N.; SCHENKEL, E. P.; BARROS, C. S.; MATZENBACHER, N. I. Trichothecene mycotoxins from Brazilian *Baccharis* species. **Phytochemistry**, Oxford, v. 30, n. 3, p. 789-797, 1991.

- JASSIM, S. A. A.; NAJI, M. A. A Review: Novel antiviral agents: a medicinal plant preservative. **Journal of Applied Microbiology**, v. 95, p. 412-427, 2003.
- JEFFREY, C. Compositae. Introduction with Keys to tribes. *In*: Kadereit, J.W. & Jeffrey, C. (eds.). The families and genera of vascular plants (K. Kubitzki series editor), Vol. VIII. Flowering plants: Eudicots: Asterales. **Springer, Berlin**, p. 61-77, 2006.
- JOHANN, S.; OLIVEIRA, F. B.; SIQUEIRA, E. P.; CISALPINO, P. S.; ROSA, C. A.; ALVES, T. M. A.; ZANI, C. L.; COTA, B. B. Activity of compounds isolated from *Baccharis dracunculifolia* D.C. (*Asteraceae*) against *Paracoccidioides brasiliensis*. **Medical Mycology**, v. 50, p. 843–851, 2012.
- JOHANSEN, D. A. Plant microtechnique. **New York: McGraw Hill Book**, 1940.
- JOLY, A. B. Botânica: introdução à taxonomia vegetal. 12. ed. **São Paulo: Nacional**, 1998.
- JORGE, L. I. F.; PEREIRA, U.; SILVA, A. M. Identificação histológica das principais compostas brasileiras de emprego medicinal. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, São Paulo, v. 51, p. 47-51, 1991.
- JUAN-BADATURUGE, M.; HABTEMARIAM, S.; JACKSON, C.; THOMAS, M. J. K. Antioxidant principles of *Tanacetum vulgare* L. aerial parts. **Natural Product Communications**, v. 4, p. 1561–1564, 2009.
- JUDD, W. S.; STEVENS, P. F.; CAMPBELL, C. S.; KELLOGG, E. A. Plant systematics: a phylogenetic approach. **Sunderland: Sinauer**, 1999.
- KADARIAN, C., BROUSSALIS, A. M., MIÑO, J., LOPEZ, P., GORZALCZANY, S., FERRARO, G., ACEVEDO, C. Hepatoprotective activity of *Achyrocline satureioides* (Lam) D. C, **Pharmacological Research**, v. 45, n. 1, p. 57–61, 2002.
- KASKONIENÉ, V.; KASKONAS, P.; JALINSKAIKÉ, M.; MARUSKA, A. Chemical composition and Chemometric Analysis of Variation in Essential Oils of *Calendula officinalis* L. during vegetation Stages. **Chromatographia**, v. 73, p. S163-S169, 2011.
- KAUR, K., JAIN, M., KAUR, T., JAIN, R. Antimalarials from nature. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**, v. 17, p. 3229–3256, 2009.
- KAYSER, O.; KOLODZIEJ, H. Antibacterial activity of extracts and constituents of *Pelargonium sidoides* and *Pelargonium reniforme*. **Planta Medica**, v. 63, p. 508-510, 1997.
- KEARS, C. A.; INOUE, D. W. Techniques for Pollination Biologists. **University Press of Colorado**, p. 46-57, 1993.
- KHAYYAL, M. T.; EL-GHAZALY, M. A.; KENAWY, S. A.; SEIF-EL-NASR, M.; MAHRAN, L. G.; KAFABI, Y. A.; OKPANYI, S. N. Antiulcerogenic effect of some

- gastrointestinally acting plant extracts and their combination. **Arzneimittelforschung**, v. 51, p. 545–53, 2001.
- KIKKO, A.; KOERICH, P.; NUNES, F.; PIZZOLATTI, M.; BARBOSA, A. antidepressant-like effect of *Baccharis ilimita* in the forced swimming test in mice. **European Psychiatry**, v. 24, p. S652, 2009.
- KLOPELL, F. C.; LEMOS, M.; SOUSA, J. P.; COMUNELLO, E.; MAISTRO, E. L.; BASTOS, J. K.; ANDRADE, S. F. Nerolidol, an antiulcer constituent from the essential oil of *Baccharis dracunculifolia* DC., Asteraceae. **Verlag der Zeitschrift für Naturforschung**, v. 62, p. 537-542, 2007.
- KRAUS, J. E.; ARDUIM, M. Manual básico de métodos em morfologia vegetal. **Seropédica: EDUR**, p. 198, 1997.
- KUMARI, P.; MISRA, K.; SISODIA, B. S; FARIDI, U.; SRIVASTAVA, S.; LUGMAN, S.; DAROKAR, M. P.; NEGI, A. S.; GUPTA, M. M.; SINGH, S. C.; KUMAR, J. K. A promising anticancer and antimalarial component from the leaves of *Bidens pilosa*. **Planta Medica**, v. 1, p. 59-61, 2009.
- KUMAZAWA, S.; YONEDA, M.; SHIBATA, J.; KANAEDA, J.; HAMASAKA, T.; NAKAYAMA, T. Direct evidence for the plant origin of Brazilian propolis by the observation of honeybee behavior and phytochemical analysis. **Chemical & Pharmaceutical Bulletin**, Tokyo, v. 51, n. 6, p. 740-742, 2003.
- KURDELAS, R. R.; LIMA, B.; TAPIA, A.; FERESIN, G. E.; SIERRA, M. G.; RODRÍGUEZ, M. V.; ZACCHINO, S.; ENRIZ, R. D.; FREILE, M. L. Antifungal Activity of Extracts and Prenylated Coumarins Isolated from *Baccharis darwinii* Hook & Arn. (Asteraceae). **Molecules**, v. 15, p. 4898-4907, 2010.
- KURDELAS, R. R.; LÓPEZ, S.; LIMA, B.; FERESIN, G. E.; ZYGADLO, J.; ZACCHINO, S.; LÓPEZ, M. L.; TAPIA, A.; FREILE, M. L. Chemical composition, anti-insect and antimicrobial activity of *Baccharis darwinii* essential oil from Argentina, Patagonia. **Industrial Crops and Products**, v. 40, p. 261–267, 2012.
- KVIECINSKI, M. R.; FELIPE, K. B.; SCHOENFELDER, T.; DE LEMOS WIESE, L. P.; ROSSI, M. H.; GONÇALEZ, E.; FELICIO, J. D.; FILHO, D. W.; PEDROSA, R. C. Study of the antitumor potential of *Bidens pilosa* (Asteraceae) used in Brazilian folk medicine. **Journal of Ethnopharmacology**, v.117, p. 69-75, 2008.
- LAGO, J. H. G.; ROMOFF, P.; FÁVERO, O. A.; SOARES, M. G.; BARALDI, P. T.; CORRÊA, A. G.; SOUZA, F. O. Composição química dos óleos essenciais das folhas de seis espécies do gênero *Baccharis* de “campo de altitude” da mata atlântica paulista. **Química Nova**, v. 31, p. 727-730, 2008a.
- LAGO, J. H. G.; ROMOFF, P.; FÁVERO, O. A.; SOUZA, F. O.; SOARES, M. G.; BARALDI, P. T.; CORRÊA, A. G. Chemical composition of male and female *Baccharis trimera* (Less.) DC. (Asteraceae) essential oils. **Biochemical Systematics and Ecology**, v. 36, p. 737-740, 2008b.

