

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

TATIANA ZUCCOLOTTO

IDENTIFICAÇÃO DE CONSTITUINTES QUÍMICOS DE *Baccharis organensis* BAKER E AVALIAÇÃO DAS ATIVIDADES BIOLÓGICAS DOS EXTRATOS E FRAÇÕES DAS PARTES AÉREAS DE *Baccharis aracatubaensis* MALAG. E *Baccharis organensis* BAKER (ASTERACEAE)

CURITIBA

2017

TATIANA ZUCCOLOTTO

**IDENTIFICAÇÃO DE CONSTITUINTES QUÍMICOS DE *Baccharis organensis*
BAKER E AVALIAÇÃO DAS ATIVIDADES BIOLÓGICAS DOS EXTRATOS E
FRAÇÕES DAS PARTES AÉREAS DE *Baccharis aracatubaensis* MALAG. E
Baccharis organensis 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.

Orientador: Prof. Dr^a Francinete Ramos Campos

CURITIBA

2017

Zuccolotto, Tatiana

Identificação de constituintes químicos de *Baccharis organensis* Baker e avaliação das atividades biológicas dos extratos e frações das partes aéreas de *Baccharis aracatubaensis* Malag. e *Baccharis organensis* Baker (Asteraceae) / Tatiana Zuccolotto - Curitiba, 2017.

189 f. : il. (algumas color.) ; 30 cm

Orientadora: Professora Dra. Francinete Ramos Campos

Tese (doutorado) – Programa de Pós Graduação em Ciências Farmacêuticas, Setor de Ciências da Saúde. Universidade Federal do Paraná.

Inclui bibliografia

1. *Baccharis*. 2. Antioxidante. 3. Óleos essenciais. 4. Terapêutica. 5. Espectrometria de massas. I. Campos, Francinete Ramos. II. Universidade Federal do Paraná.
III. Título.

CDD 615.321



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
Setor CIÊNCIAS DA SAÚDE
Programa de Pós-Graduação CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

TERMO DE APROVAÇÃO

Os membros da Banca Examinadora designada pelo Colegiado do Programa de Pós-Graduação em CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS da Universidade Federal do Paraná foram convocados para realizar a arguição da tese de Doutorado de **TATIANA ZUCCOLOTTO** intitulada: **IDENTIFICAÇÃO DE CONSTITUINTES QUÍMICOS DE *Baccharis organensis* BAKER E AVALIAÇÃO DAS ATIVIDADES BIOLÓGICAS DOS EXTRATOS E FRAÇÕES DAS PARTES AÉREAS DE *Baccharis aracatubaensis* MALAG. E *Baccharis organensis* BAKER (ASTERACEAE)**, após terem inquirido a aluna e realizado a avaliação do trabalho, são de parecer pela sua APROVAÇÃO.

Curitiba, 27 de Abril de 2017.

FRANCINETE RAMOS CAMPOS

Presidente da Banca Examinadora (UFPR)

JOICE MARIA DA CUNHA

Avaliador Externo (UFPR)

DANIELA FLORÊNCIO MALUF

Avaliador Externo (UFPR)

FLÁVIO LUIS BELTRAME

Avaliador Externo (UEPG)

ANGELA CRISTINA LEAL BADARÓ TRINDADE

Avaliador Externo (UFPR)

“O valor das coisas não está no tempo que elas duram, mas na intensidade com que acontecem. Por isso, existem momentos inesquecíveis, coisas inexplicáveis e pessoas incomparáveis.”

Fernando Pessoa

AGRADECIMENTOS

A **Deus**, por ter me dado o privilégio da realização deste trabalho, por sempre ter iluminado meu caminho e ter me dado forças para continuar e nunca desistir;

Aos meus pais, **Adair e Noely**, pela confiança, carinho e dedicação. Por me mostrarem o significado de união, lealdade e honra; e por terem me dado todo o suporte e apoio nas minhas decisões. Amo-os incondicionalmente;

À minha pequena **Júlia**, que sem saber ao certo, dividiu o tempo de convívio com a mãe e com esta tese. Obrigada pela alegria contagiante que me concede diariamente;

Aos meus tios **Décio e Suzete** por me acolherem, acreditarem neste sonho e compartilharem momentos maravilhosos;

À minha orientadora Prof^a **Dra Francinete Ramos Campos**. Foste muito mais que minha orientadora: uma grande amiga, companheira e incentivadora, mesmo nos momentos mais difíceis. Agradeço por todos os conselhos e pelos ensinamentos valiosos sobre a ciência e a vida;

Ao Centro de Ressonância Magnética Nuclear da UFPR, em especial ao Prof. **Dr. Andersson Barison** pelos valiosos ensinamentos em RMN e à **MSc. Livia Dutra** pela ajuda na elucidação das estruturas e pelas muitas análises de RMN;

Ao Prof. **Dr. Marcos José Salvador**, do Instituto de Biologia Vegetal – UNICAMP, pelos ensinamentos e colaboração na realização das análises de CG-EM, ensaios de atividade antioxidante e por ter nos acolhidos no seu laboratório;

Ao Prof. **Dr. Fabio Seigi Murakami**, do Laboratório de Controle de Qualidade II – UFPR, pelos ensinamentos e colaboração no teste de atividade antimicrobiana;

À Prof. **Dra. Jane Manfron Budel** por sempre incentivar este trabalho e por todos os seus ensinamentos sobre *Baccharis*;

Ao Prof. **Dr. Roberto Pontarolo** pelo apoio e por sempre incentivar a realização deste trabalho;

Ao especialista em *Baccharis*, **Dr. Gustavo Heiden**, e ao Museu Botânico Municipal de Curitiba (MBM) pelo auxílio na identificação das espécies;

Aos amigos **Allan, Elidiana, Estevan, Jane, Jaqueline, Leticia “black”, Leticia “white”, Paola e Rodrigo** muito obrigada por estarem sempre presentes, seja cientificamente ou em programas improvisados, mas sempre tornando o trabalho muito melhor e mais divertido. É difícil lembrar de alguma situação onde vocês não se fizeram presentes.

Ao meu amigo-irmão **Estevan Bruginski**, meu muito obrigada pela parceria, pela convivência e sobretudo, pela amizade.

A todos os demais docentes do Departamento de Farmácia que contribuíram para minha formação;

Ao **Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas** da UFPR por ter me concedido a oportunidade de crescimento profissional e pessoal;

À **CAPES** (Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior) pela concessão da bolsa;

Meus sinceros agradecimentos a todos que contribuíram direta ou indiretamente para a conclusão deste trabalho.

Muito obrigada!!

RESUMO

Baccharis L. (Asteraceae) contém aproximadamente 400 espécies, sendo que 178 estão catalogadas no Brasil, principalmente nas regiões Sul, Sudeste e Centro-Oeste. Esse gênero tem sido descrito na literatura por apresentar várias propriedades biológicas, tais como atividade antioxidante, anti-inflamatória, citotóxica, leishmanicida, tripanocida, anti-hipertensiva, hipoglicemiante, diurética, digestiva e antimicrobiana. Tendo em vista o potencial terapêutico do gênero, o presente trabalho teve como objetivos caracterizar os constituintes químicos e avaliar as atividades antioxidante e antimicrobiana de *B. aracatubaensis* Malag. e *B. organensis* Baker. Os indivíduos masculinos e femininos, de ambas as espécies, foram coletados no município de Piraquara-PR, durante o período de floração. A partir do material botânico coletado foram separadas as inflorescências de *B. aracatubaensis* e *B. organensis* para extração do óleo essencial. Este foi obtido através de hidrodestilação em aparelho de Clevenger modificado e os constituintes químicos foram identificados por CG-EM. Foi possível identificar um total de 25 compostos para *B. aracatubaensis* e 32 para *B. organensis*. Os componentes majoritários (masc./fem.) de *B. aracatubaensis* foram γ -muuroleno (21,4/23,9%), biciclogermacreno (21,4/21,7%), β -cariofileno (10,9/12,7%), δ -cadineno (6,6/8,2%) e limoneno (5,5% apenas para o indivíduo masculino). Já em *B. organensis* foram identificados como majoritários (masc./fem.), viridiflorol (23,0/11,9%), biciclogermacreno (15,2/15,1%), γ -muuroleno (6,8/10,4%), epiglobulol (7,4/6,4%). Os compostos α -cadinol e curcufenol (7,5% e 5,9%, respectivamente) foram majoritários somente para os indivíduos masculinos de *B. organensis*. Os extratos brutos foram obtidos a partir da extração hidroalcoólica das folhas de *B. aracatubaensis* e *B. organensis*, sendo indivíduos masculinos (**Ba-M e Bo-M**) e femininos (**Ba-F e Bo-F**), respectivamente. A análise de espectros de RMN de ^1H dos extratos masculinos e femininos, de ambas as espécies, apresentaram perfil químico muito semelhante. Assim os extratos **Ba-F e Bo-F** foram fracionados por procedimentos cromatográficos e as frações de **Bo-F** analisadas por técnicas de RMN de ^1H e espectrometria de massas, resultando na identificação de 19 substâncias: 3-(3,4,5-trimetoxifenil)-prop-2-en-1-al, ácido *trans*-ferúlico, 1-etoxietil-3,5-dimetoxi-4-hidroxifenol, siringaldeído, cafeato de etila, cirsimarina, hispidulina, apigenina, ácido *trans*-isoferúlico, ferulato de etila, ácido siringico, ácido cafeico, álcool siringico, 8-metoxi apigenina, cafeato de 4'-O- β -D-glucopiranosil-3',5'-dimetoxibenzila, kaempferol, ácido 3,5-dicafeoilquínico, escopoletina e ácido tricafeoilquínico. Também foram realizadas avaliação *in vitro* das atividades antioxidante (DPPH e ORAC_{FL}) e antimicrobiana (técnica de microdiluição) dos óleos essenciais, extratos e frações de ambas as espécies. Todas as amostras apresentaram atividade antioxidante promissora. No ensaio antimicrobiano os extratos e frações apresentaram atividade que variou de moderada a fraca, entretanto, os óleos essenciais não apresentaram atividade antimicrobiana frente aos micro-organismos testados.

Palavras-chave: *Baccharis*, atividade biológica, RMN, CG-EM, espectrometria de massas.

ABSTRACT

Baccharis L. (Asteraceae) contains approximately 400 species, of that 178 are cataloged in Brazil, mainly in the Sul, Sudeste, and Centro-Oeste regions. This genus has been described in the literature due the several biological properties, such as antioxidant, anti-inflammatory, cytotoxic, leishmanicidal, trypanocidal, antihypertensive, hypoglycemic, diuretic, digestive, and antimicrobial. Considering the therapeutic potential of the genus, the present work had as objectives to characterize the chemical constituents and to evaluate the antioxidant and antimicrobial activities of the *B. aracatubaensis* Malag. and *B. organensis* Baker. The male and female individuals of both species were collected in the municipality of Piraquara-PR, during the flowering period. The inflorescences of *B. aracatubaensis* and *B. organensis* were extracted to obtain the essential oils. The was obtained by hydrodistillation in a modified Clevenger apparatus and the chemical constituents were identified by GC-MS. It was possible to identify a total of 25 compounds for *B. aracatubaensis* and 32 for *B. organensis*. The major components (male / female) of *B. aracatubaensis* were γ -muurolene (21.4 / 23.9%), bicyclogermacrene (21.4 / 21.7%), β -caryophyllene (10.9 / 12), α -cadinene (6.6 / 8.2%) and limonene (5.5% for male subjects only). In the *B. organensis*, the majorities (male / female), viridiflorol (23.0 / 11.9%), bicyclogermacrene (15.2 / 15.1%), γ -muurolene (6,8 / 10.4%), epiglobulol (7.4 / 6.4%). The compounds α -cadinol and curcufenol (7.5% and 5.9%, respectively) were predominant only for male individuals of *B. organensis*. The crude extracts were obtained from the hydroalcoholic extraction of the leaves of *B. aracatubaensis* and *B. organensis*, being male (**Ba-M** and **Bo-M**) and female (**Ba-F** and **Bo-F**) respectively. The analysis of ^1H NMR spectra of male and female extracts of both species presented a very similar chemical profile. Thus, the Ba-F and Bo-F extracts were fractionated by chromatographic procedures and the Bo-F fractions analyzed by ^1H NMR and mass spectrometry techniques, resulting in the identification of 19 substances: 3-(3, 4, 5-trimethoxyphenyl)propenal acetate, *trans*-ferulic acid, 1-ethoxyethyl-3,5-dimethoxy-4-hydroxyphenol, syringaldehyde, ethyl caffeate, cirsimaritin, apigenin, *trans*-isoferulic acid, ethyl ferulate, syringic acid, caffeic acid, siringeal alcohol, 4'-glucopyranosyl-3', 5'-dimethoxybenzyl caffeate, kaempferol, 3,5-dicaffeoyl quinic acid, scopoletin and trycaffeoyl quinic acid. Were also evaluated the antioxidant (DPPH and ORAC_{FL}) and antimicrobial (microdilution technique) *in vitro* activities of essential oils, extracts and fractions of both species. All the samples presented promising antioxidant activity. In the antimicrobial assay the extracts and fractions presented activity that varied from moderate to weak, however, the essential oils did not present antimicrobial activity against the tested microorganisms.

Keywords: *Baccharis*, biologic activity, NMR, GC-MS, mass spectrometry.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

FIGURA 1 – AGRUPAMENTO DAS CLASSIFICAÇÕES TAXÔNICAS DA ASTERACEAE	35
FIGURA 2 – POSIÇÃO TAXONÔMICA DO GÊNERO <i>Baccharis</i> NA FAMÍLIA ASTERACEAE	37
FIGURA 3 – ROTA METABÓLICA DE FORMAÇÃO DOS COMPOSTOS FENÓLICOS PELA VIA DO CHIQUIMATO	43
FIGURA 4 – ESQUELETO BÁSICO DE FLAVONOIDES	44
FIGURA 5 – ESTRUTURA QUÍMICA DOS ÁCIDOS HIDROXIBENZÓICOS (A) E HIDROXICINÂMICOS (B)	44
FIGURA 6 – SÍNTESE DE TERPENÓIDES PELA VIA BIOSSINTÉTICA DO MEVALONATO	46
FIGURA 7 – <i>Baccharis aracatubaensis</i> MALAG.	48
FIGURA 8 – <i>Baccharis organensis</i> Baker	49
FIGURA 9 – ANÁLISE DO PERFIL QUÍMICO POR RMN DE ¹ H (600 MHz, CD ₃ OD) DOS EXTRATOS BRUTOS DAS FOLHAS DE <i>B. aracatubaensis</i> MASCULINA (Ba-M) E <i>B. aracatubaensis</i> FEMININA (Ba-F)	66
FIGURA 10 – AMPLIAÇÃO DA REGIÃO ESPECTRAL DE 8,0-6,0 PPM OBTIDA DO EXPERIMENTO DE RMN DE ¹ H DA FIGURA 9.....	66
FIGURA 11 – ANÁLISE DO PERFIL QUÍMICO POR RMN DE ¹ H (600 MHz, CD ₃ OD) DOS EXTRATOS BRUTOS DAS FOLHAS DE <i>B. organensis</i> MASCULINA (Bo-M) E <i>B. organensis</i> FEMININA (Bo-F)	67
FIGURA 12 – AMPLIAÇÃO DA REGIÃO ESPECTRAL DE 8,0-6,0 PPM OBTIDA DO EXPERIMENTO DE RMN DE ¹ H DA FIGURA 11.....	67
FIGURA 13– EXPERIMENTO DE VARREDURA NO MODO NEGATIVO DE IONIZAÇÃO DOS EXTRATOS BRUTOS DAS FOLHAS DE <i>B.</i> <i>aracatubaensis</i> MASCULINA (Ba-M) E <i>B. aracatubaensis</i> FEMININA (Ba-F) (ACN:H ₂ O 70:30 V/V).....	70
FIGURA 14 – EXPERIMENTO DE varredura NO MODO NEGATIVO DE ionização dos EXTRATOS BRUTOS DAS FOLHAS DE <i>B. organensis</i> MASCULINA (Bo-M) e <i>B. organensis</i> FEMININA (Bo-F) (ACN:H ₂ O 70:30 v/v)	70

FIGURA 15 – ESTRUTURA QUÍMICA DE Bo-1 (3-(3,4,5-TRIMETOXIFENIL) PROP-2-EN-1-AL)	72
FIGURA 16 – MAPA DE CORRELAÇÃO DE HSQC (600 MHZ, MeOD- <i>d</i> ₆) DA FRAÇÃO Bo-D_8	74
FIGURA 17 - MAPA DE CORRELAÇÃO DE HMBC (600 MHZ, MeOD- <i>d</i> ₆) DA FRAÇÃO Bo-D_8	74
FIGURA 18 – ESTRUTURA QUÍMICA DE Bo-2 (ÁCIDO <i>trans</i> -FERÚLICO)	76
FIGURA 19 – ESTRUTURA QUÍMICA DE Bo-3 (1-ETOXIETIL-3,5-DIMETOXI-4-HIDROXIFENOL)	80
FIGURA 20 – MAPA DE CORRELAÇÃO DE HSQC (600 MHZ, CDCl ₃) DA FRAÇÃO Bo-D_10	81
FIGURA 21 – MAPA DE CORRELAÇÃO DE HMBC (600 MHZ, CDCl ₃) DA FRAÇÃO Bo-D_10	82
FIGURA 22 – ESTRUTURA QUÍMICA DE Bo-4 (SIRINGALDEÍDO)	84
FIGURA 23 – MAPA DE CORRELAÇÃO DE HSQC (600 MHZ, MeOD- <i>d</i> ₆) DA FRAÇÃO Bo-D_12	85
FIGURA 24 – MAPA DE CORRELAÇÃO DE HMBC (600 MHZ, MeOD- <i>d</i> ₆) DA FRAÇÃO Bo-D_12	86
FIGURA 25 – ESTRUTURA QUÍMICA DE Bo-5 (CAFEATO DE ETILA).....	88
FIGURA 26 – ESTRUTURA QUÍMICA DE Bo-6 (CIRSIMARITINA).....	92
FIGURA 27– MAPA DE CORRELAÇÃO DE HSQC (600 MHZ, CDCl ₃) DA FRAÇÃO Bo-D_16	94
Figura 28 – MAPA DE CORRELAÇÃO DE HMBC (600 MHZ, CDCl ₃) DA FRAÇÃO Bo-D_16	94
FIGURA 29 - ESTRUTURA QUÍMICA DE Bo-7 (HISPIDULINA).....	97
FIGURA 30 - MAPA DE CORRELAÇÃO DE HSQC (600 MHZ, MeOD- <i>d</i> ₆) DA FRAÇÃO Bo-D_17	98
FIGURA 31 - MAPA DE CORRELAÇÃO DE HMBC (600 MHZ, MeOD- <i>d</i> ₆) DA FRAÇÃO Bo-D_17	99
FIGURA 32 – ESTRUTURA QUÍMICA DE Bo-8 (APIGENINA).....	101
FIGURA 33 – MAPA DE CORRELAÇÃO DE HSQC (600 MHZ, MeOD- <i>d</i> ₆) DA FRAÇÃO Bo-D_18/2	103
FIGURA 34 – MAPA DE CORRELAÇÃO DE HMBC (600 MHZ, MeOD- <i>d</i> ₆) DA FRAÇÃO Bo-D_18/2	103

FIGURA 35 – ESTRUTURA QUÍMICA DE Bo-9 (ÁCIDO <i>trans</i> -ISOFERÚLICO)....	106
FIGURA 36– MAPA DE CORRELAÇÃO DE HSQC (600 MHZ, MeOD- <i>d</i> ₆) DA FRAÇÃO Bo-D_18/3	107
FIGURA 37– MAPA DE CORRELAÇÃO DE HMBC (600 MHZ, MeOD- <i>d</i> ₆) DA FRAÇÃO Bo-D_18/3	108
FIGURA 38 – ESTRUTURA QUÍMICA DO COMPOSTO Bo-10 (FERULATO DE ETILA)	110
FIGURA 39 – ESTRUTURA QUÍMICA DO COMPOSTO Bo-11 (ÁCIDO SIRÍNGICO)	114
FIGURA 40 – ESTRUTURA QUÍMICA DO COMPOSTO Bo-12 (ÁCIDO CAFEICO)	117
FIGURA 41 – ESTRUTURA QUÍMICA DE Bo-13 (ÁLCOOL SIRÍNGICO)	120
FIGURA 42 – MAPA DE CORRELAÇÃO DE HSQC (600 MHZ, MeOD- <i>d</i> ₆) DA FRAÇÃO Bo-D_18/5	122
FIGURA 43 – MAPA DE CORRELAÇÃO DE HMBC (600 MHZ, MeOD- <i>d</i> ₆) DA FRAÇÃO Bo-D_18/5	122
FIGURA 44 – ESTRUTURA QUÍMICA DO COMPOSTO Bo-13 (8- METOXIAPIGENINA).....	125
FIGURA 45 – MAPA DE CORRELAÇÃO DE HSQC (600 MHZ, MeOD- <i>d</i> ₆) DA FRAÇÃO Bo-D_19/6	126
FIGURA 46– MAPA DE CORRELAÇÃO DE HMBC (600 MHZ, MeOD- <i>d</i> ₆) DA FRAÇÃO Bo-D_19/6	127
FIGURA 47 – ESTRUTURA QUÍMICA DO COMPOSTO Bo-15 (CAFEATO DE 4'-O- β-D-GLUCOPIRANOSIL-3',5'-DIMETOXIBENZILA)	129
FIGURA 48 – MAPA DE CORRELAÇÃO DE HSQC (600 MHZ, DMSO- <i>d</i> ₆) DA FRAÇÃO Bo-Ae_3	131
FIGURA 49 – MAPA DE CORRELAÇÃO DE HMBC (600 MHZ, DMSO- <i>d</i> ₆) DA FRAÇÃO Bo-Ae_3	132
FIGURA 50 – ESTRUTURA QUÍMICA DO COMPOSTO Bo-16 (KAEMPFEROL).134	
FIGURA 51 - MAPA DE CORRELAÇÃO DE HSQC (600 MHZ, MeOD- <i>d</i> ₆) DA FRAÇÃO Bo-Ae_5	135
FIGURA 52– MAPA DE CORRELAÇÃO DE HMBC (600 MHZ, MeOD- <i>d</i> ₆) DA FRAÇÃO Bo-Ae_5	136

FIGURA 53 – ESTRUTURA QUÍMICA DO COMPOSTO Bo-17 (ÁCIDO 3,5-O-DICAFEILOILQUÍNICO).....	139
FIGURA 54 – MAPA DE CORRELAÇÃO DE HSQC (600 MHZ, MeOD- <i>d</i> ₆) DA FRAÇÃO Bo-Ae_8	141
FIGURA 55 – MAPA DE CORRELAÇÃO DE HMBC (600 MHZ, MeOD- <i>d</i> ₆) DA FRAÇÃO Bo-Ae_8	141
FIGURA 56 – ESTRUTURA QUÍMICA DO COMPOSTO Bo-18 (ESCOPOLETINA)	143
FIGURA 57 – ESTRUTURA QUÍMICA DOS DERIVADOS DO ÁCIDO TRICAFEILOILQUÍNICO.....	145
FIGURA 58 – CROMATOGRAMAS DE Ba-OM E Ba-OF	147
FIGURA 59 – CROMATOGRAMAS DE Bo-OM E Bo-OF	148

LISTA DE ESPECTROS

ESPECTRO 1 – ESPECTRO DE RMN DE ^1H (600 MHZ, $\text{MeOD-}d_6$) DA FRAÇÃO Bo-D_8 COM OS SINAIS INTEGRADOS PARA Bo-1	73
ESPECTRO 2 - EXPERIMENTO DE ESI-EM/EM (20 eV) DO ÍON DE m/z 267,3 DE Bo-1	75
ESPECTRO 3 – ESPECTRO DE RMN DE ^1H (600 MHZ, $\text{MeOD-}d_6$) DA FRAÇÃO Bo-D_8 COM OS SINAIS INTEGRADOS PARA Bo-2	77
ESPECTRO 4 - EXPERIMENTO DE ESI-EM/EM (20 eV) DO ÍON DE m/z 193,1 DE Bo-2	78
ESPECTRO 5 – ESPECTRO DE RMN DE ^1H (600 MHZ, CDCl_3) DA FRAÇÃO Bo-D_10 COM OS SINAIS INTEGRADOS PARA DE Bo-3	81
ESPECTRO 6 - EXPERIMENTO DE ESI-EM/EM (12 eV) DO ÍON DE m/z 211,2 DE Bo-3	82
ESPECTRO 7 – ESPECTRO DE RMN DE ^1H (600 MHZ, $\text{MeOD-}d_6$) DA FRAÇÃO Bo-D_12 COM OS SINAIS INTEGRADOS PARA Bo-4	85
ESPECTRO 8 - EXPERIMENTO DE ESI-EM/EM (14 eV) DO ÍON DE m/z 181,2 DE Bo-4	86
ESPECTRO 9 – ESPECTRO DE RMN DE ^1H (600 MHZ, $\text{MeOD-}d_6$) DA FRAÇÃO Bo-D_12 COM OS SINAIS INTEGRADOS PARA Bo-5	89
ESPECTRO 10 – EXPERIMENTO DE ESI-EM/EM (24 eV) DO ÍON DE m/z 207,2 DE Bo-5	90
ESPECTRO 11 - ESPECTRO DE RMN DE ^1H (600 MHZ, CDCl_3) DA FRAÇÃO Bo-D_16 COM OS SINAIS INTEGRADOS PARA Bo-6	93
ESPECTRO 12 – EXPERIMENTO DE ESI-EM/EM (24 eV) DO ÍON DE m/z 313,2 DE Bo-6	95
ESPECTRO 13 - ESPECTRO DE RMN DE ^1H (600 MHZ, $\text{MeOD-}d_6$) DA FRAÇÃO Bo-D_17 COM OS SINAIS INTEGRADOS PARA Bo-7	98
ESPECTRO 14 - EXPERIMENTO DE ESI-EM/EM (20 eV) DO ÍON DE m/z 299,2 DE Bo-7	99
ESPECTRO 15 – ESPECTRO DE RMN DE ^1H (600 MHZ, $\text{MeOD-}d_6$) DA FRAÇÃO Bo-D_18/2 COM OS SINAIS INTEGRADOS PARA DE Bo-8	102

ESPECTRO 16 - EXPERIMENTO DE ESI-EM/EM (33 eV) DO ÍON DE m/z 269,2 DE Bo-8	104
ESPECTRO 17 – ESPECTRO DE RMN DE ^1H (600 MHZ, MeOD- d_6) DA FRAÇÃO Bo-D_18/3 COM OS SINAIS INTEGRADOS PARA Bo-9	107
ESPECTRO 18 - EXPERIMENTO DE ESI-EM/EM (20 eV) DO ÍON DE m/z 193,2 DE Bo-9	108
ESPECTRO 19 – ESPECTRO DE RMN DE ^1H (600 MHZ, MeOD- d_6) DA FRAÇÃO Bo-D_18/3 COM OS SINAIS INTEGRADOS PARA Bo-10	111
ESPECTRO 20 - EXPERIMENTO DE ESI-EM/EM (20 eV) DO ÍON DE m/z 221,2 DE Bo-10	112
ESPECTRO 21 – ESPECTRO DE RMN DE ^1H (600 MHZ, MeOD- d_6) DA FRAÇÃO Bo-D_18/3 COM OS SINAIS INTEGRADOS PARA Bo-11	115
ESPECTRO 22 – EXPERIMENTO DE ESI-EM/EM (15 eV) DO ÍON DE m/z 197,2 DE Bo-11	115
ESPECTRO 23 – ESPECTRO DE RMN DE ^1H (600 MHZ, MEOD- d_6) DA FRAÇÃO Bo-D_18/3 COM OS SINAIS INTEGRADOS PARA Bo-12	118
ESPECTRO 24 - EXPERIMENTO DE ESI-EM/EM (18 eV) DO ÍON DE m/z 179,2 DE Bo-12	118
ESPECTRO 25 – ESPECTRO DE RMN DE ^1H (600 MHZ, MeOD- d_6) DA FRAÇÃO Bo-D_18/5 COM OS SINAIS INTEGRADOS PARA Bo-13	121
ESPECTRO 26 - EXPERIMENTO DE ESI-EM/EM (16 eV) DO ÍON DE m/z 183,2 DE Bo-13	123
ESPECTRO 27 – ESPECTRO DE RMN DE ^1H (600 MHZ, MeOD- d_6) DA FRAÇÃO Bo-D_19/6 COM OS SINAIS INTEGRADOS PARA Bo-13	126
ESPECTRO 28 - EXPERIMENTO DE ESI-EM/EM (19 eV) DO ÍON DE m/z 299,2 DE Bo-14	127
ESPECTRO 29 – ESPECTRO DE RMN DE ^1H (600 MHZ, DMSO- d_6) DA FRAÇÃO Bo-Ae_3 COM OS SINAIS INTEGRADOS PARA Bo-15	131
ESPECTRO 30 - EXPERIMENTO DE ESI-EM/EM (24 eV) DO ÍON DE m/z 507,1556 DE Bo-15	132
ESPECTRO 31 – ESPECTRO DE RMN DE ^1H (600 MHZ, MeOD- d_6) DA FRAÇÃO Bo-Ae_5 COM OS SINAIS INTEGRADOS PARA Bo-16	135
ESPECTRO 32 - EXPERIMENTO DE ESI-EM/EM (38 eV) DO ÍON DE m/z 285,2 DE Bo-16	136

ESPECTRO 33 – ESPECTRO DE RMN DE ^1H (600 MHz, MeOD- d_6) DA FRAÇÃO Bo-Ae_8 COM OS SINAIS INTEGRADOS PARA Bo-16	140
ESPECTRO 34 – EXPERIMENTO DE ESI-EM/EM (17 eV) DO ÍON DE m/z 515,3 DE Bo-17	142
ESPECTRO 35 – EXPERIMENTO DE ESI-EM/EM (22 eV) DO ÍON DE m/z 193,2 DE Bo-18	143
ESPECTRO 36 - EXPERIMENTO DE ESI-EM/EM (22 eV) DO ÍON DE m/z 677,4 DE Bo-19	145

LISTA DE TABELAS

TABELA 1 – FRACIONAMENTO DOS CONSTITUINTES DA FRAÇÃO DICLOROMETANO (Bo-D)	54
TABELA 2 – FRACIONAMENTO DAS SUBFRAÇÕES XVIII (Bo-D_18), XIX (Bo-D_19) E XX (Bo-D_20) OBTIDAS DA FRAÇÃO DICLOROMETANO..	55
TABELA 3 – FRACIONAMENTO DOS CONSTITUINTES DA FRAÇÃO ACETATO DE ETILA (Bo-Ae).....	56
TABELA 4 – FRACIONAMENTO DOS CONSTITUINTES DA FRAÇÃO AQUOSA (Bo-Aq).....	56
TABELA 5 – OBTENÇÃO DOS ÓLEOS ESSENCIAIS DAS FLORES DE <i>B. aracatubaensis</i> E <i>B. organensis</i>	59
TABELA 6 – CONCENTRAÇÃO DAS AMOSTRAS E DILUENTES UTILIZADOS PARA OS ENSAIOS ANTIMICROBIANOS.....	64
TABELA 7 – DADOS DE RMN DE ¹ H, ¹³ C e HMBC DE Bo-1 EM COMPARAÇÃO COM A LITERATURA	72
TABELA 8 – DADOS DE RMN DE ¹ H, ¹³ C E HMBC DE Bo-2 EM COMPARAÇÃO COM A LITERATURA	77
TABELA 9 – DADOS DE RMN DE ¹ H, ¹³ C E HMBC DE Bo-3	80
TABELA 10 – DADOS DE RMN DE ¹ H, ¹³ C E HMBC DE Bo-4 EM COMPARAÇÃO COM A LITERATURA	84
TABELA 11 - DADOS DE RMN DE ¹ H, ¹³ C E HMBC DE Bo-5 EM COMPARAÇÃO COM A LITERATURA	89
TABELA 12 – DADOS DE RMN DE ¹ H, ¹³ C E HMBC DE Bo-6 EM COMPARAÇÃO COM A LITERATURA	92
TABELA 13 – DADOS DE RMN DE ¹ H, ¹³ C E HMBC DE Bo-7 EM COMPARAÇÃO COM A LITERATURA	97
TABELA 14 – DADOS DE RMN DE ¹ H, ¹³ C E HMBC DE Bo-8 EM COMPARAÇÃO COM A LITERATURA	101
TABELA 15 – DADOS DE RMN DE ¹ H, ¹³ C E HMBC DE Bo-9 EM COMPARAÇÃO COM A LITERATURA	106
TABELA 16 – DADOS DE RMN DE ¹ H, ¹³ C E HMBC DE Bo-10 EM COMPARAÇÃO COM A LITERATURA	111

TABELA 17 – DADOS DE RMN DE ¹ H, ¹³ C E HMBC DE Bo-11 EM COMPARAÇÃO COM LITERATURA.....	114
TABELA 18 – DADOS DE RMN DE ¹ H, ¹³ C E HMBC DE Bo-12 EM COMPARAÇÃO COM LITERATURA.....	117
TABELA 19 – DADOS DE RMN DE ¹ H, ¹³ C E HMBC DE Bo-13 EM COMPARAÇÃO COM A LITERATURA	121
TABELA 20 – DADOS DE RMN DE ¹ H, ¹³ C E HMBC DE Bo-14 EM COMPARAÇÃO COM A LITERATURA	125
TABELA 21 – DADOS DE RMN DE ¹ H, ¹³ C E HMBC DE Bo-15 EM COMPARAÇÃO COM A LITERATURA	129
TABELA 22 – DADOS DE RMN DE ¹ H, ¹³ C E HMBC DE Bo-15 EM COMPARAÇÃO COM A LITERATURA	130
TABELA 23 – DADOS DE RMN DE ¹ H, ¹³ C E HMBC DE Bo-16 EM COMPARAÇÃO COM A LITERATURA	134
TABELA 24 – DADOS DE RMN DE ¹ H, ¹³ C E HMBC DE Bo-17 EM COMPARAÇÃO COM A LITERATURA	139
TABELA 25 – COMPOSIÇÃO QUÍMICA DOS ÓLEOS ESSENCIAS DAS INFLORESCÊNCIAS DOS INDIVÍDUOS MASCULINOS E FEMININOS DE <i>B. aracatubaensis</i> MALAG. E <i>B. organensis</i> BAKER.....	149
TABELA 26 – CAPACIDADE ANTIOXIDANTE DETERMINADA PELOS ENSAIOS DPPH E ORAC _{FL} DO ÓLEO ESSENCIAL, EXTRATO BRUTO E FRAÇÕES DE <i>B. aracatubaensis</i> E <i>B. organensis</i>	152
TABELA 27 – VALORES DE CIM (mg.mL ⁻¹) OBTIDOS PARA OS EXTRATOS BRUTOS, FRAÇÕES E ÓLEOS ESSENCIAS DE <i>B. aracatubaensis</i> E <i>B. organensis</i>	155

LISTA DE SIGLAS

δ	- Deslocamento químico
δ_H	- Deslocamento químico do hidrogênio
δ_C	- Deslocamento químico do carbono
φ	- Diâmetro da coluna
1D	- Unidimensional
2D	- Bidimensional
AAPH	- 2,2'-azobis(2-amidiopropano)
ABTS	- Ácido 2, 2-azinobis-3-etil-benzotiazolina-6 sulfônico
ACN	- Acetonitrila
AcOEt	- Acetato de etila
CC	- Cromatografia em coluna
CCDA	- Cromatografia de camada delgada analítica
CCDP	- Cromatografia em camada delgada preparativa
CD ₃ OD	- Metanol deuterado
CDCl ₃	- Clorofórmio deuterado
CG-EM	- Cromatografia à gás acoplada a espectrometria de massas
CH ₂ Cl ₂	- Diclorometano
CIM	- Concentração Inibitória Mínima
<i>d</i>	- Duplete
D ₂ O	- Água deuterada
<i>dd</i>	- Duplo duplete
<i>ddd</i>	- Duplo duplo duplete
<i>DIMS</i>	- <i>Direct Infusion Mass Spectrometry</i>
<i>dl</i>	- Duplete largo
DMSO	- Dimetilsulfóxido
DMSO- <i>d</i> ₆	- Dimetilsulfóxido deuterado
DPPH	- 2,2-difenil-1-picril-hidrazila
<i>dt</i>	- Duplo tripleto
EDTA	- Ácido etilenodiamino tetra-acético
EM	- Espectrometria de massas
ESI	- <i>Electrospray ionization</i>
ESI-EM/EM	- Espectrometria de massas <i>tandem</i>
EtOH	- Etanol
eV	- Eletrón-volt
H ₂ O	- Água
HMBC	- <i>Heteronuclear Multiple Bond Correlation</i>
HMG-CoA	- Hidroximetilglutaril-Coenzima A
HSQC	- <i>Heteronuclear Sigle Quantum Coherence</i>

Hz	- Hertz
IE	- Impacto eletrônico
IPP	- Isopentil pirofosfato
IR	- Índice de retenção
IS	- <i>Ion Spray voltage</i>
<i>J</i>	- Constante de Acoplamento
<i>m</i>	- Multiplete
<i>m/z</i>	- Razão massa-carga
MeOD- <i>d</i> ₆	- Metanol deuterado
MeOH	- Metanol
MEV	- Microscopia eletrônica de varredura
MHz	- Megahertz
ORAC _{FL}	- <i>Oxygen Radical Absorbance Capacity</i>
PAL	- Enzima fenilalanina amônia-liase
PEP	- Fosfoenolpiruvato
Phe	- Fenilalanina
<i>q</i>	- Quarteto
QqQ	- Triplo-quadrupolo
qTOF	- <i>Quadrupole-Time of Flight</i>
R _f	- Fator de retenção
RMN de ¹³ C	- Ressonância magnética nuclear de Carbono 13
RMN de ¹ H	- Ressonância magnética nuclear de Hidrogênio
RPMI	- Meio sintético complexo
<i>s</i>	- Simpleto
<i>t</i>	- Tripleto
TE	- Trolox equivalente
TMS	- Tetrametilsilano
Trp	- Triptofano
TSA	- Ágar triptona de soja
TSB	- Caldo triptona de soja
TTC	- Cloreto de 2,3,5-trifeniltetrazólio
Tyr	- Tirosina
UFC	- Unidades formadoras de colônia
UV	- Ultravioleta

LISTA DE ABREVIATURAS

Ba-F	- Extrato bruto feminino de <i>Baccharis aracatubaensis</i>
Ba-M	- Extrato bruto masculino de <i>Baccharis aracatubaensis</i>
Ba-H	- Fração hexano de <i>Baccharis aracatubaensis</i> feminina
Ba-Ae	- Fração acetato de etila de <i>Baccharis aracatubaensis</i> feminina
Ba-Aq	- Fração remanescente aquosa de <i>Baccharis aracatubaensis</i> feminina
Ba-OF	- Óleo essencial de <i>Baccharis aracatubaensis</i> feminina
Ba-OM	- Óleo essencial de <i>Baccharis aracatubaensis</i> masculina
Bo-F	- Extrato bruto feminino de <i>Baccharis organensis</i>
Bo-M	- Extrato bruto masculino de <i>Baccharis organensis</i>
Bo-H	- Fração hexano de <i>Baccharis organensis</i> feminina
Bo-D	- Fração diclorometano de <i>Baccharis organensis</i> feminina
Bo-Ae	- Fração acetato de etila de <i>Baccharis organensis</i> feminina
Bo-Aq	- Fração remanescente aquosa de <i>Baccharis organensis</i> feminina
Bo-OF	- Óleo essencial de <i>Baccharis organensis</i> feminina
Bo-OM	- Óleo essencial de <i>Baccharis organensis</i> masculina

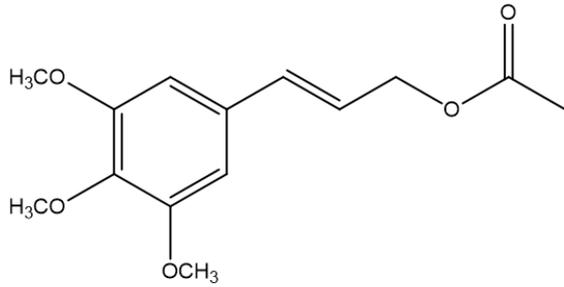
SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	28
2	OBJETIVOS.....	30
2.1	OBJETIVO GERAL	30
2.2	OBJETIVOS ESPECIFICOS	30
3	REVISAO BIBLIOGRÁFICA	31
3.1	AS PLANTAS MEDICINAIS	31
3.2	FAMÍLIA ASTERACEAE	33
3.3	<i>Baccharis</i> L.....	36
3.3.1	Seção <i>Axillaris</i>	39
3.3.2	Seção <i>Caulopterae</i>	40
3.3.3	Constituintes químicos de <i>Baccharis</i> L.	41
3.4	<i>Baccharis aracatubaensis</i> MALAG.....	47
3.5	<i>Baccharis organensis</i> BAKER.....	48
4	METODOLOGIA	50
4.1	COLETA E IDENTIFICAÇÃO DO MATERIAL BOTÂNICO	50
4.2	PREPARO DOS EXTRATOS E FRAÇÕES	50
4.3	FRACIONAMENTO, IDENTIFICAÇÃO E DETERMINAÇÃO ESTRUTURAL DOS CONSTITUINTES QUÍMICOS DE <i>B. organensis</i>	52
4.3.1	FRACIONAMENTO DOS CONSTITUINTES QUÍMICOS DE <i>Baccharis organensis</i> BAKER	53
4.3.2	DETERMINAÇÃO ESTRUTURAL	57
4.4	OBTENÇÃO E ANÁLISE DO ÓLEO ESSENCIAL DE <i>B. aracatubaensis</i> E <i>B. organensis</i>	58
4.5	ENSAIOS BIOLÓGICOS	60
4.5.1	Ensaio de atividade antioxidante	60
4.5.2	Ensaio antimicrobiano.....	62

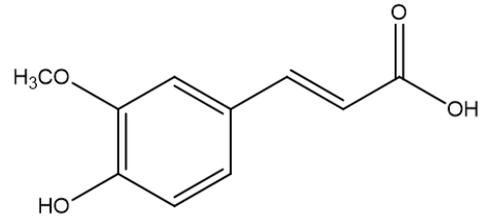
5	RESULTADOS E DISCUSSÃO	65
5.1	ANÁLISE DOS EXTRATOS BRUTOS DOS INDIVÍDUOS MASCULINOS E FEMININOS DE <i>B. aracatubaensis</i> E <i>B. organensis</i> POR RMN DE ¹ H 65	
5.2	ANÁLISE DO PERFIL QUÍMICO DOS EXTRATOS BRUTOS DOS INDIVÍDUOS MASCULINOS E FEMININOS DE <i>B. aracatubaensis</i> E <i>B. organensis</i> POR DIMS (ESI/EM).....	68
5.3	ANÁLISE DOS CONSTITUINTES QUÍMICOS DE <i>B. organensis</i>	71
5.3.1	Determinação estrutural de Bo-1	71
5.3.2	Determinação estrutural de Bo-2	75
5.3.3	Determinação estrutural de Bo-3	78
5.3.4	Determinação estrutural de Bo-4	82
5.3.5	Determinação estrutural de Bo-5	87
5.3.6	Determinação estrutural de Bo-6	91
5.3.7	Determinação estrutural de Bo-7	95
5.3.8	Determinação estrutural de Bo-8	100
5.3.9	Determinação estrutural de Bo-9	105
5.3.10	Determinação estrutural de Bo-10	109
5.3.11	Determinação estrutural de Bo-11	112
5.3.12	Determinação estrutural de Bo-12	116
5.3.13	Determinação estrutural de Bo-13	119
5.3.14	Determinação estrutural de Bo-14	123
5.3.15	Determinação estrutural de Bo-15	128
5.3.16	Determinação estrutural de Bo-16	132
5.3.17	Determinação Estrutural de Bo-17	137
5.3.18	Determinação estrutural de Bo-18	142
5.3.19	Determinação estrutural de Bo-19	144

5.4	ANÁLISE DO ÓLEO ESSENCIAL DOS INDIVÍDUOS MASCULINOS E FEMININOS DE <i>B. aracatubaensis</i> E <i>B. organensis</i>	146
5.5	ENSAIOS BIOLÓGICOS.....	151
	5.5.1 Ensaio de atividade antioxidante	151
	5.5.2 Ensaio antimicrobiano.....	154
6	CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	156
7	REFERÊNCIAS	158

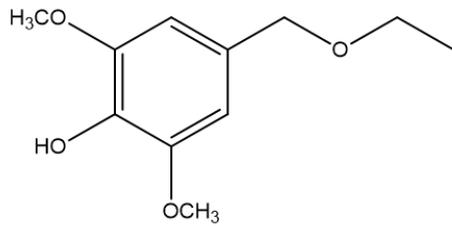
SUBSTÂNCIAS IDENTIFICADAS



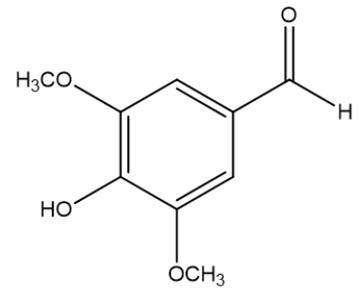
Bo-1: Acetato de *trans*-3-(3,4,5-trimetoxifenil propenal)