- LEE, S.; LEE, Y. S.; JUNG, S. H.; SHIN, K. H.; KIM, B. K.; KANG, S. S. Antitumor activities of decursinol angelate and decursin from *Angelica gigas*. **Archives of Pharmacal Research**, v. 26, p. 727–730, 2003.
- LEHANE, A. M., SALIBA, K. J. Common dietary flavonoids inhibit the growth of the intraerythrocytic malaria parasite. **Bio Med Central Research Notes**, v. 1, p. 26, 2008.
- LEITÃO, D. P. S., SILVA FILHO, A. A.; POLIZELLO, A. C. M.; BASTOS, J. K.; SPADARO, A. C. C. Comparative Evaluation of *in-Vitro* Effects of Brazilian Green Propolis and *Baccharis dracunculifolia* Extracts on Cariogenic Factors of *Streptococcus mutans*. **Biological and Pharmaceutical Bulletin**, v. 27, n. 11, p. 1834-1839, 2004.
- LEMOS, F. **Revista da Flora Medicinal**, V. XVI, n. 301, 1947.
- LEMOS, M.; DE BARROS, M. P.; SOUSA, J. P. B.; DA SILVA FILHO, A. A. BASTOS, J. K.; ANDRADE, S. F. *Baccharis dracunculifolia*, the main botanical source of Brazilian green propolis, displays antiulcer activity. **Journal of Pharmacy and Pharmacology**, v. 59, p. 603-608, 2007.
- LERSTEN, N. R., HORNER, H. T. Calcium oxalate crystals types and trends in their distribution patterns in leaves of *Prunus* (Rosaceae: Prunoideae). **Plant Systematics and Evolution**, v. 224, p. 83–96, 2000.
- LIETTI, A. Choloretic and cholesterol lowering properties of two artichoke extracts. **Fitoterapia**, v. 48, p. 153-8, 1977.
- LORENZI, H.; MATOS, F. J. de A. Plantas medicinais no Brasil: nativas e exóticas. 2. ed. **Nova Odessa: Instituto Plantarum**, 2008.
- LOSQUI, Y. R.; ROZETE, F. S. S.; ALMEIDA, M. B.; BITTENCOURT, A. H. C.; PEREIRA, S. P. F. Atividade de *Baccharis trimera* (Less.) DC., (Asteraceae) sobre cultura de células in vitro. **Brazilian Journal of Pharmacognosy**, v. 19, p. 931-936, 2009.
- LUCAS, V. Estudo Farmacognóstico do Guaco *Mikania glomerata* Sprengel. **Revista Flora Medicinal**, v. 9, n. 1, p. 101-132, 1942.
- LUIZE, P. S.; TUMAN, T. S.; MORELLO, L. G.; MAZA, P. K.; UEDA NAKAMURA, T.; FILHO, B. P. D.; CORTEZ, D. A. G.; DE MELLO, C. P.; NAKAMURA, C. V. Effects of medicinal plant extracts on growth of *Leishmania (L.) amazonensis* and *Trypanosoma cruzi*. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v. 41, n. 1, p. 85-94, 2005.
- LUPI, E. P. V.; BRIZUELA, C. I. S.; JEIFETZ, F. C.; ACOSTA, C. J. S. Tamizaje de la actividad antifúngica de extractos de especies de la flora de Entre Ríos. **Revista Cubana de Farmacia**, v. 43, n. 4, p. 74-84, 2009.

- MALDINI, M.; SOSA, S.; MONTORO, P.; GIANGASPERO, A.; BALICK, M. J.; PIZZA, C.; DELLA LOGGIA, R. Screening of the topical anti-inflammatory activity of the bark of *Acacia cornigera* Willdenow, *Byrsonima crassifolia* Kunth, *Sweetia panamensis* Yakovlev and the leaves of *Sphagneticola trilobata* Hitchcock. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 122, p. 430–433, 2009.
- MANZALI DE SÁ, I. ELISABETSKY, E. Medical knowledge exchanges between Brazil and Portugal: An ethnopharmacological perspective. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 142, p. 762–768, 2012.
- MATOS, F. J. A. Introdução à fitoquímica experimental, **edições UFC**, 1997.
- MARTINS, E. R., CASTRO, D. M., CASTELLANI, D. C.; DIAS, J. E. Plantas Medicinais. **Viçosa: UFV, Minas Gerais**, 1995.
- MARTINS, L. R. R.; MOURÃO, K. S. M.; ALBIERO, A. L. M.; CORTEZ, D. A. G.; DIAS-FILHO, B. P.; NAKAMURA, C. V. Estudo morfoanatômico preliminar do caule e da folha de *Acanthospermum australe* (Loefl.) Kuntze (Asteraceae-Heliantheae). **Revista Brasileira de Farmacognosia**, João Pessoa, v. 16, p. 42-52, 2006.
- MARTINEZ-CORREA, H. A.; CABRAL, F. A.; MAGALHÃES, P. M.; QUEIROGA, C. L.; GODOY, A. T.; SÁNCHEZ-CAMARGO, A. P.; PAVIANI, L. C. Extracts from the leaves of *Baccharis dracunculifolia* obtained by a combination of extraction processes with supercritical CO₂, ethanol and water. **The Journal of Supercritical Fluids**, v. 63, p. 31–39, 2012.
- MARTINEZ, M. J. A.; BESSA, A. L.; BENITO, P. B. Biologically active substances from the genus *Baccharis* L. (Compositae). **Studies in Natural Product Chemistry**, Karaki, v. 30, p. 703-759, 2005.
- MASSIGNANI, J. J.; LEMOS, M.; MAISTRO, E. L.; SCHAPHAUSER, H. P.; JORGE, R. F.; SOUSA, J. P. B.; BASTOS, J. K.; DE ANDRADE, S. F. Antiulcerogenic Activity of the Essential Oil of *Baccharis dracunculifolia* on Different Experimental Models in Rats. **Phytotherapy Research**, v. 23, p. 1355–1360, 2009.
- MCKAY, D. L.; BLUMBERG, J. B. A review of the bioactivity and potential health benefits of chamomile tea (*Matricaria recutita* L.), **Phytotherapy Research**, v. 20, n. 8, p. 619-33, 2006.
- MEJDOUB, R.; KATSIOTIS, S. Factors influencing the yield and the quality of the obtaining essential oil from the leaves of *Eucalyptus citriodora* Hook. Growing in Crete. **Scientia Pharmaceutica**. v. 66, p. 93-105, 1998.
- MENDES, F. R.; TABACH, R.; CARLINI, E. A. Evaluation of *Baccharis trimera* and *Davilla rugosa* in tests for adaptogen activity. **Phytotherapy Research**, Chichester, v. 21, n. 6, p. 517-522, 2007.
- MENDES, S.; NUNES, D. S.; MARQUES, M. B.; TARDIVO, R. C.; CHECHINEL FILHO, V.; SIMIONATTO, E. L.; WISNIEWSKI JUNIOR, A. Essential oil of *Baccharis semiserrata*, a source of spathulenol. **Publicatio UEPG Ciências**

Exatas e da Terra, Ciências Agrárias e Engenharias, v. 14, p. 241-245, 2008.

MERIC, C. Calcium oxalate crystals in some species of the tribe inuleae (Asteraceae). **Acta Biologica Cracoviensia Series Botanica**, v. 51, p. 105–110, 2009.

MERICLI, A. H. The lipophilic compounds of a Turkish *Matricaria chamomilla* variety with no chamazuline in the volatile oil. **International Journal of Crude Drug Research**, v. 28, p.145–7, 1990.

METCALFE, C. R.; CHALK, L. Anatomy of dicotyledons: leaves, stem, and woods in relation to taxonomy with notes on economic uses. **Oxford: Clarendon Press**, v. 2, 1950.

MIDORIKAWA, K.; BANSKOTA, A. H.; TEZUKA, Y.; NAGAOKA T.; MATSUSHIGE, K.; MESSAGE, D.; HUERTAS, A. A. G.; KADOTA, S. Liquid chromatography mass spectrometry analysis of propolis. **Phytochemical Analysis**, Bognor Regis, v. 12, n. 6, p. 366-373, 2001.

MIYAZAWA, M.; HISAMA, M. Antimutagenic Activity of Flavonoids from *Chrysanthemum morifolium*. **Bioscience, Biotechnology and Biochemistry**, v. 67, p. 2091–2099, 2003.

MIRALDI, E.; FERRI, S.; MOSTAGHIMI, V. Botanical drugs and preparations in the traditional medicine of West Azerbaijan (Iran). **Journal of Ethnopharmacology**, v. 75, p. 77–87, 2001.

MISSIMA, F.; DA SILVA FILHO, A. A.; NUNES, G. A.; BUENO, P. C. P.; DE SOUSA, J. P. B.; BASTOS, J. K.; SFORCIN, J. M. Effect of *Baccharis dracunculifolia* D.C. (Asteraceae) extracts and its isolated compounds on macrophage activation. **Journal of Pharmacy and Pharmacology**, v. 59, p. 463–468, 2007.

MIZUSHIMA Y.; KOBAYASHI, M. Interaction of anti-inflammatory drugs with serum proteins, especially with some biologically active proteins. **Journal of Pharmacy and Pharmacology**, v. 20, p. 169-173, 1968.

MØLGAARD, P.; HOLLER, J. G.; ASAR, B.; LIBERNA, I.; ROSENBAEKA, L. B.; JEBJERGA, C. P.; JØRGENSENA, L.; LAURITZENA, J.; GUZMANA, A.; ADSERSENA, A.; SIMONSENC, H. T. Antimicrobial evaluation of Huilliche plant medicine used to treat wounds. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 138, p. 219–227, 2011.

MOLT, O.; TRKA, A. Zusammensetzung des brasilianischen Vassoura-Oils (aus *Baccharis dracunculifolia*). **Parfum Kosmetik**, v. 64, p. 458-491, 1983.

MONTANHA, J. A.; MOELLERKE, P.; BORDIGNON, S. A. L.; SCHENKEL, E. P.; ROEHE, P. M. Antiviral Activity of Brazilian Plant Extracts. **Acta Farmacéutica Bonaerense**, v. 23, p. 183-186, 2004.

MOON, H. -I.; LEE, J. -H.; LEE, Y. -C.; KIM, K.-S. Antiplasmodial and cytotoxic activity of coumarin derivatives from dried roots of *Angelica gigas* Nakai *in vitro*. **Immunopharmacology and Immunotoxicology**, v. 33, p. 663–666, 2011.

MORAIS, L. A. S.; CASTANHA, R. F. Composição química do óleo essencial de duas amostras de carqueja (*Baccharis* sp.) coletadas em Paty do Alferes – Rio de Janeiro, **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, Botucatu, v.13, p. 628-632, 2011.

MORDUJOVICH-BUSCHIAZZO, P.; BALSÀ, E. M.; BUSCHIAZZO, H. O.; MANDRILE, E.; ROSELLA, M.; SCHINELLA, G.; FIORAVANTI, D. Anti-inflammatory activity of *Tanacetum vulgare*. **Fitoterapia**, v. 67, p. 319–322, 1996.

MORIMOTO, Y., SHIMOHARA, K., OSHIMA, S. & SUKAMOTO, T. Effects of the new anti-ulcer agent KB-5492 on experimental gastric mucosal lesions and gastric mucosal defensive factors, as compared to those of teprenone and cimetidine. **Japanese Journal of Pharmacology**, v. 57, p. 495-505, 1991.

MOREIRA, F. P.M.; COUTINHO, V.; MONTANHER, A. B. P.; CARO, M. S. B.; BRIGHENTE, I. M.C.; PIZZOLATTI, M. G.; MONACHE, F. D. Flavonóides e Triterpenos de *Baccharis pseudotenuifolia* – Bioatividade sobre *Artemia salina*. **Química Nova**, v. 26, p. 309-311, 2003.

MOREIRA, C. P. S.; DE OLIVEIRA, D. M.; SANTOS, C. N.; ZANI, C. L.; ALVES, T. M A. Platypodiol a novel clerodane diterpene from *Baccharis platypoda*. **Tetrahedron Letters**, p. 1-3, 2014.

MOSMANN, T. Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: application to proliferation and cytotoxicity assays. **Journal of Immunological Methods**, v. 65, n. 1, p. 55-63, 1983.

MOTA, K. S. L.; PITA, J. C. L. R.; ESTEVAM, E. C.; MEDEIROS, V. M.; TAVARES, J. F.; AGRA, M. F.; DINIZ, M. F. F. M.; SILVA, M. S.; BATISTA, L. M. Evaluation of the toxicity and antiulcerogenic activity of the ethanol extract of *Maytenus obtusifolia* Mart. Leaves. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 18, p. 441-446, 2008.

MS, 2010. Relação Nacional de Plantas Mediciniais de Interesse ao SUS. Ministério da Saúde.

http://portal.saude.gov.br/portal/arquivos/pdf/RENISUS_2010.pdf, acessado fevereiro 2014.

MOURA, R. S.; COSTA, S. S.; JANSEN, J. M.; SILVA, C. A.; LOPES, C. S.; BERNARDO-FILHO, M.; NASCIMENTO DA SILVA, V.; CRIDDLE, D. N.; PORTELA, B. N.; RUBENICH, L. M.; ARAUJO, R.G.; CARVALHO, L. C. (2002). Bronchodilator Activity of *Mikania glomerata* Sprengel on Human Bronchi and

Guinea-Pig Trachea. **Journal of Pharmacy and Pharmacology**, v. 54, n. 2, p. 249-256, 2002.

MÜLLER, J. Systematics of *Baccharis* (Compositae-Astereae) in Bolivia, including an overview of the genus. **Systematic Botany Monographs**, v. 76, p. 1-341, 2006.

MÜLLER, J. World checklist of *Baccharis* L. (Compositae–Astereae). Disponível em <<http://www2.uni-jena.de/biologie/spezbot/herbar/Baccharis.htm>>. Acesso em 14 Jan 2014, 2010.

MÜLLER, J. World checklist of *Baccharis* L. (Compositae–Astereae). Available from: <http://www.spezbot.uni-jena.de/wpcontent/uploads/2013/09/World-checklist-of-Baccharis-L..pdf>. (accessed 20 January 2015), 2013.

MUNARI, C. C.; ALVES, J. M.; BASTOS, J. K.; TAVARES, D. C. Evaluation of the genotoxic and antigenotoxic potential of *Baccharis dracunculifolia* extract on V79 cells by the comet assay. **Journal of Applied Toxicology**, v. 30, p. 22–28, 2010.

MUNARI, C. C.; FURTADO, R. A.; SANTIAGO, M. L.; MANHAS, S. S.; BASTOS, J. K.; TAVARES, D. C. Inhibitory effects of *Baccharis dracunculifolia* on 1,2-dimethylhydrazine-induced genotoxicity and preneoplastic lesions in rat colon. **European Journal of Cancer Prevention**, v. 23, p. 240-245, 2014.

NAPIMOGA, M. H.; YATSUDA, R. Scientific Evidence for *Mikania laevigata* and *Mikania glomerata* as a Pharmacological Tool. **Journal of Pharmacy and Pharmacology**, v. 62, n. 7, p. 809-820, 2010.

NAKASUGI, T.; KOMAI, K. Antimutagens in the Brazilian folk medicinal plant carqueja (*Baccharis trimera* Less.). **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v. 46, p. 2560-2564, 1998.

NATIONAL COMMITTEE FOR CLINICAL LABORATORY STANDARDS. Methods for dilution in antimicrobial susceptibility tests. Approved standard M2-A5. National Committee for Clinical Laboratory Standard, **Villanova, PA**, 1993.

NATIONAL COMMITTEE FOR CLINICAL LABORATORY STANDARDS. Reference method for broth dilution antifungal susceptibility testing of conidium-forming filamentous fungi. Proposed standard M38-P. National Committee for Clinical Laboratory Standard, **Wayne**, p. 28, 1998.

NAVES, Y. R.; **Bulletin de la Societe Chimique de France**, p. 1871, 1959.

NESSA, F.; ISMAIL, Z.; MOHAMED, N.; HARIS, M. R. H. M. Free radical-scavenging activity of organic extracts and of pure flavonoids of *Blumea balsamifera* DC leaves. **Food Chemistry**, v. 88, p. 243–252, 2004.

NESOM, G.; ROBINSON, H. XV. Tribe Astereae Cass. In: Kadereit, J. W. & Jeffrey, C. (eds.). The families and genera of vascular plants (K. Kubitzki series

editor), Vol. VIII. **Flowering plants: Eudicots: Asterales**. Springer, Berlin, p. 284-342, 2006.

NEVES, L. J.; SÁ, M. D. F. A. Contribuição ao Estudo de Plantas Medicinais *Mikania glomerata* Spreng. **Revista Brasileira de Farmácia**, v. 72, n. 2, p. 42-47, 1991.

NOGUEIRA, N. P. A.; REISA, P. A.; LARANJA, G. A. T.; PINTO, A. C.; AIUB C. A. F.; FELZENSZWALB, I.; PAES, M. C.; BASTOS, F. F.; BASTOS, V. L. F. C.; SABINO, K. C. C.; COELHO, M. G. P. In vitro and in vivo toxicological evaluation of extract and fractions from *Baccharis trimera* with anti-inflammatory activity. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 138, p. 513– 522, 2011.

NUÑO, G.; ZAMPINI, I. C.; ORDOÑEZ, R. M.; ALBERTO, M. R.; ARIAS, M. E.; ISLA, M. I. Antioxidant/Antibacterial Activities of a topical phytopharmaceutical formulation containing a standardized extract of *Baccharis incarum*, an extremophile plant species from Argentine Puna. **Phytotherapy Research**, v. 26, p. 1759–1767, 2012.

O'BRIEN, T. P.; FEDER, N.; McCULLY, M. E. Polychromatic staining of plant cell walls by toluidine blue O. **Protoplasma**, v. 59, p. 368-373, 1964.

OCAMPO, A. M. M.; ZULUAGA, C. A. L.; CÁRDENAS, J. E. P.; MEJÍA, G. I. Actividad antifúngica de los extractos acuosos de *Baccharis trinervis*, *Baccharis latifolia* y *Solanum dolichosepalum*. **Biosalud**, v. 5, p. 51-59, 2006.

OKEKE, M. J.; IROEGBU, C. U.; EZE, E. N.; OKOLI, A. S.; ESIMONE, C. O. Evaluation of extracts of the root of *Landolphia owerrience* for antibacterial activity. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 78, p. 119-127, 2001.

OLIVEIRA, F.; AKISUE, G. Fundamentos de farmacobotânica. 2. ed. **São Paulo: Atheneu**, 1997.

OLIVEIRA, F. Q.; ANDRADE-NETO, V.; KRETTLI, A. U.; BRANDÃO, M. G. L. New evidences of antimalarial activity of *Bidens pilosa* roots extract correlated with polyacetylene and flavonoids. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 93, pp. 39-42, 2004.

OLIVEIRA, A. C. P.; ENDRINGER, D. C.; AMORIN, L. A. S.; BRANDÃO, M. G. L.; COELHO, M. M. Effect of the extracts and fractions of *Baccharis trimera* and *Syzygium cumini* on glycaemia of diabetic and non-diabetic mice. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 102, p. 465-469, 2005.