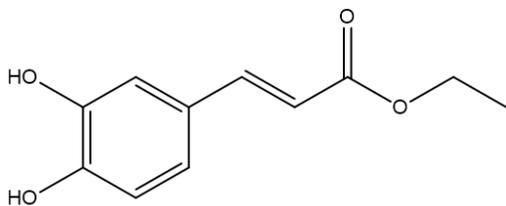
Bo-2: Ácido *trans* Ferúlico



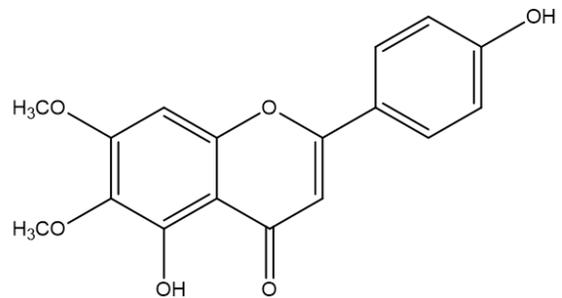
Bo-3: 1-Etoxi-3,5-dimetoxi-4-hidroxifenol



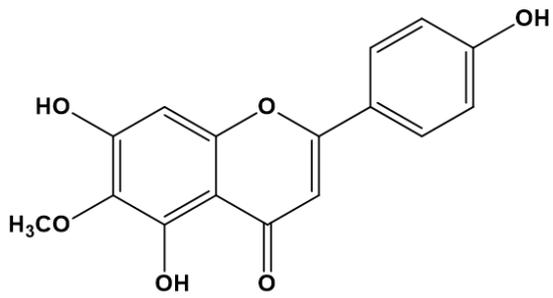
Bo-4: Siringaldeído



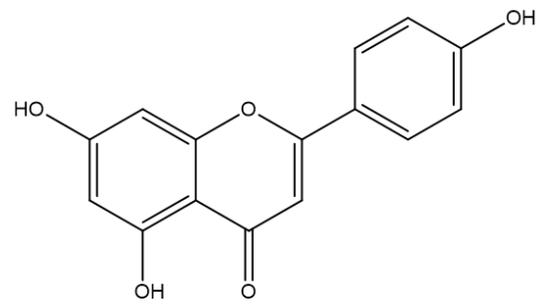
Bo-5: Cafeato de Etila



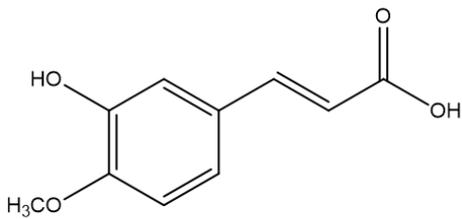
Bo-6: Cirsimaritina



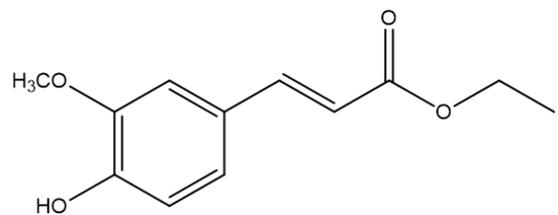
Bo-7: Hispidulina



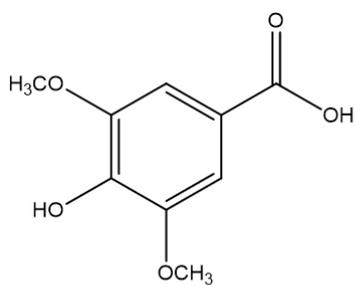
Bo-8: Apigenina



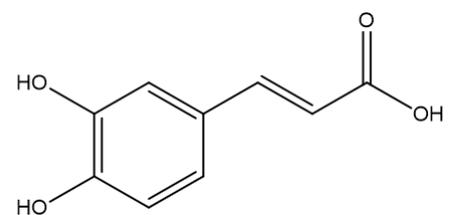
Bo-9: Ácido *trans* isoferúlico



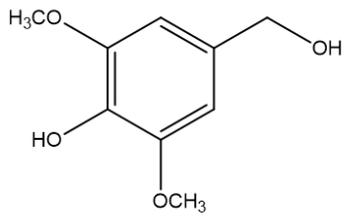
Bo-10: Ferulato de etila



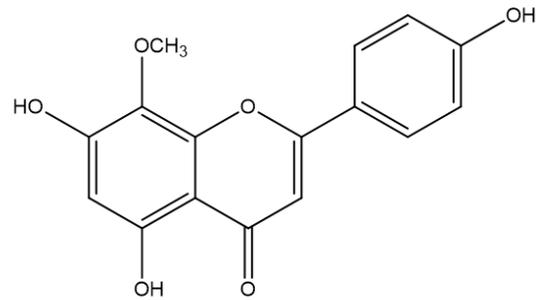
Bo-11: Ácido Siríngico



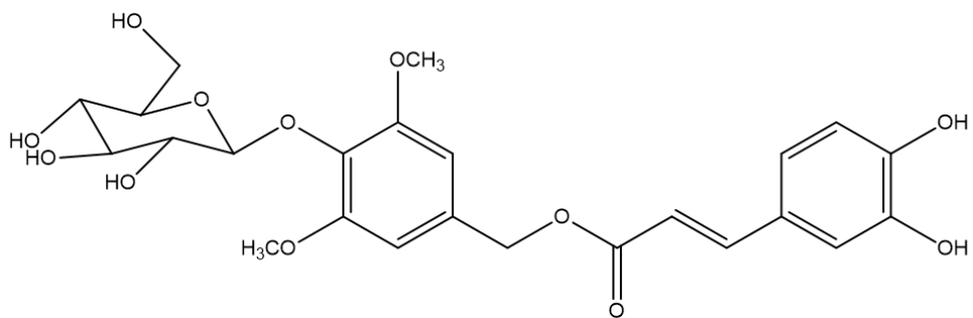
Bo-12: Ácido Cafeico



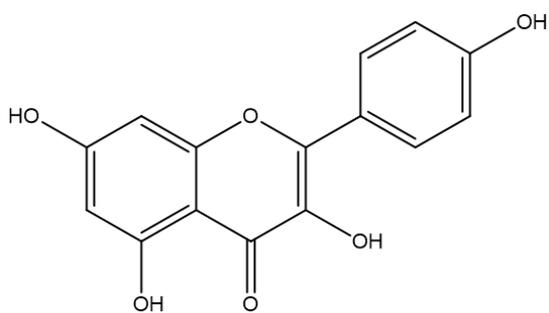
Bo-13: Álcool Siringico



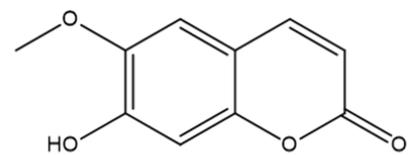
Bo-14: 8-Metoxi Apigenina



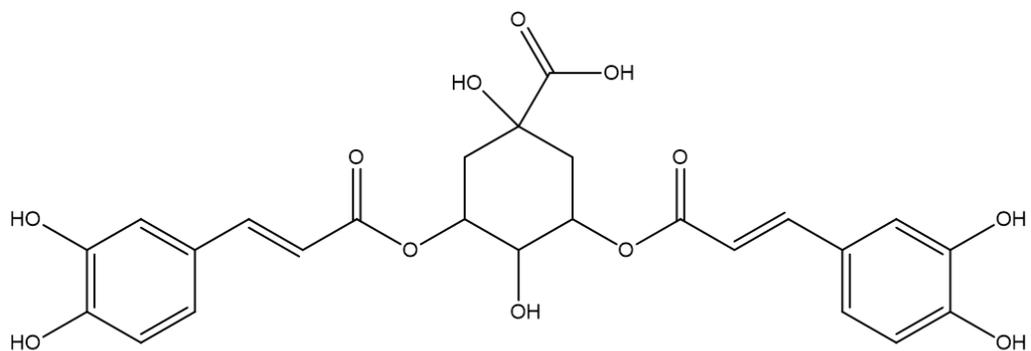
Bo-15: Cafeato de 4'-O-B-Glucopiranosil-3',5'-dimetoxibenzila



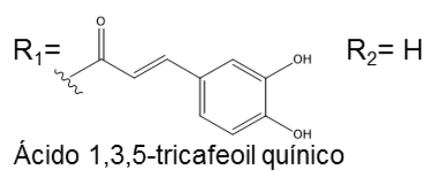
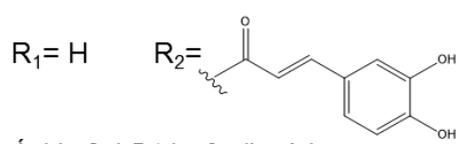
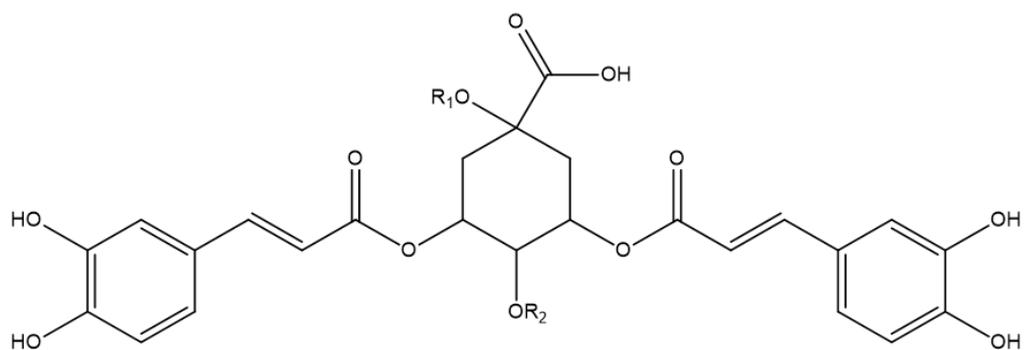
Bo16: Kaempferol



Bo18: Escopoletina



Bo-17: Ácido 3,5-dicafeoilquinico



Bo-19: Ácido tricafeoilquinico

1 INTRODUÇÃO

O Brasil é um país conhecido por sua biodiversidade. É constituído por seis biomas principais, com características distintas de flora e fauna: Amazônia, Cerrado, Caatinga, Mata Atlântica, Pampa e Pantanal. (BRASIL. MINISTÉRIO DO MEIO AMBIENTE, 2017). Dentre estes, o bioma Mata Atlântica apresenta uma formação vegetal que abrange uma grande parte da região litorânea que se estende do Rio Grande do Norte até o Rio Grande do Sul. Entretanto, a forte pressão antrópica e a exploração predatória a que foi submetida resultou em uma perda de 93% da sua extensão. (SOS MATA ATLÂNTICA & INPE, 2014). Assim, muitas espécies nativas com possível potencial farmacológico correm o risco de desaparecer sem nenhum tipo de registro.

A utilização de plantas medicinais como recurso terapêutico alternativo tem sido amplamente utilizado pela população. A partir disso, uma abordagem etnobotânica ou etnofarmacológica pode ser uma estratégia para combinar informações adquiridas por estas populações com estudos científicos. Este aprendizado aumenta as perspectivas de sucesso na descoberta de moléculas bioativas, trazendo contribuições para o desenvolvimento da pesquisa em produtos naturais. (SOUZA et al., 2013; MEDEIROS et al., 2013; ALBUQUERQUE et al., 2014).

Um vegetal pode produzir inúmeros metabólitos secundários, os quais, apresentam grande importância ecológica, atuando na atração de polinizadores, proteção contra raios UV, defesa química e/ou interação entre as espécies. (DIAS et al., 2012; GARCEZ et al., 2013). São encontrados, normalmente, em diferentes concentrações durante os estágios de vida do vegetal. Isto pode ser atribuído à fatores edafoclimáticos, poluição atmosférica, fatores mecânicos, ou ainda, simbiose com patógenos. (GOBBO-NETO; LOPES, 2007). A atenção a estes compostos geralmente é voltada aos constituintes majoritários. Entretanto, os compostos minoritários podem apresentar os efeitos biológicos mais promissores, sendo indispensável analisar a atividade de extratos, frações e substâncias puras. A partir desta avaliação, pode-se sugerir o composto responsável pela atividade biológica como o componente majoritário, ou se há um possível sinergismo entre as substâncias. (CECHINEL FILHO; YUNES, 1998; BRAZ FILHO, 2010).

Diversas estratégias e metodologias estão disponíveis para a descoberta de novas moléculas e síntese com potencial farmacológico, entre essas, a química de

produtos naturais representa uma alternativa de sucesso. (BARREIRO; BOLZANI, 2009). Auxiliados por técnicas espectroscópicas, os pesquisadores das mais diversas áreas podem identificar rapidamente estruturas moleculares em matrizes complexas como extratos e frações semipurificadas. Isto é um grande diferencial para a descoberta e desenvolvimento de fitofármacos e também a padronização de extratos bioativos. (BARISON; BIAVATTI, 2012). Estima-se que cerca de 65% do total de medicamentos consumidos, mundialmente, sejam oriundos de produtos naturais ou derivados destes. (NEWMAN; CRAGG, 2016).

Asteraceae está entre as famílias com mais espécies empregadas na medicina popular, como por exemplo, *Artemisia absinthium* L. (losna), *Baccharis trimera* DC. (carqueja), *Bidens pilosa* L. (picão), *Cynara scolymus* L. (alcachofra), *Dahlia pinnata* Cav. (dália), *Egletes viscosa* Less. (macela), *Matricaria recutita* L. (camomila) e *Mikania glomerata* Spreng. (guaco). (BERETTA et al., 2008; SILVA; ANDRADE, 2013). É o grupo sistemático mais numeroso dentro das angiospermas. (FIELDING, 2001; GIULIANO, 2001; PANERO; FUNK, 2008). Dentre os gêneros descritos para esta família, encontra-se *Baccharis* L. que é descrito como o maior, compreendendo cerca de 400 espécies. (FIELDING, 2001; GIULIANO, 2001; HEIDEN; PIRANI, 2016). Este grupo apresenta importantes atividades biológicas como antioxidante, gastroprotetora e anti-inflamatória, que estão relacionadas às substâncias presentes, como flavonóides, ácidos fenólicos e diterpenos. (CAMPOS et al., 2016).

No Brasil, estão catalogadas atualmente 178 espécies, presentes em todos os biomas, sendo mais abundantes nas regiões Sul, Sudeste e Centro-Oeste. (HEIDEN, 2016). Muitas espécies, entre elas, *Baccharis aracatubaensis* Malag., *Baccharis elliptica* Gardner e *Baccharis paranensis* Heering & Dusén, estão incluídas na “Red list” sob as classificações, “em perigo”, “vulnerável” e “quase ameaçada”, respectivamente. (INSTITUTO DE PESQUISAS JARDIM BOTÂNICO DO RIO DE JANEIRO, 2015).

Este trabalho é o primeiro relato de investigação química, biológica e morfoanatômica realizada com estas espécies. Tendo em vista a importância do gênero em relação ao isolamento de substâncias importantes farmacologicamente e a devastação dos biomas brasileiros, somado à inclusão de *B. aracatubaensis* Malag. na lista de espécies ameaçadas de extinção, justifica-se o interesse na investigação do perfil químico e atividades biológicas de *B. aracatubaensis* Malag. e *B. organensis* Baker.

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Caracterizar os constituintes químicos de *Baccharis organensis* Baker e avaliar as atividades antioxidante, antimicrobiana e citotóxica de *Baccharis aracatubaensis* Malag. e *Baccharis organensis* Baker.

2.2 OBJETIVOS ESPECIFICOS

- ✓ Coletar e identificar inflorescências e folhas dos indivíduos masculinos e femininos de *Baccharis aracatubaensis* Malag. e *Baccharis organensis* Baker;
- ✓ Obter óleo essencial e extratos vegetais do material botânico (inflorescências e folhas) coletado;
- ✓ Realizar a caracterização química dos óleos essenciais, através de CG-EM;
- ✓ Obter os extratos brutos masculinos e femininos das folhas de *B. aracatubaensis* e *B. organensis*;
- ✓ Investigar diferenças na constituição química nos indivíduos masculinos e femininos;
- ✓ Fracionar os extratos brutos através de técnicas cromatográficas;
- ✓ Identificar os metabólitos secundários diretamente nos extratos e frações semi purificadas, através das técnicas espectroscópicas de RMN uni e bidimensional e EM;
- ✓ Realizar ensaios de atividade antioxidante e antimicrobiana dos óleos, extratos e frações de ambas as espécies.

3 REVISAO BIBLIOGRÁFICA

3.1 AS PLANTAS MEDICINAIS

Planta medicinal, de acordo com a organização Mundial da Saúde (OMS), é “todo e qualquer vegetal que possui, em um ou mais órgãos, substâncias que podem ser utilizadas com fins terapêuticos ou que sejam precursores de fármacos semissintéticos”. (WHO, 1998).

Os primeiros relatos escritos do uso de plantas para fins curativos datam, aproximadamente, de 2.800 anos antes de Cristo (a.C.), quando o imperador chinês Shen Nung catalogou diversas espécies em um manuscrito chamado Pen Ts'ao (“A Grande Fitoterapia”). No ocidente, estes relatos são mais recentes datando do século V a.C. Na obra escrita pelo grego Pedânio Dioscórides, denominada “De Matéria Médica”, foram catalogadas e ilustradas aproximadamente 600 plantas medicinais. Até os dias atuais, muitos dos nomes apresentados por esse médico grego são utilizados na botânica, tornando esta obra uma das principais referências ocidentais para a área de plantas medicinais até o Renascimento. (ALONSO, 1998; TOMAZZONI et al., 2006).

No final do século XIX, acompanhando a Revolução Industrial, teve início a fase de crescimento da indústria farmacêutica, visando a síntese de moléculas químicas, até então, derivadas somente de plantas medicinais. (CALIXTO, 2000). Nos dias atuais, a utilização de espécies vegetais com fins preventivos, paliativos ou curativos tem ressurgido e segue em expansão em nível mundial. Essa prática pode ser associada a busca da população por produtos “naturais”, na crença de que o que provém de vegetais está isento de efeitos tóxicos.

Os vastos biomas da flora brasileira, concedem ao país, figurar entre os 17 países com a maior biodiversidade do planeta. (VALLI et al., 2013; PIMENTEL et al., 2015). Este fato, aliado à influência das culturas indígena, africana e europeia (MARTINS et al., 2000) têm despertado interesse econômico e científico desde a época da colonização. Esta riqueza é revelada, principalmente na Floresta Amazônica e no Bioma Mata Atlântica onde são encontradas plantas com as mais diversas propriedades, desde tintoriais até alucinógenas, enquanto outras fornecem madeiras úteis para vários fins, portanto, sujeitas a exploração. (DI STASI et al., 2002). A diversidade, aliada ao conhecimento popular transmitido através das gerações, deram

origem ao comércio de plantas medicinais em feiras livres e mercados populares, muitas delas sendo usadas para curar várias enfermidades da população. (DUARTE, 2006). Em todas as regiões do mundo, em particular nos países em desenvolvimento, onde a disponibilidade dos serviços de saúde é limitada, o uso de plantas medicinais contribui significativamente com os primeiros cuidados com a saúde. (MACIEL et al., 2002; AGRA et al., 2007).

No Brasil, um número significativo de plantas é usado na forma de extratos ou tinturas para tratar doenças comuns, embora poucas evidências científicas sejam relatadas comprovando a eficácia desses tratamentos. Estudos recentes comprovaram que as plantas são produtoras de substâncias químicas que podem ser úteis no tratamento de uma grande variedade de doenças em homens e animais. (MCGAW; ELOFF, 2008). Estas substâncias podem ser originadas de dois tipos de metabólitos: primários e secundários. Em vegetais superiores, os metabólitos primários geralmente estão concentrados em sementes e órgãos de armazenamento, sendo necessários no metabolismo celular básico. Os metabólitos secundários são compostos derivados biologicamente dos metabólitos primários e, frequentemente, desempenham papéis ecológicos, como atrativo para polinizadores, adaptadores químicos ao ambiente ou defensores químicos contra microrganismos, insetos e predadores superiores. (RAVEN, 1988). As atividades biológicas das plantas medicinais geralmente são atribuídas aos metabólitos secundários, que na maioria das vezes, possuem estrutura química complexa, o que determina as mais variadas ações farmacológicas. (AGRA et al., 2007).

Na tentativa de reconhecer o potencial terapêutico das plantas medicinais e visando o seu melhor aproveitamento para a população brasileira, o Ministério da Saúde através do Departamento de Assistência Farmacêutica e Insumos Estratégicos (DAF), órgão da Secretaria de Ciência, Tecnologia e Insumos Estratégicos (SCTIE), aprovou a Relação Nacional de Plantas Medicinais de Interesse ao Sistema Único de Saúde (RENISUS), que inclui 71 espécies vegetais, as quais foram selecionadas por serem amplamente utilizadas pela população brasileira. A finalidade da relação é orientar estudos e pesquisas que possam subsidiar a elaboração da lista de plantas medicinal e fitoterápica a serem disponibilizados para uso da população, com segurança e eficácia para o tratamento de determinada doença. (BRASIL, 2009, 2010a). Entre as inúmeras espécies vegetais de interesse medicinal que constam na

RENISUS, 14 destas plantas pertencem à Asteraceae, que apresentam espécies de importância terapêutica, ecológica e econômica (HEIDEN; BARBIERI; et al., 2006).

3.2 FAMÍLIA ASTERACEAE

Asteraceae, denominada inicialmente Compositae, pertence à ordem Asterales e constitui o grupo sistemático mais numeroso dentro das angiospermas. Compreende 23.000 espécies distribuídas em 1.600 gêneros. (ALVARENGA et al., 2001; PANERO; FUNK, 2008; GUIMARÃES et al., 2012). Esta família foi descrita pela primeira vez há aproximadamente 300 anos antes de Cristo (a.C) por um filósofo grego chamado Teofrasto. (KATINAS et al., 2007).

São plantas com distribuição cosmopolita e de aspecto extremamente diverso; apresentam uma grande variabilidade morfológica quanto aos seus atributos florais, caracteres estes cruciais para o reconhecimento de tribos e gêneros. Nesta família estão principalmente pequenas ervas ou arbustos e raramente árvores, sendo a maior família de plantas com flores. (PANERO; FUNK, 2008). 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. O capítulo apresenta-se modificado com ovário bicarpelar ínfero que se desenvolve em cipsela com óvulo basal e reto, com anteras sinânteras. (JANSEN; PALMER, 1987). As flores podem ser bissexuais, unissexuais (monoicas ou raramente 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. (JOLY, 2002; SOUZA; LORENZI, 2005; ROQUE; BAUTISTA, 2008; FORZZA et al., 2010).

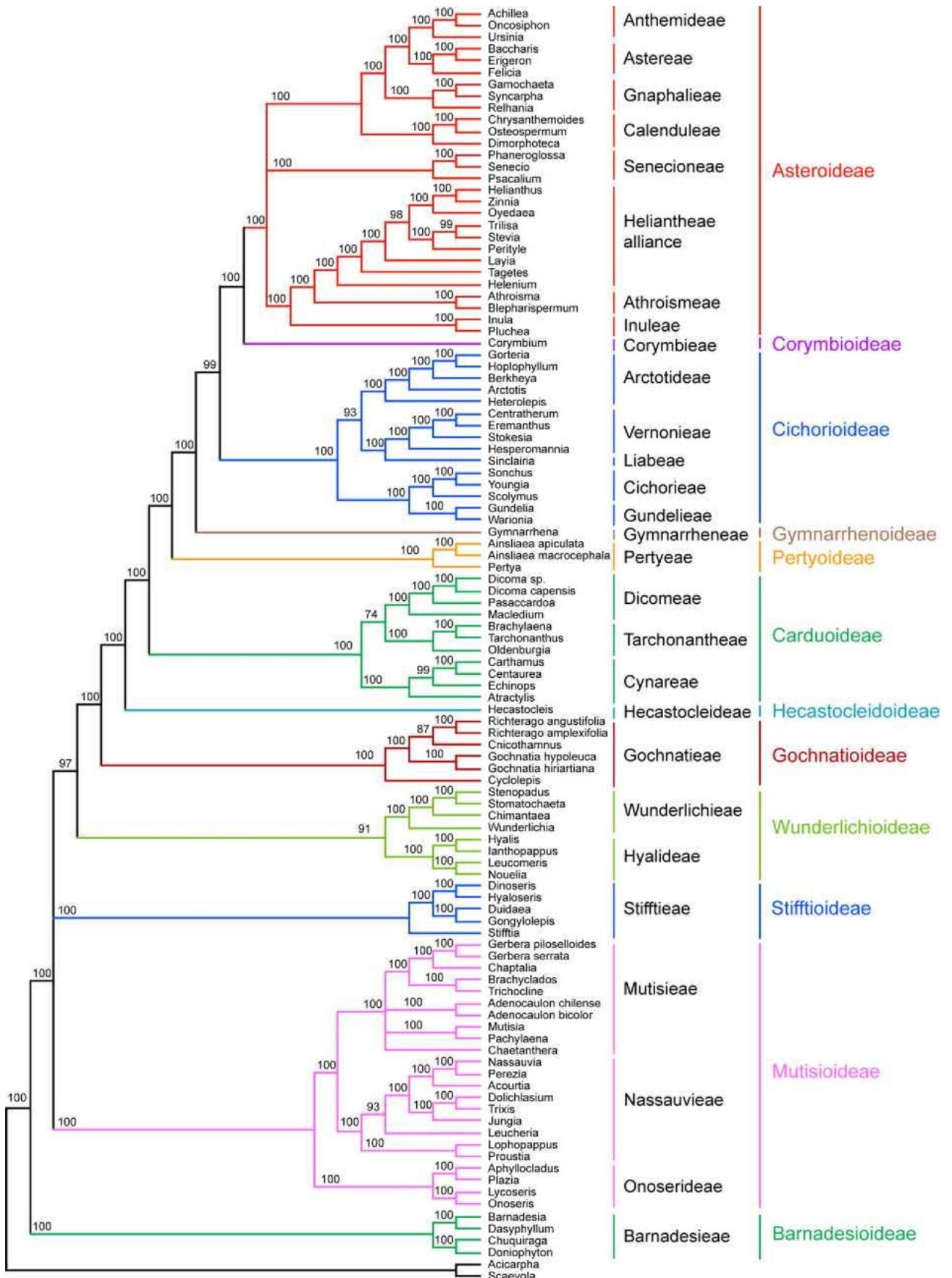
Devido a seu extraordinário poder de adaptação ambiental, podem ser encontradas nos mais diversos habitats, desde regiões tropicais, subtropicais até temperadas, com exceção da Antártida. O seu sucesso biológico deve-se, em parte, a sua grande capacidade de dispersão devido à presença de sementes com pápus plumosos, apêndices e estruturas de aderência. Além disso, há o desenvolvimento de um sistema químico de defesa que inclui a produção combinada de metabólitos secundários, muitos derivados do tipo poliacetilenos e lactonas sesquiterpênicas. (CRONQUIST, 1988; BREMER, 1994). Além destes, há relatos

também de terpenoides (KHAN et al., 2010; MALDONADO, 2014; MALDONADO et al., 2014), cumarinas (MIYAZAKI et al., 2013; OLENNIKOV; KASHCHENKO, 2014), benzofuranos (TOYODA et al., 2006; ROMANO et al., 2008), alcaloides (TIDJANI et al., 2013; BOSI et al., 2013) e flavonoides. (BENYAHIA et al., 2014; AL-MUSAYEIB et al., 2014). Talvez essa característica peculiar seja a principal responsável pela importância econômica da família na medicina tradicional, visto que a família Asteraceae é conhecida pelas propriedades terapêuticas, cosméticas e aromáticas. É relatado na literatura o uso medicinal dessa família como anti-helmíntico, anti-inflamatório, adstringente, colerético, anti-hemorragico, antimicrobiano, diurético, analgésico, antiespasmódico, citotóxico e antioxidante. (PORTILLO et al., 2001; IŞCAN et al., 2006; ABAD; BERMEJO, 2006; BENEDEK et al., 2007; JEON et al., 2008; FABRI et al., 2011; MOJARRAB et al., 2017).

Dentre as inúmeras representantes deste clado, muitas são usadas na medicina popular para uma variedade de indicações, incluindo espécies conhecidas como *Artemisia vulgaris* L. (Artemísia), *Artemisia absinthium* L. (losna), *Baccharis trimera* DC. (carqueja), *Cynara scolymus* L. (alcachofra), *Egletes viscosa* Less. (macela), *Matricaria recutita* L. (camomila) e *Mikania glomerata* Spreng. (guaco). (BERETTA et al., 2008; SILVA; ANDRADE, 2013). Outras espécies apresentam grande importância econômica, sendo usadas na alimentação humana e animal, como é o caso de *Helianthus annuus* L. (girassol), ou ainda ornamental, como *Chrysanthemum coronarium* L. (crisântemo) e *Dahlia pinnata* Cav. (dália), (PEREIRA et al., 2016). Essa família, também, inclui inúmeras espécies invasoras, como *Baccharis dracunculifolia* DC., *Bidens pilosa* L., *Sonchus oleraceus* L. e *Taraxacum officinale* F. H. Wigg. (RIBEIRO et al., 2004; SOUZA; LORENZI, 2005).

O grande número de espécies aliado à diversidade morfológica e filogenética da família, dificultam a delimitação das subfamílias, tribos e subtribos, levando diversos botânicos a estabelecer sua própria classificação taxonômica. (WAGENITZ, 1976; JANSEN et al., 1990; BAYER; STARR, 1998; FUNK et al., 2005). A classificação mais recente (FIGURA 1) reconhece 12 subfamílias e 28 tribos (PANERO; FUNK, 2008; PATTERSON, 2009), embora, a classificação proposta por Bremer em 1994, seja amplamente aceita por diversos pesquisadores. Esta classifica a família em 17 tribos distribuídas em três subfamílias: Asteroideae (10 tribos), Cichorioideae (6 tribos) e Barnadesioideae (1 tribo).

FIGURA 1 – AGRUPAMENTO DAS CLASSIFICAÇÕES TAXÔNICAS DA ASTERACEAE



FONTE: PANERO; FUNK (2008).

No Brasil, os estudos relacionados à família como um todo, tiveram início com trabalho de Baker. (BAKER, 1882). Novas pesquisas, com o intuito de realizar um levantamento da incidência desta família ou de suas tribos foram feitas em estados ou localidades específicas, entre os quais, encontram-se a região de Itatiaia e cidade do Rio de Janeiro (RJ), Mucugê e Pico das Almas (BA), Chapada dos Veadeiros (GO), Picinguaba e Fontes do Ipiranga (SP), além dos estados do Mato Grosso, Rio Grande do Sul e Paraná. (HATTORI; NAKAJIMA, 2008).

A tribo Astereae emerge como um grupo monofilético dentro da família, ou seja, todos os representantes derivam de um ancestral comum. Esta tribo ocorre amplamente em regiões temperadas e tropicais, compreendendo cerca de 205 gêneros e 3.080 espécies classificadas em 18 subtribos, dentre estas Baccharidinae Less., muito importante, e exclusivamente americana. É constituída pelos gêneros *Archibaccharis* Heering, com 32 espécies, e *Baccharis* L. (FIELDING, 2001; GIULIANO, 2001; MÜLLER, 2006), que compreende cerca de 400 espécies distribuídas entre o Canadá e o sudeste da Argentina e Chile. (ABAD; BERMEJO, 2006). A alta concentração de espécies no Brasil e nos Andes indica que uma dessas áreas é o provável centro de origem desse gênero.

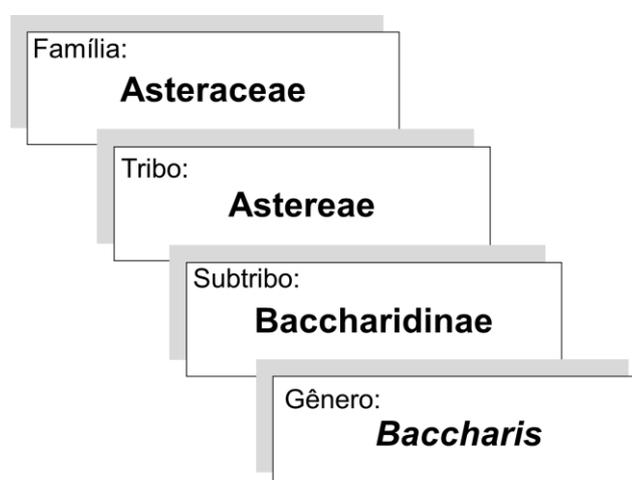
3.3 *Baccharis* L.

Baccharis L. é descrito como o maior gênero pertencente à Asteraceae, compreendendo entre 388 a 400 espécies (FIELDING, 2001; GIULIANO, 2001; HEIDEN; PIRANI, 2016). No Brasil, estão catalogadas atualmente 178 espécies, presentes em todos os biomas, sendo mais abundantes nas regiões Sul, Sudeste e Centro-Oeste. (HEIDEN, 2016). A FIGURA 2 apresenta a posição do gênero dentro da família.

As espécies deste gênero são classificadas em seções de acordo com suas características morfoanatômicas. Atualmente, a classificação mais aceita é a que subdivide o gênero em 26 seções: *Angustifoliae* (Baker) O. Hoffm., *Aphyllae* (Baker) O. Hoffm., *Aristidentes* G. L. Nesom, *Axillaris* DC., *Baccharidastrium* (Cabrera) G. L. Nesom, *Caulopterae* DC., *Corymbosae* Heering, *Discolores* DC., *Distichae* DC., *Glandulicarpae* G. L. Nesom, *Glomeruliflorae* Heering, *Lepidophyllae* DC., *Macrophyllae* Heering, *Molina* (Pers.) Cuatrec., *Nitidae* Cuatrec., *Oblongifoliae* DC., *Pseudobaccharis* (Cabrera) Cuatrec., *Psila* (Phil.) Cuatrec., *Racemosae* Ariza,

Scandentes Cuatrec., *Sergilae* DC., *Subliguliflorae* Giuliano, *Tarchoanthoides* (Heering) Cuatrec., *Trinervatae* DC. e *Tubulatae* Cuatrec. (MULLER, 2006; HEIDEN; PIRANI, 2016). No geral são subarbustos perenes, ramificados, com caules e ramos cilíndricos e medem em média de 0,5 a 4,0 m de altura, apresentando folhas sésseis e pecioladas. (BARROSO; BUENO, 2002). Possuem capítulos florais pequenos, geralmente dioicos e flores de coloração branca, podendo apresentar variações. (BREMER, 1994).

FIGURA 2 – POSIÇÃO TAXONÔMICA DO GÊNERO *Baccharis* NA FAMÍLIA ASTERACEAE



FONTE: O autor (2016).

Desde 1900 o gênero tem sido avaliado cientificamente, quanto aos aspectos químicos, biológicos e morfoanatômicos. Atualmente, são mais de 150 compostos isolados e identificados (CAMPOS et al., 2016) e cerca de 120 espécies de *Baccharis* analisadas química e biologicamente. (VERDI et al., 2005; ABAD; BERMEJO, 2006; FREIRE et al., 2007; OLIVEIRA et al., 2014; CAMPOS et al., 2016).

A espécie mais conhecida do gênero e descrita pela Farmacopéia Brasileira, *Baccharis trimera* (Less.) DC., faz parte de um grupo conhecido como “carquejas”, o qual é constituído por outras espécies que também apresentam ramos e caules alados (BRASIL, 2010b). Essa semelhança induz a população ao consumo indiscriminado e incorreto. (BARROSO; BUENO, 2002). Para sanar e esclarecer as dúvidas resultantes dessa semelhança, muitos especialistas utilizam-se da investigação morfoanatômica das espécies. (BARROSO, 1976; GIANELLO et al., 2000; ORTINS; AKISUE, 2000; BUDEL et al., 2004; FREIRE et al., 2007; PETENATTI et al., 2007; RODRÍGUEZ et al., 2008; JASINSKI et al., 2014). O estudo da morfologia fornece um conjunto de

parâmetros como as características dos caules e ramos, das folhas, das capitulescências, das flores masculinas e femininas, entre outros, com o propósito de fornecer informações que possam auxiliar na identificação e/ou diferenciação das espécies do gênero. Observa-se, entretanto, que mesmo com estes estudos em andamento, ainda há uma grande dificuldade de diferenciação botânica, bem como, de delimitação das espécies de *Baccharis* que ainda é confusa devido ao polimorfismo apresentado. Isso pode ser evidenciado em um trabalho realizado por Scheneider (2009), no qual, um estudo de microscopia eletrônica de varredura (MEV) considerou que as espécies denominadas dentro do complexo das carquejas apresentam o mesmo padrão de microestrutura. Também utilizando marcadores moleculares do tipo ISSR (sequências internas simples repetidas) revelou a existência de similaridade genética superior a 50% entre essas espécies. Assim sugere-se que as espécies deste complexo são apresentadas na sinonímia de *B. genistelloides* subsp. *crispa* Spreng. (SCHNEIDER et al., 2009).

O caráter dioico da maioria destas espécies apesar de ser, tradicionalmente, considerado como uma informação para o reconhecimento do gênero, acarreta uma considerável variação nas suas características. (PAUCAR; GIULIANO, 2004).

A diversidade de espécies deste gênero representa um potencial ainda não estimado de recursos de matéria-prima, podendo fornecer óleos essenciais e moléculas bioativas para a indústria. Apresentam elevado valor socioeconômico, sendo que um grande número delas é utilizado na medicina popular para controle ou tratamento de várias doenças. São consumidas principalmente na forma de chás com indicações para males do estômago, fígado, anemias, inflamações, diabetes, doenças na próstata, sendo também descritas como remédio para o processo de desintoxicação do organismo, infecções urinárias, amigdalite e verminoses. (VERDI et al., 2005; HEIDEN; MACIAS; et al., 2006; HEIDEN et al., 2009).

No Brasil as espécies reconhecidas na medicina popular são *B. trimera* e *B. articulata* (Lam.) Pers. (CORTADI et al., 1999), muito usadas para uma variedade de doenças, tais como desordens digestivas e do fígado, malária, úlceras, diabetes, anemia, diarreia, mal de Hansen, entre outras. (VERDI et al., 2005; ABREU; ONOFRE, 2010). Além dos usos na medicina popular podem apresentar-se como plantas ornamentais, como é o caso de *B. hamilifolia* L., ou ainda, como plantas invasoras de difícil combate em pastagens, podendo causar envenenamento no gado, como *B. coridifolia* DC. (JARVIS et al., 1991; JARVIS, 1992; VARASCHIN et al., 1998). Um

exemplo de espécie cultivada para a extração de óleo essencial para exportação é *B. dracunculifolia* DC. que apresenta em sua composição o *trans*-nerolidol, importante metabólito utilizado na indústria de perfumes.

Apesar da importância e do grande número de seções e espécies deste gênero, somente 30% apresentam algum tipo de estudo químico ou biológico. Com base nisso e na importância etnobotânica do gênero, somados à devastação dos biomas brasileiros, o estudo com espécies de novas seções é de grande importância, uma vez que os estudos químicos e biológicos são escassos.

3.3.1 Seção *Axillaris*

Entre as 26 seções de *Baccharis* encontra-se a *Axillaris* que está representada por 25 espécies, distribuídas principalmente no sul (Santa Catarina e Paraná), sudeste (São Paulo, Rio de Janeiro, Minas Gerais) e nordeste (Bahia) do Brasil. (OLIVEIRA et al., 2006). São estas: *B. angusticeps* Dusén, *B. aracatubensis* Malag., *B. axillaris* DC., *B. bahiensis* Baker, *B. concinna* G. M. Barroso, *B. cultrata* Baker, *B. hypericifolia* Baker, *B. incisa* Hooker & Arnott var. *incisa*, *Baccharis incisa* Hooker & Arnott var. *dentata* (DC.) Baker, *B. inexpectata* sp., *B. lateralis* Baker, *B. lymannii* G. M. Barroso, *B. minutiflora* Martius ex Baker, *B. nassauvioides* sp. nov., ined., *B. pampeana* An. S. de Oliveira, Deble & Marchiori, *B. parvidentata* Malag., *B. pauciflosculosa* DC., *B. perlata* Sch.-Bip. Ex Baker, *B. polyphylla* Gardner, *B. pseudovaccinioides* Malag., *B. selloi* Baker, *B. serrula* Sch.-Bip. ex Baker, *B. truncata* Gardner, *B. vauthierii* DC., *B. xyphophylla* Baker.

Axillaris reúne espécies com capitulescência disposta na axila das folhas, difusas ou composito pseudo-espigas folhosas terminais, involúcro feminino cilíndrico e pappus não acrescente. Demonstra relação com a seção *Retusae*, da qual separa-se principalmente pelo arranjo da capitulescência. (OLIVEIRA et al., 2006).

3.3.2 Seção *Caulopterae*

Em *Caulopterae* encontram-se espécies com uma representação econômica expressiva, dentre as quais, plantas úteis na medicina popular, na apicultura e paisagismo (HEIDEN; BARBIERI; et al., 2006), o que justifica o maior interesse por parte dos pesquisadores. Sua ocorrência é restrita à América do Sul e entre estas, 23 espécies são encontradas no Brasil. (SCHNEIDER et al., 2009).

Esta é representada por 32 espécies: *B. alpina* Kunth, *B. apicifolia* A.A.Schneid & Boldrine, *B. articulata* (Lam) Pers., *B. burchellii* Baker, *B. flexuosiramosa* A.A.Schneid & Boldrine, *B. genistelloides* subsp. *crispa* (Spreng.) Joch Mull., *B. genistelloides* subsp. *lorentzii* Joch. Mull., *B. genistelloides* (Lam.) Pers. Subsp. *genistelloides*, *B. glaziovii* Baker, *B. heeringiana* Malag, *B. microcephala* (Less.) DC., *B. milleflora* (Less.) DC., *B. opuntioides* Mart., *B. organensis* Baker, *B. palustris* Heering, *B. paranensis* Heering & Dúsen, *B. penningtonii* Heering, *B. pentaptera* (Less.) DC., *B. phyteuma* Heering, *B. phyteumoides* (Less.) DC., *B. pseudovillosa* Malag. & J. E. Vidal, *B. ramboi* G. Heiden & L. Macias, *B. regnelli* Sch. Bip., *B. reticulata* Pers., *B. riograndensis* Malag. & J. E. Vidal, *B. sagittalis* (Less.) DC., *B. subalata* Wedd. var. *subalata*, *B. subalata* Wedd. var. *vargasii* Joch. Mull., *B. subbimera* Hieron., *B. triangularis* Hauman, *B. usterii* Heering e *B. vincifolia* Baker. (SCHNEIDER et al., 2009).

As principais características apresentadas pelas espécies desta seção incluem a presença de caule alado na maioria dos indivíduos, são arbustivas ou subarbustivas e atingem aproximadamente até 1,5 metros de altura. Seu habitat geralmente é em ambientes campestres, bordas de florestas e ambientes alterados com altitude de até 2.500 metros acima do nível do mar. (BARROSO, 1976).

Uma abordagem taxonômica envolvendo caracteres químicos para *Baccharis* sect. *Caulopterae* revelou diferenças na composição dos óleos essenciais, justificadas em parte pelas variações genéticas devido à fecundação cruzada que ocorre em populações de plantas silvestres (SIMÕES-PIRES et al., 2005), resultando em variações na composição química dos óleos essenciais e nas atividades biológicas que lhes são atribuídas. (CIMANGA et al., 2002).

3.3.3 Constituintes químicos de *Baccharis* L.

Dentre os reinos mineral, animal e vegetal, este último é o que vem contribuindo de forma mais significativa para a descoberta de novas moléculas com fins terapêuticos, cosméticos ou alimentícios. Os vegetais têm a capacidade de produzir suas próprias defesas ao longo do ciclo evolutivo, e isso os auxilia na proteção contra predadores herbívoros, insetos e micro-organismos; além, de auxiliar na adaptação do vegetal às agressões do meio ambiente, e dessa forma garantir vantagens para assegurar sua sobrevivência e perpetuação da espécie. (LINDROTH et al., 1987; BOWERS; STAMP, 1993; HARTMANN, 1996; DARROW; BOWERS, 1997). Para tanto, é necessário que o vegetal produza, metabolize e acumule compostos orgânicos, através de uma rede integrada de reações químicas, denominada metabolismo secundário. Entretanto, existem fatores que podem coordenar ou alterar a taxa de produção destes metabólitos e podem estar associados ao desenvolvimento do vegetal, sazonalidade, temperatura, altitude, bem como com o processo extrativo empregado, entre outros. (FRIZZO et al., 2008). Em geral, estes fatores apresentam correlação entre si e não atuam isoladamente, portanto a época de análise do vegetal é um fator que deve ser levado em consideração. (GOBBONETO; LOPES, 2007). É importante ressaltar que em espécies com desenvolvimento anual e/ou dioicas, como é o caso da extensa maioria de espécies de *Baccharis*, as variações de sazonalidade devem ser avaliadas em conjunto com as alterações metabólicas, que estão envolvidas no processo de desenvolvimento interno do vegetal. (CRANKSHAW; LANGENHEIM, 1981; GERSHENZON, 1984; PALO et al., 1985; LILOV; ANGELOVA, 1987).