OLIVEIRA, P. F.; NETO, M. A. B. M.; LEANDRO, L. F.; BASTOS, J. K.; DA SILVA FILHO, A. A.; TAVARES, D. C. In Vivo Antigenotoxicity of Baccharin, an Important Constituent of *Baccharis dracunculifolia* DC (Asteraceae). **Basic & Clinical Pharmacology & Toxicology**, v. 109, p. 35–41, 2011.

OLIVEIRA, C. B.; COMUNELLO, L. N.; LUNARDELLI, A.; AMARAL, R. H.; PIRES, M. G. S.; SILVA, G. L.; MANFREDINI, V.; VARGAS, C. R.; GNOATTO,

- S. C. B.; OLIVEIRA, J. R.; GOSMANN, G. Phenolic Enriched Extract of *Baccharis trimera* Presents Anti-inflammatory and Antioxidant Activities. **Molecules**, v. 17, p. 1113-1123, 2012.
- ONOFRE, S. B.; CANTON, M.; PIRES, P. A. Action of Essential Oils Obtained from *Baccharis coridifolia* D. C. (Asteraceae-Astereae) on the Activity of Antibiotics. **Advances in Microbiology**, v. 3, p. 166-170, 2013.
- ONOZATO, T.; NAKAMURA, C. V.; GARCIA CORTEZ, D. A.; DIAS FILHO, B. P.; UEDA-NAKAMURA, T. *Tanacetum vulgare*: antiherpes virus activity of crude extract and the purified compound parthenolide. **Phytotherapy Research**, v. 23, n. 6, p. 791–796, 2009.
- ORTEGA, G.G.; SCHENKEL, E. P.; ATHAYDE, M. L.; MENTZ, L. A. Brasilianische Phytotherapeutika- Ihre Rolle im Arzneimittelmarkt. **Dtsch. Apoth. Ztg.**, v. 129, p. 1847-1848, 1989.
- ORTINS, G. M. M.; AKISUE, G. Estudo morfo-histológico, *screening* fitoquímico, constantes físicas e análise cromatográfica da droga e extrato fluido visando controle de qualidade da espécie *Baccharis articulata* Pers. **Lecta**, Bragança Paulista, v. 18, p. 9-32, 2000.
- PADÍN, S. B.; FUSÉ, C.; URRUTIA, M. I.; DAL BELLO, G. M. Toxicity and repellency of nine medicinal plants against *Tribolium castaneum* in stored wheat. **Bulletin of Insectology**, v. 66, n. 1, p. 45-49, 2013.
- PÁDUA, B. C.; SILVA, L. D.; JÚNIOR, J. V. R.; HUMBERTO, J. L.; CHAVES, M. M.; SILVA, M. E.; PEDROSA, M. L.; COSTA, D. C. Antioxidant properties of *Baccharis trimera* in the neutrophils of Fisher rats. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 129, p. 381–386, 2010.
- PÁDUA, B. C.; JÚNIOR ROSSONI, J. V.; MAGALHÃES, C. L. B.; CHAVES, M. M.; SILVA, M. E.; PEDROSA, M. L.; DE SOUZA, G. H. B.; BRANDÃO, G. C.; RODRIGUES, I. V.; LIMA, W. G.; COSTA, D. C. Protective Effect of *Baccharis trimera* Extract on Acute Hepatic Injury in a Model of Inflammation Induced by Acetaminophen. **Hindawi Publishing Corporation Mediators of Inflammation**, p. 14, 2014.
- PALACIOS, P.; GUTKIND, G.; RONDINA, R. V. D.; TORRES, R.; COUSSIO, J. D. Genus *Baccharis*. II. Antimicrobial activity of *B. crispa* and *B. notoserghila*. **Planta Medica**, v. 49, p. 128, 1983.
- PALACIOS, S. M.; MAGGI, M. E.; BAZÁN, C. M.; CARPINELLA, M. C.; TURCO, M.; MUÑOZ, A.; ALONSO, R. A.; NUÑEZ, C.; CANTERO, J. J.; DEFAGO, M. T.; FERRAYOLI, C. G.; VALLADARES, G. R. Screening of Argentinian plants for pesticide activity. **Fitoterapia**, v. 78, p. 580–584, 2007.
- PANERO, J. L.; FUNK, V. A. The value of sampling anomalous taxa in phylogenetic studies: major clades of the Asteraceae revealed. **Molecular phylogenetics and evolution**, v. 47, p. 757-782, 2008.

PARK, Y. K.; ALENCAR, S. M.; AGUIAR, C. L.; Botanical origin and chemical composition of Brazilian própolis. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Davis, v. 50, n. 9, p. 2502-2506, 2002.

PARREIRA, N. A.; MAGALHÃES, L. G.; MORAIS, D. R.; CAIXETA, S. C.; DE SOUSA, J. P. B.; BASTOS, J. K.; CUNHA, W. R.; SILVA, M. L. A.; NANAYAKKARA, N. P. D.; RODRIGUES, V.; DA SILVA FILHO, A. A. Antiprotozoal, Schistosomicidal, and Antimicrobial Activities of the Essential Oil from the Leaves of *Baccharis dracunculifolia*. **Chemistry & Biodiversity**, v. 7, 2010.

PASSERO, L. F. D.; BONFIM-MELO, A.; CORBETT, C. E. P.; LAURENTI, M. D.; TOYAMA, M. H.; TOYAMA, D. O.; ROMOFF, P.; FÁVERO, O. A.; GRECCO, S. S.; ZALEWSKY, C. A.; LAGO, J. H. G. Anti-leishmanial effects of purified compounds from aerial parts of *Baccharis uncinella* C. DC. (Asteraceae). **Parasitology Research**, v. 108, p. 529–536, 2011.

PAUL, E. L.; LUNARDELLI, A.; CABERLON, E.; OLIVEIRA, C. B.; SANTOS, R. C. V.; BIOLCHI, V.; BASTOS, C. M. A.; MOREIRA, K. B.; NUNES, F. B.; GOSMANN, G.; OLIVEIRA, J. R. Anti-inflammatory and Immunomodulatory Effects of *Baccharis trimera* Aqueous Extract on Induced Pleurisy in Rats and Lymphoproliferation In Vitro. **Inflammation**, v. 32, n. 6, p. 419-425, 2009.

PEREIRA, N. A.; Publicação da Faculdade de Farmácia da UFRJ, **Rio de Janeiro**, 1982.

PEREIRA R. L. C.; IBRAHIM, T.; LUCCHETTI, L.; SILVA, A. J. R.; MORAES, V. L. G. Immunosuppressive and anti-inflammatory effects of methanolic extract and the polyacetylene isolated from *Bidens pilosa* L. **Immunopharmacology**, v. 43, p. 31-37, 1999.

PEREIRA, C. A.; DA COSTA, A. C. B. P.; MACHADO, A. K. S.; JÚNIOR, M. B.; ZÖLLNER, M. S. A. C.; JUNQUEIRA, J. C.; JORGE, A. O. C. Enzymatic activity, sensitivity to antifungal drugs and *Baccharis dracunculifolia* essential oil by *Candida* strains isolated from the oral cavities of breastfeeding infants and in their mothers' mand nipples. **Mycopathologia**, v. 171, p. 103–109, 2011.

PEREIRA, C. B.; FARAGO, P. V.; BUDEL, J. M.; PAULA, J. P.; FOLQUITTO, D. G.; MIGUEL, O. G.; MIGUEL, M. D. A new contribution to the Pharmacognostic Study of Carquejas: *Baccharis milleflora* DC., Asteraceae. **Acta Farmacéutica Bonaerense**, v. 33, p. 841, 2014.

PETENATTI, E. M.; PETENATTI, M. E.; CIFUENTE, D. A.; GIANELLO, J. C.; GIORDANO, O. S.; TONN, C. E.; DEL VITTO, L. A. Medicamentos Herbarios en el Centro-Oeste Argentino. VI. Caracterización y Control de Calidad de dos Especies de "Carquejas": *Baccharis sagittalis* y *B. triangularis* (Asteraceae). **Latin American Journal of Pharmacy**, v. 26, p. 201-208, 2007.