Na última década, foram relatados para as espécies de *Baccharis* um número expressivo de compostos orgânicos, entre os quais encontram-se, principalmente, os compostos fenólicos (ácidos fenólicos e flavonoides). Além destes, cumarinas e terpenos também são relatados. (VERDI et al., 2005; CAMPOS et al., 2016).

3.3.3.1 Compostos fenólicos

Os compostos fenólicos compreendem estruturas que podem variar de moléculas simples, com um anel aromático (C₆) ligado a um ou vários grupamentos hidroxilas, até moléculas altamente ramificadas. (BRAVO, 1998). E encontram-se

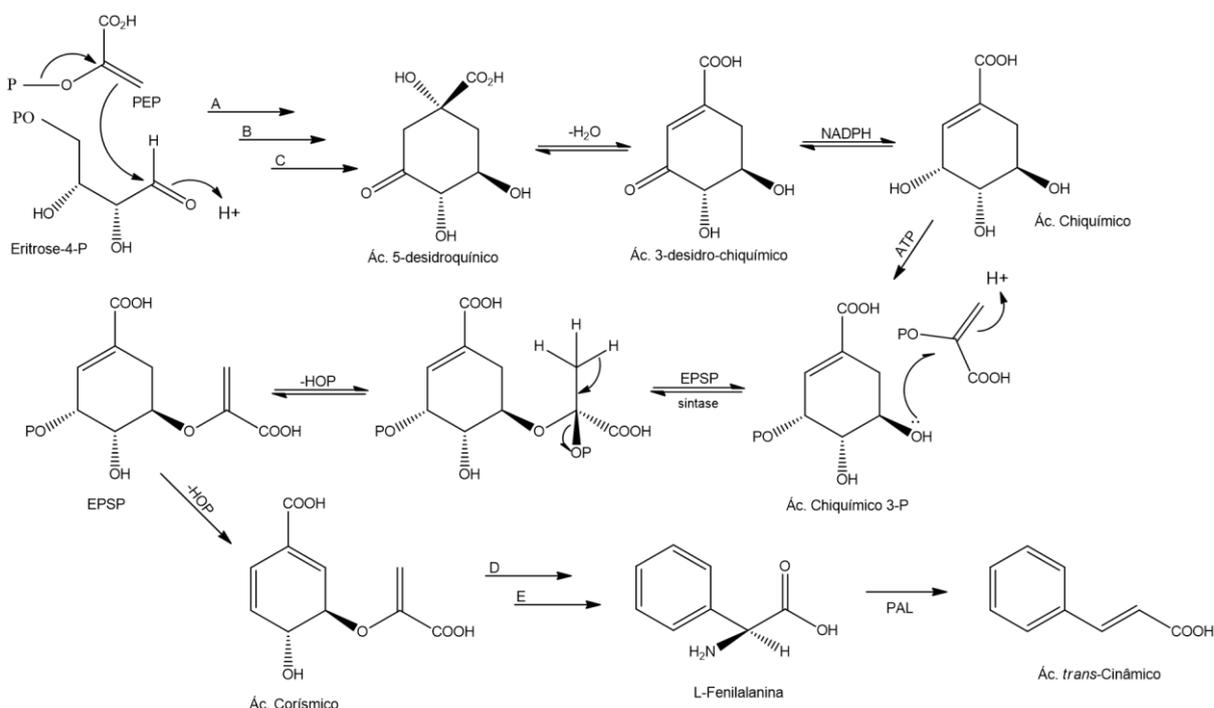
amplamente distribuídos no reino vegetal, constituindo a maior classe de metabólitos secundários (NACZK; SHAHIDI, 2004) essenciais no crescimento e reprodução das plantas (KING; YOUNG, 1999). Também são os metabólitos responsáveis por fornecer proteção contra raios ultravioleta (UV), além de atuarem como fitoalexinas, que conferem resistência contra organismos patogênicos e predadores. (BRAVO, 1998; FARAH; DONANGELO, 2006). Sendo assim, estes compostos também apresentam diferenças na taxa de produção, de acordo com fatores ambientais e tempo de evolução do vegetal. Em períodos de floração por exemplo, há um aumento na produção dos derivados fenólicos e um decréscimo na produção de aleloquímicos, o que sugere uma estratégia metabólica para atração de polinizadores e dispersores de frutos e sementes; além de fornecer proteção contra herbívoros e patógenos, que poderiam dificultar a perpetuação das espécies. (CRANKSHAW; LANGENHEIM, 1981; GERSHENZON, 1984; PALO et al., 1985; LILOV; ANGELOVA, 1987; SAKIHAMA, 2002; NACZK; SHAHIDI, 2004; CHAROENYING et al., 2010; SOSA et al., 2010). A altitude também está envolvida no aumento da produção destes compostos, com a finalidade de proteger contra a radiação excessiva de luz visível e UV, uma vez que o desequilíbrio na utilização e dissipação da energia luminosa podem levar à necessidade de acúmulo de antioxidantes. (GRACE; LOGAN, 2000; LEE et al., 2003; NACZK; SHAHIDI, 2004; CLOSE et al., 2007).

A via metabólica do ácido chiquímico é responsável pela síntese de uma parte dos compostos fenólicos (SIMÕES-PIRES et al., 2003). De maneira simplificada, a formação destes compostos pela via metabólica do chiquimato (FIGURA 3) acontece com a condensação do fosfoenolpiruvato (PEP) e eritrose-4-fosfato, originando o ácido chiquímico. A partir deste composto e outra molécula de PEP forma-se corismato (ácido corísmico), molécula precursora dos aminoácidos fenilalanina (Phe), tirosina (Tyr) e triptofano (Trp). O aminoácido Phe sofre ação da enzima fenilalanina amônia-liase (PAL), a qual, retira uma molécula de amônia do aminoácido, levando à formação do ácido *trans*-cinâmico. Nas reações enzimáticas subsequentes são originados os esqueletos fenilpropanoides, que servirão de substrato para a biossíntese de flavonas e outros compostos fenólicos. Nos ácidos cinâmicos a isomerização *cis/trans* pode ocorrer facilmente sob a presença de radiação UV. (DEWICK, 2002; SIMÕES-PIRES et al., 2003).

Estes compostos fenólicos subdividem-se em dois grandes grupos, de acordo com a similaridade das suas cadeias em flavonoides e não flavonoides (MANACH et

al., 2004; MICHALAK, 2006). Nas espécies de *Baccharis* são encontrados compostos de ambos os grupos. (VERDI et al., 2005; CAMPOS et al., 2016).

FIGURA 3 – ROTA METABÓLICA DE FORMAÇÃO DOS COMPOSTOS FENÓLICOS PELA VIA DO CHIQUIMATO

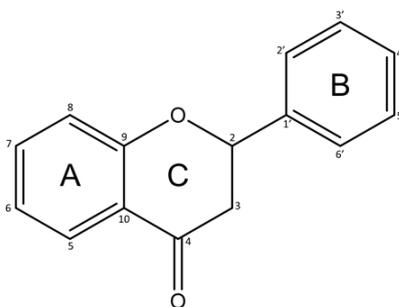


FONTE: Adaptado de DEWIC (2002).

LEGENDA: A - Aldolase; B - Desidroquinato Sintase; C - Desidroquinato Desidratase; D - Corismato Mutase; E - Prefenato Desidrogenase.

- **Flavonoides** – estes compostos são formados a partir da união da via do chiquimato e da via acetato, originando moléculas que apresentam uma estrutura química difenilpropano (C₆-C₃-C₆), a qual consiste de dois anéis aromáticos A e B unidos por um anel C heterocíclico oxigenado (FIGURA 4). As substituições nos anéis A e B originam diferentes compostos que podem ser subdivididas em 11 diferentes classes: flavonas, flavanonas, isoflavonas, flavonois, dihidroflavonois, isoflavonoides, flavanois, chalconas, dihidrochalconas, antocianidinas e catequinas. (PIETTA, 2000; ROSS; KASUM, 2002; MANACH et al., 2004; CORRADINI et al., 2011).

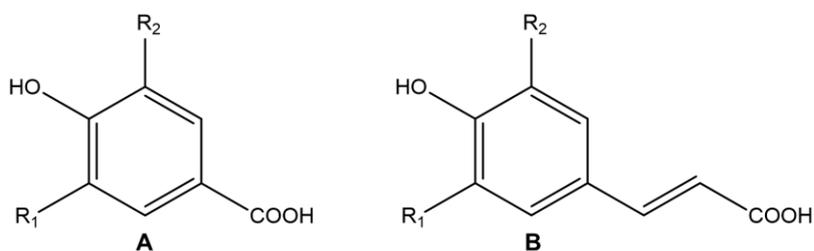
FIGURA 4 – ESQUELETO BÁSICO DE FLAVONOIDES



FONTE: O autor (2016).

- Não Flavonoides – esse grupo é composto por ácidos fenólicos, lignanas, cromonas, cromanonas, acetofenonas, benzofuranos, antraquinonas, cromenos, cumarinas, taninos hidrolisáveis, dentre outros. (CHEYNIER, 2005). Deste grupo, os ácidos fenólicos são os compostos mais comuns em *Baccharis* (VERDI et al., 2005; CAMPOS et al., 2016) e caracterizam-se por apresentarem em sua estrutura um anel benzênico, um grupamento carboxílico e um ou mais grupamentos de hidroxila e/ou metoxila. Estes compostos são subdivididos em dois grupos, os derivados do ácido hidroxibenzóico com uma estrutura comum C₆-C₁ (FIGURA 5 A) (BALASUNDRAM et al., 2006), e derivados do ácido hidroxicinâmico que são compostos aromáticos com uma cadeia lateral de três carbonos (C₆-C₃) (FIGURA 5 B). (BRAVO, 1998).

FIGURA 5 – ESTRUTURA QUÍMICA DOS ÁCIDOS HIDROXIBENZÓICOS (A) E HIDROXICINÂMICOS (B)



FONTE: O autor (2016).

Os flavonoides e os ácidos fenólicos fazem parte do grupo de compostos naturais mais identificados em *Baccharis* (MOREIRA et al., 2003; VERDI et al., 2004, 2005; ABAD; BERMEJO, 2006; BARREIRO; BOLZANI, 2009) devido às suas propriedades antioxidantes que afetam os radicais livres do oxigênio e a peroxidação

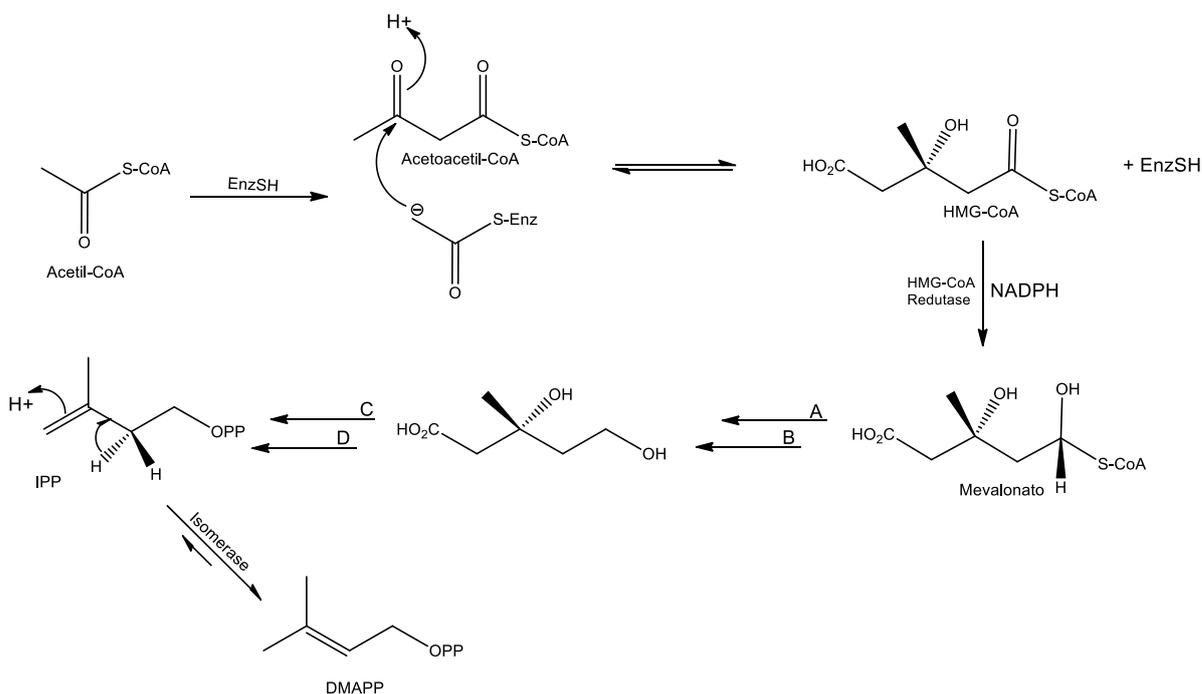
lipídica. (GIANELLO et al., 2000; SHARP et al., 2001; SIMÕES-PIRES et al., 2005; FAN et al., 2014; WANG et al., 2015; WANG et al., 2016). Além da atividade antioxidante, ainda são atribuídas a estes compostos as atividades citotóxica (AZOFEIFA et al., 2013; PARVEEN et al., 2014; LI et al., 2014; KUETE et al., 2014; ESHWARAPPA et al., 2015; KOSANIĆ et al., 2016; RANA et al., 2016), anti-inflamatória (AZOFEIFA et al., 2013; FIGUEIREDO-RINHEL et al., 2013; LI et al., 2014), antibacteriana (TSUCHIYA et al., 1996; ZHU et al., 2004; D'ALMEIDA et al., 2012; COPPO; MARCHESE, 2014; TOYAMA et al., 2014; GRECCO et al., 2014; RASHED et al., 2014; PINHO et al., 2015; ZUCCOLOTTO et al., 2016; ARASOGLU et al., 2016; PANYO et al., 2016), antifúngica (ALVES et al., 2014; RASHED et al., 2014; PIZZOLITTO et al., 2015; PAGNUSSATT et al., 2016), antimalárica, antiparasitária, tripanocida (GADETSKAYA et al., 2015; CUNHA et al., 2016; LIMA et al., 2016), vasodilatadora (LIU et al., 2014; WANG et al., 2014, 2015; AREND et al., 2015; HE et al., 2016) e inseticida. (SINGH et al., 2014, 2016).

3.3.3.2 Óleos essenciais

Os óleos essenciais são misturas complexas de compostos naturais extremamente voláteis, podendo ter entre dezenas a centenas de compostos, caracterizadas por exalarem odores fortes e possuírem ações terapêuticas. São produzidos por órgãos anatômicos especializados (tricomas glandulares, células oleíferas e cavidades oleíferas) que podem estar distribuídos por toda a planta ou em algum órgão específico. (JANSSEN et al., 1987; QUEIROGA et al., 1990; COUTINHO et al., 1998; SIMÕES-PIRES et al., 2003).

Muitos destes compostos têm sua origem pela via biossintética do mevalonato (FIGURA 6). De um modo geral, essa síntese ocorre inicialmente, através da condensação de uma molécula de acetoacetil-CoA com o acetil-CoA, seguida de uma hidrólise que leva à formação do 3-hidroxi-3-metilglutaril-CoA (HMG-CoA); esse composto, através da ação enzimática da HMG-CoA redutase origina o mevalonato. As moléculas de mevalonato formadas são rearranjadas por uma série de reações enzimáticas a um composto conhecido como isopentenil-pirofosfato (IPP) ou isopreno. O IPP é uma molécula ramificada de cinco átomos de carbono ligada a dois grupos fosfato. Essas unidades de cinco carbonos são o ponto de partida para a formação dos terpenos. (RAVEN, 1988; DEWICK, 2002; SIMÕES-PIRES et al., 2003).

FIGURA 6 – SÍNTESE DE TERPENÓIDES PELA VIA BIOSSINTÉTICA DO MEVALONATO



FONTE: Adaptado de DEWIC (2002).

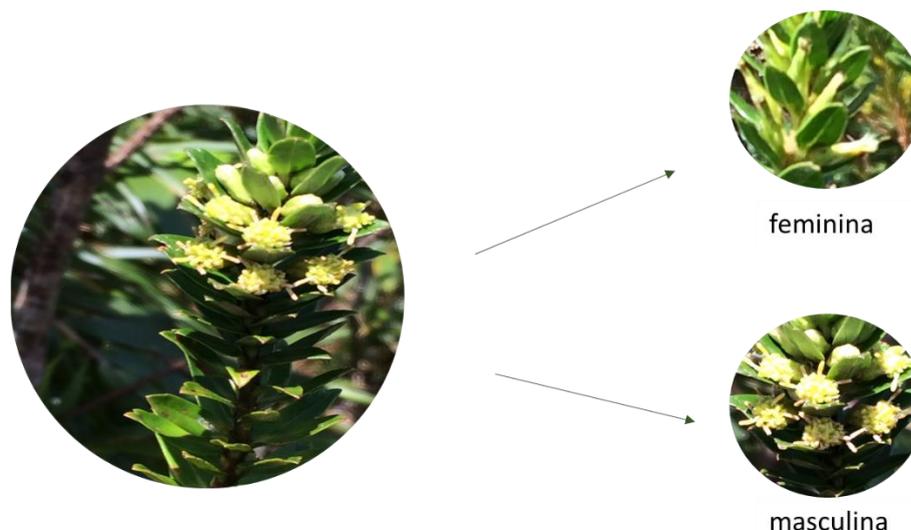
LEGENDA: EnzSH - Acetil-CoA-Acetiltransferase; A - Mevalonato quinase; B - Fosfomevalonato quinase; C - Difosfomevalonato descarboxilase; D - Isopentenildifosfato isomerase.

Baccharis é uma rica fonte de óleos essenciais, mas o número de espécies que foram investigadas a este respeito é relativamente pequeno. (VERDI et al., 2005; CAMPOS et al., 2016). As pesquisas realizadas com os óleos essenciais de *Baccharis* demonstraram que estes possuem um alto percentual de compostos, principalmente monoterpenos e sesquiterpenos. (BESTEN et al., 2012, 2013, 2014; CAMPOS et al., 2016). Além disto, apresentam um amplo espectro de atividades biológicas que tem despertado o interesse de vários grupos de pesquisa. Entre as atividades relatadas para estes compostos estão atividades biológicas como antioxidante, antifúngica, antibacteriana, antihemolítica, antiulcerogênica e inseticida. (ABAD; BERMEJO, 2006; BESTEN et al., 2014; CAMPOS et al., 2014; BARUD et al., 2014; VALAREZO et al., 2015; CANESCHI et al., 2015; MIRANDA et al., 2016a; MIRANDA et al., 2016b; NOGUEIRA SOBRINHO et al., 2016; CHAN et al., 2016; PEREIRA et al., 2016). Ainda podem atuar em afecções do sistema respiratório, gastrointestinal, sistema nervoso central, sistema circulatório e cardíaco, entre outras patologias. (IŞCAN et al., 2006; CUNHA et al., 2012; GALVÃO et al., 2012; LANG; BUCHBAUER, 2012; AISSI et al., 2016; BRAHMI et al., 2016; CIOANCA et al., 2016; OMAR et al., 2016).

Os óleos essenciais, tem entre outras funções de atuarem como um sinal químico para atrair polinizadores ou, repelir predadores (GERSHENZON; DUDAREVA, 2007), podendo variar a composição química, entre os indivíduos masculinos e femininos, em espécies dioicas (ARAÚJO et al., 2003; ZUNINO et al., 2011), como é o caso da maioria das espécies do gênero. Atuam ainda, como inibidores de germinação garantindo vantagens que assegurem a sobrevivência e perpetuação da espécie vegetal. Entretanto, assim como os outros metabólitos secundários, a composição química destes pode variar de acordo com fatores genéticos e ambientais (temperatura, umidade, luz, solo, latitude, altitude), por exemplo, a formação de óleos essenciais, em geral, parece aumentar em temperaturas mais elevadas, apesar de dias muito quentes levarem a uma perda excessiva destes metabólitos por volatilização. (RAVEN, 1988; PALÁ-PAÚL et al., 2001; GOBBO-NETO; LOPES, 2007; MORAIS, 2009). Além destes, existem ainda outros fatores, como o horário e a fase de desenvolvimento da planta na época da coleta. Estes podem interferir na constituição química do óleo essencial, levando a diferenças na aparência e diversidade dos vegetais. (KERROLA et al., 1994; BORSATO et al., 2007; BARROS et al., 2009; MORAIS, 2009).

3.4 *Baccharis aracatubaensis* MALAG.

Conhecida como vassoura, a espécie *Baccharis aracatubaensis* (FIGURA 7) pertence à seção *Axillaris*, e é um sub-arbusto ramoso nativo do Brasil, com aproximadamente 1,2 m de altura, e de distribuição restrita aos estados de Santa Catarina e Paraná. Ocorrendo em altitudes superiores a 1400 m e ambientes ensolarados. Floresce de outubro a dezembro, frutificando em seguida. (BARROSO; BUENO, 2002).

FIGURA 7 – *Baccharis aracatubaensis* MALAG.

FONTE: O autor (2015).

Esta espécie foi incluída na lista de espécies ameaçadas de extinção, o que justifica o interesse de estudo da mesma. Neste sentido, este trabalho é o primeiro relato de investigação química, biológica e morfoanatômica realizada com esta planta.

3.5 *Baccharis organensis* BAKER

Conhecida como vassoura, a espécie *Baccharis organensis* (FIGURA 8) pertence a seção *Caulopterae*, e é um arbusto ramificado nativo do Brasil, com aproximadamente 1,0 m de altura, e de distribuição geográfica no Rio de Janeiro (Serra dos órgãos e Itatiaia), Paraná, Santa Catarina e Rio Grande do Sul. Ocorrendo em altitudes superiores a 1200 m e ambientes ensolarados, floresce de outubro a fevereiro, frutificando em seguida. (BARROSO; BUENO, 2002).

FIGURA 8 – *Baccharis organensis* BAKER

FONTE: O autor (2015).

Este trabalho é o primeiro relato de investigação química, biológica e morfoanatômica realizada com esta planta. De acordo com estudos de outras espécies do mesmo gênero, substâncias importantes farmacologicamente têm sido isoladas, o que justifica o interesse na investigação química e biológica desta espécie.

4 METODOLOGIA

4.1 COLETA E IDENTIFICAÇÃO DO MATERIAL BOTÂNICO

A coleta do material botânico composto por inflorescências e folhas de *Baccharis aracatubaensis* e *Baccharis organensis* foi realizada em 10 de novembro de 2013, no período da manhã entre as 10h00min as 12h00min. A coleta realizou-se no morro do Canal nas coordenadas 25°51'46.29"S/48°58'53.8"O e 25°30'52.48"S/48°59'10.41"O, elev. 1200 - 1400 m, cidade de Piraquara, região metropolitana de Curitiba/PR.

Para a identificação do material botânico foram preparadas exsicatas dos indivíduos masculino e feminino, de cada uma das espécies, utilizando-se um ramo contendo folhas e flores. As amostras foram identificadas pelo especialista em *Baccharis*, Dr. Gustavo Heiden e pelo curador do Museu Botânico Municipal de Curitiba, Osmar dos Santos Ribas. Estas foram depositadas no Herbário do Museu Botânico Municipal de Curitiba como *Baccharis aracatubaensis* Malag. sob os números MBM-286267 (25/11/2013) para o indivíduo feminino e MBM-286268 (25/11/2013) para o indivíduo masculino e *Baccharis organensis* Baker sob os números MBM-386266 (10/11/2013) para o indivíduo feminino e MBM-386275 (10/11/2013) para o indivíduo masculino.

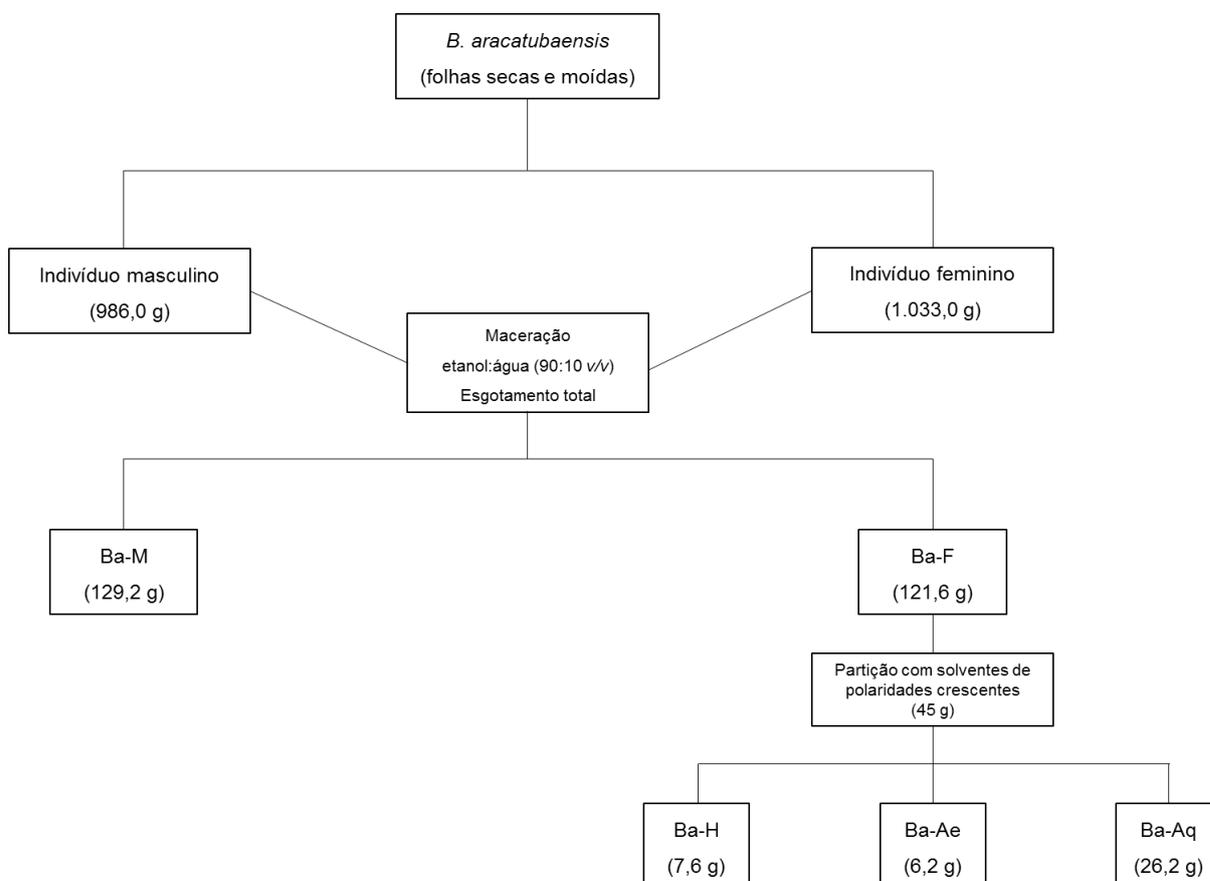
4.2 PREPARO DOS EXTRATOS E FRAÇÕES

A partir do material botânico coletado foram separadas as inflorescências de *B. aracatubaensis* e *B. organensis* para extração do óleo essencial que será discutido na seção 4.4. As folhas foram dessecadas à sombra por três dias e depois reduzidas a fragmentos menores, seguido de pulverização em moedor tipo industrial, modelo LQ003 - Vithory. O material seco e triturado de *Baccharis aracatubaensis* (0,986 kg indivíduo masculino - Ba-M e 1,0 kg indivíduo feminino - Ba-F) e *Baccharis organensis* (0,563 kg indivíduo masculino - Bo-M e 0,470 kg indivíduo feminino - Bo-F) foi submetido à maceração em recipiente fechado, à temperatura ambiente e ao abrigo de luz, conforme demonstrado nos FLUXOGRAMA 1 e FLUXOGRAMA 2. O solvente extrator utilizado foi uma mistura etanol:H₂O (90:10, v/v) na proporção de 2 partes de solvente para 1 parte do material botânico. O solvente extrator foi renovado em

intervalos de 72 horas, por aproximadamente 15 dias, até esgotamento total. Após o período de maceração, o extrato foi filtrado e o solvente removido em rotaevaporador rotativo à pressão reduzida. A seguir, realizou-se liofilização dos extratos. Para este processo utilizou-se o liofilizador da marca Virtis SP Científica, modelo Benchtop Pro 8L XL-70.

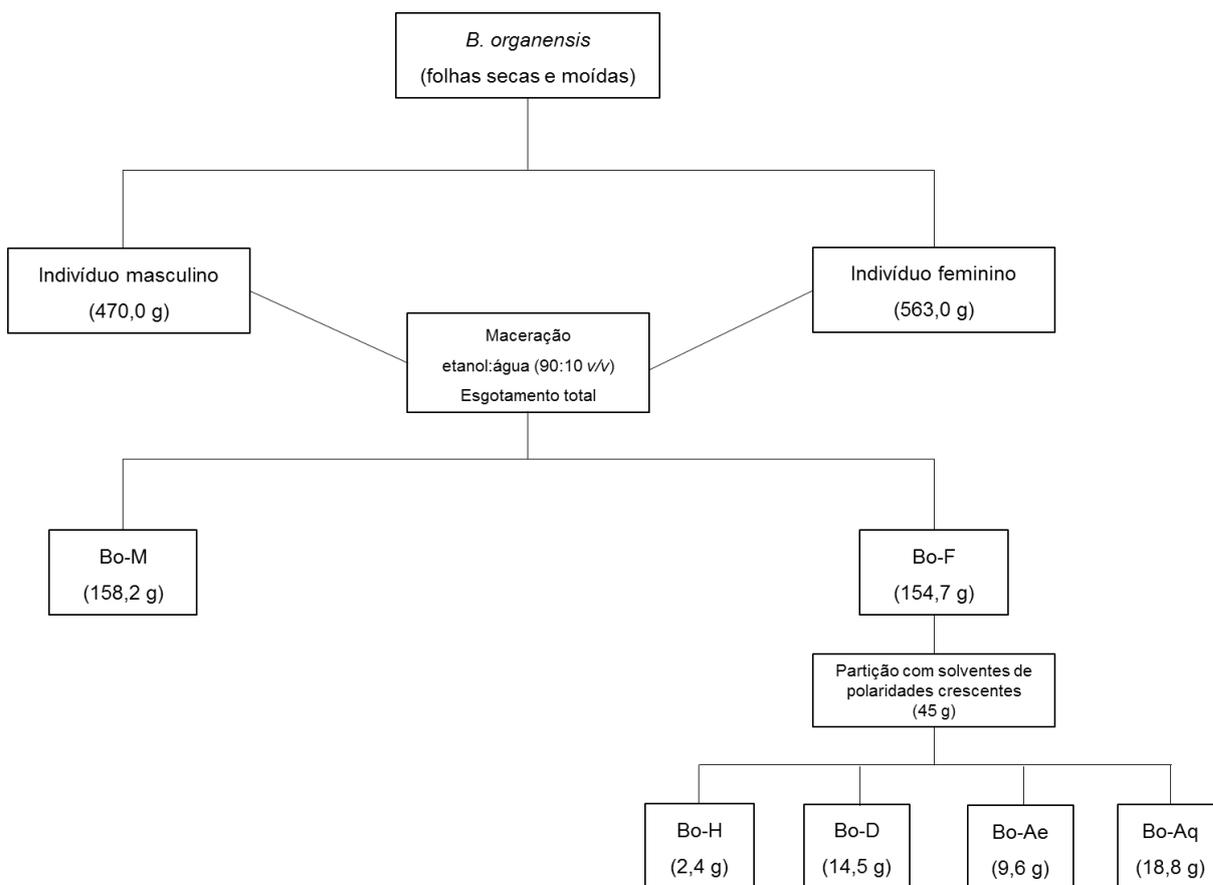
Parte dos extratos brutos (45 g) obtidos dos indivíduos femininos Ba-F e Bo-F foi ressuspendido com uma mistura etanol:H₂O (1:2, v/v) e posteriormente particionado com solventes de polaridades crescentes (hexano, CH₂Cl₂ e AcOEt). Através deste processo obtiveram-se as frações: Hexano (Ba-H e Bo-H), diclorometano (Bo-D), acetato de etila (Ba-Ae e Bo-Ae) e, por fim o material remanescente denominado de fração aquosa (Ba-Aq e Bo-Aq) (FLUXOGRAMA 1 e FLUXOGRAMA 2). Após a partição, as frações foram rotaevaporadas, liofilizadas e armazenadas em dessecador e ao abrigo da luz até o uso.

FLUXOGRAMA 1 – FLUXOGRAMA DE OBTENÇÃO DOS EXTRATOS BRUTOS E FRAÇÕES DAS FOLHAS DE *B. aracetubaensis*



FONTE: O autor (2016).

FLUXOGRAMA 2 – FLUXOGRAMA DE OBTENÇÃO DOS EXTRATOS BRUTOS E FRAÇÕES DAS FOLHAS DE *B. organensis*



FONTE: O autor (2016).

4.3 FRACIONAMENTO, IDENTIFICAÇÃO E DETERMINAÇÃO ESTRUTURAL DOS CONSTITUINTES QUÍMICOS DE *B. organensis*

As técnicas de fracionamento foram realizadas por cromatografia em coluna (CC), utilizando como fase estacionária sílica gel 60 com granulometria de 0,063-0,200 mm (70-230 *mesh* ASTM) da Merck®. Os eluentes empregados nos procedimentos cromatográficos foram hexano, CH₂Cl₂, AcOEt e MeOH em misturas binárias, com gradiente crescente de polaridade. Utilizou-se também a exclusão por tamanho molecular, realizada em gel de dextrana Sephadex® LH-20, de procedência da GE Healthcare®; empregando MeOH ou MeOH:H₂O como fases móveis. O comprimento e diâmetro das colunas variaram de acordo com as quantidades de amostras cromatografadas. Todos os solventes orgânicos de grau P.A. utilizados foram destilados.

As frações obtidas em coluna foram monitoradas por cromatografia em camada delgada analítica (CCDA) e/ou RMN de ^1H . As cromatoplasas utilizadas foram de sílica gel 60 (250 μm) sobre alumínio, da marca Merck®, com indicador de fluorescência na faixa de 254 nm. As placas foram reveladas sob exposição à luz ultravioleta (UV), nos comprimentos de onda curto (254 nm) e longo (365 nm), seguido de aspersão com solução ácido sulfúrico 5% em etanol e vanilina sulfúrica 1% em etanol seguidos de aquecimento das placas por, aproximadamente, 1 minuto a 150 °C.

4.3.1 FRACIONAMENTO DOS CONSTITUINTES QUÍMICOS DE *Baccharis organensis* BAKER

4.3.1.1 Fracionamento dos constituintes da fração diclorometano (Bo-D)

Uma parte da fração Bo-D (5,1 g) foi submetida ao fracionamento através de CC [altura (h) x diâmetro (φ) = 32,0 x 2,6 cm] utilizando como fase estacionária sílica gel (0,063-0,200 mm, 100,0 g) e eluída com quantidades crescentes de AcOEt em hexano, seguida por eluição com AcOEt 100% e por último com quantidades crescentes de metanol em AcOEt, até a eluição com MeOH 100%. Foram recolhidas 106 frações de 30 mL cada, as quais foram reunidas em 20 grupos de frações (I - XX), após comparação por CCDA de acordo com os seus respectivos Rfs (TABELA 1).

TABELA 1 – FRACIONAMENTO DOS CONSTITUINTES DA FRAÇÃO DICLOROMETANO (Bo-D)

Grupos	Frações	Solvente (v/v)	Códigos	Massa (mg)	Subst. Identificadas
I	1 – 17	Hex:AcOEt (95:5)	Bo-D_1	16,5	NI
II	18 – 27	Hex:AcOEt (90:10)	Bo-D_2	9,7	NI
III	28 – 30	Hex:AcOEt (85:15)	Bo-D_3	5,9	NI
IV	31 – 33	Hex:AcOEt (85:15)	Bo-D_4	6,8	NI
V	34 – 35	Hex:AcOEt (80:20)	Bo-D_5	10,6	NI
VI	36 – 37	Hex:AcOEt (80:20)	Bo-D_6	9,0	NI
VII	38 – 41	Hex:AcOEt (80:20)	Bo-D_7	7,7	GRAXA
VIII	42 – 46	Hex:AcOEt (80:20)	Bo-D_8	8,7	Bo-1+Bo-2
IX	47 – 51	Hex:AcOEt (75:25)	Bo-D_9	9,2	Bo-1+Bo-2
X	52 – 61	Hex:AcOEt (70:30)	Bo-D_10	28,3	Bo-3
XI	62 – 68	Hex:AcOEt (60:40)	Bo-D_11	20,1	Bo-4
XII	69 – 74	Hex:AcOEt (50:50)	Bo-D_12	25,3	Bo-4+Bo-5
XIII	75 – 77	Hex:AcOEt (50:50)	Bo-D_13	13,8	Bo-4+Bo-5
XIV	78 – 83	Hex:AcOEt (40:60)	Bo-D_14	25,1	Bo-4+Bo-5
XV	84 – 86	Hex:AcOEt (40:60)	Bo-D_15	12,3	Bo-4+Bo-5
XVI	87 – 89	Hex:AcOEt (40:60)	Bo-D_16	20,9	Bo-4+Bo-6
XII	90 – 95	Hex:AcOEt (30:70)	Bo-D_17	21,2	Bo-6+Bo-7+ Bo-9+Bo-18
XVIII	96 – 101	AcOEt (100)	Bo-D_18	128,2	} TABELA 2
XIX	102 – 105	AcOEt:MeOH (80:20)	Bo-D_19	240,2	
XX	106	MeOH (100)	Bo-D_20	3.117,0	

FONTE: O autor (2016).

LEGENDA: NI - não identificado.

Os grupos XVIII (128,2 mg), XIX (240,2 mg) e XX (3,12 g) foram submetidos a novo fracionamento através de cromatografia por exclusão, utilizando fase estacionária Sephadex LH-20 e eluídas com MeOH 100%. Para os grupos XVIII e XIX foi utilizada CC com especificações de 50,0 x 1,6 cm (altura x ϕ) e para o grupo XX foi

utilizada CC com especificações de 62,0 x 2,6 cm (altura x φ). Foram recolhidas 11, 12 e 33 subfrações respectivamente, com aproximadamente 30 mL cada. Estas foram reunidas em grupos de frações, após comparação por CCDA de acordo com os seus respectivos Rfs (TABELA 2).

TABELA 2 – FRACIONAMENTO DAS SUBFRAÇÕES XVIII (Bo-D_18), XIX (Bo-D_19) E XX (Bo-D_20) OBTIDAS DA FRAÇÃO DICLOROMETANO

Grupos	Frações	Códigos	Massa (mg)	Subst. Identificadas
XVIII	1 – 2	Bo-D_18/1	28,0	Bo-4+Bo-6
	3	Bo-D_18/2	7,5	Bo-8
	4	Bo-D_18/3	17,9	Bo-9+Bo-10+Bo-11+Bo-12
	5	Bo-D_18/4	8,6	Bo-4+Bo-6+Bo-12
	6 – 9	Bo-D_18/5	72,9	Bo-4+Bo-13
	10 – 11	Bo-D_18/6	1,8	NI
IX	1 – 2	Bo-D_19/1	12,2	NI
	3	Bo-D_19/2	57,7	NI
	4	Bo-D_19/3	90,5	NI
	5 – 6	Bo-D_19/4	29,4	Bo-4+Bo-9+Bo-12
	7	Bo-D_19/5	10,6	Bo-6
	8	Bo-D_19/6	4,6	Bo-6+Bo-14
	9 – 12	Bo-D_19/7	5,7	NI
XX	1 – 2	Bo-D_20/1	65,9	NI
	3	Bo-D_20/2	145,6	NI
	4	Bo-D_20/3	600,3	NI
	5	Bo-D_20/4	879,3	NI
	6	Bo-D_20/5	303,4	Bo-15
	7	Bo-D_20/6	212,9	Bo-15
	8	Bo-D_20/7	64,5	Bo-15
	9 – 13	Bo-D_20/8	100,2	NI
	14 – 33	Bo-D_20/9	10,0	NI

FONTE: O autor (2016).

LEGENDA: NI - não identificado.

4.3.1.2 Fracionamento dos constituintes da fração acetato de etila (Bo-Ae)

Parte da fração Bo-Ae (3,4 g) foi submetida ao fracionamento através de cromatografia por exclusão, utilizando fase estacionária Sephadex LH-20 (CC, altura x φ = 62,0 x 2,6 cm) e fase móvel MeOH 100%. Obtiveram-se 34 frações de 30 mL cada. Estas foram analisadas por CCDA e reunidas em 10 grupos de frações

(I – X), após comparação por CCDA de acordo com os seus respectivos Rfs (TABELA 3).

TABELA 3 – FRACIONAMENTO DOS CONSTITUINTES DA FRAÇÃO ACETATO DE ETILA (Bo-Ae)

Grupos	Frações	Códigos	Massa (mg)	Subst. Identificadas
I	1 – 6	Bo-Ae_1	87,4	NI
II	7 – 9	Bo-Ae_2	681,2	NI
III	10	Bo-Ae_3	362,8	Bo-15
IV	11 – 12	Bo-Ae_4	263,9	Bo-15
V	13 – 14	Bo-Ae_5	110,7	Bo-12+ Bo-15+Bo-16
VI	15 – 16	Bo-Ae_6	301,7	NI
VII	17 – 18	Bo-Ae_7	467,2	NI
VIII	19 – 21	Bo-Ae_8	247,8	Bo-17
IX	22 – 25	Bo-Ae_9	106,2	NI
X	26 – 34	Bo-Ae_10	19,2	Bo-19

FONTE: O autor (2016).

LEGENDA: NI - não identificado.

4.3.1.3 Fracionamento dos constituintes da fração remanescente aquosa (Bo-Aq)

Parte da fração Bo-Aq (5,1 g) foi submetida ao fracionamento através de cromatografia por exclusão, utilizando fase estacionária Sephadex LH-20 (CC, altura x ϕ = 62,0 x 2,6 cm) e fase móvel MeOH:H₂O, na proporção inicial de 70:30 (v/v) até H₂O 100%. Obtiveram-se 32 frações de 20 mL cada. Estas foram analisadas por CCDA e reunidas em nove grupos de frações (I – IX), após comparação de acordo com os seus respectivos Rfs (TABELA 4).

TABELA 4 – FRACIONAMENTO DOS CONSTITUINTES DA FRAÇÃO AQUOSA (Bo-Aq)

Grupos	Frações	Códigos	Massa (mg)	Subst. Identificadas
I	1 – 2	Bo-Aq_1	36,5	NI
II	3	Bo-Aq_2	122,2	NI
III	4 – 6	Bo-Aq_3	1826,2	Glicose
IV	7 – 14	Bo-Aq_4	1668,5	Glicose
V	15	Bo-Aq_5	24,0	NI
VI	16 – 18	Bo-Aq_6	56,6	Bo-15
VII	19 – 25	Bo-Aq_7	65,8	Bo-15+Bo-16
VIII	26 – 28	Bo-Aq_8	8,7	NI
IX	29 – 32	Bo-Aq_9	33,5	Bo-15+Bo-16+Bo-17

FONTE: O autor (2016).

LEGENDA: NI - não identificado.

4.3.2 DETERMINAÇÃO ESTRUTURAL

4.3.2.1 Ressonância Magnética Nuclear (RMN)

A elucidação estrutural foi realizada por espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear (RMN) com o auxílio dos espectros de RMN de ^1H , além dos mapas de correlação HSQC (*Heteronuclear Single Quantum Correlation*) e HMBC (*Heteronuclear Multiple Bond Correlation*) para determinação dos valores de ^{13}C . Os espectros de RMN foram registrados no equipamento Bruker 600 MHz, operando a 14,1 Tesla (T). Os experimentos foram realizados no centro de RMN da Universidade Federal do Paraná (UFPR) sob responsabilidade do Prof. Dr. Andersson Barison.

Utilizou-se aproximadamente 15 a 20 mg das amostras, solubilizadas em 600 μL de solventes como clorofórmio deuterado (CDCl_3), metanol deuterado ($\text{CD}_3\text{OD}-d_6$) e misturas destes, água deuterada (D_2O) e dimetilsulfóxido deuterado ($\text{DMSO}-d_6$) da marca Cambridge Isotope Laboratories. A seleção dos solventes foi de acordo com a solubilidade apresentada pelas substâncias. O tetrametilsilano (TMS) foi usado como padrão de referência interna ($\delta = 0$ ppm); os deslocamentos químicos foram expressos em ppm (δ) e as constantes de acoplamento (J) foram registradas em Hertz (Hz). Os espectros foram manipulados no software Bruker TopSpin[®] 3.1 e o programa FOMSC3_rmn[®] foi utilizado para simular as multiplicidades dos acoplamentos.

4.3.2.2 Espectrometria de Massas (EM)

Os experimentos de ESI-EM e ESI-EM/EM foram conduzidos em um espectrômetro de massas do tipo triploquadropolo (QqQ) Waters Xevo TQD de baixa resolução acoplado à um cromatógrafo de ultra performance Acquity UPLC H-Class System equipado com uma fonte de ionização por *electrospray* (ESI) operando nos modos positivo e negativo. As amostras foram diluídas em uma mistura de solventes de metanol: H_2O (90:10 v/v) e injetadas (10 μL) na concentração de 100 a 500 $\text{ng}\cdot\text{mL}^{-1}$.