- PIZZOLATTI, M. G.; VERDI, L. G.; BRIGHENTE, I. M. C.; NEIVA, T. J. C.; SCHRIPSEMA, J.; BRAZ FILHO, R. Anticoagulant effect and constituents of *Baccharis illinita*. **Natural Product Communications**, v. 1, p. 37-42, 2006.
- PRADO, H. J.; VAN BAREN, C.; LIRA, P. D. L.; BANDONI, A. L.; ORFILA, E. El aceite esencial de *Baccharis tandilensis* Speg. Asteraceae. **Dominguezia**, v. 19, p. 20-14, 2003.
- PRICE, S.; PRICE, L. Aromatherapy for health professionals. 2^a ed. New York: **Churchill Livingstone**, 1999.
- PUJOL, I.; GUARRO, J.; LLOP, C.; SOLER, L.; FERNÁNDEZ-BALLART, J. Comparison study of broth macrodilution and microdilution antifungal susceptibility tests for the filamentous fungi. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 40, p. 2106-2110, 1996.
- QUEIROGA, C. L.; FUKAI, A.; MARSAIOLI, A. J. Composition of essential oil of Vassoura. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 1, p. 105-109, 1990.
- QUEIROGA, C. L.; FERRACINI, V. L.; MARSAIOLI, A. J. Three new oxygenates cadinanes from *Baccharis* species. **Phytochemistry**, Oxford, v. 42, p. 1097-1103, 1996.
- RESENDE, F. A.; ALVES, J. M.; MUNARI, C. C.; SENEDESE, J. M.; SOUSA, J. P. B.; BASTOS, J. K.; TAVARES, D. C. Inhibition of doxorubicin-induced mutagenicity by *Baccharis dracunculifolia*. **Mutation Research**, v. 634, p. 112–118, 2007.
- RETTA, D.; GATTUSO, M.; GATTUSO, S.; LIRA, P. D. L.; VAN BAREN, C.; BANDONI, A. Volatile constituents of five *Baccharis* species from northeastern Argentina. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 20, p. 1379-1384, 2009.
- REZENDE, T. P.; CORRÊA, J. O. A.; AARESTRUP, B. J. V.; AARESTRUP, F. M.; DE SOUSA, O. V.; AS SILVA FILHO, A. A. Protective Effects of *Baccharis dracunculifolia* Leaves Extract against Carbon Tetrachloride- and Acetaminophen-Induced Hepatotoxicity in Experimental Animals. **Molecules**, v. 19, p. 9257-9272, 2014.
- RIBEIRO, P. R. V.; GIRÃO, D. C. PIMENTA, A. T. A.; BRAZ-FILHO, R.; GUEDES, M. L. S.; SILVEIRA, E. R.; LIMA, M. A. S. Clerodane and patchoulene terpenes as new constituents from *Baccharis salzmannii* DC. **Biochemical Systematics and Ecology**, v. 50, p. 101–105, 2013.
- ROBBERS, J. E., SPEEDIE, M. K., TYLER, V. E. Farmacognosia e farmacobiocologia. **São Paulo: Premier**, p. 327, 1997.
- RODRIGO, G. C.; ALMANZA, G. R.; AKESSON, B.; DUAN, R. D. Antiproliferative activity of extracts of some Bolivian medicinal plants. **Journal of Medicinal Plants Research**, v. 4, p. 2204-2210, 2010.

RODRIGUES, C. R. F.; DIAS, J. H.; DE MELLO, R. N.; RICHTER, M. F.; PICADA, J. N.; FERRAZ, A. B. F. Genotoxic and antigenotoxic properties of *Baccharis trimera* in mice. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 125, p. 97–101, 2009.

RODRIGUEZ, M. V.; GATTUSO, S.; GATTUSO, M. *Baccharis crispa* y *Baccharis trimera* (Asteraceae): revisión y nuevos aportes para su normalización micrográfica. **Latin American Journal of Pharmacy**, La Plata, v. 27, p. 387-397, 2008.

RODRIGUEZ, M. V.; MARTÍNEZ, M. L.; CORTADI, A. A.; BANDONI, A.; GIULIANO, D. A.; GATTUSO, S. J.; GATTUSO, M. A. Characterization of three sect. *Caulopterae* species (*Baccharis*-Asteraceae) inferred from morphoanatomy, polypeptide profiles and spectrophotometry data. **Plant Systematics and Evolution**, v. 286, p. 175–190, 2010.

RODRIGUEZ, M. V.; MARTÍNEZ, M. L.; CORDATI, A.; CAMPAGNA, M. N.; DI SAPIO, O.; DERITA, M.; ZACCHINO, S.; GATTUSO, M. Quality Control of Herbal Medicines with Spectrophotometry and Chemometric Techniques – Application to *Baccharis* L. Species Belonging to Sect – *Caulopterae* DC. (Asteraceae). **Macro To Nano Spectroscopy**, Dr. Jamal Uddin (Ed.), p. 399-420, 2012.

ROESER, K. R. Die Nadel der Schwarzkiefer-Massenprodukt und Kunstwerk der Natur. **Mikrokosmos**, Stuttgart, v. 61, n. 2, p. 33 - 36, 1972.

ROQUE, N. F., GIANNELLA, T. L.; GIESBRECHT, A. M.; BARBOSA, R. C. C. B. C. **Revista Latinoamericana de Química**, v. 18, p. 110, 1987.

ROQUE, N.; BAUTISTA, H. Asteraceae: caracterização e morfologia floral; Ilustração : Natanael Santos & Maria Daniela Guimarães. - **Salvador: EDUFBA**, p. 73: il, 2008.

ROSAS-BURGOS, E. C. R.; CORTEZ-ROCHA, M. O.; PLASCENCIA-JATOMEA, M.; CINCO-MOROYOQUI, F. J.; ROBLES-ZEPEDA, R. E. LÓPEZ-CERVANTES, J.; SÁNCHEZ-MACHADO, D. I.; LARES-VILLA, F. The effect of *Baccharis glutinosa* extract on the growth of mycotoxigenic fungi and fumonisin B1 and aflatoxin B1 production. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, v. 27, p. 1025–1033, 2011.

ROSSELLI, S.; BRUNO, M.; RAIMONDO, F. M.; SPADARO, V.; VAROL, M.; KOPARAL, A. T.; MAGGIO, A. Cytotoxic effect of eudesmanolides isolated from flowers of *Tanacetum vulgare* ssp. *Siculum*. **Molecules**, v. 17, p. 8186–8195, 2012.

ROSSO, M. L.; MAIER, M. S.; BERTONI, M. D. Trichothecenes production by the Hypocrealean epibiont of *Baccharis coridifolia*. **Molecules**, v. 5, p. 345, 2000.

SÁ, M. F. A.; NEVES, L. J. Contribuição ao estudo das plantas medicinais *Baccharis myriocephala* DC. **Revista Brasileira de Farmácia**, Rio de Janeiro, v. 77, p. 88-96, 1996.

SALAZAR, W.; CÁRDENAS, J.; NÚÑEZ, M.; FERNÁNDEZ, I.; VILLEGAS, L.; PACHECO, L.; UNTIVEROS, G. Estudio fitoquímico y de la actividad anti-helmíntica de los extractos de *Euphorbia huanchahana* y *Baccharis salicifolia*. **Revista de la Sociedad Química del Perú**, v. 73, p. 150-157, 2007.

SALVADOR, M. J.; FERREIRA, E. O.; PRAL, E. M. F.; ALFIERI, S. C.; ALBUQUERQUE, S.; ITO, I. Y.; DIAS, D. A. Bioactivity of crude extracts and some constituents of *Blutaparon portulacoides* (Amaranthaceae). **Pytomedicine**, v. 9, p. 566-571, 2002.

SALVADOR, M. J.; PEREIRA, P. S.; FRANÇA, S. C.; CANDIDO, R. C.; ITO, I. Y.; DIAS, D. A. Comparative study of antibacterial and antifungal activity of callus culture and adults plants extracts from *Alternanthera maritima* (Amaranthaceae). **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 34, p. 131-136, 2003.

SALVADOR, M. J.; ZUCCHI, O. L. A. D.; CANDIDO, R. C.; ITO, I. Y.; DIAS, D. A. *In vitro* antimicrobial activity of crude extracts and isolated constituents of *Alternanthera maritima* (Amaranthaceae). **Pharmaceutical Biology**, v. 42, p. 138-148, 2004.

SALVADOR, M.J. Estudo químico, biológico e biotecnológico de *Alternanthera maritima* e *Alternanthera tenella* (Gomphreneae, Amaranthaceae). Doutorado (Doutorado em Ciências - Área Química), Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, **Ribeirão Preto**, p. 410, 2005.

SAN-MARTÍN, A.; ASTUDILLO, L.; GUTIÉRREZ, M.; CHAMY, M. C.; OREJARENA, S.; RIVERA, P.; VERGARA, K. 13-*Epi*-neoclerodanes from *Baccharis marginalis*. **Journal of the Chilean Chemical Society**, v. 55, p. 118-120, 2010.

SAN MARTÍN, A.; ROVIROSA, J.; BECKER, R.; CASTILLO, M. Diterpenoids from *Baccharis tola*. **Phytochemistry**, v. 19, p. 1985-1987, 1980.

SANTIN, J. R.; LEMOS, M.; JÚNIOR, L. C. K.; NIRO, R.; ANDRADE, S. F. Antiulcer effects of *Achyrocline satureoides* (Lam.) DC (Asteraceae) (Marcela), a folk medicine plant, in diferente experimental models. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 130, n. 2, p. 334–339, 2010.

SARTOR, T.; XAVIER, V. B.; FALCÃO, M. A.; MONDIN, C. A.; DOS SANTOS, M. A.; CASSEL, E.; ASTARITA, L. V.; SANTARÉM, E. R. Seasonal changes in phenolic compounds and in the biological activities of *Baccharis dentata* (Vell.) G.M. Barroso. **Industrial Crops and Products**, v. 51, p. 355– 359, 2013.