Os parâmetros de análise foram ajustados manualmente no equipamento para estabilização do sinal e melhor ionização das substâncias. A voltagem do capilar foi ajustada em 3.000 V para os modos positivo e negativo, e temperatura da fonte

ajustada em 150 °C. O nitrogênio foi utilizado como gás de nebulização com fluxo de 300 L.h⁻¹ e a pressão do gás de interface foi 50 L.h⁻¹. O tempo de aquisição dos espectros de massas (*scan time*) foi de um espectro por segundo, adquiridos com uma janela de massas de 100 a 1000 Da, durante dois minutos.

Os espectros de massas adquiridos foram tratados no software Waters MassLynx® 4.1.

Os experimentos de infusão direta por espectrometria de massas de alta resolução foram conduzidos em um espectrômetro de massas do tipo qTOF Bruker Daltonics micrOTOF-Q II equipado com uma fonte de ionização por *electrospray* (ESI). A fonte de ionização foi operada nos modos positivo e negativo utilizando-se, como solvente de diluição acetonitrila:H₂O (70:30 v/v). A bomba seringa operou em velocidade de 4 µL.min⁻¹ e a concentração das amostras utilizada para análise foi de 100 a 500 ng.mL⁻¹.

Os parâmetros de análise foram ajustados manualmente no equipamento para estabilização do sinal e melhor ionização das substâncias. A voltagem do capilar foi ajustada em 5.000 V para o modo positivo e 4.500 V para o modo negativo, com a temperatura da fonte ajustada em 180 °C. O nitrogênio foi utilizado como gás de nebulização: 5 L.min⁻¹ e gás de interface: 0,4 BAR. O tempo de aquisição dos espectros de massas (*scan time*) foi de 4 espectros por segundo, adquiridos com uma janela de massas de 100 a 1000 Da, durante 5 minutos. Os espectros de massas adquiridos foram tratados no software Bruker Daltonics DataAnalysis 4.1®

4.4 OBTENÇÃO E ANÁLISE DO ÓLEO ESSENCIAL DE *B. aracatubaensis* E *B. organensis*

As inflorescências de *B. aracatubaensis* e *B. organensis* dos indivíduos masculinos e femininos (Ba-OM, Ba-OF, Bo-OM e Bo-OF, respectivamente) foram mantidas à temperatura ambiente e protegidas da luz solar por 48 horas. Em seguida, foram submetidas ao processo de hidrodestilação para extração do óleo essencial, durante 4 horas, em um sistema Clevenger modificado. O material vegetal, descrito na TABELA 5, foi imerso em água sob aquecimento até a temperatura de 100 °C. O óleo obtido foi recuperado do sistema Clevenger em éter etílico e seco em sulfato de sódio anidro. Em seguida, o óleo recuperado foi transferido para tubos vial, e o éter

etílico foi removido com gás nitrogênio. Os óleos foram mantidos a 4 °C, selados em frascos vial até o uso.

A análise dos óleos essenciais de inflorescências de *B. aracatubaensis* indivíduo feminino (Ba-OF) e masculino (Ba-OM) e *B. organensis* indivíduo feminino (Bo-OF) e masculino (Bo-OM) foram realizadas em um cromatógrafo à gás acoplado a um espectrômetro de massas Varian Saturn 2000 CG-EM, com ionização por impacto eletrônico (IE), 70 eV. O cromatógrafo foi equipado com uma coluna ZB-5MS Phenomenex Zebron (30 m x 0,25 mm, 0,25 mm) As condições de análise foram: concentração da amostra 1:100 (µL) em CH₂Cl₂; volume de injeção de 1,0 µL; temperatura do injetor 240 °C. A temperatura do forno foi programada de 40 °C / 4 min., seguida de aumento com uma taxa de 4 °C / min. até 240 °C, em seguida a 10 °C / min. até 280 °C, e temperatura de 280 °C / 2 min.; 60 min. de corrida cromatográfica; split 1:30. Os índices de retenção foram obtidos com uma solução padrão de *n*-alcanos (C₈-C₁₈). A porcentagem da área do pico foi calculada usando o software GC-MS Solution software (Shimadzu).

TABELA 5 – OBTENÇÃO DOS ÓLEOS ESSENCIAIS DAS FLORES DE *B. aracatubaensis* E *B. organensis*

Indivíduo	Código	Massa (g) – material vegetal	Rendimento (%)
<i>B. aracatubaensis</i> - Masculina	Ba-OM	100,2	0,2
		100,6	
		100,4	
<i>B. aracatubaensis</i> - Feminina	Ba-OF	150,5	0,1
		150,6	
		150,3	
<i>B. organensis</i> - Masculina	Bo-OM	40,3	0,1
		42,1	
<i>B. organensis</i> - Feminina	Bo-OF	136,0	0,1
		135,9	

FONTE: O autor (2016).

Os componentes dos óleos essenciais foram identificados por comparação dos índices de retenção (IR) e espectros de massas (EM) com a literatura de Adams (2007) e a biblioteca NIST.

4.5 ENSAIOS BIOLÓGICOS

4.5.1 Ensaios de atividade antioxidante

Para o monitoramento e avaliação da atividade antioxidante dos óleos essenciais, extratos e frações dos indivíduos de *B. aracatubaensis* e *B. organensis* foram utilizados os ensaios ORAC_{FL} e DPPH. Estes testes foram realizados no Instituto de Biologia Vegetal da Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP), em colaboração com o Prof. Dr. Marcos José Salvador.

4.5.1.1 Ensaio para avaliação da redução do radical DPPH

O 2,2-difenil-1-picril-hidrazila (DPPH) é uma molécula contendo um radical livre, com faixa de absorção entre 515 a 528 nm. Esta molécula perde sua absorção quando recebe um elétron, resultando na mudança de coloração de púrpura para amarelo. É um método simples e rápido, que possibilita a análise de inúmeras amostras, sendo largamente utilizado para análises preliminares da atividade antioxidante em compostos, extratos e frações provenientes de vegetais.

Para o ensaio de avaliação da redução do radical DPPH foram utilizados 5,0 mg das amostras (Ba-F, Ba-Ae, Bo-F, Bo-D e Bo-Ae) dissolvidas em 1 mL de etanol, obtendo-se uma solução estoque. A partir desta, realizaram-se várias diluições subsequentes (de 6,25 a 200 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$). Uma placa de 96 poços foi preparada adicionando-se 10 μL da amostra, 100 μL de tampão acetato, 100 μL de etanol e 50 μL de solução de DPPH (10 $\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$). Decorridos 30 min, a absorbância foi medida em um espectrofotômetro a 517 nm e a porcentagem de atividade antirradical calculada. Para o controle positivo, utilizou-se o flavonoide quercetina (de 6,25 a 200 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$) e para o controle negativo, 100 μL de tampão acetato, 110 μL de etanol e 50 μL de solução de DPPH (10 $\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$). Os valores de absorbância em todas as concentrações testadas foram convertidos em porcentagem de atividade antioxidante (%AA), através da seguinte equação: (SOUSA et al., 2007).

$$\%AA = \frac{\{[Abs_{amostra} - (Abs_{controle} - Abs_{branco})]x100\}}{Abs_{controle}}$$

sendo:

%AA = porcentagem de atividade antioxidante

Abs_{amostra} = absorbância da mistura reacional mais DPPH adicionado à amostra

Abs_{controle} = absorbância inicial da solução etanólica de DPPH

AbS_{branco} = branco

Assim, a concentração capaz de reduzir o radical em 50% foi calculada, utilizando o programa Origin 8.0.

As amostras de óleo essencial de *B. aracetubaensis* (Ba-OF, Ba-OM) e *B. organensis* (Bo-OF e Bo-OM) foram avaliadas, qualitativamente, quanto a sua capacidade de sequestro do radical livre 2,2'-difênil-1-picrilhidrazila (DPPH), por cromatografia em camada delgada (CCD). Para este experimento foram aplicados 10 µL de cada solução das amostras (1 mg.mL⁻¹) e da substância de referência (quercetina) dissolvida em metanol sobre a cromatoplaça. Após a evaporação do solvente a placa foi nebulizada com a solução de DPPH. Decorridos trinta segundos foi realizada a leitura da placa, em que halos amarelados sobre fundo de coloração púrpura, foram considerados positivos.

4.5.1.2 Ensaio ORAC_{FL}

A capacidade antioxidante dos extratos e frações foram mensuradas utilizando um segundo teste *in vitro*, conhecido como Oxygen Radical Absorbance Capacity (ORAC_{FL}). A fluoresceína e o dicloridrato de 2,2'-Azobis(2-amidiopropano) (AAPH) foram utilizados como fluorescente e fonte de radicais livres, respectivamente. Foram preparadas soluções estoques dos extratos e frações (50 mg.mL⁻¹) em tampão fosfato:DMSO pH 7,0 (99:1), e diluídas 100, 500, 1000, 5000 e 10000 vezes com tampão fosfato. A solução de fluoresceína em tampão fosfato (0,3 µL.mL⁻¹) foi preparada somente no momento do uso. Os experimentos

foram realizados em placa de microdiluição com 96 poços conforme descrito por Prior e colaboradores (2003), com modificações.

Para o preparo da placa foram adicionados 50 μL das amostras para obtenção as respectivas concentrações: 1,25; 2,5; 12,5; 25; 125 $\mu\text{g.mL}^{-1}$, 100 μL de solução de fluoresceína, e 50 μL da solução de AAPH em tampão fosfato (81,8 mg.mL^{-1}). Para obtenção da curva de calibração adicionou-se 50 μL da solução de Trolox (ácido 6-hidroxi-2,5,7,8-tetrametilcroman-2-carboxílico), um análogo da vitamina E utilizado como substância padrão, nas concentrações de 3,125; 6,25; 12,5; 25,0; 50,0 $\mu\text{g.mL}^{-1}$, em substituição às amostras e 50 μL de tampão fosfato como branco.

A leitura foi realizada utilizando-se filtro fluorescente (excitação a 485 nm e emissão a 528 nm) em leitor de microplaca (Synergy-2), monitorando a cinética de reação a cada 2 min por um período de 70 min (temperatura a 37 °C). Os resultados foram expressos como μmol de Trolox equivalente (TE) por grama de extrato ou fração em base seca (μmol de TE.g⁻¹).

4.5.2 Ensaio antimicrobiano

Os ensaios antimicrobianos foram realizados no Laboratório de Controle de Qualidade II – Departamento de Farmácia da Universidade Federal do Paraná (UFPR) em colaboração com o Prof. Dr. Fabio Seigi Murakami.

Para realização dos ensaios foram utilizadas as cepas padrão da *American Type Culture Collection* (ATCC), *Staphylococcus aureus* (ATCC 6538), *Escherichia coli* (ATCC 8738), *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 9027) e *Candida albicans* (ATCC 10231).

Os micro-organismos liofilizados, submetidos aos ensaios antibacterianos, foram previamente colocados em tubos estéreis contendo caldo tripton de soja (TSB) e incubados por 24 h a 35 °C \pm 0,5 °C, para revitalização das células. Decorrido este período de incubação, foi realizada cultura por esgotamento em ágar tripton de soja (TSA) para bactérias e em ágar sabouraud para levedura. As placas foram incubadas à 35 °C e 25 °C, respectivamente, pelo período entre 20 a 23 horas. A partir do crescimento em ágar foram realizadas as suspensões de cada micro-organismo, transferindo-se uma colônia ou metade de uma colônia isolada para solução salina 0,9%. Em seguida, as suspensões foram padronizadas através da comparação

visual da turbidez com tubo equivalente à escala 0,5 de Mc Farland, para obtenção de uma cultura com, aproximadamente, $1,0 \times 10^8$ UFC (unidades formadoras de colônias) por mililitro.

Os testes foram realizados pela técnica de diluição em microplacas, de 96 poços dispostos em doze colunas (1 – 12) e oito linhas (A – H), de acordo com a metodologia descrita por Veiga (2016). As análises foram realizadas em capela de fluxo laminar, utilizando-se uma microplaca para cada micro-organismo. Para realização dos ensaios em todos os poços foram adicionados 100 μ L do caldo específico para cada micro-organismo (caldo Mueller Hinton para bactérias e caldo Sabouraud para leveduras). No primeiro poço de cada coluna (exceto nas colunas 11 e 12 reservadas para os controles positivo, negativo e branco) foram adicionados 100 μ L das amostras a serem testadas, nas concentrações iniciais descritas na TABELA 6. Em seguida, após homogeneização, com auxílio de uma micropipetadora multicanal, uma alíquota de 100 μ L do conteúdo de cada poço foi transferida para os pocinhos subsequentes das colunas obtendo-se, assim, diluições seriadas de 1:2, 1:4, 1:8, 1:16, 1:32, 1:64, 1:128, 1:256. Após a diluição foram adicionados 10 μ L da suspensão de micro-organismos em cada poço. Os controles consistiram em 100 μ L de caldo, 100 μ L da solução diluente das amostras e 10 μ L de solução salina 0,9% (controle negativo); 100 μ L de caldo + 100 μ L de solução antimicrobiano (cloranfenicol 100 μ g.mL⁻¹ para bactérias e cetoconazol 250 μ g.mL⁻¹ para levedura) e 10 μ L da suspensão de micro-organismos (controle positivo); 100 μ L de caldo, 100 μ L da amostra testada e 10 μ L de solução salina 0,9% (branco).

TABELA 6 – CONCENTRAÇÃO DAS AMOSTRAS E DILUENTES UTILIZADOS PARA OS ENSAIOS ANTIMICROBIANOS

Espécie	Amostra	Concentração (mg.mL ⁻¹)	Diluyente
<i>Baccharis aracatubaensis</i>	Ba-OM	10,0	H ₂ O:DMSO (95:5 v/v)
	Ba-OF	10,0	H ₂ O:DMSO (95:5 v/v)
	Ba-M	64,0	H ₂ O:MeOH:DMSO (75:20:5 v/v/v)
	Ba-F	78,8	H ₂ O:MeOH:DMSO (75:20:5 v/v/v)
	Ba-Ae	9,0	H ₂ O
	Ba-Aq	52,9	H ₂ O
<i>Baccharis organensis</i>	Bo-OM	10,0	H ₂ O:DMSO (95:5 v/v)
	Bo-OF	10,0	H ₂ O:DMSO (95:5 v/v)
	Bo-M	57,5	H ₂ O:MeOH:DMSO (75:20:5 v/v/v)
	Bo-F	64,0	H ₂ O:MeOH:DMSO (75:20:5 v/v/v)
	Bo-D	20,9	H ₂ O:MeOH:DMSO (75:20:5 v/v/v)
	Bo-Ae	46,9	H ₂ O
	Bo-Aq	52,9	H ₂ O

FONTE: O autor (2016).

As microplacas foram incubadas a 35 °C por 22 horas. Decorrido esse intervalo de tempo, adicionou-se em cada poço 20 µL da solução de TTC (cloreto de 2,3,5-trifeniltetrazólio) a 0,125%, e as microplacas foram novamente incubadas por mais duas horas. Durante este período os poços em que houve atividade dos extratos ou frações permanecem incolores, enquanto os poços nos quais houve crescimento microbiano coram de tom róseo a vermelho. (DUARTE et al., 2005). O TTC é um indicador de oxirredução utilizado para diferenciar tecidos metabolicamente ativos daqueles não ativos, principalmente viabilidade celular. O mecanismo baseia-se na redução enzimática do cloreto de 2,3,5-trifeniltetrazólio (incolor) em 1,3,5-trifenilformazan (cor avermelhada), em tecidos vivos devido à atividade de várias desidrogenases, enzimas importantes na oxidação de compostos orgânicos e no metabolismo celular.(GABRIELSON et al., 2002).

De acordo com a leitura visual das microplacas após adição do TTC determinou-se a concentração inibitória mínima (CIM), ou a última concentração na qual não houve desenvolvimento de coloração rósea para cada um dos microrganismos.

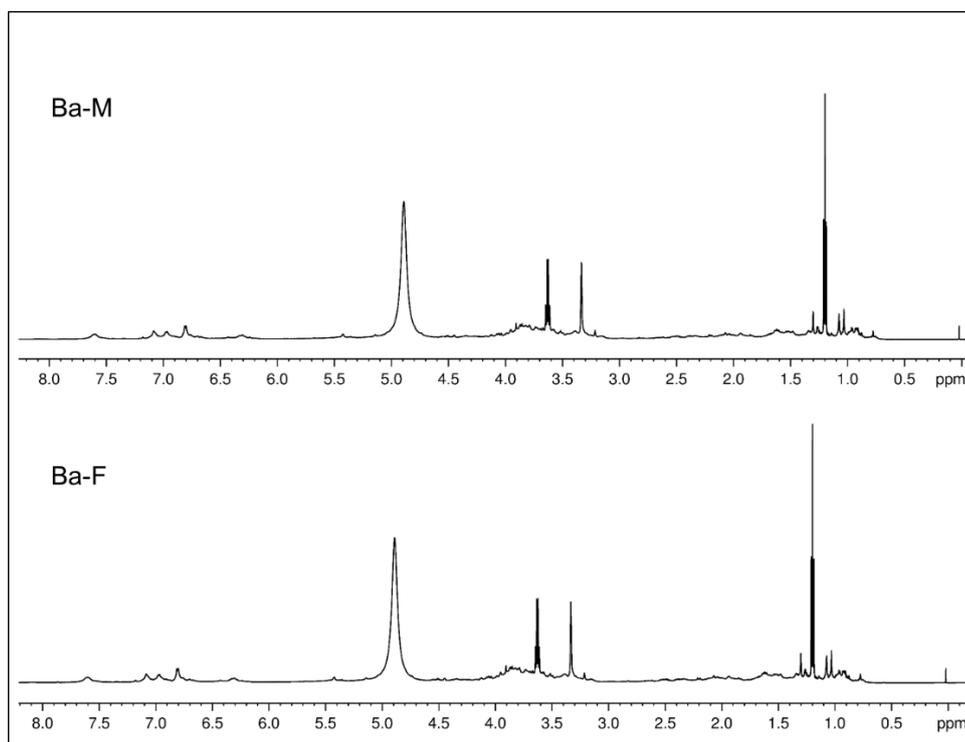
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 ANÁLISE DOS EXTRATOS BRUTOS DOS INDIVÍDUOS MASCULINOS E FEMININOS DE *B. aracatubaensis* E *B. organensis* POR RMN DE ^1H

A partir dos extratos brutos, obtidos por maceração do material botânico (folhas) até esgotamento total utilizando EtOH 90% como líquido extrator, foi possível analisar e comparar o perfil químico dos indivíduos masculinos e femininos de cada espécie. A escolha do EtOH 90% como solvente extrator foi a baixa toxicidade, baixo risco ambiental e elevada polaridade, o que o torna capaz de extrair uma grande variedade de metabólitos secundários.

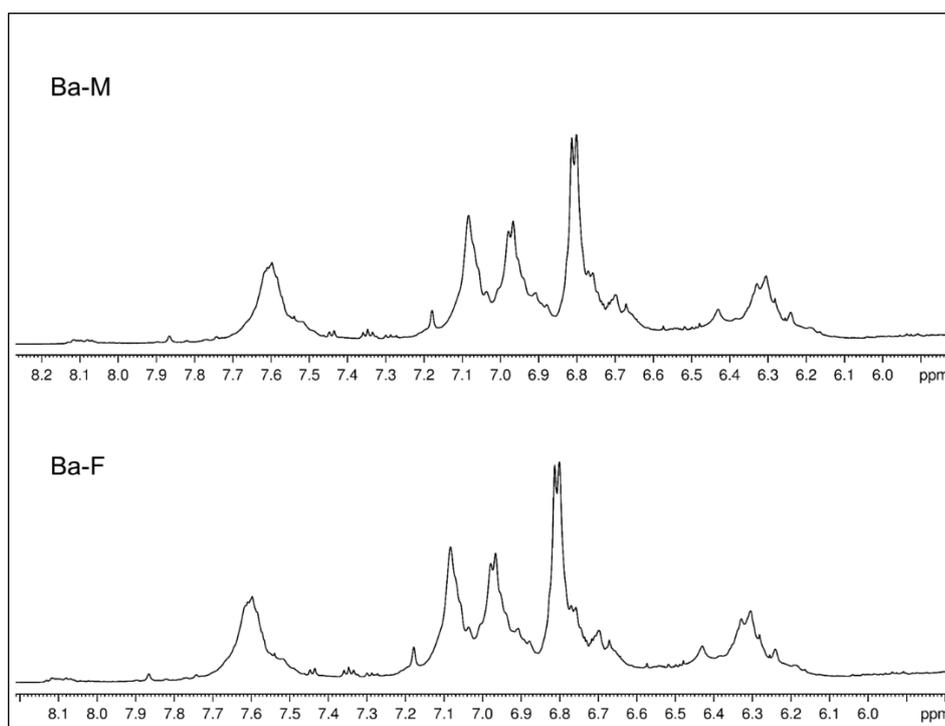
Para análise e comparação química entre os indivíduos masculinos e femininos de *B. aracatubaensis* (Ba-M e Ba-F) e *B. organensis* (Bo-M e Bo-F) foram realizados os experimentos de RMN de ^1H dos extratos brutos. Os experimentos foram realizados com 20 mg de cada amostra e, conforme pode ser observado nas FIGURAS 9 e 11 e nas ampliações de regiões específicas, como a região de sinais de hidrogênios aromáticos (8,0-6,0 ppm) (FIGURAS 10 e 12), foi possível observar uma alta similaridade nos sinais entre os indivíduos masculinos e femininos. A comparação visual dos espectros de RMN de ^1H não evidenciou diferenças significativas na composição química entre estes indivíduos. Entretanto, devido às coletas dos exemplares terem acontecido no período de floração das espécies, optou-se por dar continuidade aos trabalhos com os indivíduos femininos de ambas as espécies.

FIGURA 9 – ANÁLISE DO PERFIL QUÍMICO POR RMN DE ^1H (600 MHz, CD_3OD) DOS EXTRATOS BRUTOS DAS FOLHAS DE *B. arcatubaensis* MASCULINA (Ba-M) E *B. arcatubaensis* FEMININA (Ba-F)



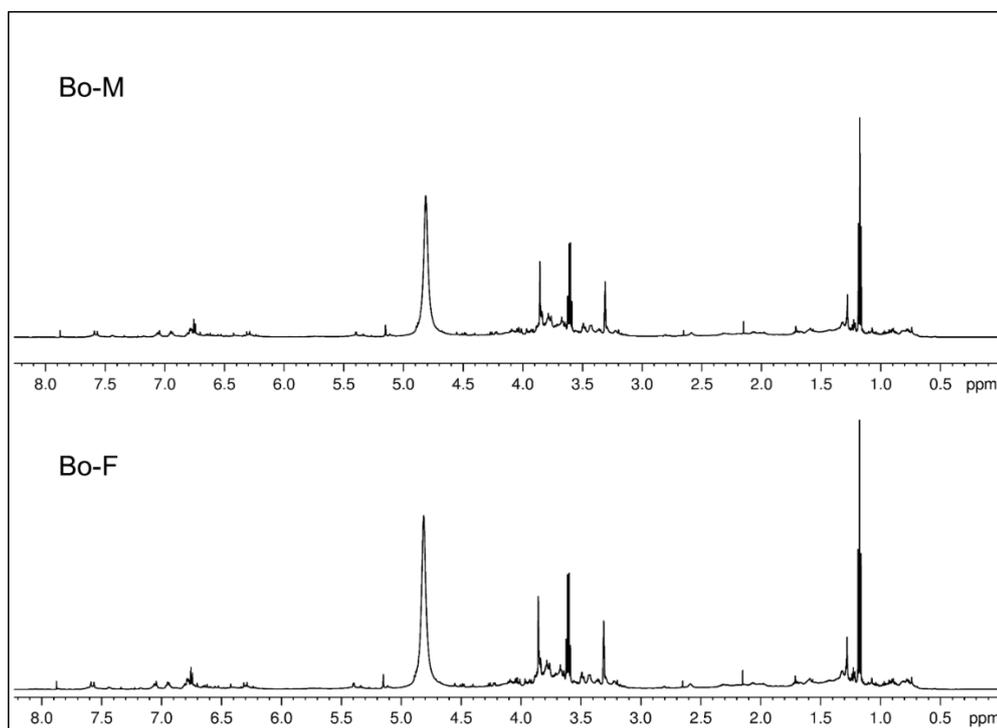
FONTE: O autor (2016).

FIGURA 10 – AMPLIAÇÃO DA REGIÃO ESPECTRAL DE 8,0-6,0 PPM OBTIDA DO EXPERIMENTO DE RMN DE ^1H DA FIGURA 9



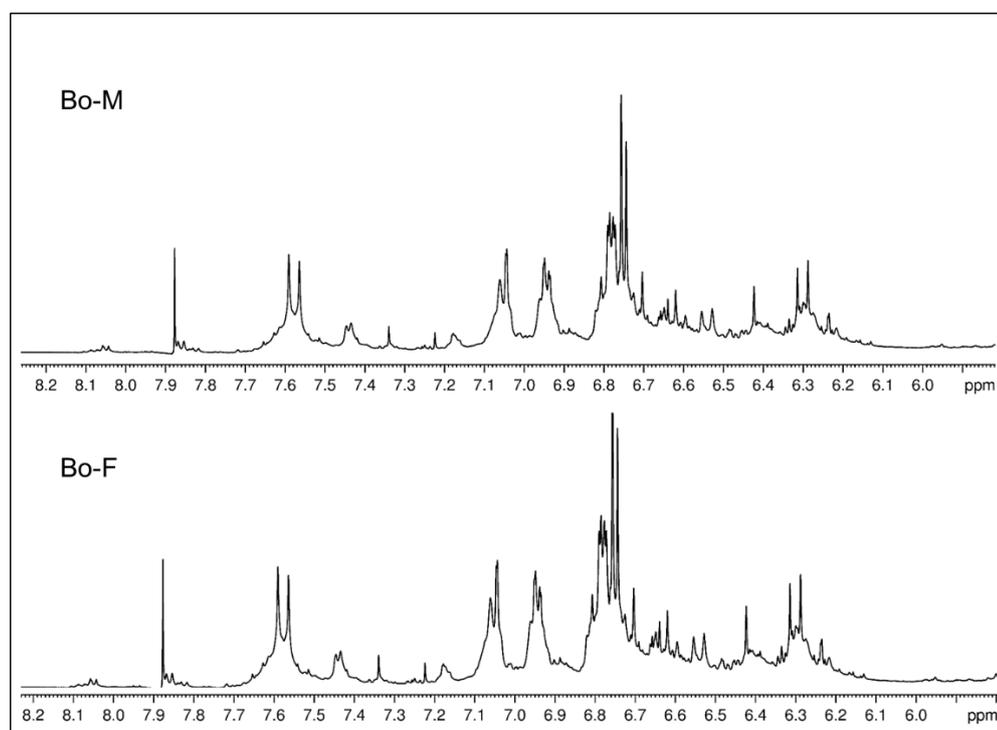
FONTE: O autor (2016).

FIGURA 11 – ANÁLISE DO PERFIL QUÍMICO POR RMN DE ^1H (600 MHz, CD_3OD) DOS EXTRATOS BRUTOS DAS FOLHAS DE *B. organensis* MASCULINA (Bo-M) E *B. organensis* FEMININA (Bo-F)



FONTE: O autor (2016).

FIGURA 12 – AMPLIAÇÃO DA REGIÃO ESPECTRAL DE 8,0-6,0 PPM OBTIDA DO EXPERIMENTO DE RMN DE ^1H DA FIGURA 11



FONTE: O autor (2016).

Ainda buscando comprovar a existência de diferenças na constituição química de indivíduos masculinos e femininos, Oliveira e colaboradores submeteram os extratos brutos de *B. burchellii* e *B. crispa* a testes de quimiluminescência do luminol, DPPH colorimétrico e ABTS (ácido 2, 2-azinobis-3-etil-benzotiazolína-6-sulfônico) para avaliação da atividade antirradicalar. Foi observado que existem diferenças na constituição química entre os indivíduos masculinos e femininos de ambas as espécies. (OLIVEIRA et al., 2014).

As espécies deste estudo fazem parte do grupo de plantas dioicas, que têm como característica a presença de flores estaminadas (indivíduos masculinos) e pistiladas (indivíduos femininos), separadamente, ao longo de seu ciclo reprodutivo. (BAWA, 1980). A necessidade de recursos e nutrientes difere entre plantas masculinas e femininas. Para reprodução, os indivíduos masculinos limitam-se a investir recursos apenas na floração, enquanto os indivíduos femininos necessitam além das flores, as sementes e frutos que são mais complexos para produzir. Portanto, os custos de reprodução são geralmente maiores para as plantas femininas em comparação com as plantas masculinas, que investem mais recursos no crescimento e menos em reprodução. (OBESO, 1997; SCHMIDT, 2008; VARGA; KYTOVIITA, 2011). Além disso, os indivíduos femininos produzem mais metabólitos secundários defensivos, o que os protege contra o ataque de insetos, garantindo a perpetuação da espécie. (ARAÚJO et al., 2003; CARNEIRO et al., 2006).

Entretanto, estudos realizados para avaliar o teor de taninos, em indivíduos de *B. dracunculifolia*, e o teor de flavonoides totais expressos em quercetina, em indivíduos de *B. genistelloides* subsp. *crispa*, não foi observado diferenças nestas plantas dioicas. (ESPÍRITO-SANTO et al., 1999; SOUSA et al., 2014).

5.2 ANÁLISE DO PERFIL QUÍMICO DOS EXTRATOS BRUTOS DOS INDIVÍDUOS MASCULINOS E FEMININOS DE *B. aracatubaensis* E *B. organensis* POR DIMS (ESI/EM)

Na análise de *fingerprint* ou “impressão digital” química, utilizando a técnica DIMS (ESI/EM), é possível avaliar de forma rápida um grande e diferenciado número de metabólitos, além de ser possível a análise de diversos tipos de matrizes biológicas, sejam estas de natureza humana, mineral ou vegetal. (DETTMER et al., 2007). Em geral, análises por infusão direta utilizam como fonte de ionização a

electrospray (ESI-EM), conhecida por analisar matrizes de diversas complexidades, tais como os extratos de origem natural (FUNARI et al., 2013), além disso essa técnica de ionização permite a indução da produção de íons à pressão atmosférica, sem a necessidade de vácuo. (FENN et al., 1989).

Apesar de os extratos vegetais serem misturas orgânicas complexas, a ESI é capaz de produzir espectros de massas mais simples para moléculas de baixo peso molecular (<1.000 Da) e que apresentam sítios ácidos ou básicos, pois a ionização é obtida pela protonação (M + H)⁺ ou deprotonação (M - H)⁻ destas. Uma análise estrutural mais detalhada da composição química dos extratos pode ser obtida por comparação de amostras autênticas ou por espectrometria de massas sequencial. (MOLLER et al., 2007; CABRAL et al., 2013).

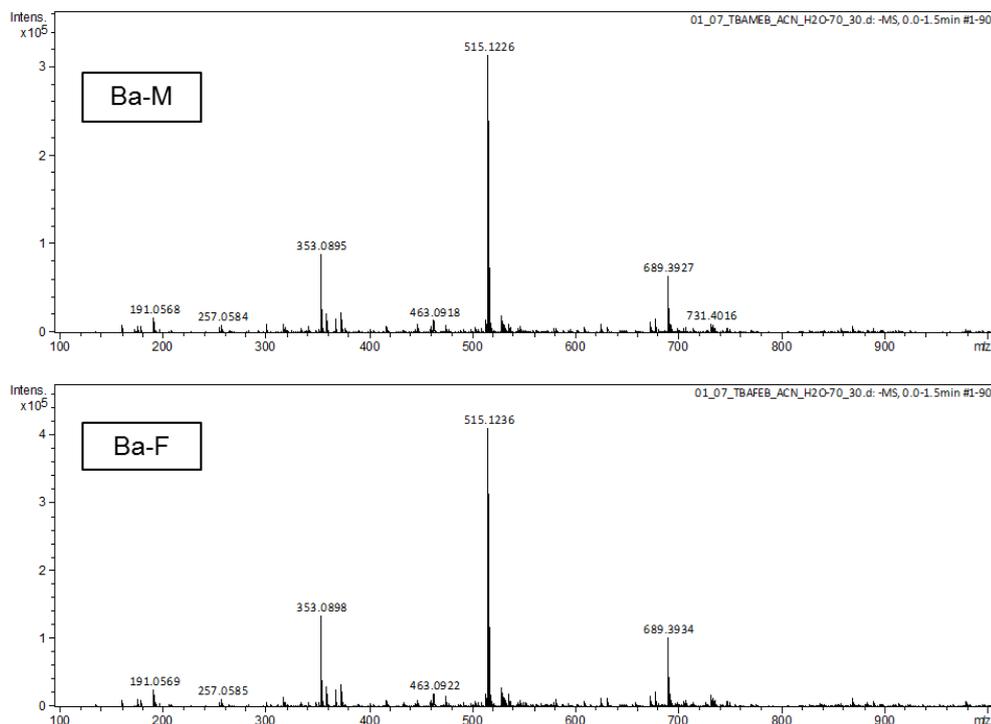
Os extratos brutos Ba-M e Ba-F (FIGURA 13) e Bo-M e Bo-F (FIGURA 14) foram analisados por ESI-EM, no modo negativo de ionização, no qual foi possível a comparação dos perfis químicos entre os indivíduos masculinos e femininos de *B. aracatubaensis* e *B. organensis*.

Analisando os espectros de massas dos indivíduos masculinos e femininos das espécies (FIGURA 13 e FIGURA 14) foi observado uma alta similaridade química, sendo possível verificar a presença de vários íons da classe dos compostos fenólicos.

De acordo com revisão elaborada por Campos e colaboradores, este gênero apresenta em sua constituição química inúmeros flavonoides e ácidos fenólicos. Estas classes de metabólitos secundários exercem diversas funções biológicas, entre elas são descritas as atividades antimicrobiana, anti-inflamatória, antileishmania, antitumoral, tripanocida, entre outras. (CAMPOS et al., 2016).

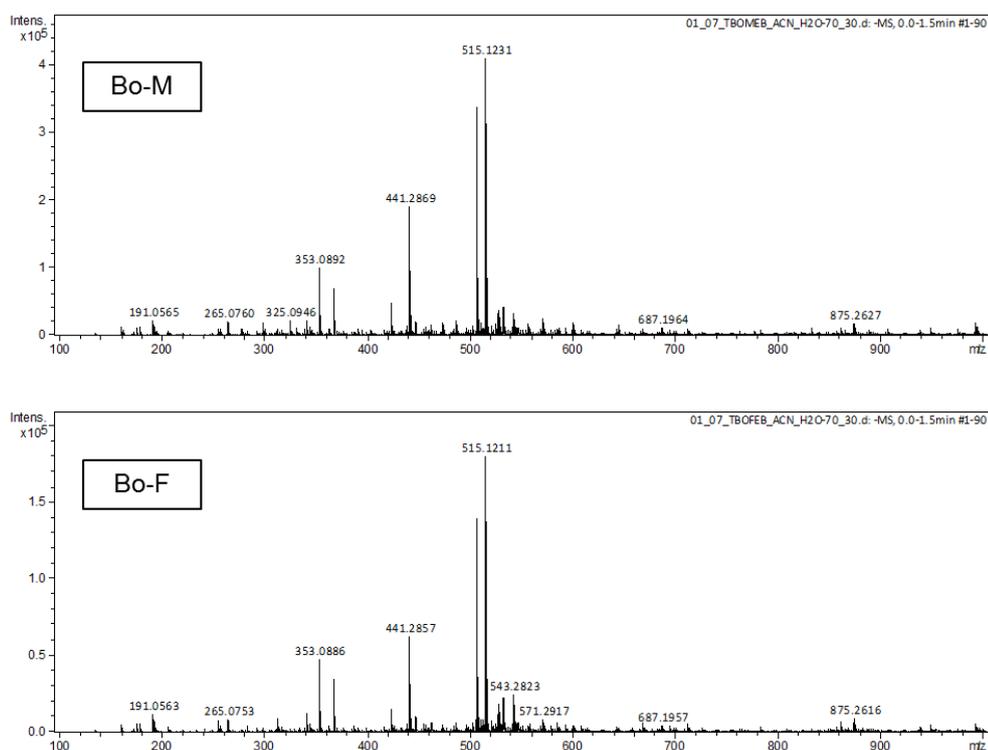
Os dados observados na espectrometria de massas corroboram com os dados observados nos experimentos de RMN de ¹H quanto à semelhança química dos extratos brutos de indivíduos masculinos e femininos de ambas as espécies. Neste sentido, para uma melhor diferenciação entre os indivíduos masculinos e femininos seriam necessários experimentos utilizando análises multivariadas.

FIGURA 13– EXPERIMENTO DE VARREDURA NO MODO NEGATIVO DE IONIZAÇÃO DOS EXTRATOS BRUTOS DAS FOLHAS DE *B. aracatubaensis* MASCULINA (Ba-M) E *B. aracatubaensis* FEMININA (Ba-F) (ACN:H₂O 70:30 V/V)



FONTE: O autor (2016).

FIGURA 14 – EXPERIMENTO DE VARREDURA NO MODO NEGATIVO DE IONIZAÇÃO DOS EXTRATOS BRUTOS DAS FOLHAS DE *B. organensis* MASCULINA (Bo-M) E *B. organensis* FEMININA (Bo-F) (ACN:H₂O 70:30 V/V)



FONTE: O autor (2016).

5.3 ANÁLISE DOS CONSTITUINTES QUÍMICOS DE *B. organensis*

5.3.1 Determinação estrutural de **Bo-1**

A fração Bo-D_8 (TABELA 1, pg. 54) foi analisada por RMN uni e bidimensional, sendo possível identificar em mistura as substâncias **Bo-1** e **Bo-2**. Estas substâncias também foram identificadas na fração Bo-D_9 (TABELA 1). O conjunto de dados obtidos mediante os espectros de RMN de ^1H da fração Bo-D_8 está descrito na TABELA 7. Os sinais observados no espectro de RMN de ^1H (ESPECTRO 1) revelaram a presença de um simpleto, na região espectral de hidrogênios aromáticos, em δ_{H} 6,73 (2H; s) com integração para dois hidrogênios indicando a presença de um anel aromático 1,3,4,5-tetrassubstituído. Além destes sinais foram observados também um duplo duplete em δ_{H} 6,61 (1H, *d*, $J = 15,7$ e $1,5$ Hz) e um duplo tripleto em δ_{H} 6,27 (1H, *dt*, $J = 15,7$ e $6,4$ Hz), típico de hidrogênios olefínicos com configuração *trans*, sugerindo a ocorrência de um derivado de ácido cinâmico. O espectro exibiu ainda um duplo duplete em δ_{H} 4,71 (2H; *dd*; $J = 6,4$ e $1,5$ Hz; H-9), característico de hidrogênios metilênicos, e um simpleto em δ_{H} 2,07 (3H; s), com integração para três hidrogênios que é atribuído a metila de um grupamento acetila. Além disso, os sinais adicionais em δ_{H} 3,84 (6H; s) e δ_{H} 3,76 (3H; s) na forma de dois simpletos, foram atribuídos à três metoxilas, ligadas aos carbonos C-3, C-4 e C-5 do anel aromático.

As atribuições dos valores de ^{13}C foram realizadas com o auxílio dos experimentos de correlação heteronuclear HSQC (FIGURA 16) e HMBC (FIGURA 17), no qual foi possível evidenciar a presença de 14 átomos de carbono incluindo uma carbonila de éster (δ_{C} 172,6), dois carbonos aromáticos (δ_{C} 105,8), um carbono aromático não hidrogenado (δ_{C} 133,8), três carbonos aromáticos oxigenados (δ_{C} 154,8 e 189,3), dois carbonos olefínicos (δ_{C} 124,1 e 135,2), um carbono oxigenado sp^3 (δ_{C} 66,1), um carbono de grupo metila (δ_{C} 20,9) e três carbonos de grupos metoxila (δ_{C} 56,8, 56,8 e 61,1).

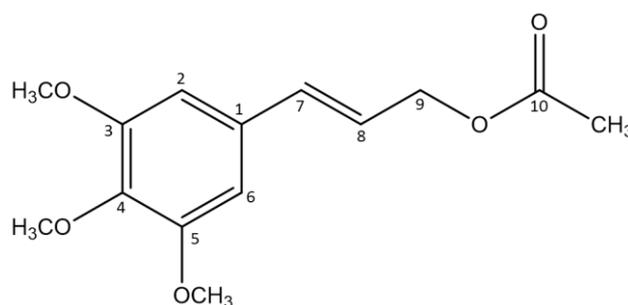
As correlações a mais de uma ligação, entre hidrogênio e carbono, observadas no mapa de correlação HMBC (FIGURA 17) permitiram estabelecer a conectividade das ligações na estrutura. Os hidrogênios aromáticos H-2 e H-6 (δ_{H} 6,73) mostraram correlação com os carbonos C-1 (δ_{C} 133,8), C-3 e C-5 (δ_{C} 154,8)

e C-4 (δ_c 139,3) do anel aromático, além do C-7 (δ_c 135,2) da dupla ligação em configuração *trans*; o hidrogênio olefínico H-7 (δ_H 6,61) apresentou correlação com os carbonos C-1 (δ_c 133,8) e C-9 (δ_c 66,1); e os hidrogênios metilênicos H-9a e H-9b (δ_H 4,71) mostraram correlação com os carbonos C-7 (δ_c 135,2), C-8 (δ_c 124,1) e C-10 (δ_c 172,6).

Na análise do experimento de varredura, obtido no modo positivo de ionização, foi possível observar a presença do íon protonado de m/z 267,3 $[M + H]^+$. O experimento de ESI-EM/EM (ESPECTRO 2) deste íon, originou através de perdas consecutivas os seguintes íons fragmentos de: m/z 207,2 referente a perda da unidade $C_2H_4O_2$; m/z 176,2 referente à perda de uma metoxila; m/z 99,1 referente à perda de duas metoxilas e uma metila.

Considerando os dados publicados na literatura (EHRET; MAUPETIT, 1982; MOHAMMAD et al., 1985), a análise dos dados espectroscópicos de RMN 1D e 2D, e a análise dos dados de espectrometria de massas o composto **Bo-1** ($C_{14}H_{18}O_5$) foi elucidado como sendo o acetato de 3-(3,4,5-trimetoxifenil)prop-2-en-1-al (FIGURA 15).

FIGURA 15 – ESTRUTURA QUÍMICA DE **Bo-1** (3-(3,4,5-TRIMETOXIFENIL) PROP-2-EN-1-AL)



FONTE: O autor (2016).

TABELA 7 – DADOS DE RMN DE 1H , ^{13}C E HMBC DE **Bo-1** EM COMPARAÇÃO COM A LITERATURA (continua)

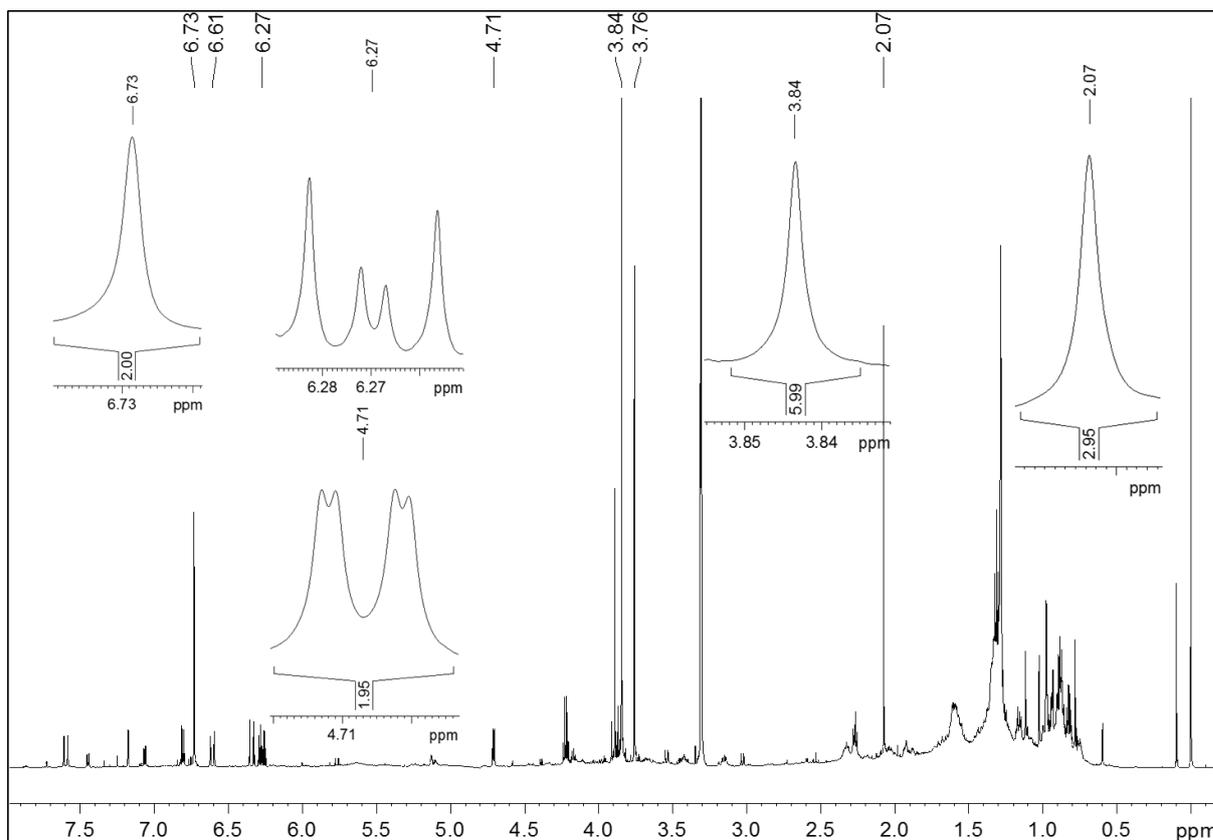
Posição	Bo-1^a			Acetato de (E)-3-(3,4,5-trimetoxifenil)propenal^b	
	δ_H (mult, J em Hz)	δ_c (^{13}C)	HMBC	δ_H (mult, J em Hz)	δ_c (^{13}C)
1	-	133,8	-	-	*
2	6,73 2H, s	105,8	1,3,4,6,7	6,60 2H, s	*
3	-	154,8	-	-	*
4	-	189,3	-	-	*
5	-	154,8	-	-	*

TABELA 7 – DADOS DE RMN DE ^1H , ^{13}C E HMBC DE **Bo-1** EM COMPARAÇÃO COM A LITERATURA (conclusão)

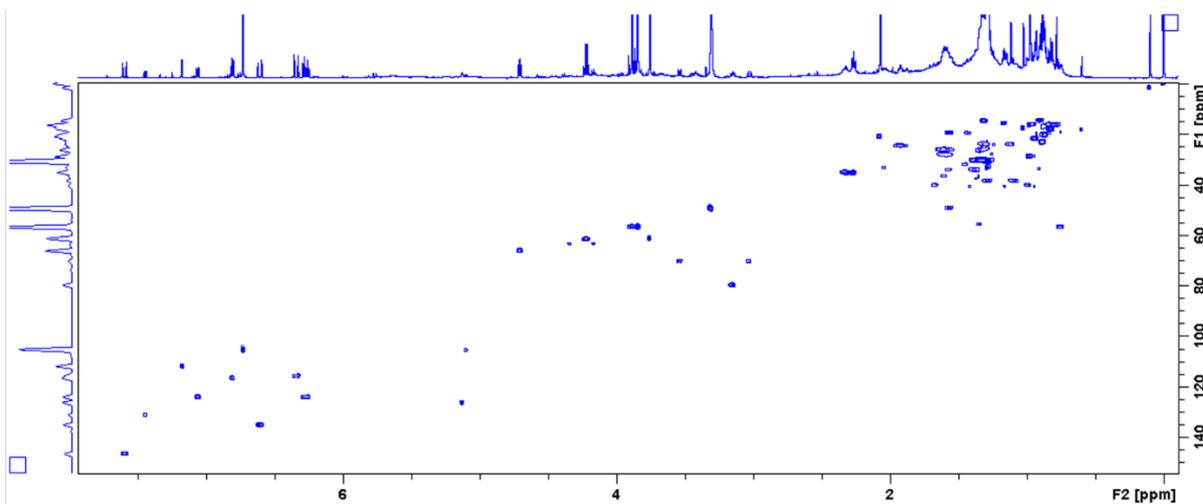
Posição	Bo-1^a			Acetato de (E)-3-(3,4,5-trimetoxifenil propenal^b	
	δ_{H} (mult, <i>J</i> em Hz)	δ_{C} (^{13}C)	HMBC	δ_{H} (mult, <i>J</i> em Hz)	δ_{C} (^{13}C)
6	6,73 2H, s	105,8	1,2,3,4,7	6,60 2H, s	*
7	6,61 1H, <i>dd</i> , (15,7; 1,5)	135,2	2,9	6,56 1H, <i>d</i> , (15,0)	*
8	6,27 1H, <i>dt</i> , (15,7; 6,4)	124,1	1,9,10	6,18 1H, <i>dt</i> , (15,0; 5,5)	*
9	4,71 2H, <i>dd</i> , (6,4; 1,5)	66,1	7,8,10	4,71 2H, <i>d</i>	*
10	-	172,6	-	-	*
CH₃	2,07 3H, s	20,9	10	2,09 3H, s	*
OCH₃	3,84 6H, s	56,8	3,6	3,86 6H, s	*
OCH₃	3,76 3H, s	61,1	4	3,84 3H, s	*

FONTE: O autor (2016).

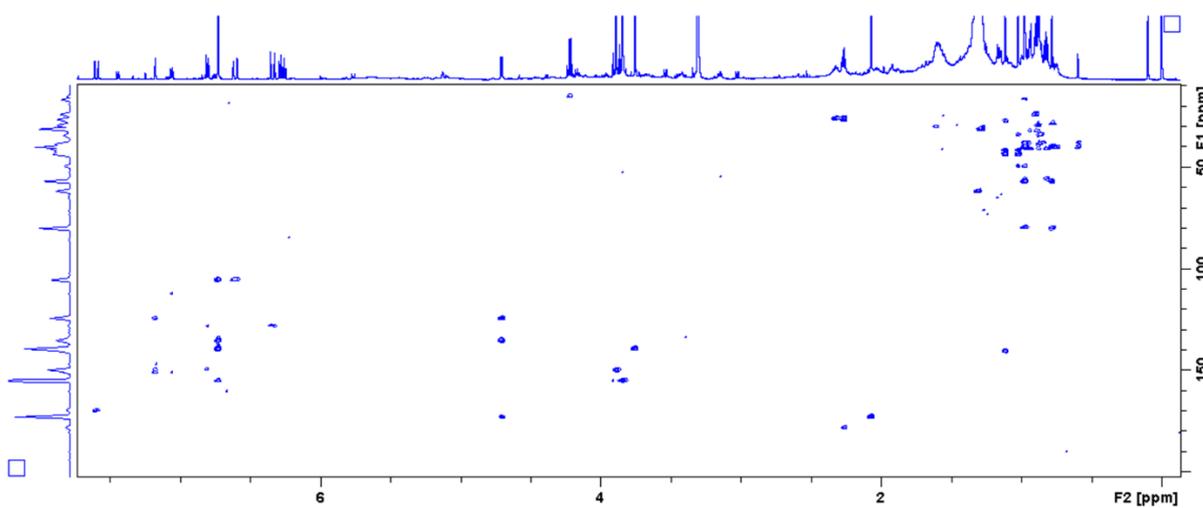
LEGENDA: ^a: Experimento de RMN de ^1H , HSQC e HMBC (600 MHz, MeOD- d_6), utilizando TMS como referência interna. As atribuições de δ_{C} foram obtidas através da análise de espectros de HSQC e HMBC. ^b: Dados da literatura (200 MHz, CDCl_3) de acordo com EHRET e MAUPETIT, 1982. *: Dados não relatados.

ESPECTRO 1 – ESPECTRO DE RMN DE ^1H (600 MHz, MeOD- d_6) DA FRAÇÃO Bo-D_8 COM OS SINAIS INTEGRADOS PARA **Bo-1**

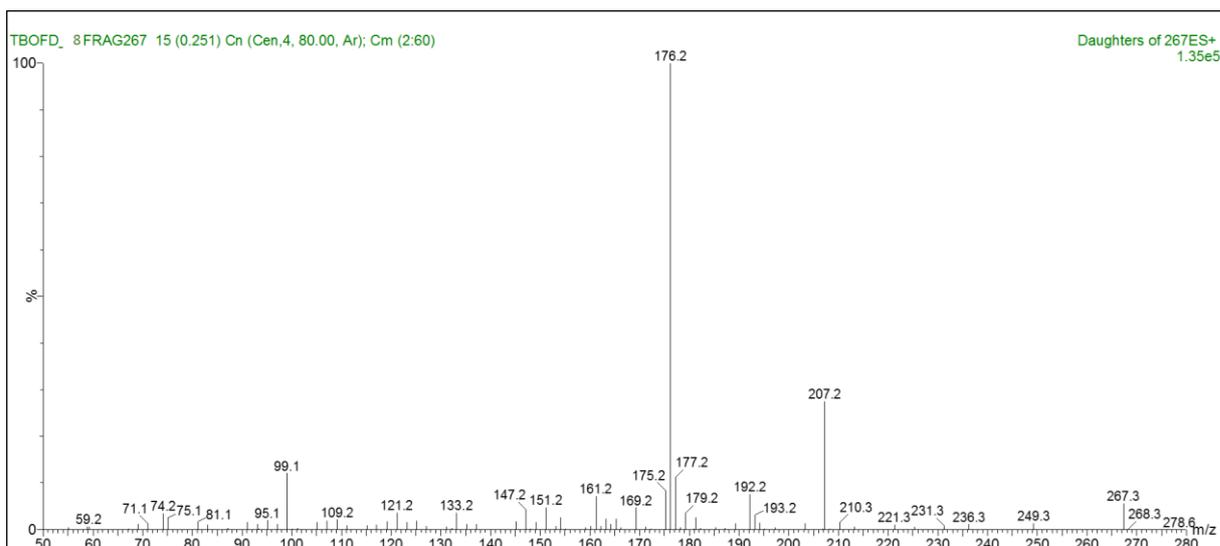
FONTE: O autor (2016).

FIGURA 16 – MAPA DE CORRELAÇÃO DE HSQC (600 MHZ, MeOD- d_6) DA FRAÇÃO Bo-D_8

FONTE: O autor (2016).

FIGURA 17 - MAPA DE CORRELAÇÃO DE HMBC (600 MHZ, MeOD- d_6) DA FRAÇÃO Bo-D_8

FONTE: O autor (2016).

ESPECTRO 2 - EXPERIMENTO DE ESI-EM/EM (20 eV) DO ÍON DE m/z 267,3 DE **Bo-1**

FONTE: O autor (2016).

O composto 3-(3,4,5-trimetoxifenil)prop-2-en-1-al (**Bo-1**) já foi identificado no óleo essencial de *Citrus limon* (L.) Osbeck (ZIEGLER; SPITELLER, 1992) e *Citrus bergamia* Risso & Poit. (EHRET; MAUPETIT, 1982). Não há relatos na literatura sobre estudos de atividade biológica deste composto.

5.3.2 Determinação estrutural de **Bo-2**

O espectro de RMN de ^1H (600 MHz, MeOD- d_6) (ESPECTRO 3) do segundo composto identificado na fração Bo-D_8 (TABELA 1, pg. 54) revelou a presença de dois dupletos em δ_{H} 7,18 (1H; d ; $J = 1,9$ Hz; H-2) e δ_{H} 6,81 (1H; d ; $J = 8,2$ Hz; H-5), e um duplo duplo duplete em δ_{H} 7,06 (1H; dd ; $J = 8,2$; 1,9 Hz; H-6), indicando a presença de um anel aromático 1,3,4-trissubstituído. Também foram observados dois dupletos em δ_{H} 6,34 (1H; d ; $J = 15,8$ Hz; H-8) e em δ_{H} 7,60 (1H; dd ; $J = 15,8$ Hz; H-7), típico de hidrogênios olefínicos com configuração *trans*, sugerindo a presença de um derivado de ácido cinâmico. O espectro exibiu ainda um simpleto integrando para três hidrogênios em δ_{H} 3,89 (3H; s ; H-3), compatível com a presença de um grupo metoxila.

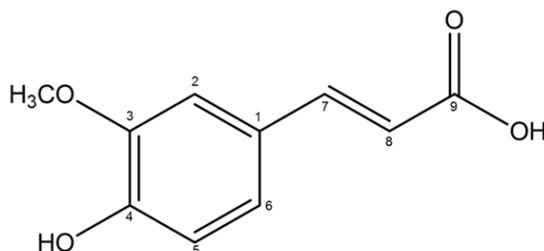
As atribuições de ^{13}C foram obtidas através da análise dos mapas de correlação HSQC (FIGURA 16) e HMBC (FIGURA 17), onde foi possível evidenciar a presença de 10 átomos de carbono incluindo uma carbonila de ácido carboxílico (δ_{C} 169,4), três carbonos aromáticos hidrogenados (δ_{C} 111,8; 116,7 e 124,1), um carbono aromático não hidrogenado (δ_{C} 128,0), dois carbonos aromáticos oxigenados

(δ_c 149,6 e 150,9), dois carbonos olefínicos (δ_c 115,9 e 146,6) e, um grupo metoxila (δ_c 56,5). As correlações a mais de uma ligação entre hidrogênio e carbono observadas no experimento de HMBC, mostraram que o grupo metoxila em δ_H 3,89 apresentou correlação com o carbono em δ_c 149,6 (C-3); o hidrogênio aromático H-2 (δ_H 7,18) mostrou correlação com os carbonos C-3 (δ_c 149,6), C-4 (δ_c 150,9) e C-6 (δ_c 124,1). Além destas, as correlações observadas dos hidrogênios olefínicos em δ_H 7,60 e δ_H 6,34 foram com os carbonos δ_c 124,1 (C-6) e δ_c 169,4 (C-9), e com o carbono δ_c 128,0 (C-1), respectivamente.

A análise do espectro de ESI-EM/EM (ESPECTRO 4), obtido a partir do íon deprotonado de m/z 193,1 $[M - H]^-$ deu origem ao íon fragmento de m/z 134,1 referente a perda de uma metila e uma molécula de CO_2 . (ÇELIK et al., 2017).

Considerando-se a análise dos dados espectrais de RMN uni e bidimensional, espectrometria de massas e os dados descritos na literatura (PRACHAYASITTIKUL et al., 2009) (TABELA 8) o composto **Bo-2** foi elucidado como sendo o ácido *trans*-ferúlico (ácido 4-hidroxi-3-metoxi-*trans*-cinâmico) (FIGURA 18). (ZUCCOLOTTO et al., 2016, ANEXO 2).

FIGURA 18 – ESTRUTURA QUÍMICA DE **Bo-2** (ÁCIDO *trans*-FERÚLICO)



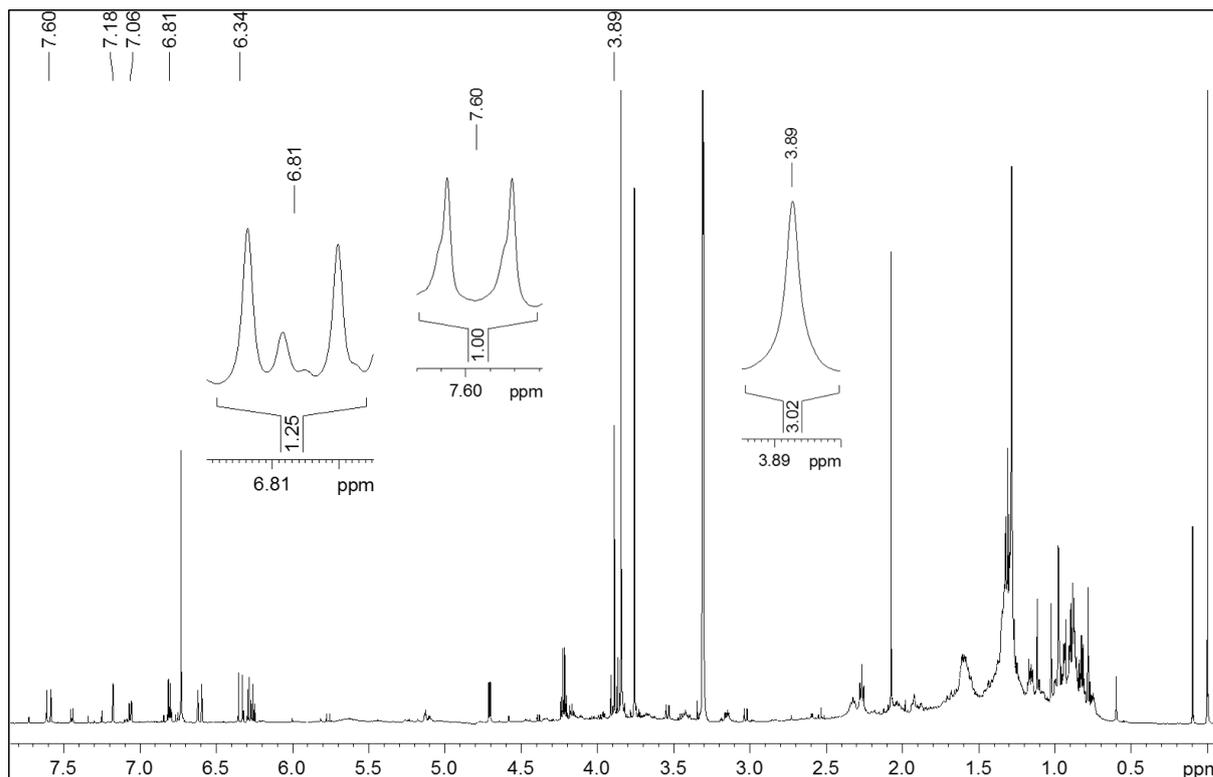
FONTE: O autor (2016).

TABELA 8 – DADOS DE RMN DE ^1H , ^{13}C E HMBC DE **Bo-2** EM COMPARAÇÃO COM A LITERATURA

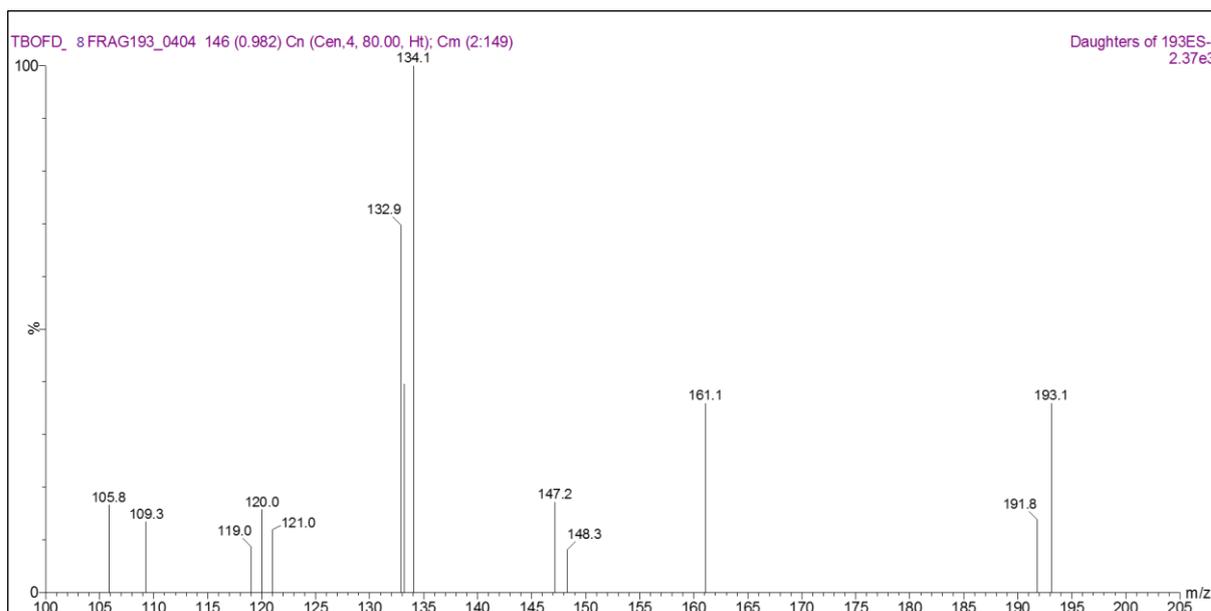
Posição	Bo-2 ^a			Ácido <i>trans</i> ferúlico ^b	
	δ_{H} (mult., J em Hz)	δ_{C} (^{13}C)	HMBC	δ_{H} (mult., J em Hz)	δ_{C} (^{13}C)
1	-	128,0	-	-	127,7
2	7,18 1H, <i>d</i> , (1,9)	111,8	3,4,6,7	7,18 1H, <i>d</i> , (1,9)	111,6
3	-	149,6	-	-	151,1
4	-	150,9	-	-	149,9
5	6,81 1H, <i>d</i> , (8,2)	116,7	1,3	6,82 1H, <i>d</i> , (8,3)	116,4
6	7,06 1H, <i>dd</i> (1,9;8,2)	124,1	2,4	7,07 1H, <i>dd</i> (1,9;8,3)	123,9
7	7,60 1H, <i>d</i> , (15,8)	146,6	2,6,9	7,59 1H, <i>d</i> , (15,8)	146,9
8	6,34 1H, <i>d</i> , (15,8)	115,9	1,9	6,31 1H, <i>d</i> , (15,8)	115,9
9	-	169,4	-	-	171,1
OCH ₃	3,89 3H, <i>s</i>	56,5	3	3,89 3H, <i>s</i>	56,4

FONTE: O autor (2016).

LEGENDA: ^a: Experimento realizado de RMN de ^1H , HSQC e HMBC (600 MHz, MeOD- d_6), utilizando TMS como referência interna. As atribuições de δ_{C} foram obtidas através da análise de espectros de HSQC e HMBC; ^b: Dados da literatura (400 MHz, MeOD- d_6) de acordo com PRACHAYASITTIKUL e colab., 2009.

ESPECTRO 3 – ESPECTRO DE RMN DE ^1H (600 MHz, MeOD- d_6) DA FRAÇÃO Bo-D_8 COM OS SINAIS INTEGRADOS PARA **Bo-2**

FONTE: O autor (2016).

ESPECTRO 4 - EXPERIMENTO DE ESI-EM/EM (20 eV) DO ÍON DE m/z 193,1 DE **Bo-2**

FONTE: O autor (2016).

O isômero *trans* do ácido ferúlico corresponde ao isômero majoritário no metabolismo vegetal (PAIVA et al., 2013), e já foi isolado anteriormente em várias *Baccharis*. Dentre elas podemos destacar *B. dracunculifolia*, *B. uncinella* DC., *B. grisebachii* Hieron. (FERESIN et al., 2003; SILVA FILHO et al., 2004; TAPIA et al., 2004; LEMOS et al., 2007; BÚFALO et al., 2009; GRECCO et al., 2010; ZALEWSKI et al., 2011; BOCCO et al., 2016). Entretanto, para as espécies da seção *Caulopterae* esse é o segundo relato de identificação deste composto, sendo o ácido *trans*-ferúlico identificado pela primeira vez em *B. burchellii*. (ZUCCOLOTTO et al., 2016). Devido à sua capacidade em sequestrar radicais livres, o composto vem sendo associado a diversas propriedades biológicas, tais como atividade antioxidante, hipoglicemiante, anti-inflamatória, antitrombótica, antitumoral, hepatoprotetora, neuroprotetora e antimicrobiana. (RECHNER et al., 2001; KIM et al., 2003; SHIYI; KIN-CHOR, 2004; PAIVA et al., 2013; CAMPOS et al., 2016; ZUCCOLOTTO et al., 2016).

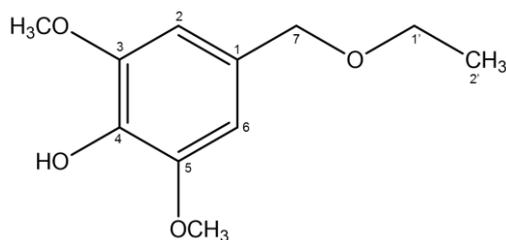
5.3.3 Determinação estrutural de **Bo-3**

Os sinais de ressonância observados no espectro de RMN de ^1H (600 MHz, CDCl_3) (ESPECTRO 5) da fração Bo-D_10 (TABELA 1, pg. 54) revelou dois simpletos, com integração para dois hidrogênios, em δ_{H} 6,62 (2H; s; H-2 e H-6) e em δ_{H} 4,40 (2H; s; H-7). Também foi visualizado no espectro um quarteto em δ_{H} 3,53 (2H; q; $J = 7,2$ Hz;

H-1'), característico de hidrogênios metilênicos, um tripleto em δ_H 1,21 (3H; *t*; $J = 7,2$ Hz; H-2'), característico de hidrogênios metílicos e um simpleto, integrando para seis hidrogênios em δ_H 3,83 (6H; *s*; H-3 e H-5), característico da presença de hidrogênios de dois grupos metoxila. As atribuições dos valores de ^{13}C foram realizadas com o auxílio dos experimentos de correlação HSQC (FIGURA 20) e HMBC (FIGURA 21). Através destas análises observou-se a presença de 11 átomos de carbono, sendo, dois carbonos aromáticos em δ_c 106,6, que correspondem aos carbonos C-2 e C-6, um carbono aromático não hydrogenado em δ_c 130,5 (C-1), três carbonos aromáticos oxigenados em δ_c 149,4 (C-3 e C-5) e 136,2 (C-4). Além destes, foram identificados ainda, dois carbonos de metoxilas em δ_c 56,9; dois carbonos de grupos metilênicos em δ_c 74,1 e δ_c 66,5 (C-7 e C-1', respectivamente), e um carbono de grupo metila em δ_c 15,5 (C-2'). As correlações a longa distância entre hidrogênio e carbono foram observadas no mapa de correlação HMBC (FIGURA 21) e permitiram identificar os hidrogênios aromáticos em δ_H 6,62 (H-2 e H-6) correlacionando com os carbonos δ_c 130,5 (C-1), δ_c 149,4 (C-3 e C-5, respectivamente), δ_c 136,2 (C-4), δ_c 106,6 (C-6 e C-2, respectivamente) e δ_c 74,1 (C-7). Além deste, os hidrogênios metilênicos em δ_H 4,40 (H-7) apresentaram correlação com os carbonos em δ_c 130,5 (C-1), δ_c 106,6 (C-2 e C-6), δ_c 149,4 (C-3 e C-5), e δ_c 66,5 (C-1'); os hidrogênios metílicos em δ_H 1,21 (H-2') mostraram correlação com o carbono em δ_c 66,5 (C-1').

Na análise do experimento de varredura, obtido no modo negativo de ionização, observou-se a presença do íon deprotonado de m/z 211,2 [M - H]⁻. A partir deste íon realizou-se o experimento de ESI-EM/EM (ESPECTRO 6), onde foi possível observar perdas consecutivas com formação dos íons fragmentos de: m/z 167,2, referente à perda de uma unidade C₂H₅; e m/z 196,3 e 152,1 referente à perda de dois grupos metila.

Considerando-se a análise dos dados espectrais de RMN uni e bidimensional (TABELA 9), e os dados obtidos por espectrometria de massas esta é a primeira vez que este composto está sendo descrito na literatura. O composto **Bo-3** foi definido como 1-etoxietil-3,5-dimetoxi-4-hidroxifenol (C₁₁H₁₆O₄).

FIGURA 19 – ESTRUTURA QUÍMICA DE **Bo-3** (1-ETOXIETIL-3,5-DIMETOXI-4-HIDROXIFENOL)

FONTE: O autor (2016).

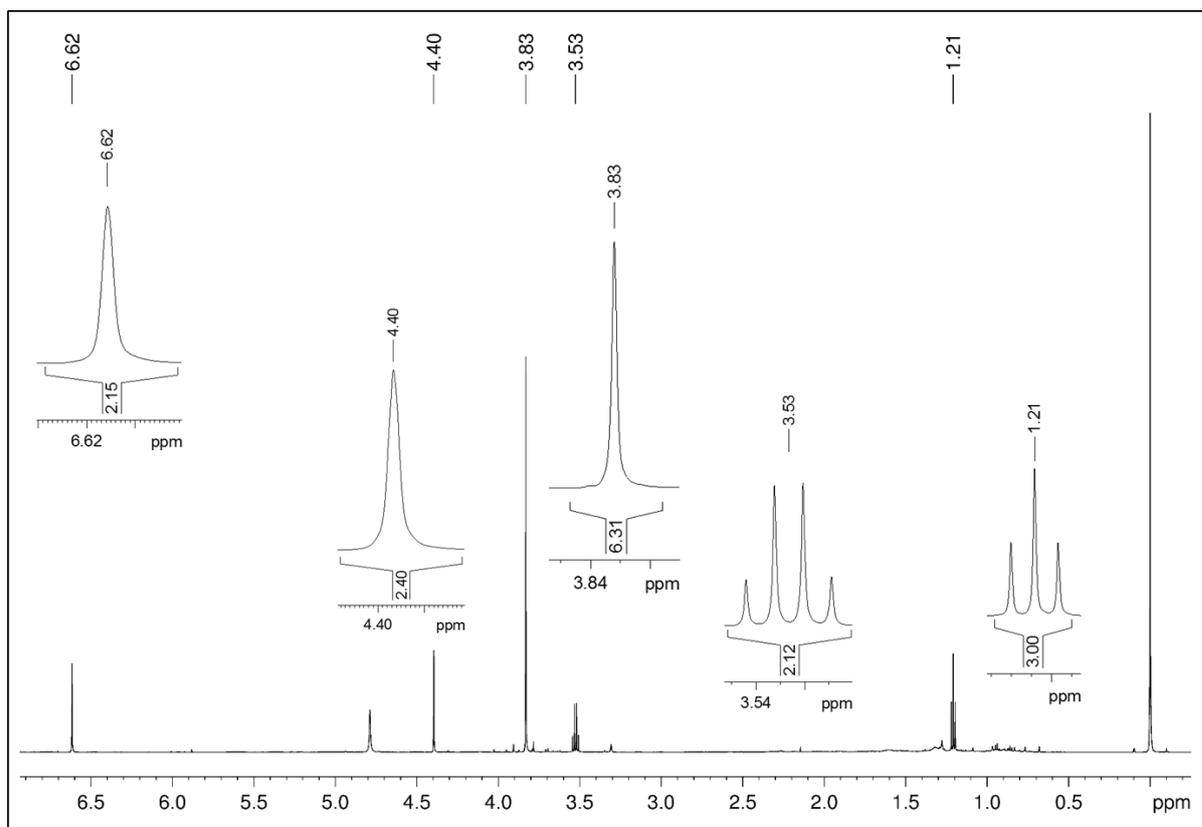
TABELA 9 – DADOS DE RMN DE ^1H , ^{13}C E HMBC DE **Bo-3**

Posição	Bo-3^a		
	δ_{H} (mult., <i>J</i> em Hz)	δ_{C} (^{13}C)	HMBC
1	-	130,5	-
2	6,62 2H, s	106,6	1,3,4,6,7
3	-	149,4	-
4	-	136,2	-
5	-	149,4	-
6	6,62 2H, s	106,6	1,2,4,5,7
7	4,40 2H, s	74,1	1,2,9
8	-	-	-
1'	3,53 2H, <i>q</i> , (7,2)	66,5	7,2
2'	1,21 3H, <i>t</i> , (7,2)	15,5	9
OCH₃	3,83 3H, s	56,9	3
OCH₃	3,83 3H, s	56,9	5

FONTE: O autor (2016).

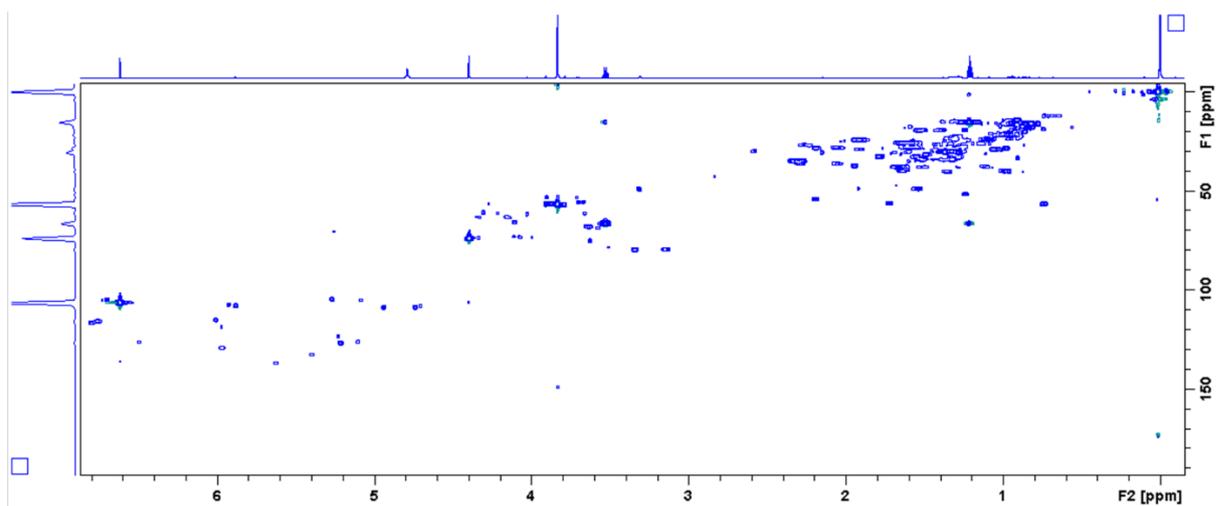
LEGENDA: ^a: Experimento realizado de RMN de ^1H , HSQC e HMBC (600 MHz, CDCl_3), utilizando TMS como referência interna. As atribuições de δ_{C} foram obtidas através da análise de espectros de HSQC e HMBC.

ESPECTRO 5 – ESPECTRO DE RMN DE ^1H (600 MHz, CDCl_3) DA FRAÇÃO Bo-D_{10} COM OS SINAIS INTEGRADOS PARA DE **Bo-3**

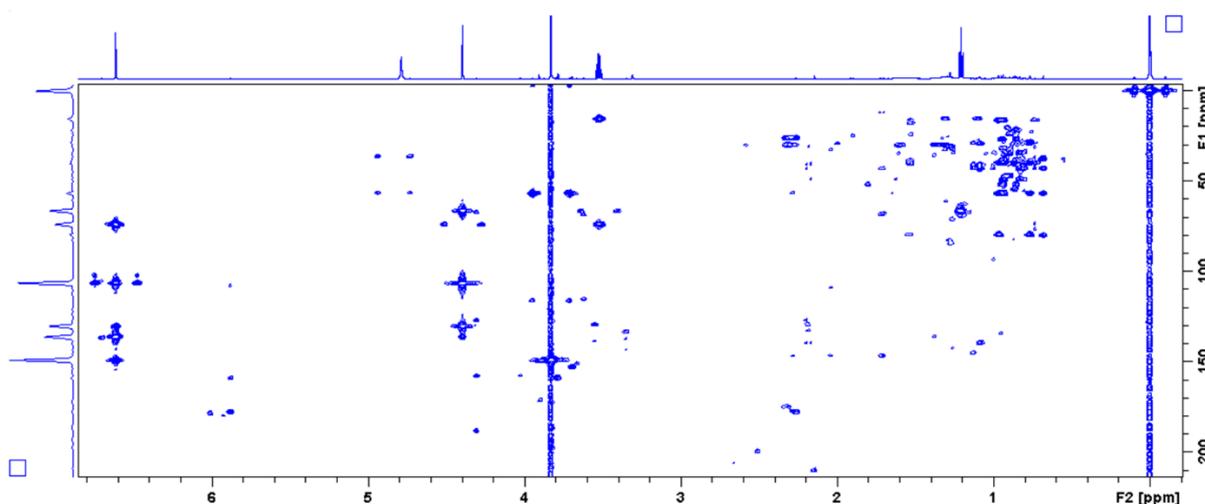


FONTE: O autor (2016).

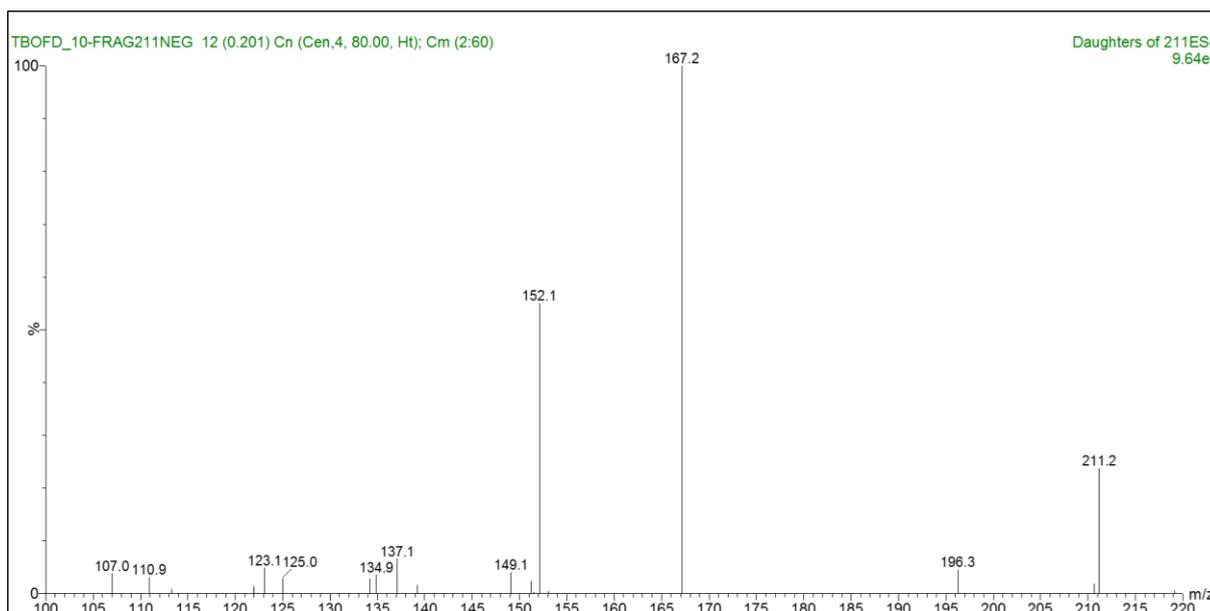
FIGURA 20 – MAPA DE CORRELAÇÃO DE HSQC (600 MHz, CDCl_3) DA FRAÇÃO Bo-D_{10}



FONTE: O autor (2016).

FIGURA 21 – MAPA DE CORRELAÇÃO DE HMBC (600 MHz, CDCl₃) DA FRAÇÃO Bo-D_10

FONTE: O autor (2016).

ESPECTRO 6 - EXPERIMENTO DE ESI-EM/EM (12 eV) DO ÍON DE m/z 211,2 DE **Bo-3**

FONTE: O autor (2016).

5.3.4 Determinação estrutural de **Bo-4**

A fração BoD_12 (TABELA 1, pg. 54) foi analisada por RMN de ¹H (600 MHz, MeOD-*d*₆), sendo possível identificar em mistura as substâncias **Bo-4** e **Bo-5**.

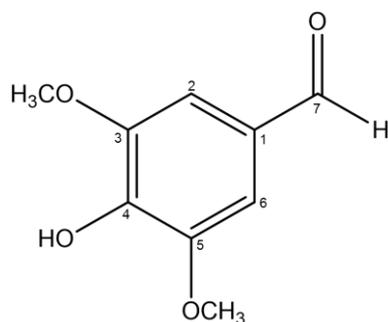
Pela análise do espectro de RMN de ¹H (ESPECTRO 7) foi observada a presença de um simpleto em δ_H 9,75 (1H, s) característico de um grupamento aldeído. Além deste sinal, foi observado na região de hidrogênios aromáticos um simpleto em δ_H 7,23 (2H, s). O espectro exibiu ainda, outro simpleto em δ_H 3,92 (6H, s), com

integração para seis hidrogênios, caracterizando a presença de dois grupos metoxila. As atribuições dos δ_c foram definidas com base na análise dos mapas de correlação HSQC (FIGURA 23) e HMBC (FIGURA 24), onde foi possível evidenciar a presença da carbonila do aldeído em δ_c 192,4 (C-7), além de três carbonos oxigenados em δ_c 149,4, 143,2 e 149,4 (C-3, C-4 e C-5, respectivamente). Ainda analisando os mapas de correlação observou-se a presença de dois carbonos aromáticos em δ_c 107,5 (C-2 e C-6) e dois carbonos de grupos metoxila em δ_c 53,7. Através da análise do mapa de correlação à longa distância (HMBC) foi possível caracterizar a conectividade das ligações na estrutura. Os hidrogênios aromáticos em δ_H 7,23 (H-2 e H-5) mostraram correlação com os carbonos em δ_c 149,4 (C-3), δ_c 143,2 (C-4) do anel aromático, além de δ_c 192,4 (C-7) da carbonila do aldeído; o hidrogênio δ_H 9,75 mostrou correlação com os carbonos em δ_c 128,7 (C-1) e δ_c 107,5 (C-2 e C-5). Observou-se ainda, a correlação dos hidrogênios em δ_H 3,92 dos grupos metoxila, com os carbonos oxigenados do anel aromático em δ_c 149,4 (C-3 e C-5).

A análise do experimento de varredura, obtido no modo negativo de ionização, revelou a presença do íon deprotonado de m/z 181,2 [M - H]⁻. Este íon deprotonado foi submetido ao experimento de ESI-EM/EM (ESPECTRO 8), onde, através de perdas consecutivas, foram gerados os íons fragmentos de m/z 166,1 e 151,1, referentes à perda de dois grupos metila, e o íon de m/z 123,1 referente à perda do grupo aldeído. (MENA et al., 2012).

A interpretação dos dados espectroscópicos de RMN 1D e 2D (TABELA 10), espectrometria de massas de **Bo-4** e a comparação com dados disponíveis na literatura (KIM et al., 2003) conduziram a estrutura do siringaldeído (4-hidroxi-3,5-dimetoxibenzaldeído) (FIGURA 22).

Este composto foi identificado também nas frações Bo-D_11, Bo-D_13, Bo-D_14, Bo-D_15, Bo-D_16 (TABELA 1, pg. 54), Bo-D-18/1, Bo-D-18/4, Bo-D_18/5 e Bo-D-19/4 (TABELA 2, pg. 55).

FIGURA 22 – ESTRUTURA QUÍMICA DE **Bo-4** (SIRINGALDEÍDO)

FONTES: O autor (2016).

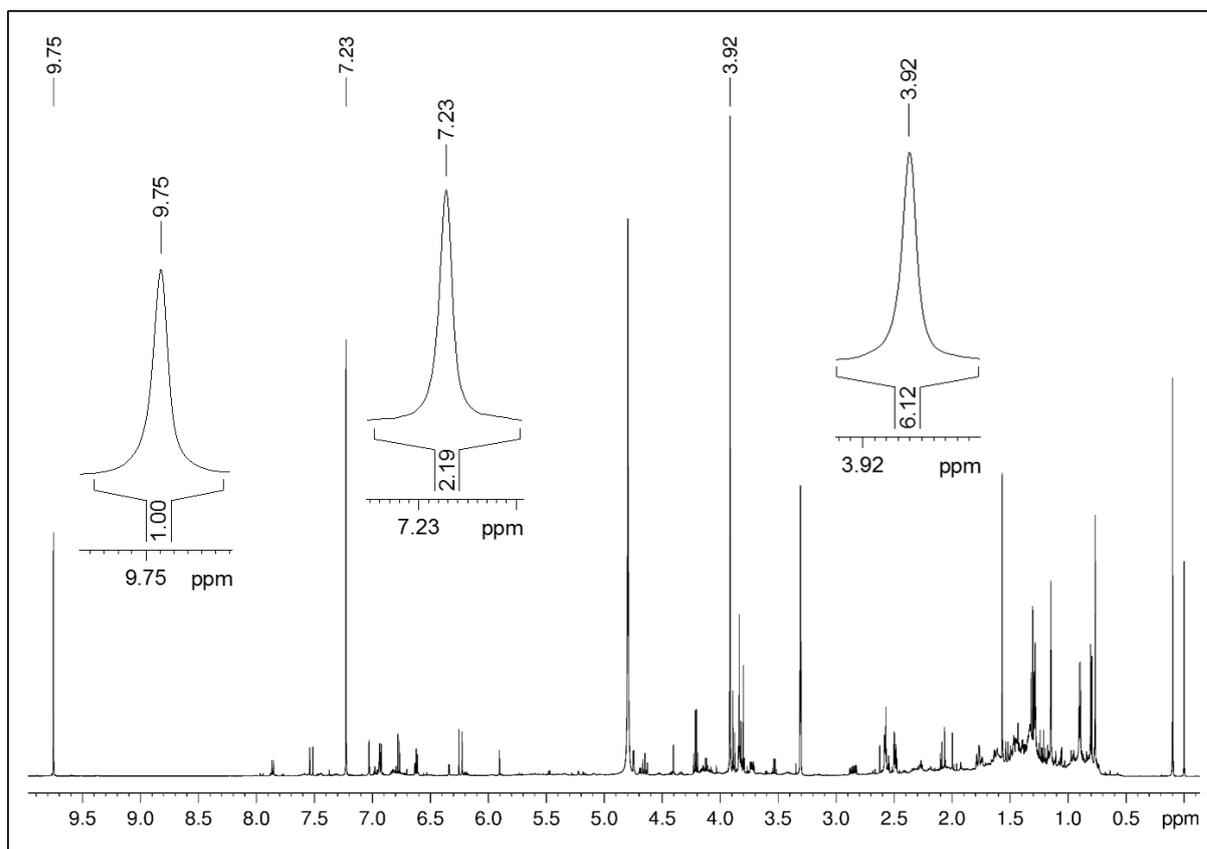
TABELA 10 – DADOS DE RMN DE ^1H , ^{13}C E HMBC DE **Bo-4** EM COMPARAÇÃO COM A LITERATURA

Posição	Bo-4^a			Siringaldeído^b	
	δ_{H} (mult., <i>J</i> em Hz)	δ_{C} (^{13}C)	HMBC	δ_{H} (mult., <i>J</i> em Hz)	δ_{C} (^{13}C)
1	-	128,7	-	-	129,0
2	7,23 1H, s	107,5	3,5,6,7	7,21 1H, s	107,7
3	-	149,4	-	-	148,9
4	-	143,2	-	-	142,9
5	-	149,4	-	-	148,9
6	7,23 1H, s	107,5	2,3,4,7	7,21 1H, s	107,7
7	9,75 1H, s	192,4	1,2,5	9,81 1H, s	191,1
OCH₃	3,92 3H, s	57,0	3	3,90 3H, s	56,6
OCH₃	3,92 3H, s	57,0	5	3,90 3H, s	56,6

FONTES: O autor (2016).