SASS, J. E. Botanical microtechnique. 2 ed. **Ames: Iowa State College**, 1951.

SCHNEIDER, A. A.; BOLDRINI, I. I. Ocorrência de *Baccharis opuntioides* Mart. ex Baker (Asteraceae: Astereae) para a região Sul do Brasil. **Revista Brasileira de Biociências**, v. 6, p. 137-139, 2008a.

SCHNEIDER, A. A.; BOLDRINI, I. I. Two new species of *Baccharis* sect. *Caulopterae* (Asteraceae: Astereae) from Southern Brazil. **Journal of Botanical Research Institute of Texas**, v. 2, p. 45-51, 2008b.

SCHNEIDER, A. A.; HEIDEN, G.; BOLDRINI, I. I. Notas nomenclaturais em *Baccharis* L. sect. *Caulopterae* DC. (Asteraceae). **Revista Brasileira de Biociências**, Porto Alegre, v. 7, n. 2, p. 225-228, 2009.

SCHNEIDER, A. A.; HEIDEN, G.; BOLDRINI, I. I. *Baccharis scopulorum*, a new species of section *Caulopterae* (Asteraceae: Astereae) from rocky cliffs of southern Brazil. **Phytotaxa**, v. 15, p. 9–14, 2011.

SCHREIBER, A.; CARLE, R.; REINHARD, E. On the accumulation of apigenina in chamomile flowers, **Planta Medica**, v. 56, p. 179-181, 1990.

SEAMANN, F. C. **The Botanical Review**, v. 48, n. 2, p. 122-594, 1982.

SEAMANN, F. C.; BOHLMANN, F.; ZDERO, C.; MABRY, T. J.; Diterpenes of Flowering Plants – *Compositae* (Asteraceae). **Springer-Verlag, New York**, 1990.

SHARMA, P. K.; CHAUHAN, N. S.; LAL, B. Observations on the traditional phytotherapy among the inhabitants of Parvati valley in western Himalaya, India. **Journal of the Ethnopharmacology**, v. 92, p. 167–176, 2004.

SHARP, H.; BARTHOLOMEW, B.; BRIGHT, C.; LATIF, Z.; SARKER, S. D.; NASH, R. J. 6-Oxygenated flavones from *Baccharis trinervis* (Asteraceae). **Biochemical Systematics and Ecology**, Oxford, v. 29, p. 105-107, 2001.

SKEHAN, P.; STORENG, R.; SCUDEIRO, D.; MONKS, A.; MCMAHOIN, J.; VISTICA, D.; WARREN, J. T.; BOKESCH, H.; KENNEY, S.; BOYD, M. R. New colorimetric cytotoxicity assay for anticancer-drug screening. **Journal of the National Cancer Institute**, v. 82, p. 1107, 1990.

SIANI, A. C.; SAMPAIO, A. L. F.; SOUZA, M. C.; HENRIQUES, M. G. M. O.; RAMOS, M. F. S. Óleos Essenciais: Potencial anti-inflamatório. **Biotecnologia: Ciência e Desenvolvimento**, v. 16, p. 38-43, 2000.

SILVA, F. G.; OLIVEIRA, C. B. A.; PINTO, J. E. B. P.; NASCIMENTO, V. E.; SANTOS, S. C.; SERAPHIN, J. C.; FERRI, P. H. Seasonal Variability in the Essential Oils of Wild and Cultivated *Baccharis trimera*. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 18, p. 990-997, 2007.

SILVA JÚNIOR, A. A. Plantas medicinais e aromáticas. **Itajaí: Epagri**, CD-ROM, 1997.

SIMIONATTO, E.; MOREL, A. F.; MALLMANN, A. S.; ILHA, V.; PORTO, C.; DALCOL, I. I. Chemical composition and antimicrobial activity of the volatile oil from *Baccharis articulata* (Lam.) Pers. **Journal of the Essential Oil Research**, v. 20, p. 366-368, 2008.

SIMIRGIOTIS, M. J.; GARCÍA, M.; SOSA, M. E.; GIORDANO, O. S.; TONN, C. E. Na ent-kaurene derivative from aerial parts of *Baccharis rufescens*. **The Journal of the Argentine Chemical Society**, v. 91, p. 109-116, 2003.

SIMÕES, C. M. O.; MENTZ, L. A.; SCHENKEL, E. P.; IRGANG, B. E., STEHMANN, J. R. Plantas da medicina popular no Rio Grande do Sul. 4ª ed. **UFRGS, Porto Alegre**, 173p, 1995.

SIMÕES, C. M. O.; SCHENKEL, E. P.; GOSMANN, G.; MELLO, J. C. P.; MENTZ, L. A.; PETROVICK, P. R. Farmacognosia: da planta ao medicamento. 3 ed. **Porto Alegre/ Florianópolis: UFRGS/ UFSC**, 821 p., 2000.

SIMÕES, C. M. O.; SPITZER, V. Óleos voláteis. In: SIMÕES, C. M. O.; SCHENKEL, E. P.; GOSMANN, G.; MELLO, J. C. P. D.; MENTZ, L. A.; PETROVICK, P. R. Farmacognosia da planta ao medicamento. Porto Alegre: **Editores da Universidade Federal do Rio Grande do Sul**, p. 387-415, 2000.

SIMÕES, C. M. O.; SCHENKEL, E. P.; GOSMANN, G.; MELLO, J. C. P.; MENTZ, L. A.; PETROVICK, P. R. Farmacognosia: da planta ao medicamento. 5 ed. **Porto Alegre/ Florianópolis: UFRGS/ UFSC**, p. 1102, 2004.

SIMÕES-PIRES, C. A.; DEBENEDETTI, S.; SPEGAZZINI, E.; MENTZ, L. A.; MATZENBACHER, N. I.; LIMBERGER, R. P.; HENRIQUES, A. T. Investigation of the essential oil from eight species of *Baccharis* belonging to sect. *Caulopterae* (Asteraceae, Astereae): a taxonomic approach, **Plant Systematics and Evolution**, v. 253, p. 23–32, 2005a.

SIMÕES-PIRES, C. A.; QUEIROZ, E. F.; HENRIQUES, A. T.; HOSTETTMANN, K. Isolation and On-line Identification of Antioxidant Compounds from Three *Baccharis* Species by HPLC-UV-MS/MS with Post-column Derivatization, **Phytochemical Analysis**, v. 16, p. 307–314, 2005b.

SIMONSEN, H. T.; RIEDEL, C.; GADE, L. B.; JEBJERG, C. P.; GUZMAN, A.; MØLGAARD, P. Chemical composition and antibacterial activity of the leaf essential oil of *Baccharis magellanica* (Lam.) Pers and *Baccharis elaeoides* Remy from Chile. **Journal of Essential Oil Research**, v. 21, p. 377-380, 2009.

SIQUEIRA, N. C. S. de; ALICE, C. B.; THIESEN, F. V. Aspectos farmacognósticos e perfil cromatográfico dos constituintes de *B. articulata* (Lam.) Pers. Compositae. **Caderno de Farmácia**, Porto Alegre, v. 4, n. 1/2, p. 63-76, 1988.

SOARES, S. F.; BRITO, L. C.; SOUZA, D. E.; BERNARDO, L. C.; OLIVEIRA, J. F.; BERNARDO-FILHO, M. Potential pitfalls in the nuclear medicine imaging: Experimental models to evaluate the effect of natural products on the radiolabeling of blood constituents, bioavailability of radiopharmaceutical and on

the survival of *Escherichia coli* strains submitted to the treatment with stannous ion. **Nuclear Instruments and Methods in Physics Research**, v. 569, p. 505–508, 2006.

SOICKE, H.; LENG-PESCHLOW, E. Characterization of flavonoids from *Baccharis trimera* and their anti-hepatotoxic properties. **Planta Medica**, Stuttgart, v. 53, p. 37-39, 1987.

SOSA, M. E.; LANCELLE, H. G.; TONN, C. E.; ANDRES, M. F.; GONZALEZ-COLOMA, A. Insecticidal and nematocidal essential oils from Argentinean *Eupatorium* and *Baccharis* spp. **Biochemical Systematics and Ecology**, v. 43, p. 132–138, 2012.

SOUSA, L. A.; GRATÃO, A. S.; LEITE, M. N.; ANDRADE, F. M. C.; CECEON, P. R.; FREITAS, G. B. Plasticidade fenotípica de *Baccharis genistelloides* subsp. *crispa* (Spreng.) Joch. Müll. (2006) – Asteraceae – sob manejo orgânico. **Revista Brasileira de Planta Médica**, v. 16, n. 2, p. 231-236, 2014.

SOUZA, W. Técnicas básicas de microscopia eletrônica aplicadas às Ciências Biológicas. Rio de Janeiro: **Sociedade Brasileira de Microscopia Eletrônica**, 1998.