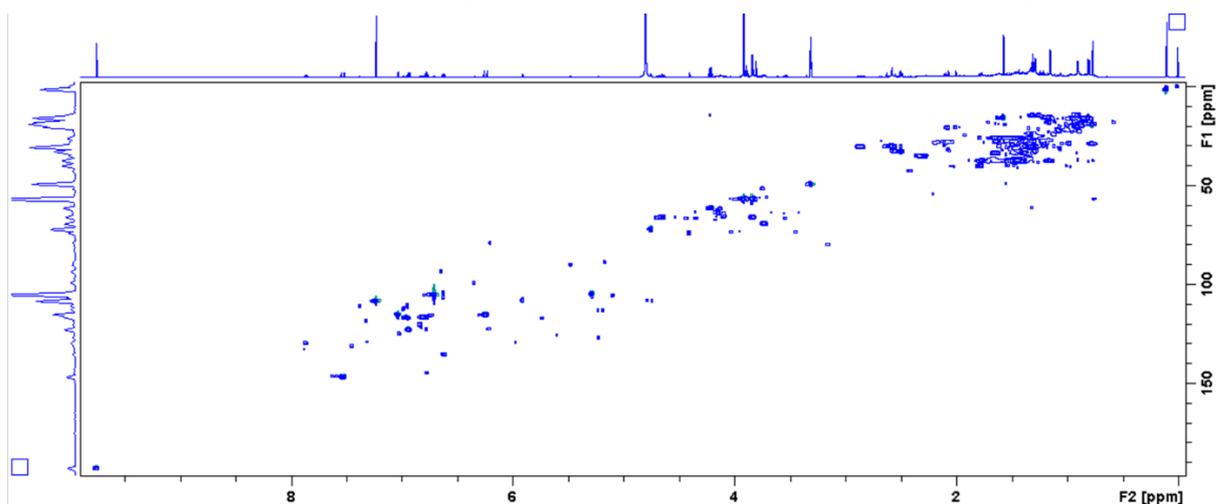
LEGENDA: ^a: Experimento realizado de RMN de ^1H , HSQC e HMBC (600 MHz, MeOD- d_6), utilizando TMS como referência interna. As atribuições de δ_{C} foram obtidas através da análise de espectros de HSQC e HMBC; ^b: Dados da literatura (360 MHz, acetona- d_6) de acordo com KIM e colab., 2003.

ESPECTRO 7 – ESPECTRO DE RMN DE ^1H (600 MHz, MeOD- d_6) DA FRAÇÃO Bo-D_12 COM OS SINAIS INTEGRADOS PARA **Bo-4**

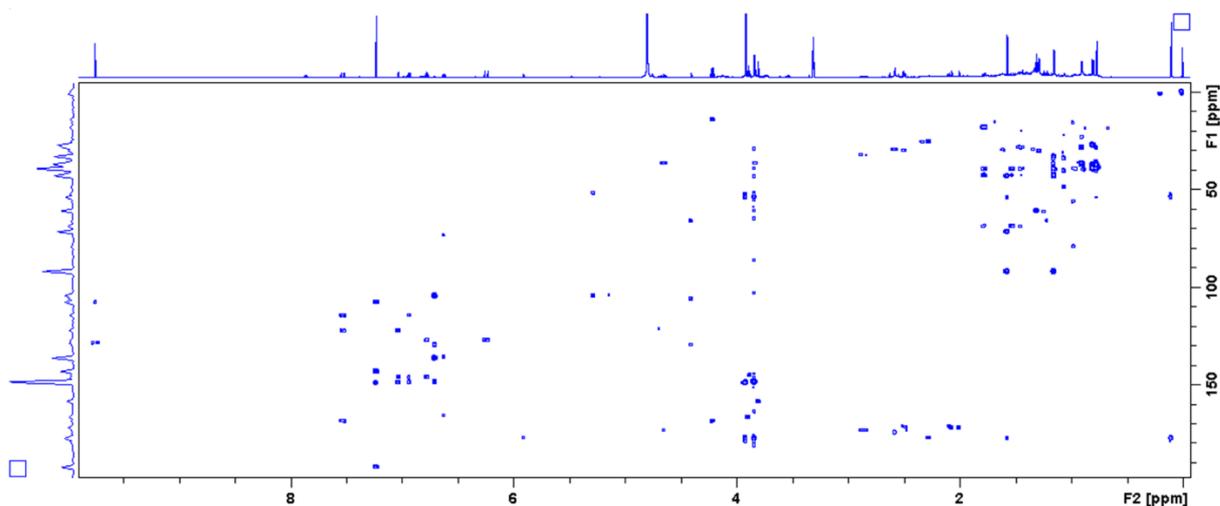


FONTE: O autor (2016).

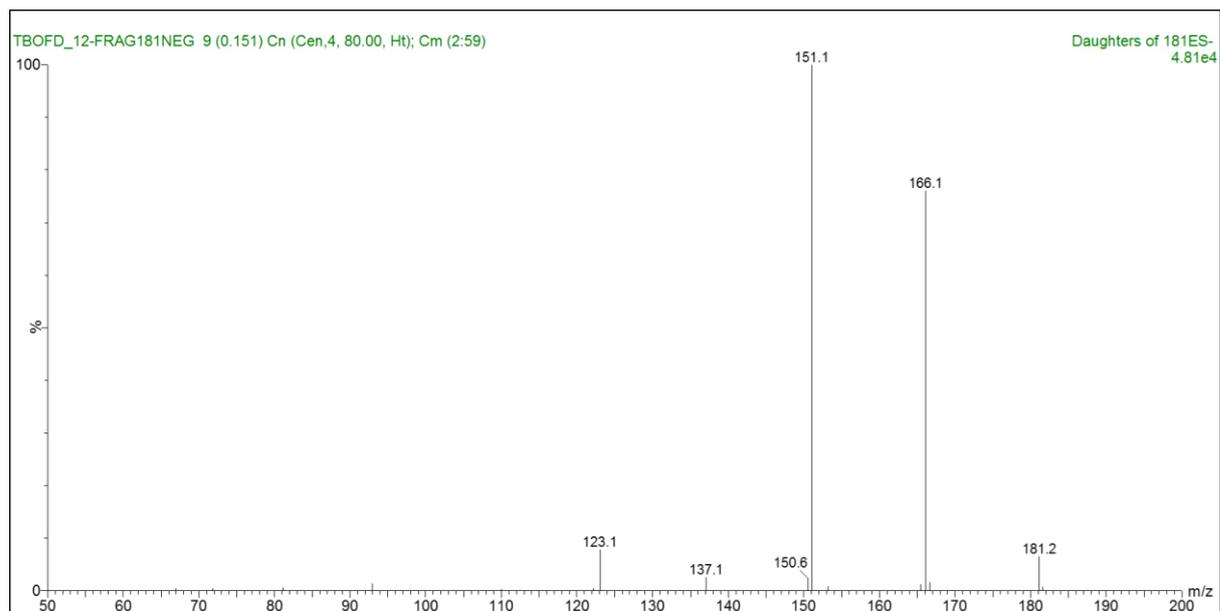
FIGURA 23 – MAPA DE CORRELAÇÃO DE HSQC (600 MHz, MeOD- d_6) DA FRAÇÃO Bo-D_12



FONTE: O autor (2016).

FIGURA 24 – MAPA DE CORRELAÇÃO DE HMBC (600 MHz, MeOD-*d*6) DA FRAÇÃO Bo-D_12

FONTE: O autor (2016).

ESPECTRO 8 - EXPERIMENTO DE ESI-EM/EM (14 eV) DO ÍON DE m/z 181,2 DE **Bo-4**

FONTE: O autor (2016).

O siringaldeído possui inúmeras atividades biológicas, as quais podem ser utilizadas em produtos farmacêuticos, indústrias de alimentos, cosméticos, têxteis, papel e celulose, e até mesmo em aplicações de controle biológico. (IBRAHIM et al., 2012). Entre as atividades descritas destacam-se atividade antioxidante (CANAS et al., 2008; BOUNTAGKIDOU et al., 2010), capacidade de inibição da fermentação de glicose e xilose por micro-organismos (DELGENES et al., 1996; ZALDIVAR et al., 1999), atividade inseticida (REGNAULT-ROGER et al., 2004), atividade antimalárica

(CHEPLOGOI et al., 2008), antifúngica (GURPILHARES et al., 2006), hipoglicemiante (MAHADEVA RAO et al., 2015), entre outras.

Esta substância promissora já foi relatada em diversas famílias botânicas, como Amaranthaceae (CHIJI et al., 1980), Apocynaceae (SRIBUHOM et al., 2015), Gentianaceae (MADMANANG et al., 2016), Lauraceae (SILVA, DA et al., 1973), Rubiaceae (OSMAN et al., 2016) e também Asteraceae. (KESKITALO et al., 1999; MICHALSKA; KISIEL, 2008; PEDROSO et al., 2008; FERREIRA; OLIVEIRA, 2010; CHI et al., 2016; WANG et al., 2016). Entretanto, não há relatos da sua ocorrência em *Baccharis*, sendo esta sua primeira identificação no gênero.

5.3.5 Determinação estrutural de **Bo-5**

O composto **Bo-5** foi identificado na fração Bo-D_12 (TABELA 1, pg. 54) em mistura com a substância **Bo-4** (5.3.4).

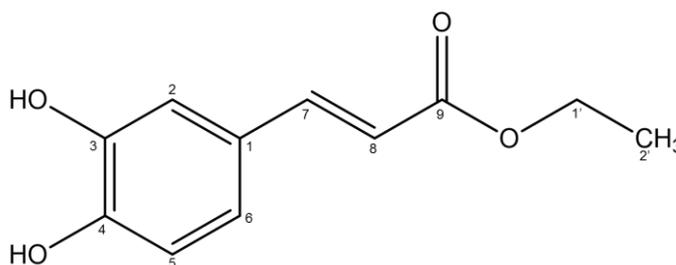
No conjunto de dados obtidos mediante os espectros de RMN de ^1H (ESPECTRO 9) da fração Bo-D_12 foi possível identificar a presença de dois dupletos em δ_{H} 6,77 (1H; *d*; $J = 2,1$ Hz; H-2) e δ_{H} 7,03 (1H; *d*; $J = 8,2$ Hz; H-5), e um duplo duplete em δ_{H} 6,93 (1H; *dd*; $J = 8,2; 2,1$ Hz; H-6), indicando a presença de um anel aromático 1,3,4-trissubstituído. Também foram observados dois dupletos em δ_{H} 7,53 (1H; *d*; $J = 15,9$ Hz; H-7) e δ_{H} 6,24 (1H; *d*; $J = 15,9$ Hz; H-8), característicos de hidrogênios olefínicos com configuração *trans*, sugerindo, novamente, a ocorrência de um derivado de ácido cinâmico. O espectro exibiu ainda um quarteto em δ_{H} 4,21 (2H; *q*; $J = 7,1$ Hz; H-1'), e um tripleto em δ_{H} 1,31 (3H; *t*; $J = 7,1$ Hz; H-2'), coerente com a presença de um grupo etóxi. Através da análise dos mapas de correlação heteronuclear HSQC (FIGURA 23) e HMBC (FIGURA 24) puderam ser atribuídos os valores de ^{13}C e também pode-se observar a presença de sinais relativos a 11 átomos de carbono, incluindo uma carbonila de éster (δ_{C} 168,5), três carbonos aromáticos hidrogenados (δ_{C} 115,3; 116,6 e 122,3), um carbono aromático não hidrogenado (δ_{C} 127,2), dois carbonos aromáticos oxigenados (δ_{C} 146,3 e 148,6). Além destes, foi possível identificar dois carbonos olefínicos (δ_{C} 115,5 e 146,9) e um carbono do grupo metila (δ_{C} 14,8). Analisando-se as correlações à longa distância através do mapa HMBC (FIGURA 24) foi possível estabelecer a conectividade entre hidrogênios e carbonos. O hidrogênio aromático em δ_{H} 6,77 (H-5) mostrou correlação com os

carbonos em δ_c 127,2 (C-1), δ_c 146,3 (C-3) e δ_c 148,6 (C-4); o hidrogênio olefínico em δ_H 7,53 (H-7) apresentou correlação com os carbonos em δ_c 115,3 (C-2), δ_c 122,3 (C-6) e δ_c 168,5 (C-9). Além destes, os hidrogênios metílicos em δ_H 1,31 (H-2') mostraram correlação com o carbono em δ_c 61,5 (C-1'), enquanto os hidrogênios metilênicos em δ_H 4,21 (H-1') apresentaram correlação com os carbonos em δ_c 168,5 (C-9) e em δ_c 14,8 (C-2'). Na TABELA 12 estão descritos os dados experimentais observados nos espectros e os dados relatados na literatura. (UWAI et al., 2008; ZUCCOLOTTO et al., 2016, ANEXO 2).

Através do experimento de varredura, obtido no modo negativo de ionização, observou-se a presença do íon deprotonado de m/z 207,2 $[M - H]^-$; este foi submetido ao experimento de ESI-EM/EM (ESPECTRO 10) onde foram observados os íons fragmentos de m/z 179,2 referente à perda de uma unidade C_2H_4 ; m/z 161,1 referente à perda de uma molécula de água; e m/z 135,1 referente a perda de uma molécula de CO_2 . (LAMBERT et al., 2015).

Considerando-se o conjunto de dados analisados, o composto **Bo-5** foi elucidado como sendo o cafeato de etila (Etil-3,4-dihidroxicinamato) (FIGURA 25). Este composto foi identificado também nas frações Bo-D_13, Bo-D_14 e Bo-D_15 (TABELA 1, pg. 54).

FIGURA 25 – ESTRUTURA QUÍMICA DE **Bo-5** (CAFEATO DE ETILA)



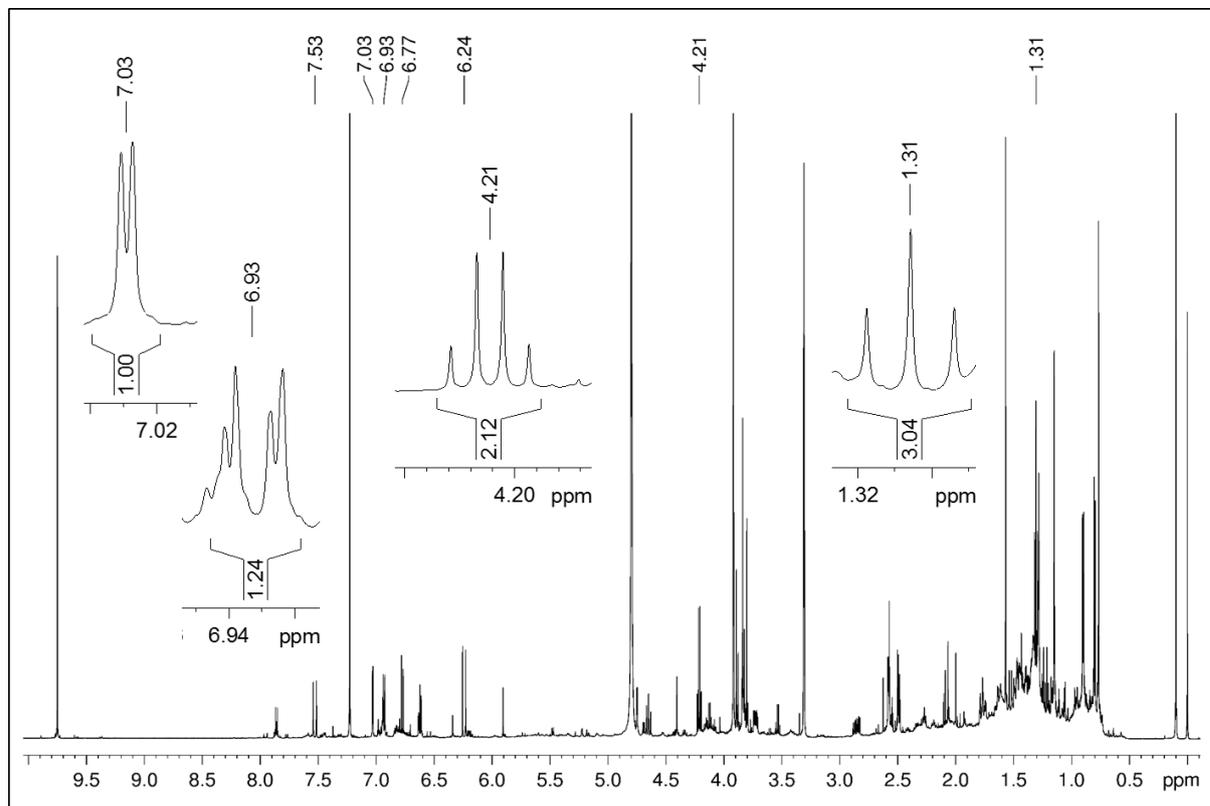
FONTE: O autor (2016).

TABELA 11 - DADOS DE RMN DE ^1H , ^{13}C E HMBC DE **Bo-5** EM COMPARAÇÃO COM A LITERATURA

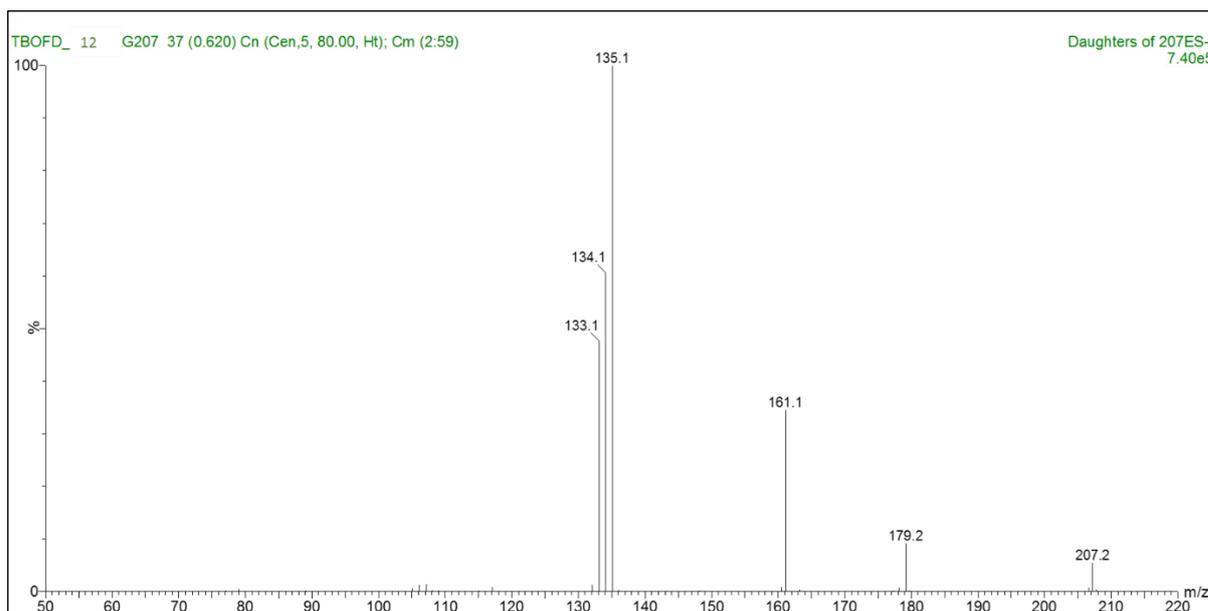
Posição	Bo-5 ^a			Cafeato de etila ^b	
	δ_{H} (mult., J em Hz)	δ_{C} (^{13}C)	HMBC	δ_{H} (mult., J em Hz)	δ_{C} (^{13}C)
1	-	127,2	-	-	127,6
2	7,03 1H, <i>d</i> , (2,1)	115,3	3,4,6,	7,16 1H, <i>d</i> , (2,0)	115,2
3	-	146,3	-	-	145,5
4	-	148,6	-	-	148,6
5	6,77 1H, <i>d</i> , (8,2)	116,6	1,3,4	6,87 1H, <i>d</i> , (8,3)	115,7
6	6,93 1H, <i>dd</i> , (2,1; 8,2)	122,3	2,3,4,	7,03 1H, <i>dd</i> (2,0; 8,3)	122,5
7	7,53 1H, <i>d</i> , (15,9)	146,9	2,6,9	7,53 1H, <i>d</i> , (16,1)	146,2
8	6,24 1H, <i>d</i> , (15,9)	115,5	1,9	6,27 1H, <i>d</i> , (16,1)	116,3
9	-	168,5	-	-	167,4
1'	4,21 2H, <i>q</i> , (7,1)	61,5	2',9	4,17 2H, <i>t</i> (7,3)	60,5
2'	1,31 1H, <i>t</i> , (7,1)	14,8	1'	1,25 3H, <i>t</i> , (7,3)	14,6

FONTE: O autor (2016).

LEGENDA: ^a: Experimento realizado de RMN de ^1H , HSQC e HMBC (600 MHz, MeOD- d_6), utilizando TMS como referência interna. As atribuições de δ_{C} foram obtidas através da análise de espectros de HSQC e HMBC; ^b: Dados da literatura (400 MHz, acetona- d_6) de acordo com UWAI e colab., 2008.

ESPECTRO 9 – ESPECTRO DE RMN DE ^1H (600 MHz, MeOD- d_6) DA FRAÇÃO Bo-D_12 COM OS SINAIS INTEGRADOS PARA **Bo-5**

FONTE: O autor (2016).

ESPECTRO 10 – EXPERIMENTO DE ESI-EM/EM (24 eV) DO ÍON DE m/z 207,2 DE **Bo-5**

FONTE: O autor (2016).

O cafeato de etila tem sido identificado em diversas espécies de plantas. Entretanto, a formação natural de derivados etoxilados em vegetais é pouco comum, provavelmente, a formação deste pode ser devido a reação entre o ácido cafeico, que é um produto natural presente no vegetal, com o EtOH utilizado no processo de extração. Dentre as espécies onde este composto foi identificado podemos destacar *Calea uniflora* L. (LIMA et al., 2016), *Vernonanthura tweedieana* (Baker) H. Rob. (SILVA et al., 2015), *Artemisia incisa* Pamp. (RASHID et al., 2015), *Moquiniastrum polymorphum* subsp. *floccosum* (STRAPASSON et al., 2014), *Baccharis burchellii* Baker (ZUCCOLOTTO et al., 2016), *Ilex latifolia* Thunb. (HU et al., 2014), *Cirsium japonicum* (Thunb.) Fisch. ex DC. (LAI et al., 2014), *Artemisia capillaris* Thunb. (ZHAO et al., 2014), *Mikania micrantha* Kunth (XU; XIE; XIAO; et al., 2013), *Euphorbia tangutica* Prokh. (ZHANG et al., 2012). As atividades biológicas atribuídas ao cafeato de etila incluem, entre outras, atividade antioxidante (CHEN et al., 2015), hipoglicemiante (LAI et al., 2014), alelopática (XU; XIE; XIAO; et al., 2013), anti-inflamatória (CHIANG et al., 2005; KIM et al., 2016), antitumoral (LEE et al., 2014; BALACHANDRAN et al., 2015) e antifúngica (TANG et al., 2014).

5.3.6 Determinação estrutural de **Bo-6**

Os sinais de ressonância observados no espectro de RMN de ^1H (600 MHz, CDCl_3) (ESPECTRO 11) da fração Bo-D_16 (TABELA 1, pg. 54) indicaram a presença de um simpleto integrando para um hidrogênio em δ_{H} 6,59, característico de hidrogênio olefínico ligado ao C-3 de flavonoides tipo flavona. Observou-se ainda, um simpleto em δ_{H} 12,72 (1H; s) correspondente à hidroxila quelada, que conseqüentemente, indicou a presença do grupo —OH em C-5 e, dois dupletos, com integração para dois hidrogênios, em δ_{H} 7,79 (2H; d; $J = 8,8$ Hz; H-2' e H-6') e em δ_{H} 6,97 (2H; d, $J = 8,8$ Hz, H-3' e H5') referentes a um sistema de acoplamento de segunda ordem do anel *para*-substituído (anel B). Além destes, o espectro revelou um simpleto em δ_{H} 6,55, integrando para um hidrogênio, indicando que o anel A deste composto encontrava-se pentassubstituído. Outros dois simpletos em δ_{H} 3,93 e δ_{H} 3,97, integrando para três hidrogênios cada, indicam a presença de dois grupos metoxilas ligados ao anel A (FIGURA 26).

As atribuições de δ_{C} foram obtidas através da análise dos mapas de correlação HSQC (FIGURA 27) e HMBC (FIGURA 28), onde foi possível evidenciar a presença de uma carbonila conjugada em δ_{C} 182,8, característica do esqueleto tipo flavona. Nestes experimentos, também foi possível observar o acoplamento do hidrogênio em δ_{H} 6,55 (H-8), como o carbono em δ_{C} 90,7 (C-8), bem como, do hidrogênio em δ_{H} 6,59 (H-3) com o carbono em δ_{C} 104,1 (C-3). Os hidrogênios em δ_{H} 7,79 (H-2'; H-6') mostraram correlação direta com os carbonos δ_{C} 128,3 (C-6'; C-2', respectivamente) e os hidrogênios em δ_{H} 6,97 (H-3'; H-5') com os carbonos em δ_{C} 116,1 (C-5'; C-3', respectivamente). As correlações a longa distância entre os hidrogênios e carbonos, observadas no experimento de HMBC, mostraram que os hidrogênios das metoxilas em δ_{H} 3,97 e δ_{H} 3,93 apresentaram correlação com os carbonos em δ_{C} 132,5 (C-6) e δ_{C} 158,8 (C-7), respectivamente. O hidrogênio aromático em δ_{H} 6,55 (H-8) mostrou correlação com os carbonos em δ_{C} 153,3 (C-9), δ_{C} 132,5 (C-6), δ_{C} 158,8 (C-7) e 106,1 (C-10) e o hidrogênio olefínico em δ_{H} 6,59 (H-3) mostrou correlação com os carbonos em δ_{C} 164,3 (C-2), δ_{C} 183,0 (C-4), δ_{C} 106,1 (C-10) e δ_{C} 123,4 (C-1'). Além destas, ainda foi possível observar as correlações dos hidrogênios do anel *parassubstituído*, onde, os hidrogênios em δ_{H} 7,79 (H-2'; H-6')

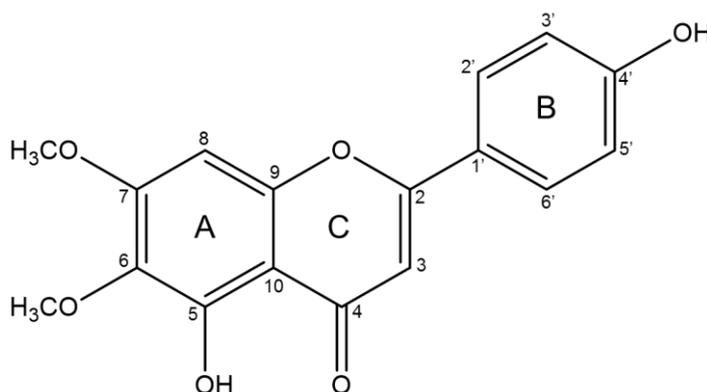
mostraram correlação com os carbonos δ_c 164,3 (C-2), δ_c 159,4 (C-4') e δ_c 128,3 (C-6'; C-2', respectivamente) e os hidrogênios em δ_H 6,97 (H-3'; H-5') mostraram correlação com os carbonos em δ_c 123,4 (C-1'), δ_c 159,4 (C-4') e δ_c 116,1 (C-5'; C-3', respectivamente).

Com base na análise dos dados obtidos através do experimento de varredura, no modo negativo de ionização, foi possível observar o íon deprotonado de m/z 313,2 $[M - H]^-$. No experimento de ESI-EM/EM (ESPECTRO 12) foram gerados os íons fragmentos de m/z 298,2 e m/z 283,2 referentes à perda sucessiva de duas unidades CH_3 . (BORRÁS-LINARES et al., 2014).

Comparando os dados obtidos com os dados da literatura (TABELA 12) foi possível propor que **Bo-6** trata-se do flavonoide cirsimaritina (4',5-Di-hidroxi-6,7-dimetoxiflavona) (FIGURA 26).

Este composto foi identificado também nas frações Bo-D_17 (TABELA 1, pg. 54), Bo-D_18/1, Bo-D_18/4, Bo-D_19/5 e Bo-D_19/6 (TABELA 2, pg. 55).

FIGURA 26 – ESTRUTURA QUÍMICA DE **Bo-6** (CIRSIMARITINA)



FONTE: O autor (2016).

TABELA 12 – DADOS DE RMN DE 1H , ^{13}C E HMBC DE **Bo-6** EM COMPARAÇÃO COM A LITERATURA

Posição	Bo-6^a			Cirsimaritin^b	
	δ_H (mult., J em Hz)	δ_c (^{13}C)	HMBC	δ_H (mult., J em Hz)	δ_c (^{13}C)
2	-	164,3	-	-	165,5
3	6,59 1H, s	104,1	2,4	6,68 1H, s	103,8
4	-	183,0	-	-	183,6
5	-	*	-	-	153,9
6	-	132,5	-	-	133,5
7	-	158,8	-	-	160,1

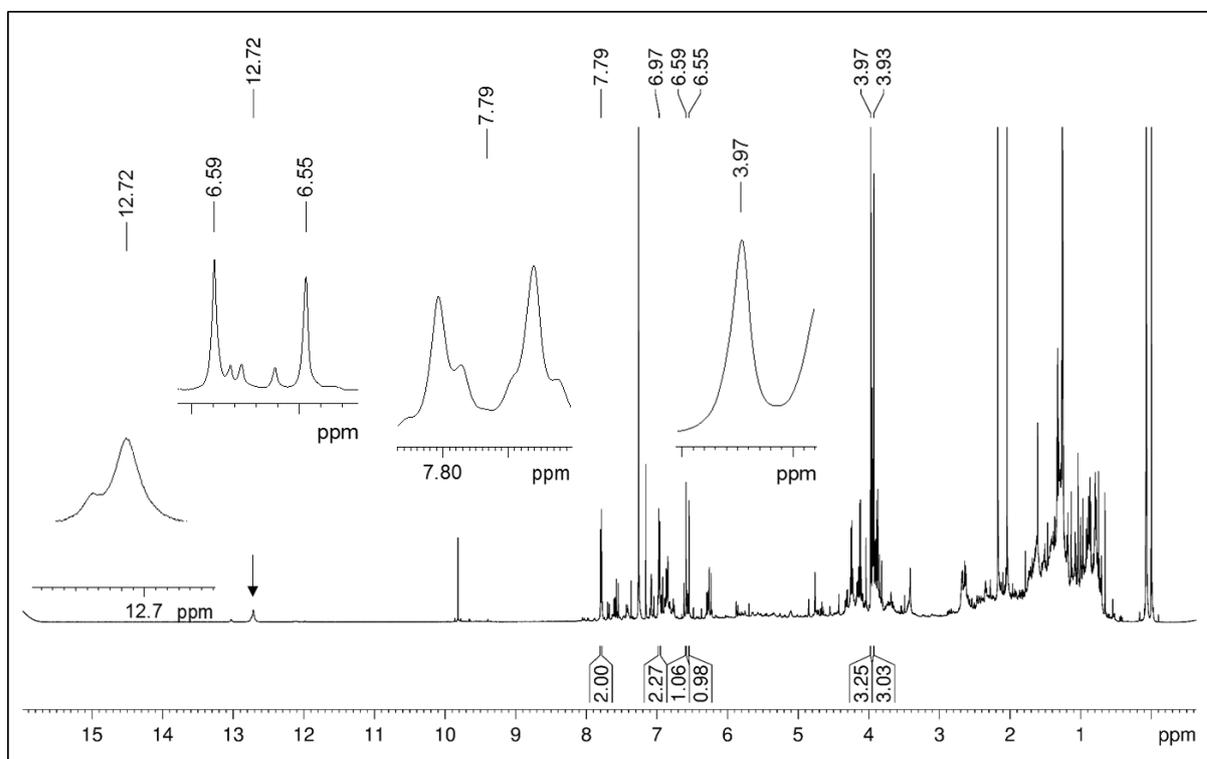
(conclusão)

TABELA 12 – DADOS DE RMN DE ^1H , ^{13}C E HMBC DE **Bo-6** EM COMPARAÇÃO COM A LITERATURA

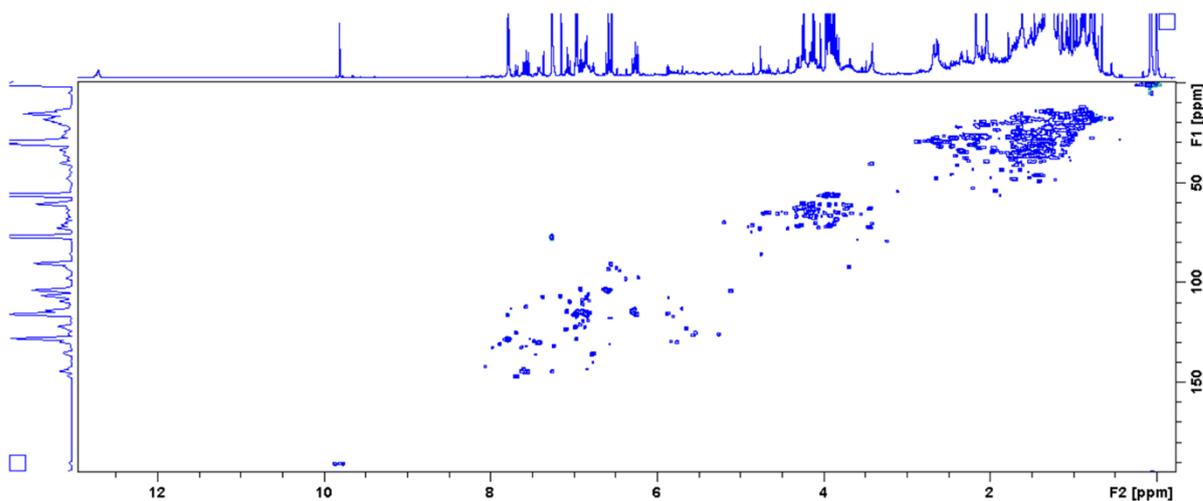
Posição	Bo-6^a			Cirsimaritina^b	
	δ_{H} (mult., <i>J</i> em Hz)	δ_{C} (^{13}C)	HMBC	δ_{H} (mult., <i>J</i> em Hz)	δ_{C} (^{13}C)
8	6,55 1H, s	90,7	6,7,9,10	6,85 1H, s	92,0
9	-	153,3	-	-	154,3
10	-	106,1	-	-	106,5
1'	-	123,4	-	-	123,0
2'	7,79 2H, <i>d</i> , (8,8)	128,3	2,3',4',6'	7,95 2H, <i>d</i> , (8,8)	129,3
3'	6,97 2H, <i>d</i> , (8,8)	116,1	1',4',51	7,02 2H, <i>d</i> , (8,8)	116,0
4'	-	159,4	-	-	162,3
5'	6,97 2H, <i>d</i> (8,8)	116,1	1',4',51	7,02 2H, <i>d</i> , (8,8)	116,0
6'	7,79 2H, <i>d</i> , (8,8)	128,3	2,3',4',6'	7,95 2H, <i>d</i> , (8,8)	129,3
OCH₃	3,97 3H, s	56,4	6	3,98 *	56,9
OCH₃	3,93 3H, s	61,1	7	3,79 *	60,6

FONTE: O autor (2016).

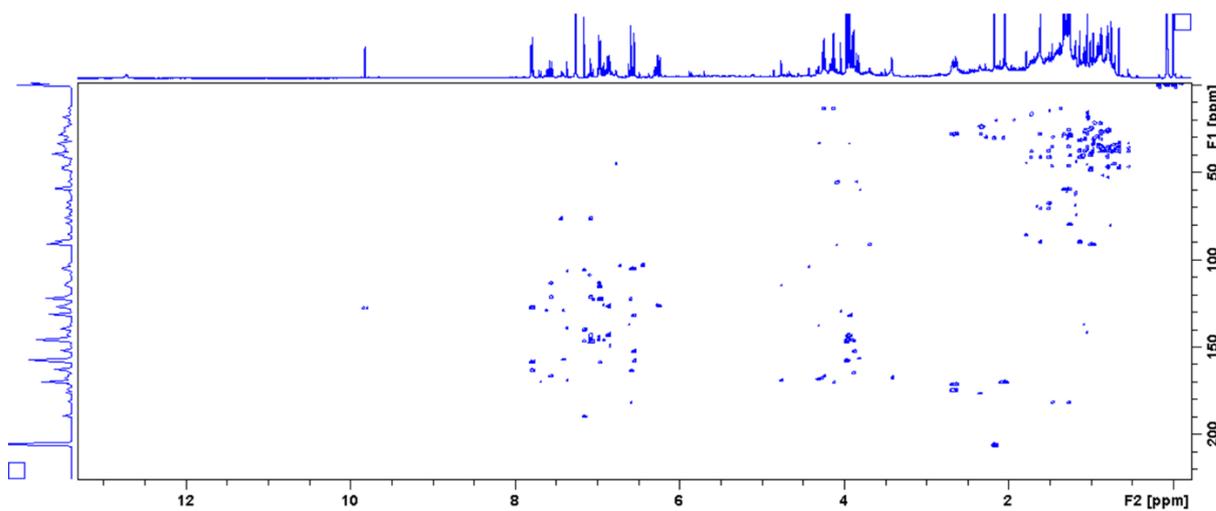
LEGENDA: ^a: Experimento realizado de RMN de ^1H , HSQC e HMBC (600 MHz, CDCl_3), utilizando TMS como referência interna. As atribuições de δ_{C} foram obtidas através da análise de espectros de HSQC e HMBC; ^b: Dados da literatura (500 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) de acordo com ALWAHSH e colab., 2015; *Dados não informados.

ESPECTRO 11 - ESPECTRO DE RMN DE ^1H (600 MHz, CDCl_3) DA FRAÇÃO Bo-D_16 COM OS SINAIS INTEGRADOS PARA **Bo-6**

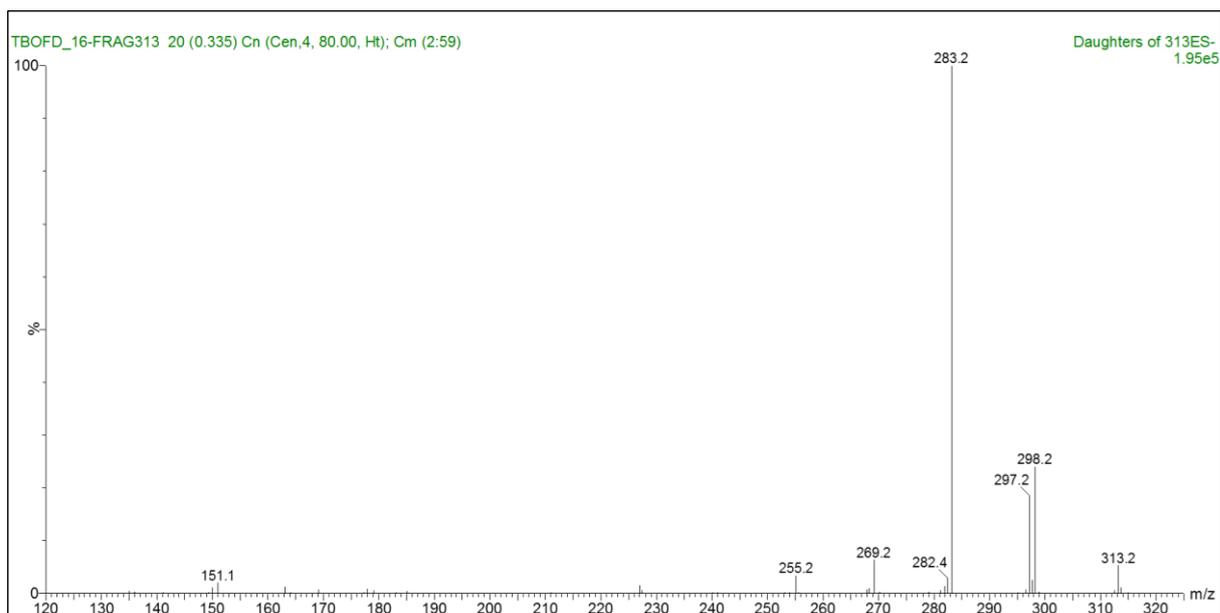
FONTE: O autor (2016).

FIGURA 27– MAPA DE CORRELAÇÃO DE HSQC (600 MHZ, CDCl₃) DA FRAÇÃO Bo-D_16

FONTE: O autor (2016).

FIGURA 28 – MAPA DE CORRELAÇÃO DE HMBC (600 MHZ, CDCl₃) DA FRAÇÃO Bo-D_16

FONTE: O autor (2016).

ESPECTRO 12 – EXPERIMENTO DE ESI-EM/EM (24 eV) DO ÍON DE m/z 313,2 DE **Bo-6**

FONTE: O autor (2016).

Dentro de *Baccharis*, o flavonoide cirsimaritina foi previamente identificado em *Baccharis conferta* Kunth (WEIMANN et al., 2002), *B. trimera* (NAKASUGI; KOMAI, 1998), *B. genistelloides* (SUTTISRI et al., 1994) e *B. rufescens* Spreng. (SIMIRGIOTIS et al., 2003). A ele, são atribuídas atividades biológicas promissoras, como tripanocida, antileishmania (TASDEMIR et al., 2006; BEER et al., 2016), citotóxica (KIM et al., 2015; LEE et al., 2016), antioxidante (ALWAHSH et al., 2015; RAJAURIA et al., 2016), antimutagênica (NAKASUGI; KOMAI, 1998), ansiolítico (ABDELHALIM et al., 2015), inibição enzimática (SHAFIQ et al., 2013), entre outras.

5.3.7 Determinação estrutural de **Bo-7**

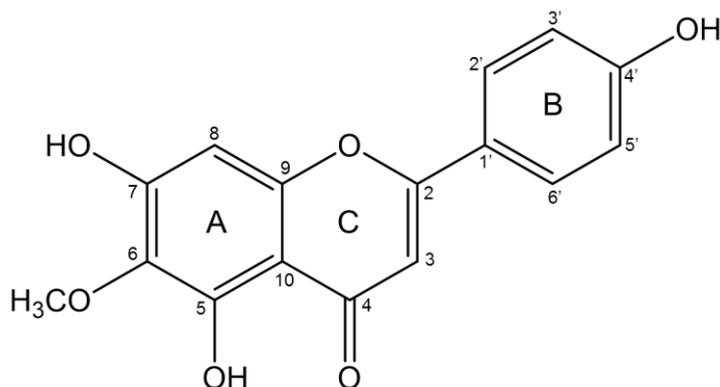
Os sinais de ressonância observados no espectro de RMN de ^1H (600 MHz, MeOD- d_6) (ESPECTRO 13) da fração Bo-D_17 (TABELA 1, pg. 54) mostraram a presença de dois dupletos, com integração para dois hidrogênios, em δ_{H} 7,85 (2H; d ; $J = 8,8$ Hz; H-2' e H-6') e em δ_{H} 6,92 (2H; d ; $J = 8,8$ Hz, H-3' e H5') referentes a um sistema de acoplamento de segunda ordem do anel para-substituído (anel B). Foi possível observar também um simpleto integrando para um hidrogênio em δ_{H} 6,61, característico de hidrogênio olefínico ligado ao C-3 de flavonoides tipo flavona. Além destes, o espectro revelou um simpleto em δ_{H} 6,77, integrando para um hidrogênio, indicando que o anel A deste composto encontrava-se pentassubstituído e outro

simpleto em δ_H 3,91 integrando para três hidrogênios indicando a presença de um grupo metoxila ligado ao anel A (FIGURA 29).

As atribuições de δ_C foram obtidas através da análise dos mapas de correlação HSQC (FIGURA 30) e HMBC (FIGURA 31), onde foi possível evidenciar a presença de uma carbonila conjugada em δ_C 182,1, característica do esqueleto tipo flavona. Nestes experimentos, também foi possível observar o acoplamento do hidrogênio em δ_H 6,77 (H-8), como o carbono em δ_C 90,9 (C-8), bem como, do hidrogênio em δ_H 6,61 (H-3) com o carbono em δ_C 104,0 (C-3). Os hidrogênios em δ_H 7,85 (H-2'; H-6') mostraram correlação direta com os carbonos δ_C 128,1 (C-6'; C-2', respectivamente) e os hidrogênios em δ_H 6,92 (H-3'; H-5') com os carbonos em δ_C 115,7 (C-5'; C-3', respectivamente). As correlações a longa distância entre os hidrogênios e carbonos, observadas no experimento de HMBC, mostraram que os hidrogênios do grupamento metoxila em δ_H 3,91 apresentaram correlação com os carbonos em δ_C 131,4 (C-6) e δ_C 157,3 (C-7), respectivamente. O hidrogênio aromático em δ_H 6,77 (H-8) mostrou correlação com os carbonos em δ_C 152,4 (C-9), δ_C 131,4 (C-6), δ_C 157,3 (C-7) e δ_C 102,3 (C-10) e o hidrogênio olefínico em δ_H 6,61 (H-3) mostrou correlação com os carbonos em δ_C 163,9 (C-2), δ_C 182,1 (C-4), δ_C 102,3 (C-10) e δ_C 121,1 (C-1'). Além destas, ainda foi possível observar as correlações dos hidrogênios do anel *para*-substituído, onde, os hidrogênios em δ_H 7,85 (H-2'; H-6') mostraram correlação com os carbonos δ_C 163,9 (C-2), δ_C 161,2 (C-4') e δ_C 128,1 (C-6'; C-2', respectivamente) e os hidrogênios em δ_H 6,92 (H-3'; H-5') mostraram correlação com os carbonos em δ_C 121,1 (C-1'), δ_C 161,2 (C-4') e δ_C 115,7 (C-5'; C-3', respectivamente).

A análise do experimento de varredura, no modo negativo de ionização, revelou a presença do íon deprotonado de m/z 299,2 $[M - H]^-$. Este foi submetido ao experimento de ESI-EM/EM (ESPECTRO 14) originando o íon fragmento de m/z 284,1 referente à perda da unidade CH_3 . (MOCAN et al., 2015).

Comparando os dados obtidos com os dados da literatura (TABELA 13) foi possível propor que **Bo-7** trata-se do flavonoide hispidulina (5, 7, 4''-trihidroxi-6-metoxiflavona) (FIGURA 29).

FIGURA 29 - ESTRUTURA QUÍMICA DE **Bo-7** (HISPIDULINA)

FONTE: O autor (2016).

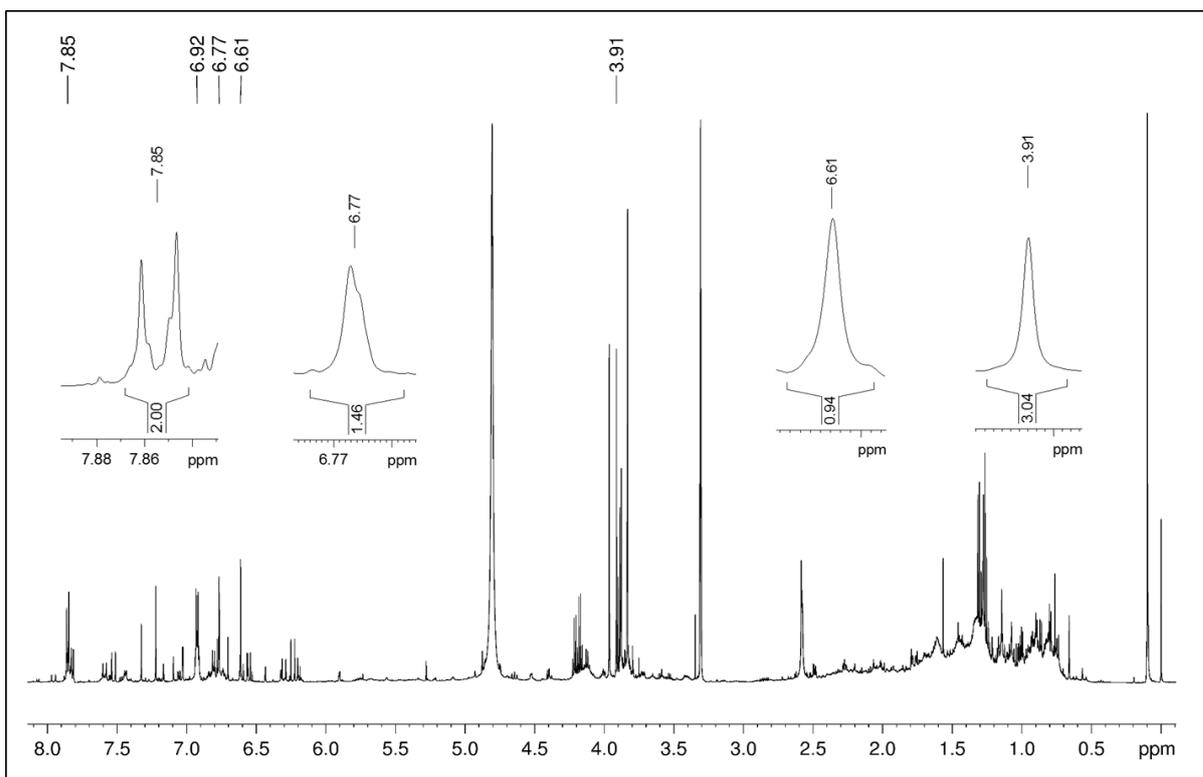
TABELA 13 – DADOS DE RMN DE ^1H , ^{13}C E HMBC DE **Bo-7** EM COMPARAÇÃO COM A LITERATURA

Posição	Bo-7^a			Hispidulina^b	
	δ_{H} (mult., <i>J</i> em Hz)	δ_{C} (^{13}C)	HMBC	δ_{H} (mult., <i>J</i> em Hz)	δ_{C} (^{13}C)
2	-	163,9	-	-	164,4
3	6,61 1H, s	104,0	2,4	6,65 1H, s	104,2
4	-	182,1	-	-	182,6
5	-	152,8	-	-	153,3
6	-	131,4	-	-	131,5
7	-	157,3	-	-	157,2
8	6,77 1H, s	90,9	6,7,9,10	6,63 1H, s	94,2
9	-	152,4	-	-	152,6
10	-	102,3	-	-	102,7
1'	-	121,1	-	-	122,0
2'	7,85 2H, <i>d</i> , (8,8)	128,1	2,4',6'	7,82 2H, <i>d</i> , (8,8)	128,1
3'	6,92 2H, <i>d</i> , (8,8)	115,7	1',4',5'	6,94 2H, <i>d</i> , (8,8)	115,8
4'	-	161,2	-	-	161,2
5'	6,92 2H, <i>d</i> , (8,8)	115,7	1',3',4'	6,94 2H, <i>d</i> , (8,8)	115,8
6'	7,85 2H, <i>d</i> , (8,8)	128,1	2,2',4'	7,82 2H, <i>d</i> , (8,8)	128,1
OCH₃	3,91 3H, s	55,9	6	3,91 3H, s	60,0

FONTE: O autor (2016).

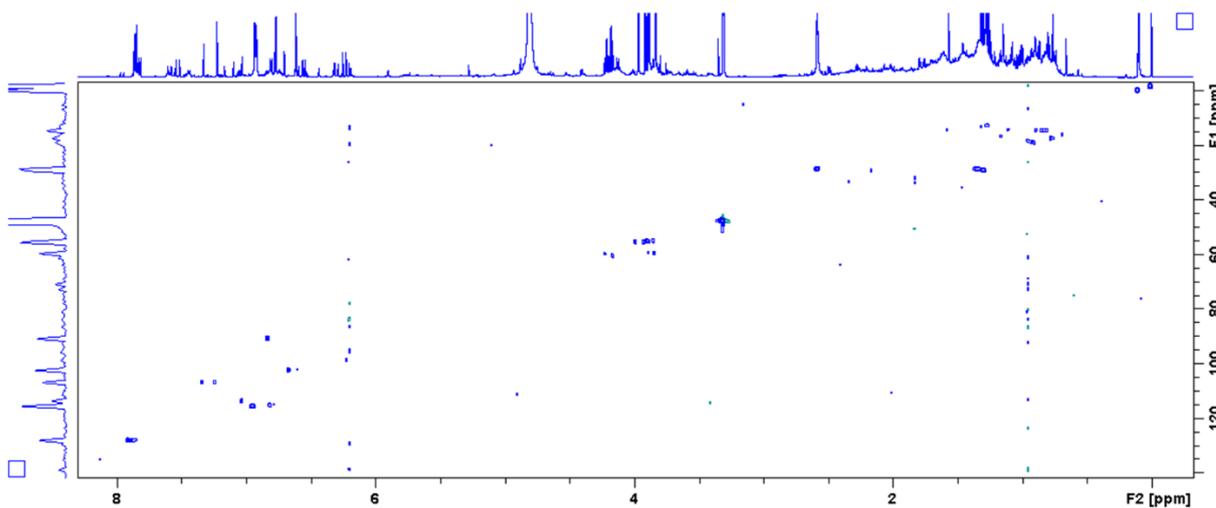
LEGENDA: ^a: Experimento realizado de RMN de ^1H , HSQC e HMBC (600 MHz, MeOD-*d*₆), utilizando TMS como referência interna. As atribuições de δ_{C} foram obtidas através da análise de espectros de HSQC e HMBC; ^b: Dados da literatura (600 MHz, ^1H e 150 MHz ^{13}C , CDCl₃) de acordo com OSEI-SAFO e colab., 2009.

ESPECTRO 13 - ESPECTRO DE RMN DE ^1H (600 MHz, $\text{MeOD-}d_6$) DA FRAÇÃO Bo-D_17 COM OS SINAIS INTEGRADOS PARA Bo-7

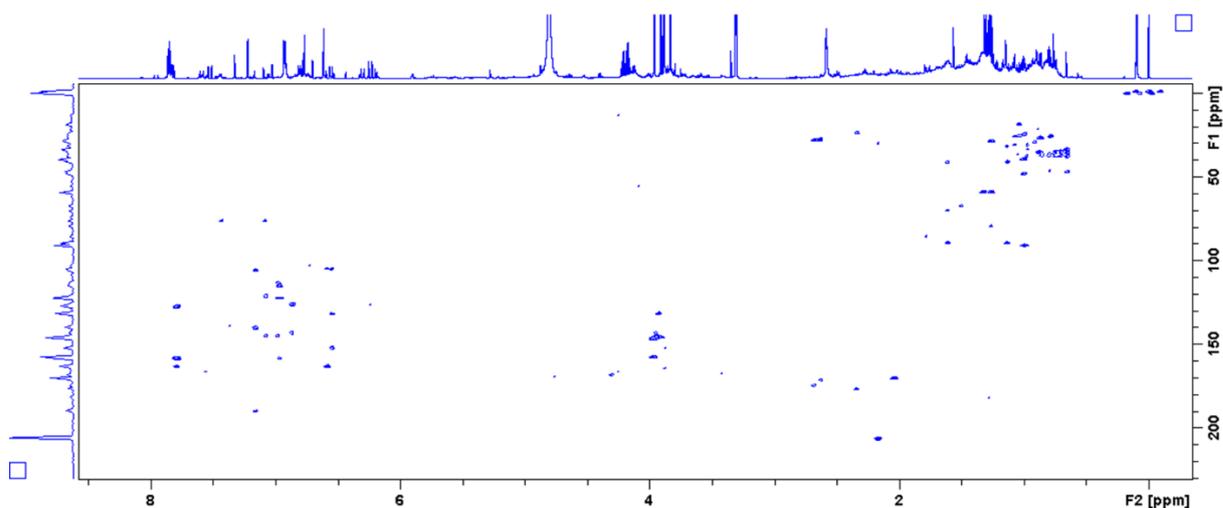


FONTE: O autor (2016).

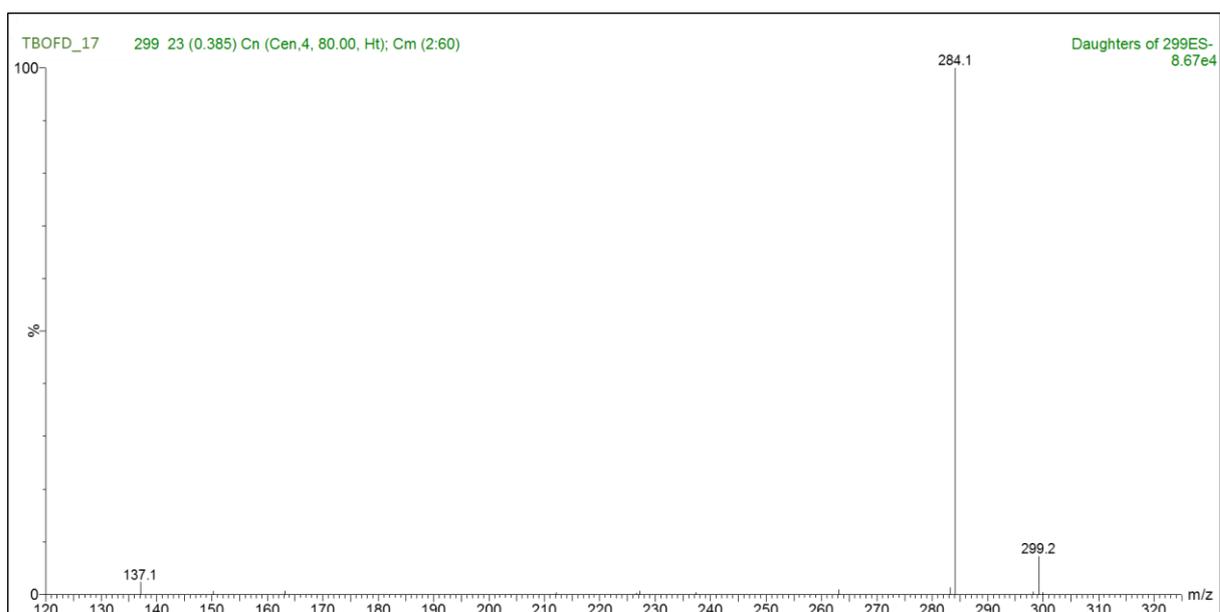
FIGURA 30 - MAPA DE CORRELAÇÃO DE HSQC (600 MHz, $\text{MeOD-}d_6$) DA FRAÇÃO Bo-D_17



FONTE: O autor (2016).

FIGURA 31 - MAPA DE CORRELAÇÃO DE HMBC (600 MHz, MeOD- d_6) DA FRAÇÃO Bo-D_17

FONTE: O autor (2016).

ESPECTRO 14 - EXPERIMENTO DE ESI-EM/EM (20 eV) DO ÍON DE m/z 299,2 DE **Bo-7**

FONTE: O autor (2016).

Em *Baccharis*, o flavonoide hispidulina já foi identificado em *B. pseudotenuifolia* Malag. (MOREIRA et al., 2003; TAPIA et al., 2004), *B. uncinella* (AKAIKE et al., 2003), *B. gaudichaudiana* DC. (GRECCO et al., 2010) e *B. trimera*. (SOICKE; LENG-PESCHLOW, 1987; NAKASUGI; KOMAI, 1998). Por sua proeminência biológica este composto já foi isolado de diferentes partes das plantas, incluindo as folhas frescas, as partes aéreas secas, flores, sementes e raízes. (ATIF et al., 2015). Atribui-se a ele diversas atividades biológicas, entre estas, antioxidante,

antibacteriana (MOCAN et al., 2015), antitumoral (HE et al., 2011; XU; XIE; WU; et al., 2013) e antiepilética. (LIN et al., 2012; ABDELHALIM et al., 2015).

5.3.8 Determinação estrutural de **Bo-8**

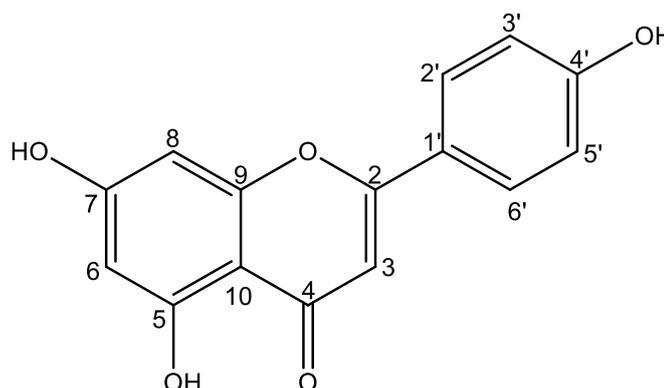
Os sinais de ressonância observados no espectro de RMN de ^1H (600 MHz, MeOD- d_6) (ESPECTRO 15) da fração Bo-D_18/2 (TABELA 2, pg. 55) indicaram a presença de um simpleto integrando para um hidrogênio em δ_{H} 6,57, característico de hidrogênio olefínico ligado ao C-3 de flavonoides tipo flavona. Além de dois dupletos com integração para dois hidrogênios, em δ_{H} 7,83 (2H; d ; $J = 8,8$ Hz; H-2' e H-6') e em δ_{H} 6,92 (2H; d ; $J = 8,8$ Hz, H-3' e H5') referentes a um sistema de acoplamento de segunda ordem do anel *para*-substituído (anel B). O espectro revelou, ainda, dois dupletos em δ_{H} 6,44 e δ_{H} 6,20, integrando para um hidrogênio cada.

As atribuições de deslocamento químico de carbono (δ_{C}) foram obtidas através da análise dos mapas de correlação HSQC (FIGURA 33) e HMBC (FIGURA 34), onde foi possível evidenciar a presença de uma carbonila conjugada em δ_{C} 184,1, característica do esqueleto tipo flavona. Nestes experimentos, também foi possível observar o acoplamento do hidrogênio em δ_{H} 6,44 (H-8), como o carbono em δ_{C} 95,2 (C-8), bem como, do hidrogênio em δ_{H} 6,57 (H-3) com o carbono em δ_{C} 103,8 (C-3). Os hidrogênios em δ_{H} 7,83 (H-2'; H-6') mostraram correlação direta com os carbonos em δ_{C} 129,6 (C-6'; C-2', respectivamente) e os hidrogênios em δ_{H} 6,92 (H-3'; H-5') com os carbonos em δ_{C} 117,0 (C-5'; C-3', respectivamente). As correlações a mais de uma ligação entre hidrogênio e carbono, observadas no experimento de HMBC, mostraram que o hidrogênio aromático em δ_{H} 6,44 (H-8) mostrou correlação com os carbonos em δ_{C} 100,1 (C-6), δ_{C} 163,0 (C-7), δ_{C} 159,4 (C-9) e δ_{C} 105,3 (C-10) e o hidrogênio olefínico em δ_{H} 6,57 (H-3) mostrou correlação com os carbonos em δ_{C} 166,2 (C-2) e δ_{C} 184,1 (C-4). Além destas, ainda foi possível observar as correlações dos hidrogênios do anel *para*-substituído, onde, os hidrogênios em δ_{H} 7,83 (H-2'; H-6') mostraram correlação com os carbonos em δ_{C} 166,2 (C-2), δ_{C} 162,8 (C-4') e δ_{C} 129,6 (C-6'; C-2', respectivamente) e os hidrogênios em δ_{H} 6,92 (H-3'; H-5') mostraram correlação com os carbonos em δ_{C} 123,3 (C-1'), δ_{C} 162,8 (C-4') e δ_{C} 117,0 (C-5'; C-3', respectivamente).

A análise do experimento de varredura, no modo negativo de ionização, revelou a presença do íon deprotonado de m/z 269,3 $[M - H]^-$. Este íon deprotonado foi submetido ao experimento de ESI-EM/EM (ESPECTRO 16), onde foram gerados os íons fragmentos de m/z 151,1 referente à saída de uma unidade C_8H_6O , m/z 149,1 referente à saída de uma unidade $C_7H_4O_2$; de m/z 117,1 referente à saída de uma unidade $C_7H_4O_4$; e m/z 107,1 referente à saída de uma unidade $C_9H_6O_3$. (WU et al., 2016).

Comparando os dados obtidos com os dados da literatura (TABELA 14) (MIYAZAWA; HISAMA, 2003; ALLAOUA et al., 2016) foi possível propor que **Bo-8** trata-se do flavonoide apigenina (4',5,7-tri-hidroxi-flavona) (FIGURA 32).

FIGURA 32 – ESTRUTURA QUÍMICA DE **Bo-8** (APIGENINA)



FONTE: O autor (2016).

TABELA 14 – DADOS DE RMN DE 1H , ^{13}C E HMBC DE **Bo-8** EM COMPARAÇÃO COM A LITERATURA

Posição	Bo-8^a			Apigenina^b	
	δ_H (mult., J em Hz)	δ_C (^{13}C)	HMBC	δ_H (mult., J em Hz)	δ_C (^{13}C)
2	-	166,2	-	-	164,6
3	6,57 1H, s	103,8	2,4	6,68 s	102,4
4	-	184,1	-	-	182,4
5	-	166,6	-	12,90 (OH)	161,8
6	6,20 1H, <i>d</i> , (2,1)	100,1	7,8,10	6,20 1H, <i>d</i> (2,0)	98,7
7	-	163,0	-	-	164,9
8	6,44 1H, <i>d</i> , (2,1)	95,2	6,7,9,10	6,44 1H, <i>d</i> (2,0)	93,5
9	-	159,4	-	-	149,5

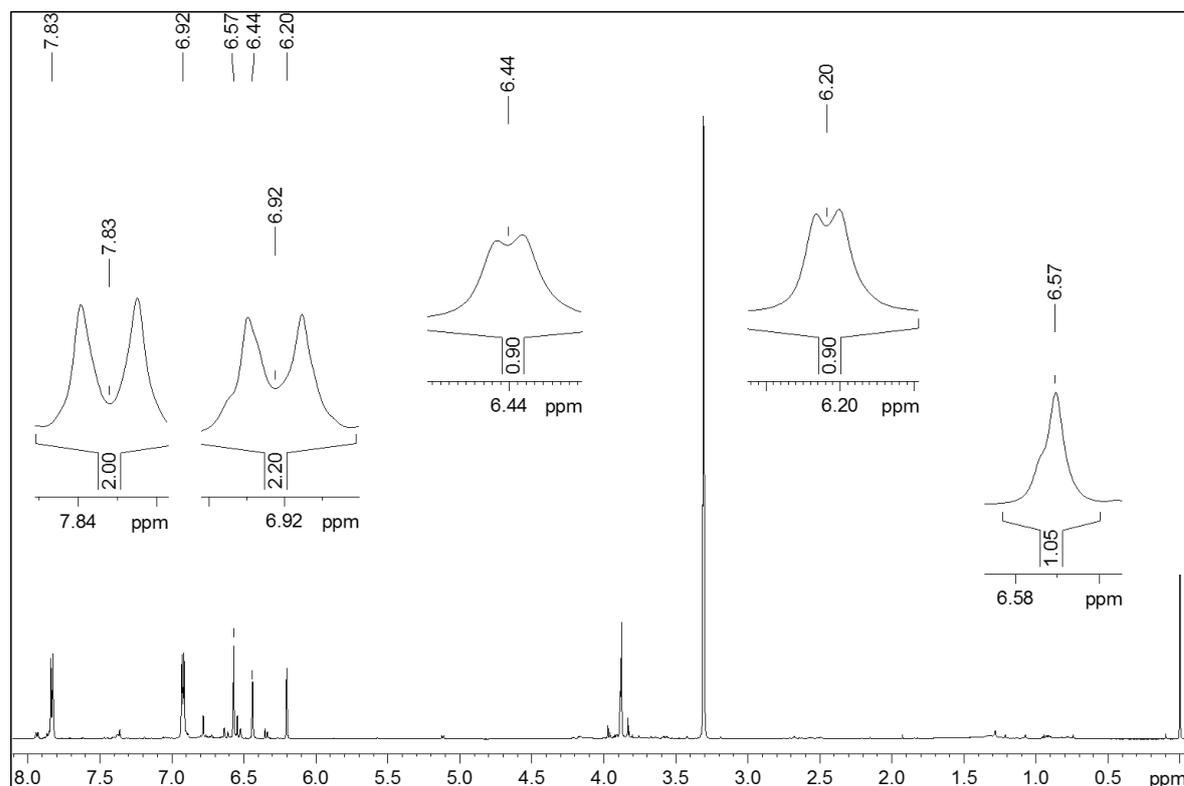
(continua)

TABELA 14 – DADOS DE RMN DE ^1H , ^{13}C E HMBC DE **Bo-8** EM COMPARAÇÃO COM A LITERATURA

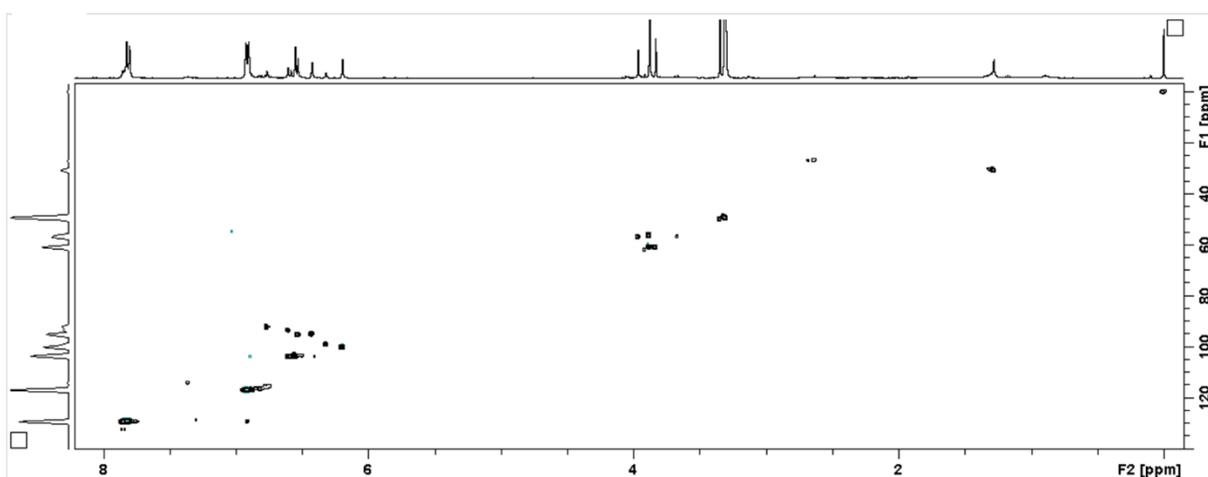
Posição	Bo-8^a			Apigenina^b	
	δ_{H} (mult., J em Hz)	δ_{C} (^{13}C)	HMBC	δ_{H} (mult., J em Hz)	δ_{C} (^{13}C)
10	-	105,3	-	-	103,9
1'	-	123,3	-	-	122,3
2'	7,83 2H, d , (8,8)	129,6	2,4',6'	7,92 1H, d (9,0)	127,5
3'	6,92 2H, d , (8,8)	117,0	1',4',5'	6,90 1H, d (9,0)	115,3
4'	-	162,8	-	-	158,0
5'	6,92 2H, d , (8,8)	117,0	1',3',4'	6,90 1H, d (9,0)	115,3
6'	7,83 2H, d , (8,8)	129,6	2,2',4'	7,92 1H, d (9,0)	127,5

FONTE: O autor (2016).

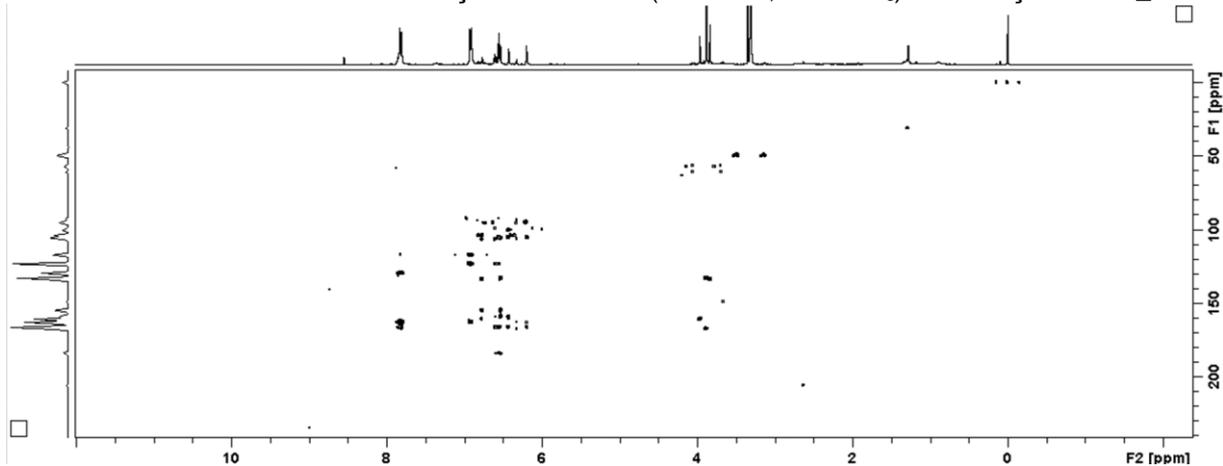
LEGENDA: ^a: Experimento realizado de RMN de ^1H , HSQC e HMBC (600 MHz, MeOD- d_6), utilizando TMS como referência interna. As atribuições de δ_{C} foram obtidas através da análise de espectros de HSQC e HMBC; ^b: Dados da literatura (270 MHz, DMSO- d_6) de acordo com MIYAZAWA & HISAMA, 2003.

ESPECTRO 15 – ESPECTRO DE RMN DE ^1H (600 MHz, MeOD- d_6) DA FRAÇÃO Bo-D_18/2 COM OS SINAIS INTEGRADOS PARA DE **Bo-8**

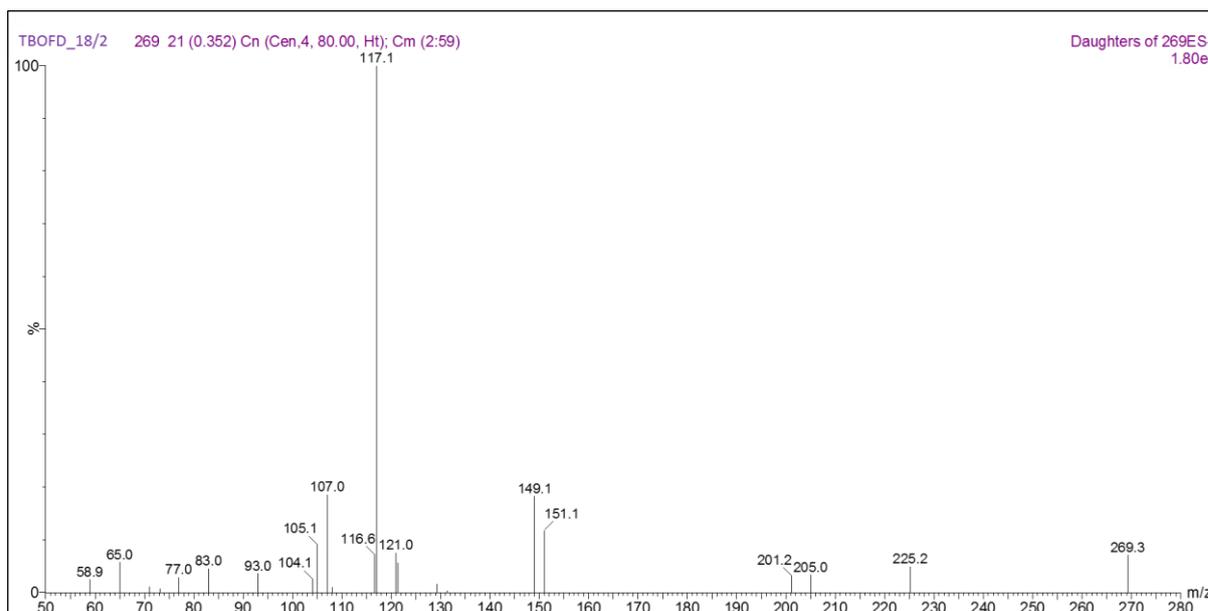
FONTE: O autor (2016).

FIGURA 33 – MAPA DE CORRELAÇÃO DE HSQC (600 MHZ, MeOD- d_6) DA FRAÇÃO Bo-D_18/2

FONTE: O autor (2016).

FIGURA 34 – MAPA DE CORRELAÇÃO DE HMBC (600 MHZ, MeOD- d_6) DA FRAÇÃO Bo-D_18/2

FONTE: O autor (2016).

ESPECTRO 16 - EXPERIMENTO DE ESI-EM/EM (33 eV) DO ÍON DE m/z 269,2 DE **Bo-8**

FONTE: O autor (2016).

Esta flavona já foi relatada em *B. crispa*, *B. notoserigila* Griseb., *B. rufescens*, *B. medulosa* DC., *B. gaudichaudiana* DC., *B. dentata* (Vell.) G.M.Barroso, *B. illinita* DC., *B. retusa* DC., *B. salzmännii* DC., *B. salicifolia* (Ruiz & Pav.) Pers., *B. pseudotenuifolia* Malag. e *B. tola* Phil. (MARTÍN et al., 1980; PALACIOS et al., 1983; COBOS et al., 2001; FERESIN et al., 2001; MOREIRA et al., 2003; VERDI et al., 2004, 2005; GUO et al., 2007; DEL CORRAL et al., 2012; GRECCO et al., 2012; RIBEIRO et al., 2013; SARTOR et al., 2013). A alta ocorrência deste flavonoide em *Baccharis*, pode estar relacionada com o aumento da produção de compostos fenólicos como resposta contra o estresse oxidativo causado pelo excesso de luz durante as estações primavera e verão. (CLOSE; MCARTHUR, 2002). Cabe salientar que este exemplar foi coletado no período entre primavera e verão. Muitas atividades biológicas são atribuídas a este composto, entre elas, atividade antioxidante (AGATI et al., 2012), atividade antimicrobiana contra *S. aureus*, *P. aeruginosa* e *E.coli* (BYLKA et al., 2004; TOFIGHI et al., 2015), atividade anti-inflamatória pela inibição das enzimas COX-2 e óxido nítrico sintetase (HAVSTEEN, 2002), antitumoral (FULLAS et al., 1994), hepatoprotetora (SOICKE; LENG-PESCHLOW, 1987), antimutagênica (NAKASUGI; KOMAI, 1998), entre outras.

De uma forma geral, o efeito antibacteriano dos flavonoides deve-se também à presença de grupos hidroxila, os quais apresentam afinidade por proteínas atuando como inibidores das enzimas bacterianas e interferindo nas suas vias de

síntese. (TSUCHIYA et al., 1996; SATO et al., 1996; ALCARÁZ et al., 2000; ÁVILA et al., 2008; LI et al., 2012).

5.3.9 Determinação estrutural de **Bo-9**

O composto **Bo-9** foi identificado na fração Bo-D_18/3 (TABELA 2, pg. 55) em mistura com os compostos **Bo-10**, **Bo-11** e **Bo-12**. Os sinais de RMN de ^1H da fração Bo-D_18/3 apresentaram sinais semelhantes aos identificados para o composto **Bo-2**, sugerindo, inicialmente, que fossem a mesma substância. Entretanto, apesar da estreita similaridade o espectro de RMN de ^1H (600 MHz, MeOD- d_6) (ESPECTRO 17) de **Bo-9** foi analisado e revelou a presença de um simpleto, com integração para três hidrogênios, em δ_{H} 3,88 (3H; s) correlacionando com o C-4. Com a análise dos outros sinais, foi possível observar dois dupletos ressonando em δ_{H} 7,03 (1H; *d*; $J = 2,0$ Hz; H-2) e δ_{H} 6,78 (1H; *d*; $J = 8,2$ Hz; H-5), e um duplo duplete em δ_{H} 6,93 (1H; *dd*; $J = 8,2$; 2,0 Hz; H-6), sugerindo a presença de um anel benzênico 1,2,4-trissubstituído. Também foi observada a presença de dois dupletos em δ_{H} 7,52 (1H; *d*; $J = 15,7$; H-7) e δ_{H} 6,22 (1H; *d*; $J = 15,7$ Hz; H-8), típicos de sistema *trans*-alceno de derivados aromáticos C₆-C₃.

As atribuições dos deslocamentos químicos dos carbonos (δ_{C}) foram obtidas através da análise dos mapas de correlação HSQC (FIGURA 36) e HMBC (FIGURA 37), onde foi possível evidenciar a presença de 10 átomos de carbono incluindo uma carbonila de ácido carboxílico (δ_{C} 171,4), três carbonos aromáticos (δ_{C} 115,4; 116,6 e 123,0), um carbono aromático substituído (δ_{C} 128,0), dois carbonos aromáticos oxigenados (δ_{C} 147,0 e 149,5), dois carbonos olefínicos (δ_{C} 115,9 e 146,7) e, um grupo metoxila (δ_{C} 56,9). As correlações a mais de uma ligação entre hidrogênio e carbono, observadas no experimento de HMBC, mostraram que a metoxila em δ_{H} 3,88 apresentou correlação com o carbono em δ_{C} 149,5 (C-4); o hidrogênio aromático em δ_{H} 7,03 (H-2) mostrou correlação com os carbonos em δ_{C} 149,4 (C-4), δ_{C} 123,0 (C-6) e δ_{C} 146,7 (C-7). Além destas, as correlações observadas do hidrogênio olefínico em δ_{H} 7,52 foi com os carbonos em δ_{C} 128,0 (C-1), δ_{C} 115,4 (C-2), δ_{C} 115,9 (C-8) e δ_{C} 171,4 (C-19).

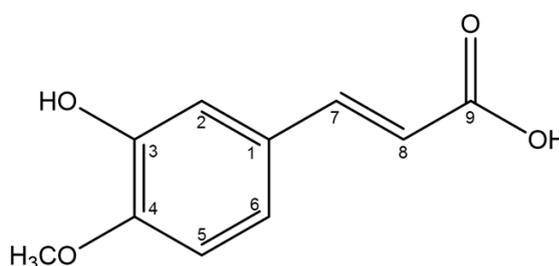
Através do experimento de ESI-EM/EM (ESPECTRO 18) o íon deprotonado de m/z 193,2 [M - H]⁻ foi fragmentado, originando os íons fragmentos de m/z 178,1

referente à saída de uma metila; m/z 149,1 referente à saída de um CO_2 ; e m/z 134,1 referente à saída de uma molécula de CO_2 e uma metila. (ÇELIK et al., 2017).

Comparando os dados obtidos com os dados da literatura (TABELA 16) foi possível determinar **Bo-9** como sendo o ácido *trans*-isoferúlico (ácido 3-hidroxi-4-metoxi-cinâmico) (FIGURA 36), isômero de posição do composto Bo-2.

Este composto (**Bo-9**) foi identificado também nas frações Bo-D_17 (TABELA 1, pg. 54), e Bo-D_19/4 (TABELA 2, pg. 55).

FIGURA 35 – ESTRUTURA QUÍMICA DE **Bo-9** (ÁCIDO *trans*-ISOFERÚLICO)



FONTE: O autor (2016).

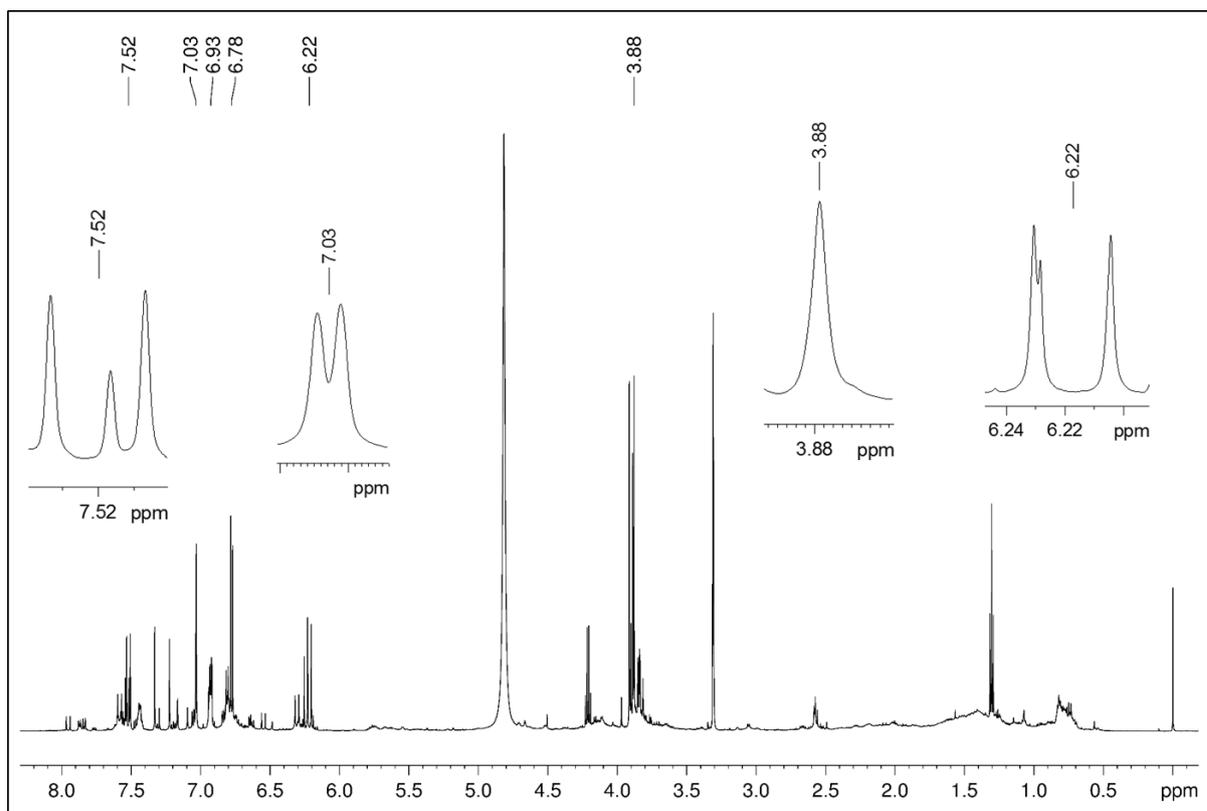
TABELA 15 – DADOS DE RMN DE ^1H , ^{13}C E HMBC DE **Bo-9** EM COMPARAÇÃO COM A LITERATURA

Posição	Bo-9^a			Ácido <i>trans</i>-isoferúlico^b	
	δ_{H} (mult., J em Hz)	δ_{C} (^{13}C)	HMBC	δ_{H} (mult., J em Hz)	δ_{C} (^{13}C)
1	-	128,0	-	-	126,8
2	7,03 1H, <i>d</i> , (2,0)	115,4	4,6,7	7,07 1H, <i>d</i> , (1,7)	110,5
3	-	147,0	-	-	149,0
4	-	149,5	-	-	148,0
5	6,78 1H, <i>d</i> , (8,2)	116,6	1,3	6,87 1H, <i>d</i> , (8,0)	115,6
6	6,93 1H, <i>dd</i> , (2,0; 8,2)	123,0	2,4	7,05 1H, <i>dd</i> , (1,7; 8,0)	123,3
7	7,52 1H, <i>d</i> , (15,7)	146,7	1,2,8,9	7,61 1H, <i>d</i> , (15,9)	146,1
8	6,22 1H, <i>d</i> , (15,7)	115,9	1,9	6,26 1H, <i>d</i> , (15,9)	115,3
9	-	171,4	-	-	170,2
OCH₃	3,88 3H, <i>s</i>	56,9	4	3,91	56,0

FONTE: O autor (2016).

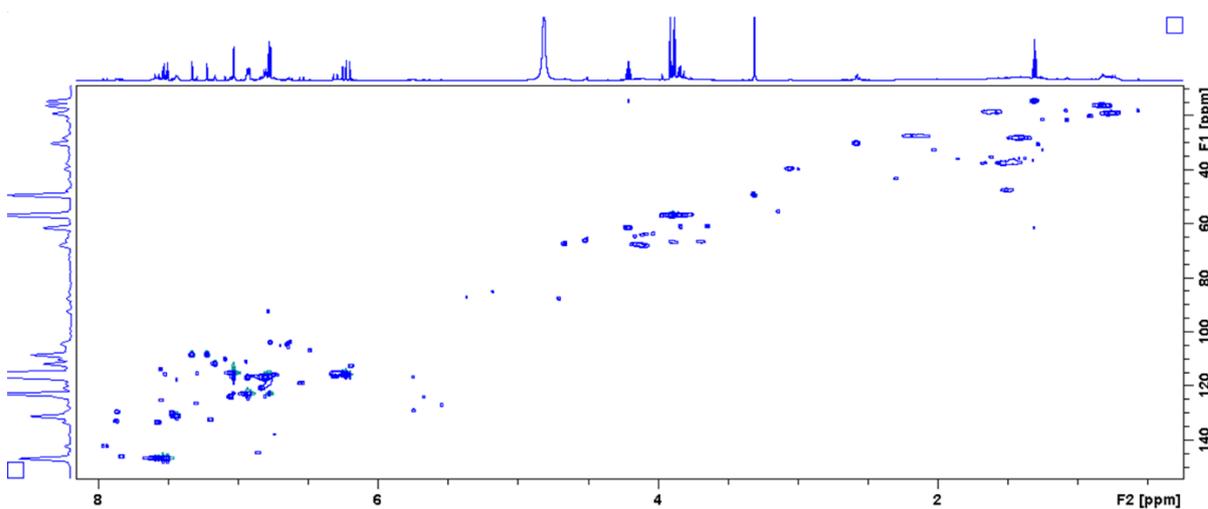
LEGENDA: ^a: Experimento realizado de RMN de ^1H , HSQC e HMBC (600 MHz, $\text{MeOD-}d_6$), utilizando TMS como referência interna. As atribuições de δ_{C} foram obtidas através da análise de espectros de HSQC e HMBC; ^b: Dados da literatura (400 MHz, $\text{MeOD}/\text{CDCl}_3$) de acordo com PRACHAYASITTIKUL e colab., 2009.