SOUZA, V. C.; LORENZI, H. Botânica sistemática: guia ilustrado para identificação das famílias de angiospermas da flora brasileira, baseado em APG II. **São Paulo: Instituto Plantarum**, 2005.

SOUZA, S. P.; CARDOSO, M. G.; SOUZA, P. E.; GUIMARÃES, L. G. L.; ANDRADE, J.; MALLET, A. C. T.; NELSON, D. L. Óleo essencial de *Baccharis tridentata* Vahl: composição química, atividade antioxidante e fungitóxica, e caracterização morfológica das estruturas secretoras por microscopia eletrônica de varredura. **Revista Brasileira de Plantas Medicas**, Botucatu, v.13, p.456-466, 2011.

SOUZA, S. P.; PEREIRA, L. L. S.; SOUZA, A. A.; SANTOS, C. D. Seleção de extratos brutos de plantas com atividade antiobesidade. **Revista Brasileira de Plantas Medicas**, Botucatu, v. 14, n. 4, p. 643-648, 2012.

STOJANOVIC´, G., RADULOVI´C, N., HASHIMOTO, T., PALIC´, R. *In vitro* antimicrobial activity of extracts of four *Achillea* species: the composition of *Achillea clavennae* L. (Asteraceae) extract. **Journal of the Ethnopharmacology**, v. 01, p. 185–190, 2005.

SÜLSEN, V.; GÜIDA, C.; COUSSIO, J.; PAVETO, C.; MUSCHIETTI, L.; MARTINO, V. Martino *In vitro* evaluation of trypanocidal activity in plants used in Argentine traditional medicine. **Parasitology Research**, v. 98, p. 370–374, 2006.

SUYENAGA, E. S.; RECHE, E.; FARIAS, F. M.; SCHAPOVAL, E. E.; CHAVES, C. G.; HENRIQUES, A. T. Antiinflammatory Investigation of Some Species of *Mikania*. **Phytotherapy Research**, v. 16, p. 519-523, 2002.

- SZABO, S.; BROWN, A. Prevention of ethanol-induced vascular injury and gastric mucosal lesions by sucralfate and its components: possible role of endogenous sulfhydryls. **Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine**, v. 4, p. 493-497, 1987.
- TAKEDA, K.; HARBORNE, J. B.; SELF, R. Identification and distribution of malonated anthocyanins in plants of the Compositae. **Phytochemistry**, v. 5, p. 1337-1342, 1986.
- TAN P. V.; DIMO, T.; DONGO, E. Effects of methanol, cyclohexane and methylene chloride extracts of *Bidens pilosa* on various gastric ulcer models in rats. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 73, p.415-421, 2000.
- TAPIA, A.; RODRIGUEZ, J.; THEODULOZ, C.; LOPEZ, S.; FERESIN, G. E.; SCHMEDA-HIRSCHANN. Free radical scavengers and antioxidants from *Baccharis grisebachii*. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 95, p. 155–161, 2004.
- TARQUI, S. T.; SEGURA, Y. F.; VEJA, G. R. A. Polyoxygenated flavonoids from *Baccharis pentlandii*. **Revista Boliviana de Química**, v. 29, p. 10-14, 2012.
- TAVARES, E. S.; JULIÃO, L. S.; LOPES, D.; BIZZO, H. R.; LAGE, C. L. S.; LEITÃO, S. G. Análise do óleo essencial de folhas de três quimiotipos de *Lippia alba* (Mill.) N. E. Br. (Verbenaceae) cultivados em condições semelhantes. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 15, p. 1-5, 2005.
- TONN, C. E.; GIANELLO, J. C.; GUIDUGLI, F. H. **Anales de la Asociación Química Argentina**, v. 75, p. 5, 1987.
- TOREL, J.; CILLARD, P. Antioxidant activity of flavonoids and reactivity with peroxy radical. **Phytochemistry**, v. 25, p. 383-386, 1986.
- TORRES, C. V.; DOMÍNGUEZ, M. J.; CARBONARI, J. L.; SABINI, M. C.; ZANON, S. M. Study of antiviral and virucidal activities of aqueous extract of *Baccharis articulata* against *Herpes suis* vírus. **Natural Product Communications**, v. 7, p. 993-994, 2011.
- TOIGO, L.; OLIVEIRA, R. F.; OLIVEIRA, F.; MARQUES, M. O. M. Caracterização farmacobotânica, estudo do óleo essencial e atividade antimicrobiana da erva de São Simão *Vernonia scorpioides* (Lam.) Pers. **Revista Brasileira de Farmácia**, Rio de Janeiro, v. 85, p. 49-55, 2004.
- TYIHAK, E.; SARKANY-KISS, J; VERZAR-PETRI, G. Phytochemical investigation of apigenin glycosides of *Matricaria chamomilla*. **Pharmazie**, v. 17, p. 301–304, 1962.
- UEDA-NAKAMURA, T.; ATTIAS, M.; SOUZA, W. Megasome biogenesis in *Leishmania amazonensis*: a morphometric and cytochemical study. **Parasitology Research**, v. 87, p. 89-97, 2001.

VALAREZO, E.; ROSILLO, M.; CARTUCHE, L.; MALAGÓN, O.; MENESES, M.; OCHO, V. M. Chemical composition, antifungal and antibacterial activity of the essential oil from *Baccharis latifolia* (Ruiz & Pav.) Pers. (Asteraceae) from Loja, Ecuador. **Journal of Essential Oil Research**, v. 25, p. 233-238, 2013.

VALDÉS, H. A. L.; REGO, H. P. L. *Bidens pilosa* Linné. **Revista Cubana de Planta Medica**, v. 1, p. 28-33, 2001.

VAN DEL DOOL, H.; KRATZ, P. A generalization of the retention index system including linear temperature programmed gas-liquid partition chromatography. **Journal of Chromatography**, v. 11, p. 463-471, 1963.

VANNINI, A. B.; SANTOS, T. G.; FLEMING, A. C.; PURNHAGEN, L. R. P.; LOURENÇO, L. A. BUTZKE, E. T.; KEMPT, M.; BEGNINI, I. M.; REBELO, R. A.; DALMARCO, E. M.; BELLA CRUZ, A.; SCHMIT, A. P.; CRUZ, R. C. B.; YAMANAKA, C. N.; STEINDEL, M. Chemical characterization and antimicrobial evaluation of the essential oils from *Baccharis uncinella* D.C. and *Baccharis semiserrata* D.C. (Asteraceae). **The Journal of Essential Oil Research**, v. 24, n. 6, p. 547–554, 2012.

VARGAS, R. M. F.; CASSEL, E.; GOMES, G. M. F.; LONGHI, L. G. S.; ATTI-SERAFINI, L.; ATTI-SANTOS, A. C. Supercritical extraction of Carqueja essential oil: Experiments and modeling. **Brazilian Journal of Chemical Engineering**. Vol. 23, p. 375 - 382, 2006.

VERDI, L.G.; BRIGHENTE, I. M. C.; SCHRIPSEMA, J.; BRAZ FILHO, R.; PIZZOLATTI, M. G. Kaurene diterpenes and flavonoids from *Baccharis illinita* flowers. **Biochemical Systematics and Ecology**, v. 32, p. 837–840, 2004.

VERDI, L. G.; BRIGHENTE, I. M. C.; PIZZOLATTI, M. G. Gênero *Baccharis* (ASTERACEAE): Aspectos químicos, econômicos e biológicos. **Química Nova**, v. 28, n. 1, p. 85-94, 2005.

VILLAGÓMEZ, J. R.; MOLLINEDO, P.; ALMANZA, G. R. (*E*)-3-Prenil-4-hidroxicinamato de metilo de *Baccharis santellicis*. **Revista Boliviana de química**, v. 23, p. 13-18, 2006.

VIVOT, E. P.; SÁNCHEZ, C.; CACIK, F.; SEQUIM, C. Atividade antibacteriana em plantas medicinales de la flora de Entre Ríos (Argentina). **Ciências Excatas y Naturales**. n. 45, p. 165-185, 2012.

VOLPATO, H.; DESOTI, V. C.; COGO, J.; PANICE, M. R.; SARRAGIOTTO, M. H.; SILVA, S. O.; UEDA-NAKAMURA, T.; NAKAMURA, C. V.; **Evid Based Complement Alternat Med.**, v. 2013, p. 1-7, 2013.

XAVIER, M. V. A.; BRITO, S. S. S.; OLIVEIRA, C. R. F.; MATOS, C. H. C.; PINTO, M. A. D. S. C. Óleo essencial de *Baccharis trimera* (Less.) DC. sobre o potencial fisiológico de sementes de feijão caupi. **Revista Brasileira de Planta Medica**, Botucatu, v. 14, p. 214-217, 2012.

YAEESH, S., JAMAL, Q., KHAN, A. U., GILANI, A. H. Studies on hepatoprotective, antispasmodic and calcium antagonist activities of the aqueous-methanol extract of *Achillea millefolium*. **Phytotherapy Research**, v. 20, p. 546–551, 2006.

YAMAMOTO, E. S.; CAMPOS, B. L. S.; LAURENTI, M. D.; LAGO, J. H. G.; GRECCO, S. S.; CORBETT, C. E. P.; PASSERO, F. D. Treatment with triterpenic fraction purified from *Baccharis uncinella* leaves inhibits *Leishmania* (*Leishmania*) *amazonensis* spreading and improves Th1 immune response in infected mice. **Parasitology Research**, v. 113, p. 333–339, 2014.

YOSHIKAWA, M.; MURAKAMI, T.; KISHI, A.; KAGEURA, T.; MATSUDA, H. Medicinal flowers. III. Marigold. (1): Hypoglycemic, gastric emptying inhibitory, and gastroprotective principles and new oleanane-type triterpene oligoglycosides, calendasaponins A, B, C, and D, from Egyptian *Calendula officinalis*. **Chemical and Pharmaceutical Bulletin**, v. 49, p. 863-870, 2001.

WAGNER, H.; SEITZ, R.; LOTTER, H. New Furanoid ent-Clerodanes from, *Baccharis tricuneata*. **Journal of Organic Chemistry**, v. 43, p. 3339-3345, 1978.

WATANABE, T. M.; RAMBO, M. F.; MARQUES, L. C. Caracterização farmacognóstica de espécies de *Baccharis* comercializadas como carqueja. **Revista Racine**, São Paulo, v. 15, p. 90-95, 2005.

WIRTHENSOHN, M. G.; SEDGLEY, M. Effect of pruning on regrowth or cut foliage stems of seventeen Eucalyptus species. **Australian Journal of Experimental Agriculture**, v. 38, p. 631-636, 1998.

WU, T. –S.; CHANG, F. –C.; WU, P. –L.; KUOH, C. –S.; CHEN, I. –S. Constituents of leaves of *Tetradium glabrifolium*. **Journal of the Chinese Chemical Society**, v. 42, p. 929-934, 1995.

ZAMPINI, I. C.; ISLA, M. I.; SCHMEDA-HIRSCHMANN, G. Antimicrobial and antioxidante compounds from the infusion and methanolic extract of *Baccharis incarum* (Wedd.) Perkins. **Journal of the Chilean Chemical Society**, v. 54, p. 477-481, 2009.

ZALEWSKI, C. A.; PASSERO, L. F. D.; MELO, A. S. R. B.; CORBETT, C. E. P.; LAURENTI, M. D.; TOYAMA, M. H.; TOYAMA, D. O.; ROMOFF, P.; FÁVERO, O. A.; LAGO, J. H. G. Evaluation of anti inflammatory activity of derivatives from aerial parts of *Baccharis uncinella*. **Pharmaceutical Biology**, v. 49, p. 602–607, 2011.

ZAPATA, B.; DURÁN, C.; STASHENKO, E.; BETANCUR-GALVIS, L.; MESA-ARANGO, A. C. Actividad antimicótica y citotóxica de aceites esenciales de plantas de la familia Asteraceae. **Revista Iberoamericana de Micología**, v. 27, p. 101–103, 2010.

ZIELINSKI, A. A. F.; HAMINIUK, C. W. I.; ALBERTI, A.; NOGUEIRA, A.; DEMIATE, I. M.; GRANATO, D. A comparative study of the phenolic compounds and the in vitro antioxidant activity of different Brazilian teas using multivariate statistical techniques. **Food Research International**, v. 60, p. 246-254, 2014.

ZUNINO, M. P.; NOVILLO-NEWTON, M.; MAESTRI, D. M.; ZYGADLO, J. A. Composition of the Essential Oil of *Baccharis crispa* Spreng. and *Baccharis salicifolia* Pers. Grown in Cordoba (Argentina). **Flavour and Fragrance Journal**, v. 12, p. 405-407, 1997.

ZUNINO, M. P.; NEWTON, M. N.; MAESTRI, D. M.; ZYGADLO, J. A. Essential oils of three *Baccharis* species. **Planta Medica**, v. 64, p. 86-87, 1998.

ZUNINO, M. P.; LÓPEZ, M. L.; ZYGADLO, J. A.; LÓPEZ, A. G. Essential oil composition of *Baccharis articulata* (Lam.) Pers., **Journal Essential Oil Research**, v. 16, p. 29-30, 2004.

ANEXOS

ANEXO 1 - ARTIGO PUBLICADO: JASINSKI, V. C. G.; DA SILVA, R. Z.; PONTAROLO, R.; BUDEL, J. M.; CAMPOS, F. R. Morfo-anatomical characteristics of *Baccharis glaziovii* in support of its pharmacobotany. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 24, p. 609-616, 2014.

Rev Bras Farmacogn 24(2014): 609-616



Original article

Morpho-anatomical characteristics of *Baccharis glaziovii* in support of its pharmacobotany



Vanessa C.G. Jasinski^a, Rosi Z. da Silva^b, Roberto Pontarolo^a, Jane M. Budel^{b,*}, Francinete R. Campos^{a,*}

^aCentro de Estudos em Biofarmácia, Departamento de Farmácia, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, PR, Brazil

^bLaboratório de Farmacognosia, Departamento de Ciências Farmacêuticas, Universidade Estadual de Ponta Grossa, Ponta Grossa, PR, Brazil

ANEXO 2 - ARTIGO PUBLICADO: CAMPOS, F. R.; BRESSAN, J.; JASINSKI, V. C. G.; ZUCCOLOTTO, T.; DA SILVA, L. E.; CERQUEIRA, L. B. *Baccharis* (Asteraceae): Chemical Constituents and Biological Activities. **Chemical Biodiversity**, v. 13, p. 1-18, 2016.

Chem. Biodiversity 2016, 13, 1–17

1

REVIEW

Baccharis (Asteraceae): Chemical Constituents and Biological Activities

by Francinete Ramos Campos*, Jaqueline Bressan, Vanessa Cristina Godoy Jasinski, Tatiana Zuccolotto, Luiz Eduardo da Silva, and Leticia Bonancio Cerqueira

Departamento de Farmácia, Universidade Federal do Paraná (UFPR), 80210-170, Curitiba, PR, Brasil
(phone: +55-41-33604162; e-mail: francampos@ufpr.br)

ANEXO 3 - DEPÓSITO DE PATENTE: CAMPOS, F. R.; JASINSKI, V. C. G.; BELTRAME, F. L.; MINOZZO, B. R. Atividade antiúlcera de extratos, frações e compostos isolados, processo de obtenção e uso da espécie *Baccharis glaziovii* Baker (ASTERACEAE)'. 2015, Brasil. Patente: Privilégio de Inovação. Número do registro: BR1020150243049, data de depósito: 22/09/2015, título: Atividade antiúlcera de extratos, frações e compostos isolados, processo de obtenção e uso da espécie *Baccharis glaziovii* Baker (ASTERACEAE), Instituição de registro: INPI - Instituto Nacional da Propriedade Industrial. Instituição(ões) financiadora(s): Universidade Federal do Paraná; Universidade Estadual de Ponta Grossa.



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ
AGÊNCIA DE INOVAÇÃO UFPR



TERMO DE RESPONSABILIDADE

Eu, **Profa. Dra. Francinete Ramos Campos**, CPF/MF nº 441.389.032-91, RG nº 10733523, lotada na Rua Lothário Miessner, nº 632, CEP80210-170, Curitiba/PR, na condição de fiscal do contrato, DECLARO estar ciente e agir de acordo com as responsabilidades derivadas das regras e normas da UFPR assim como do Contrato de Co-titularidade de Propriedade Intelectual UFPR nº. 23075.113279/2016-98, referente ao pedido de patente intitulado: "ATIVIDADE ANTIÚLCERA DE EXTRATOS, FRAÇÕES E COMPOSTOS ISOLADOS, PROCESSO DE OBTENÇÃO E USO DA ESPÉCIE *Baccharis glaziovii* Baker (ASTERACEAE)".

PRÓ-REITORIA DE PLANEJAMENTO, ORÇAMENTO E FINANÇAS

EXTRATO DE CONTRATO

Processo UFPR: 23075.113279/2016-98

Partes: Universidade Federal do Paraná - UFPR e Universidade Estadual de Ponta Grossa - UEPG

Resumo do Objeto: reconhecimento mútuo de direitos e obrigações sobre a propriedade intelectual, no Brasil e no exterior, da patente de invenção a ser depositada: "Atividade antiúlcera de extratos, frações e compostos isolados, processo de obtenção e uso da espécie *Baccharis glaziovii* Baker (Asteraceae)"

Vigência: vigorará durante o período de vigência do objeto de proteção do contrato, inserido no âmbito do direito de propriedade intelectual.

Data de assinatura: 17 de março de 2016

Assina pela UFPR: Zaki Akel Sobrinho - Reitor

Assina pela UEPG: Carlos Luciano Sant'Ana Vargas - Reitor