ESPECTRO 17 – ESPECTRO DE RMN DE ^1H (600 MHz, $\text{MeOD-}d_6$) DA FRAÇÃO Bo-D_18/3 COM OS SINAIS INTEGRADOS PARA Bo-9

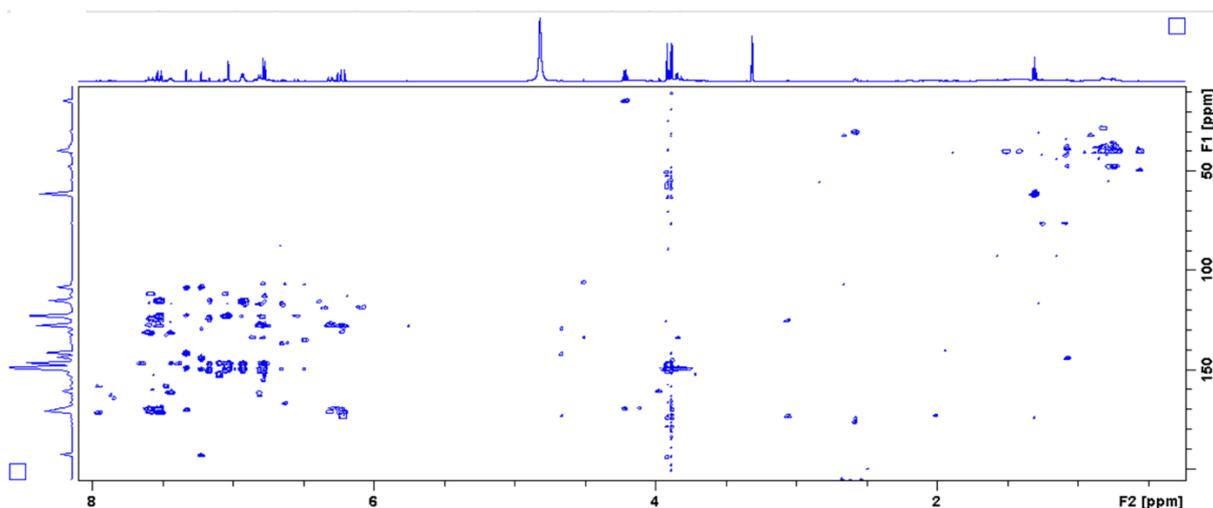


FONTE: O autor (2016).

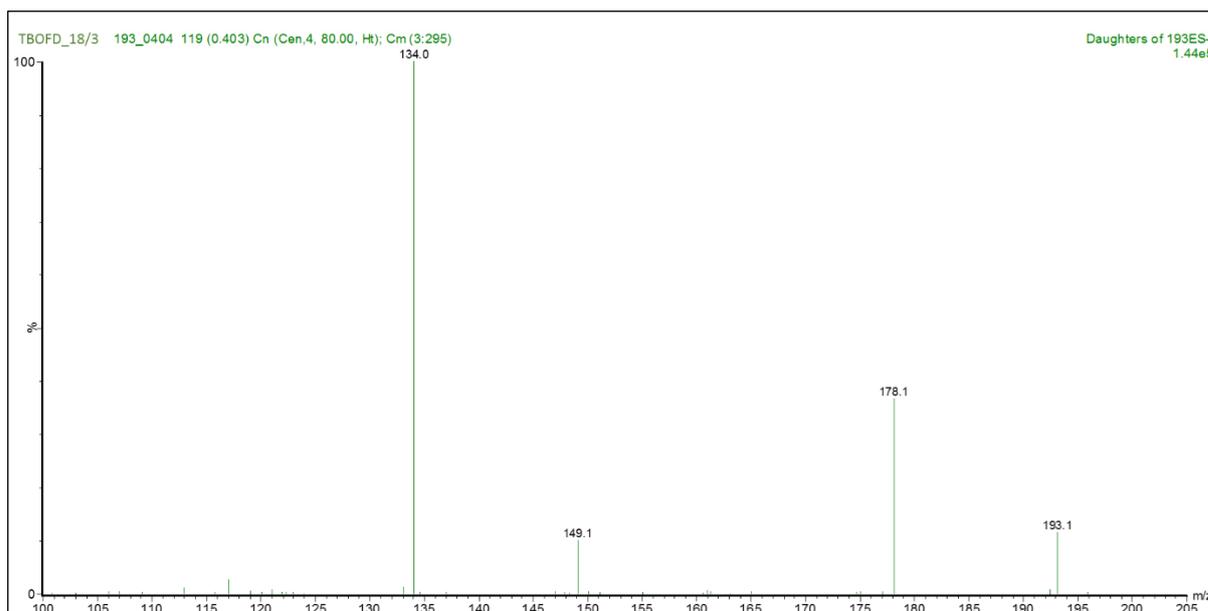
FIGURA 36– MAPA DE CORRELAÇÃO DE HSQC (600 MHz, $\text{MEOD-}d_6$) DA FRAÇÃO Bo-D_18/3



FONTE: O autor (2016).

FIGURA 37– MAPA DE CORRELAÇÃO DE HMBC (600 MHz, MEOD- d_6) DA FRAÇÃO Bo-D_18/3

FONTE: O autor (2016).

ESPECTRO 18 - EXPERIMENTO DE ESI-EM/EM (20 eV) DO ÍON DE m/z 193,2 DE **Bo-9**

FONTE: O autor (2016).

Assim como o seu isômero de posição, o ácido *trans*-isoferúlico já foi isolado em diversas espécies vegetais, como *Curcuma longa* L. (KUDDUS et al., 2010), *Angelica pubescens* Maxim. (CHEN et al., 1995), *Cimicifuga dahurica* (Turcz.) Maxim. (LIU et al., 1999), *Glechoma hederacea* L. (KIM et al., 2011), além de ter sido identificado como um dos constituintes do própolis. (GREENAWAY et al., 1991; BANSKOTA et al., 2002). Entretanto, no gênero *Baccharis* este é o primeiro relato de sua identificação. Em testes *in vitro*, o ácido *trans*-isoferúlico demonstrou ser capaz de reduzir a produção da proteína β -amilóide, envolvida na doença de Alzheimer

(MEEPROM et al., 2013), além de se mostrar um potente antioxidante (TOMINAGA et al., 2005). Ainda são associadas a esta substância outras atividades biológicas importantes, entre elas, as atividades anti-inflamatória e analgésica (CHEN et al., 1995; KIM et al., 2011; DILSHARA et al., 2014), hipoglicemiante (ADISAKWATTANA et al., 2009; LIU et al., 1999) e antiproliferativa (BANSKOTA et al., 2002).

5.3.10 Determinação estrutural de **Bo-10**

O composto **Bo-10** aparece na fração Bo-D_18/3 (TABELA 2, pg. 55) em mistura com outras três substâncias, **Bo-9** (5.4.9), já identificada, **Bo-11** e **Bo-12**, a serem discutidas em seguida. De acordo com a análise dos espectros de RMN de ^1H da fração Bo-D_18/3 (TABELA 2, pg. 55), foi possível identificar sinais semelhantes aos apresentados para o composto **Bo-5**, sugerindo, inicialmente, que fossem a mesma substância. Entretanto, apesar da similaridade entre os sinais o espectro de RMN de ^1H (600 MHz, MeOD- d_6) (ESPECTRO19) de **Bo-10** foi analisado e revelou a presença de um simpleto, com integração para três hidrogênios, em δ_{H} 3,91 (3H; s) correlacionando com o C-3.

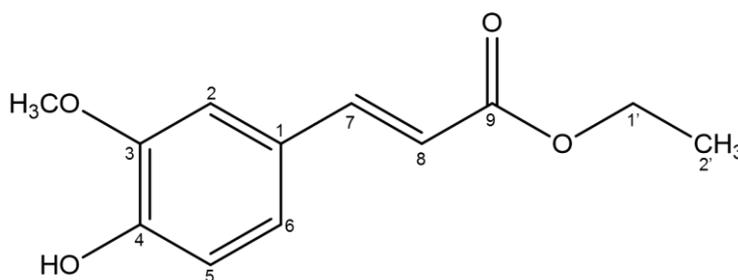
O espectro de RMN de ^1H (600 MHz, MeOD- d_6) (ESPECTRO 19) da fração BoD_18/3 revelou a presença de dois dupletos em δ_{H} 7,17 (1H; d ; $J = 1,9$ Hz; H-2) e δ_{H} 6,81 (1H; d ; $J = 8,2$ Hz; H-5), e um duplo duplete em δ_{H} 7,05 (1H; dd ; $J = 8,2$; 1,9 Hz; H-6), indicando a presença de um anel aromático 1,3,4-trissubstituído. Também foram observados dois dupletos em δ_{H} 6,24 (1H; d ; $J = 15,9$ Hz; H-8) e δ_{H} 7,53 (1H; d ; $J = 15,9$ Hz; H-7), típicos de hidrogênios olefínicos com configuração *trans*. O espectro exibiu ainda, um quarteto em δ_{H} 4,21 (2H; q ; $J = 7,1$ Hz; H-1'), característico de hidrogênios oximetilênicos e um tripleto em δ_{H} 1,31 (3H; t ; $J = 7,1$ Hz; H-2'), coerente com a presença de um grupo etoxila. As atribuições dos valores de ^{13}C foram realizadas com o auxílio dos experimentos de correlação HSQC (FIGURA 36) e HMBC (FIGURA 37). Através destas análises observou-se a presença de 12 átomos de carbono, sendo, três carbonos aromáticos em δ_{C} 111,9; 116,8 e 123,9 que correspondem aos carbonos C-2, C-5 e C-6 respectivamente, um carbono aromático substituído em δ_{C} 127,4 (C-1), dois carbonos aromáticos oxigenados em δ_{C} 149,4 e δ_{C} 150,6 (C-3 e C-4). Além destes, foram identificados ainda, dois carbonos olefínicos em δ_{C} 115,4 e 146,9 (C-8 e C-7, respectivamente), um carbono oxigenado sp^3 em

δ_c 61,4 (C-1') e um grupo metila em δ_c 14,6 (C-2'), além de uma carbonila de éster em δ_c 169,7 (C-9) e o carbono de uma metoxila em δ_c 56,8. As correlações a longa distância entre hidrogênio e carbono foram observadas no mapa de correlação HMBC (FIGURA 37) e permitiram identificar o hidrogênio aromático em δ_H 6,81 (H-5) correlacionando com os carbonos em δ_c 127,4 (C-1), δ_c 149,4 (C-3) e δ_c 150,6 (C-4). Além deste, o hidrogênio olefínico em δ_H 7,52 (H-7) apresentou correlação com os carbonos em δ_c 127,4 (C-1), δ_c 111,9 (C-2), δ_c 123,1 (C-6), δ_c 115,4 (C-8) e δ_c 169,7 (C-9); os hidrogênios metílicos em δ_H 1,31 (H-2) mostraram correlação com o carbono em δ_c 61,4 (C-1').

Na análise do experimento de ESI-EM/EM no modo negativo de ionização, (ESPECTRO 20), foi realizada a fragmentação do íon deprotonado de m/z 221,2 $[M - H]^-$, gerando os íons fragmentos de m/z 206,2 referente à perda de uma metila; m/z 177,1 referente à perda de uma unidade de C_2H_5 ; e m/z 133,1 referente à perda de uma molécula de CO_2 . (MESSENS et al., 1990).

Considerando-se os dados descritos na literatura (SANDOVAL et al., 2015) e a análise dos dados espectrais de RMN uni e bidimensional (TABELA 17) o composto **Bo-10** foi elucidado como sendo o ferulato de etila ((*E*)-4-hidroxi-3-metoxicinamato de etila) (FIGURA 38).

FIGURA 38 – ESTRUTURA QUÍMICA DO COMPOSTO **Bo-10** (FERULATO DE ETILA)



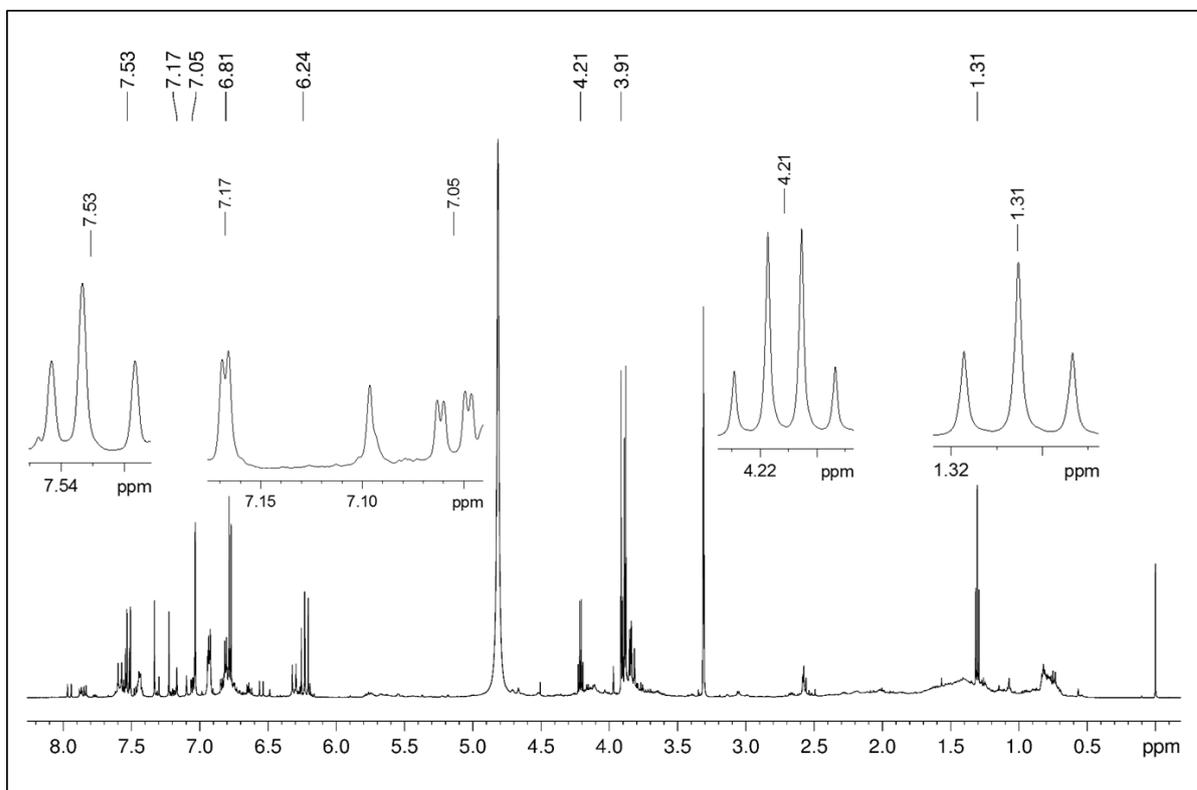
FONTE: O autor (2016).

TABELA 16 – DADOS DE RMN DE ^1H , ^{13}C E HMBC DE **Bo-10** EM COMPARAÇÃO COM A LITERATURA

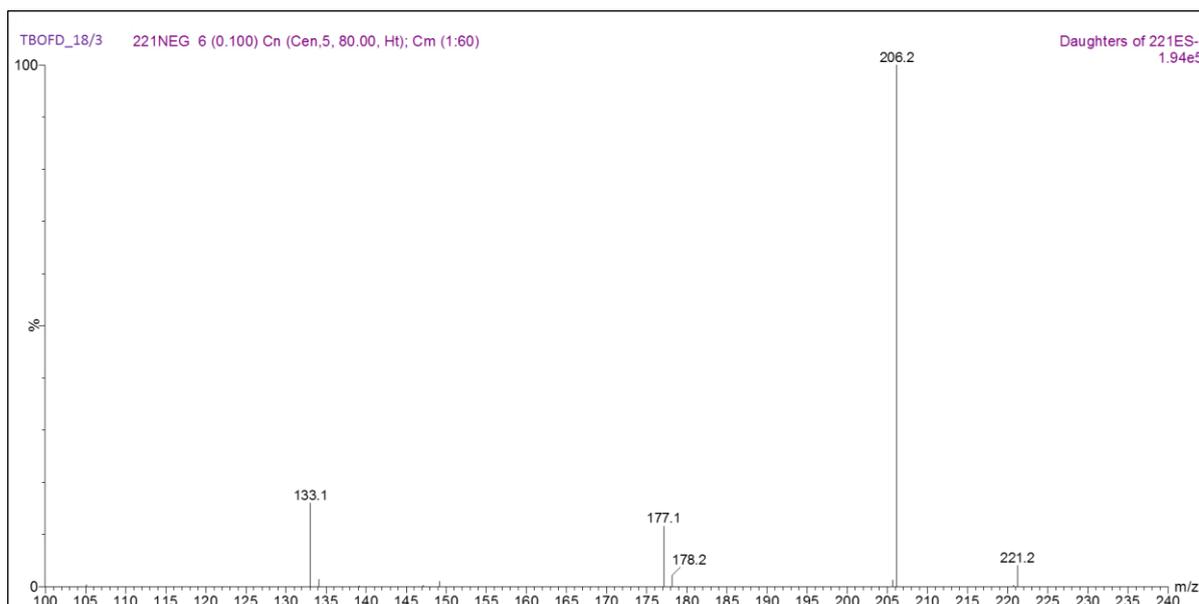
Posição	Bo-10 ^a			Ferulato de etila ^b	
	δ_{H} (mult., J em Hz)	δ_{C} (^{13}C)	HMBC	δ_{H} (mult., J em Hz)	δ_{C} (^{13}C)
1	-	127,4	-	-	127,0
2	7,17 1H, <i>d</i> , (1,9)	111,9	4,6,7	7,08 1H, <i>d</i> , (2,0)	115,7
3	-	149,4	-	-	146,7
4	-	150,6	-	-	147,9
5	6,81 1H, <i>d</i> , (8,2)	116,8	1,3,4	6,96 1H, <i>d</i> , (10,0)	114,7
6	7,05 1H, <i>dd</i> , (1,9; 8,2)	123,9	2,4,7	7,12 1H, <i>dd</i> , (2,0; 10,0)	123,00
7	7,53 1H, <i>d</i> , (15,8)	146,9	1,2,6,8,9	7,61 1H, <i>d</i> , (16,0)	144,6
8	6,24 1H, <i>d</i> (15,8)	115,4	1,9	6,29 1H, <i>d</i> , (16,0)	109,3
9	-	169,7	-	-	167,3
1'	4,21 2H, <i>q</i> , (7,2)	61,4	9,2'	1,33 3H, <i>t</i> , (7,0)	14,4
2'	1,31 3H, <i>t</i> (7,2)	14,6	1'	4,27 2H, <i>q</i> , (7,0)	60,4
OCH ₃	3,91 3H, <i>s</i>	56,8	149,4	3,93 3H, <i>s</i>	55,9

FONTE: O autor (2016).

LEGENDA: ^a: Experimento realizado de RMN de ^1H , HSQC e HMBC (600 MHz, MeOD- d_6), utilizando TMS como referência interna. As atribuições de δ_{C} foram obtidas através da análise de espectros de HSQC e HMBC; ^b: Dados da literatura (500 MHz, CDCl₃) de acordo com SANDOVAL e colab., 2015.

ESPECTRO 19 – ESPECTRO DE RMN DE ^1H (600 MHz, MeOD- d_6) DA FRAÇÃO Bo-D_18/3 COM OS SINAIS INTEGRADOS PARA **Bo-10**

FONTE: O autor (2016).

ESPECTRO 20 - EXPERIMENTO DE ESI-EM/EM (20 eV) DO ÍON DE m/z 221,2 DE **Bo-10**

FONTE: O autor (2016).

Assim como o cafeato de etila (**Bo-5**), o ferulato de etila é, provavelmente, um artefato do ácido cafeico, o qual também está sendo relatado pela primeira vez em *Baccharis*. Entretanto, essa substância já foi identificada em diversas espécies vegetais, entre elas, *Parastrephia lucida* (Meyen) Cabrera (D'ALMEIDA et al., 2012), *Hedychium spicatum* Sm. (SURESH et al., 2013), *Coix lachryma-jobi* L. (CHUNG et al., 2011), *Euphorbia sikkimensis* Boiss. (JIANG et al., 2016). De acordo com dados da literatura são atribuídas a este derivado hidroxicinâmico, as seguintes atividades biológicas, proteção contra neurodegeneração (SCAPAGNINI et al., 2004), atividade citotóxica (SURESH et al., 2010, 2013), atividade anti-inflamatória (NAZARÉ et al., 2014; CUNHA et al., 2016) e antioxidante (GARRIDO et al., 2012; NAZARÉ et al., 2014).

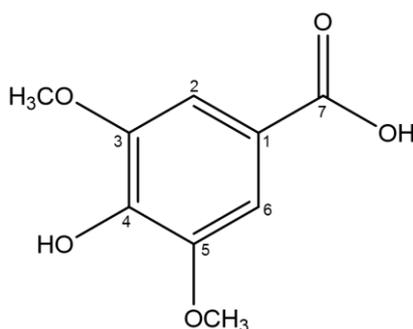
5.3.11 Determinação estrutural de **Bo-11**

O composto **Bo-11** aparece na fração Bo-D_18/3 (TABELA 2, pg. 55) em mistura com outras duas substâncias já discutidas, **Bo-9** (5.3.9) e **Bo-10** (5.3.10) e **Bo-12** a ser discutida em seguida. Este composto foi identificado também na fração Bo-D_19/4 (TABELA 2, pg. 55). De acordo com o conjunto de dados obtidos mediante os espectros de RMN de ^1H (ESPECTRO 21) da fração Bo-D_18/3 foi possível identificar a presença de um simpleto, com integração para dois hidrogênios,

ressonando em δ_H 7,33 (2H; s) indicando a presença de um anel aromático 1,3,4-trissubstituído. O espectro exibiu ainda, outro simpleto em δ_H 3,88 (6H; s), característico de hidrogênios do grupo metoxila. Através da análise dos mapas de correlação heteronuclear HSQC (FIGURA 36) e HMBC (FIGURA 37) puderam ser atribuídos os valores de ^{13}C , as correlações à uma ligação e as correlações à longa distância entre os átomos de hidrogênio e carbono. Observou-se, inicialmente, a presença de nove átomos de carbono, incluindo uma carbonila de ácido carboxílico em δ_C 170,3. Além deste, observaram-se ainda, dois carbonos aromáticos em δ_C 108,6 correlacionando com os hidrogênios em δ_H 7,33 (C-2 e C-6), um carbono aromático substituído em δ_C 122,7, três carbonos aromáticos oxigenados em δ_C 149,0, 141,8 e 149,0 (C-3, C-4 e C-5) e dois carbonos oxigenados sp^3 (δ_C 56,8), correspondentes aos carbonos das metoxilas. Os hidrogênios aromáticos em δ_H 7,33 (H-2 e H-6) mostraram correlação com os carbonos em δ_C 122,7 (C-1), δ_C 108,6 (C-6 e C-2, respectivamente), δ_C 149,0 (C-3 e C-5, respectivamente), δ_C 141,8 (C-4) e δ_C 170,3 (C-7). Além destes, os hidrogênios em δ_H 3,88, correspondentes aos dois grupos metoxila, mostraram correlação com os carbonos em δ_C 149,0 (C-3 e C-5). Na TABELA 17 estão descritos os dados experimentais observados nos espectros e os dados relatados na literatura. (LIU et al., 2016).

No experimento de ESI-EM/EM no modo negativo de ionização (ESPECTRO 22) foi realizada a fragmentação do íon deprotonado de m/z 197 $[M - H]^-$ dando origem aos íons fragmentos de m/z 182,2 e m/z 167,1 referente à perda consecutiva de dois grupos metil; m/z 153,2 referente à perda de uma molécula de CO_2 seguido da perda consecutiva de outras duas unidades metil, originando os íons de m/z 138,1 e 123,1. (SANZ et al., 2012).

Considerando-se o conjunto de dados analisados, o composto **Bo-11** foi elucidado como sendo o ácido siríngico (ácido 3,5-dimetoxi-4-hidroxibenzoico) (FIGURA 39).

FIGURA 39 – ESTRUTURA QUÍMICA DO COMPOSTO **Bo-11** (ÁCIDO SIRÍNGICO)

FONTE: O autor (2016).

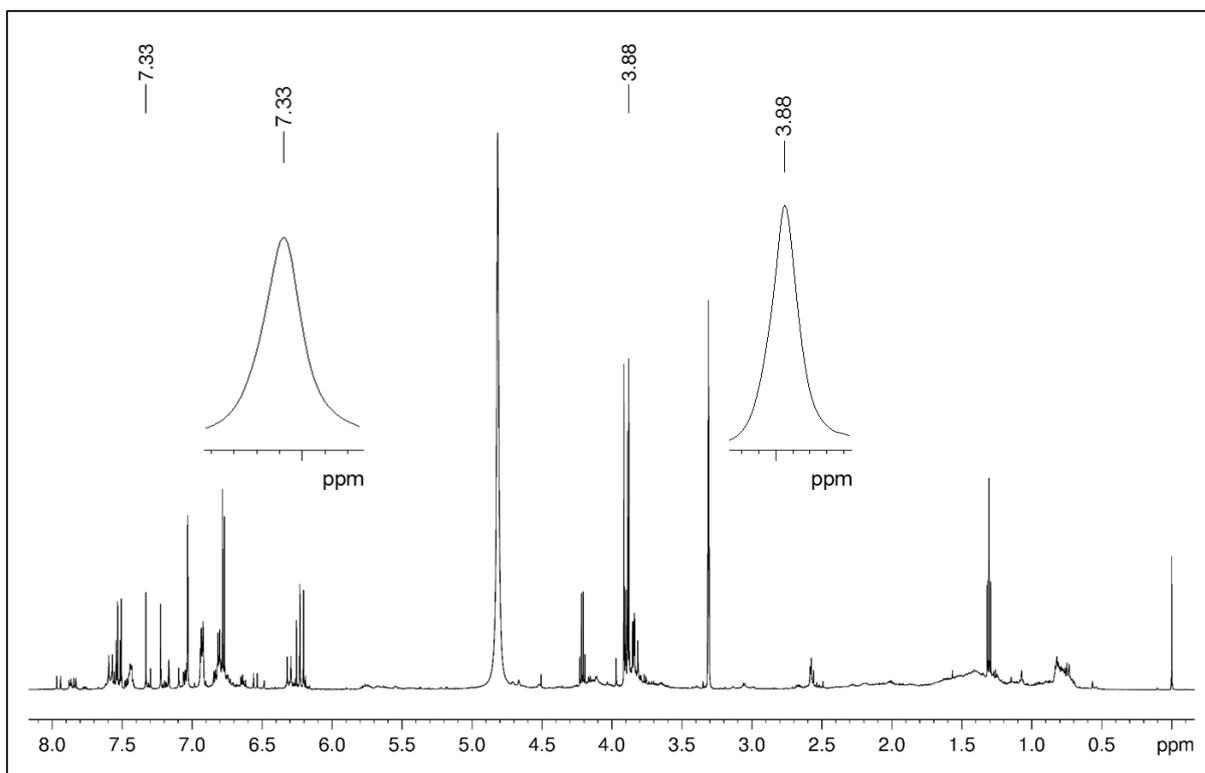
TABELA 17 – DADOS DE RMN DE ^1H , ^{13}C E HMBC DE **Bo-11** EM COMPARAÇÃO COM LITERATURA

Posição	Bo-11 ^a			Ácido siríngico ^b	
	δ_{H} (mult., <i>J</i> em Hz)	δ_{C} (^{13}C)	HMBC	δ_{H} (mult., <i>J</i> em Hz)	δ_{C} (^{13}C)
1	-	122,7	-	-	120,3
2	7,33 1H, s	108,6	1,3,5,6,7	7,20 1H, s	106,8
3	-	149,0	-	-	147,3
4	-	141,8	-	9,21 1H, s	140,2
5	-	149,0	-	-	147,3
6	7,33 1H, s	108,6	1,2,4,5,7	7,20 1H, s	106,8
7	-	170,3	-	12,6 1H, s	167,3
OCH ₃	3,87 3H, s	56,8	3	3,81 3H, s	56,0
OCH ₃	3,87 3H, s	56,8	5	3,81 3H, s	56,0

FONTE: O autor (2016).

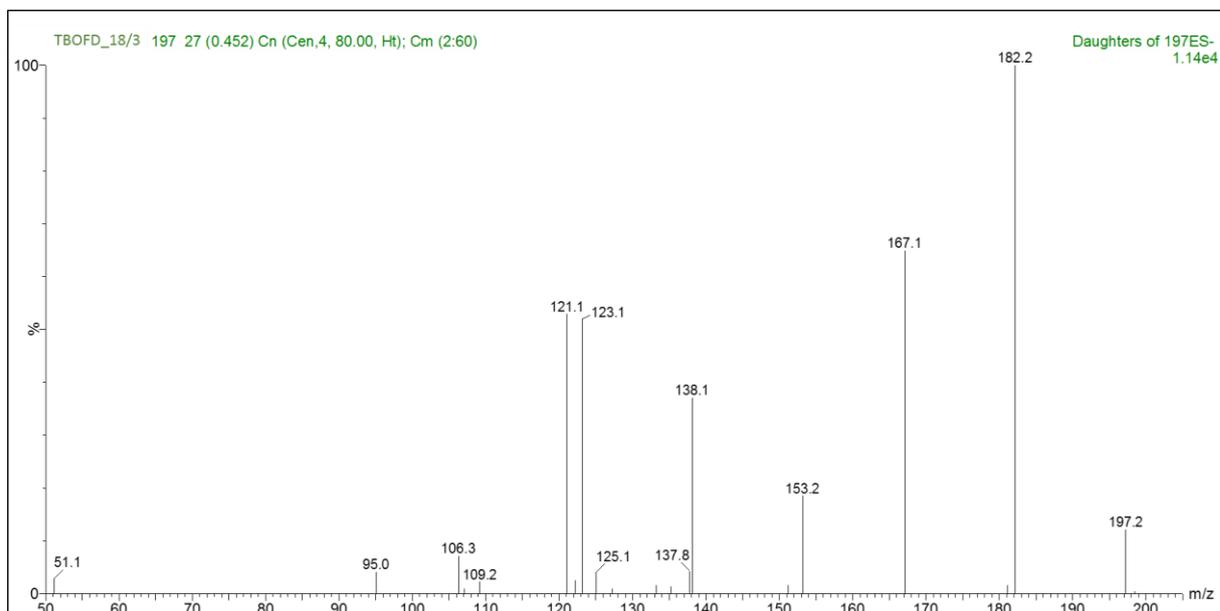
LEGENDA: ^a: Experimento realizado de RMN de ^1H , HSQC e HMBC (600 MHz, MeOD- d_6), utilizando TMS como referência interna. As atribuições de δ_{C} foram obtidas através da análise de espectros de HSQC e HMBC; ^b: Dados da literatura (300 MHz, DMSO- d_6) de acordo com LIU e colab., 2016.

ESPECTRO 21 – ESPECTRO DE RMN DE ^1H (600 MHz, $\text{MeOD-}d_6$) DA FRAÇÃO Bo-D_18/3 COM OS SINAIS INTEGRADOS PARA **Bo-11**



FONTE: O autor (2016).

ESPECTRO 22 – EXPERIMENTO DE ESI-EM/EM (15 eV) DO ÍON DE m/z 197,2 DE **Bo-11**



FONTE: O autor (2016).

De acordo com dados da literatura, a ocorrência de derivados benzóicos como o ácido siríngico, em vegetais, é bastante comum (KHADEM; MARLES, 2010), ocorrendo em espécies como *Hieracium pilosella* L. (KRZACZEK; GAWROŃSKA-

GRZYWACZ, 2011), *Catalpa ovata* G. Don, *Impatiens balsamina* L., *Ceanothus americanus* L., *Citrus acida* Pers., *Glycine max* (L.) Merr., *Thymus vulgaris* L., *Hyssopus officinalis* L., *Rosmarinus officinalis* L. (ZGÓRKA; GŁOWNIAK, 2001), *Calendula officinalis* L. (MATYSIK et al., 2005), *Curculigo orchioides* Gaertn. (WU et al., 2005), *Phoenix dactylifera* L. (AL-FARSI et al., 2005), *Hibiscus tiliaceus* var. *abutiloides* (Willd.) Hochr. (CHEN et al., 2006) e *Cichorium alatum* Hochst. & Steud. (SAHAN et al., 2017). Além destas espécies vegetais, o ácido siríngico foi identificado, ainda, em amostras de própolis (GÜLÇİN et al., 2010), e diversos grãos de cereais como cevada, milho, painço, aveia, arroz, centeio e trigo. (DYKES, 2007). Entretanto, esta é a primeira vez que a substância foi relatada no gênero *Baccharis*.

Como a maioria dos ácidos fenólicos, o ácido siríngico exibe entre suas atividades biológicas a atividade antioxidante (WU et al., 2005; AL-FARSI et al., 2005), além de antibacteriana (KONG et al., 2008) e hepatoprotetora (ITOH et al., 2009, 2010).

5.3.12 Determinação estrutural de **Bo-12**

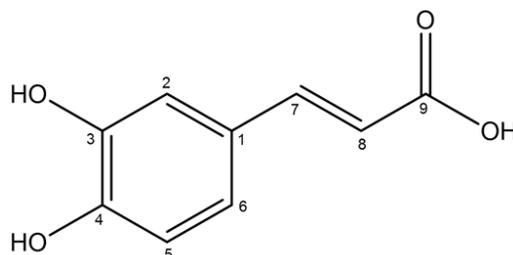
O espectro de RMN de ^1H (600 MHz, $\text{D}_2\text{O}/\text{MeOD}-d_6$) da fração Bo-D_18/3 (TABELA 2, pg. 55) apresentou sinais com deslocamentos e constantes de acoplamento muito semelhantes aos observados nos compostos derivados do ácido cinâmico (ESPECTRO 23). A presença de dois dupletos ressonando em $\delta_{\text{H}} 7,17$ (1H; *d*; $J = 2,1$ Hz; H-2) e $\delta_{\text{H}} 6,92$ (1H; *d*; $J = 8,3$ Hz; H-5), e um duplo duplete em $\delta_{\text{H}} 7,06$ (1H; *dd*; $J = 8,3; 2,1$ Hz; H-6), sugerem a presença de um anel benzênico 1,2,4-trissubstituído. Também foi observada a presença de dois dupletos em $\delta_{\text{H}} 7,58$ (1H; *d*; $J = 15,9$; H-7) e $\delta_{\text{H}} 6,31$ (1H; *d*; $J = 15,9$ Hz; H-8), típicos de sistema *trans*-alceno de derivados aromáticos $\text{C}_6\text{-C}_3$. As atribuições dos valores de ^{13}C foram realizadas com o auxílio dos mapas de correlação heteronuclear HSQC (FIGURA 36) e HMBC (FIGURA 37), onde pode-se observar a presença de nove átomos de carbono, incluindo uma carbonila de ácido carboxílico em $\delta_{\text{C}} 171,1$, três carbonos aromáticos hidrogenados ($\delta_{\text{C}} 111,9; 116,0$ e $127,6$), um carbono aromático não hidrogenado ($\delta_{\text{C}} 124,0$), dois carbonos aromáticos oxigenados ($\delta_{\text{C}} 146,9$ e $149,3$) e dois carbonos olefínicos ($\delta_{\text{C}} 116,4$ e $146,8$). As correlações a mais de uma ligação, entre hidrogênio e carbono, mostraram a correlação entre o hidrogênio aromático em $\delta_{\text{H}} 7,06$ (H-6) com

os carbonos em δ_c 111,9 (C-2), δ_c 149,3 (C-4) e δ_c 146,8 (C-7); e o hidrogênio olefínico em δ_H 6,31 (H-8) com os carbonos C-1 (δ_c 124,0) e C-9 (δ_c 171,1).

Através do experimento de ESI-EM/EM, no modo negativo de ionização $[M - H]^-$ (ESPECTRO 24) o íon deprotonado de m/z 179,2 foi fragmentado, originando o íon fragmento de m/z 135,1 referente à perda de uma molécula de CO_2 . (REN et al., 2016).

As informações obtidas através da análise dos espectros de RMN e espectrometria de massas, aliadas a comparação com valores da literatura (BHATT, 2011), descritos na TABELA 18, permitiram caracterizar a substância **Bo-12** como sendo o ácido cafeico (FIGURA 40), o qual foi identificado também nas frações Bo- D_18/4 (TABELA 2, pg. 55), Bo-Ae_5 (TABELA 3, pg. 56).

FIGURA 40 – ESTRUTURA QUÍMICA DO COMPOSTO **Bo-12** (ÁCIDO CAFEICO)



FONTE: O autor (2016).

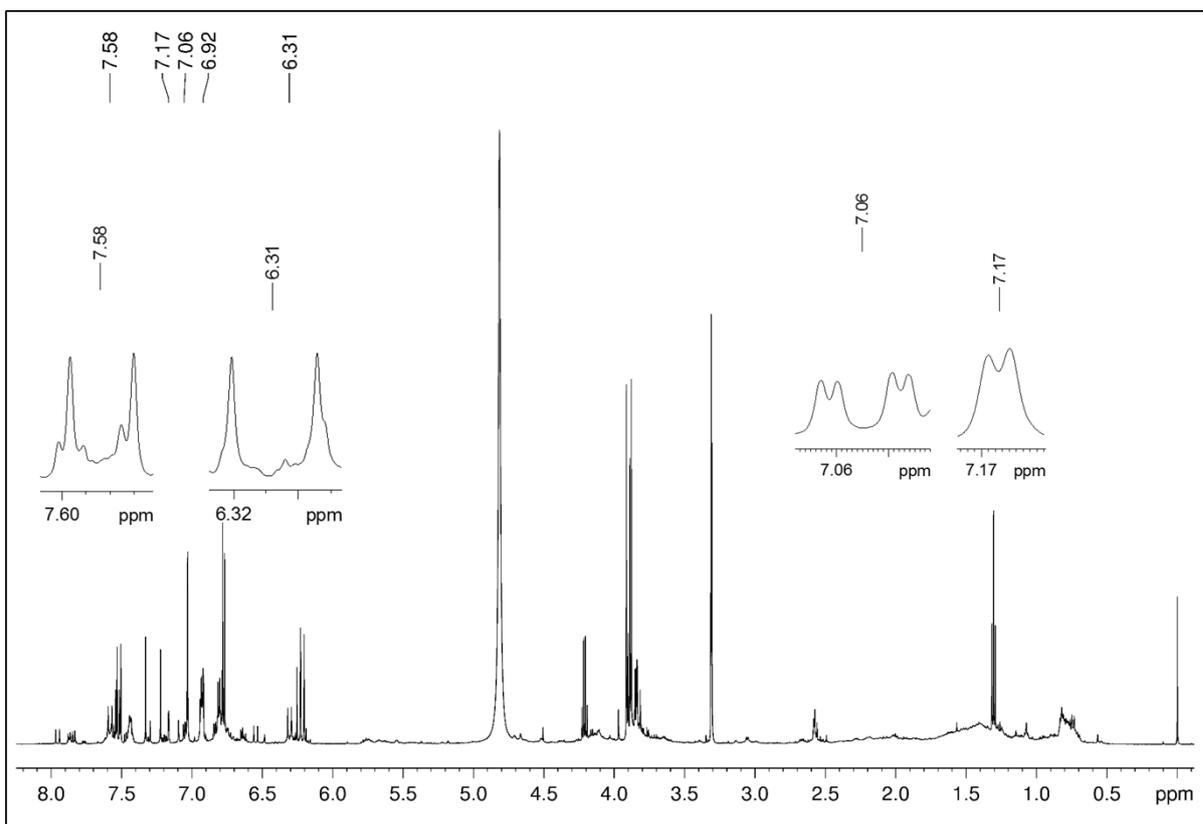
TABELA 18 – DADOS DE RMN DE 1H , ^{13}C E HMBC DE **Bo-12** EM COMPARAÇÃO COM LITERATURA

Posição	Bo-12 ^a			Ácido Cafeico ^b	
	δ_H (mult., J em Hz)	δ_c (^{13}C)	HMBC	δ_H (mult., J em Hz)	δ_c (^{13}C)
1	-	124,0	-	-	125,4
2	7,17 1H, d, (2,1)	111,9	6	7,10 1H, s	114,8
3	-	146,9	-	-	145,2
4	-	149,3	-	-	148,3
5	6,92 1H, d, (8,3)	116,0	2,4,7	6,80 1H, d, (8,0)	115,8
6	7,06 1H, dd, (8,3; 2,1)	127,6	1,4,7	7,02 1H, d, (8,0)	121,4
7	7,58 1H, d, (15,9)	146,8	1,2,6,9	7,51 1H, d, (15,0)	141,4
8	6,31 1H, d, (15,9)	116,4	1,9	6,35 1H, d, (15,0)	127,5
9	-	171,1	-	-	174,7

FONTE: O autor (2016).

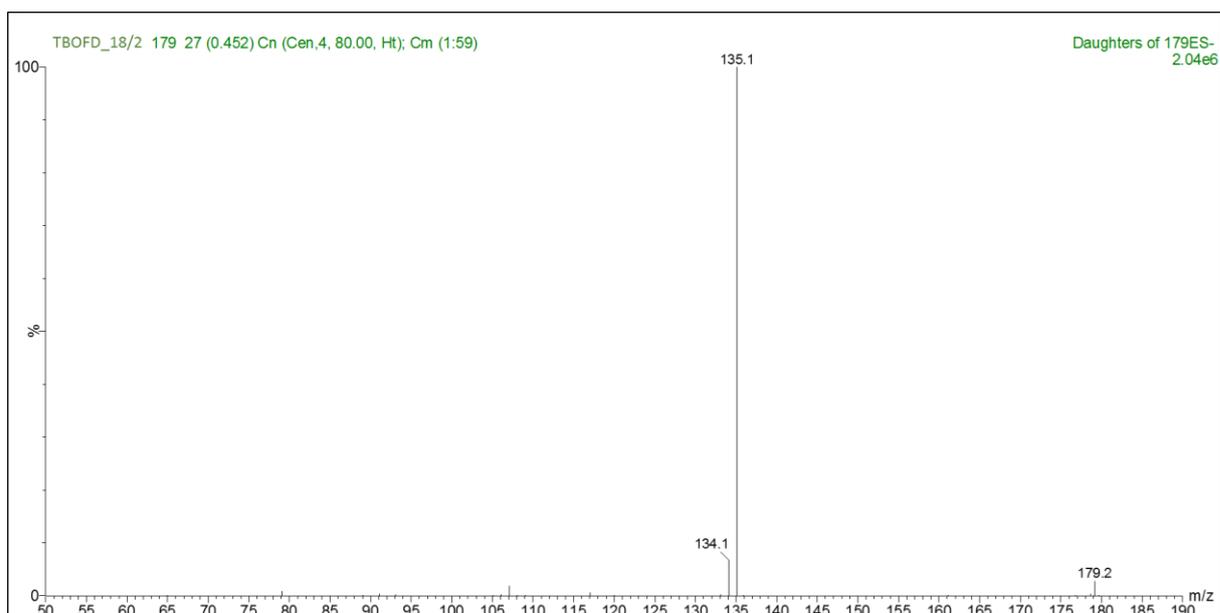
LEGENDA: ^a: Experimento realizado de RMN de 1H , HSQC e HMBC (600 MHz, MeOD- d_6), utilizando TMS como referência interna. As atribuições de δ_c foram obtidas através da análise de espectros de HSQC e HMBC; ^b: Dados da literatura de RMN de 1H (300 MHz, D₂O) e de ^{13}C (75 MHz, CDCl₃) de acordo com BHATT, 2011.

ESPECTRO 23 – ESPECTRO DE RMN DE ^1H (600 MHz, $\text{MEOD-}d_6$ DA FRAÇÃO Bo-D_18/3 COM OS SINAIS INTEGRADOS PARA **Bo-12**



FONTE: O autor (2016).

ESPECTRO 24 - EXPERIMENTO DE ESI-EM/EM (18 eV) DO ÍON DE m/z 179,2 DE **Bo-12**



FONTE: O autor (2016).

A ocorrência natural do ácido cafeico, na forma livre ou conjugada, é muito comum em inúmeras espécies de plantas, as quais estão distribuídas nas mais

diversas famílias (CONKERTON; CHAPITAL, 1983), como por exemplo, Umbelliferae, Cruciferae, Cucurbitaceae, Polygonaceae, Asteraceae, Labiatae, Solanaceae, Leguminosae, Saxifragaceae, Caprifoliaceae, Theaceae e Valerianaceae. (LITVINENKO et al., 1975; HERRMANN; NAGEL, 1989). Em *Baccharis*, esse composto já foi previamente identificado em *B. uncinella* (PASSERO et al., 2011; ZALEWSKI et al., 2011; GRECCO et al., 2014; BOCCO et al., 2016), *B. dentata* (Vell.) G.M.Barroso (SARTOR et al., 2013), *B. retusa* DC. (GRECCO et al., 2012) e *B. dracunculifolia* (BACHIEGA et al., 2013; FIGUEIREDO-RINHEL et al., 2013; PAULA et al., 2016). Com comprovada atividade antioxidante, em inúmeros trabalhos de pesquisa (GULCIN, 2006; GÜLÇİN et al., 2010; SUMCZYNSKI et al., 2016; BUJOR et al., 2016), o ácido cafeico mostra-se como uma importante molécula precursora para o desenvolvimento de novas substâncias com atividades biológicas. (ANDRADE et al., 2015; MURTAZA et al., 2015; PINHO et al., 2015; ARASOGLU et al., 2016).

5.3.13 Determinação estrutural de **Bo-13**

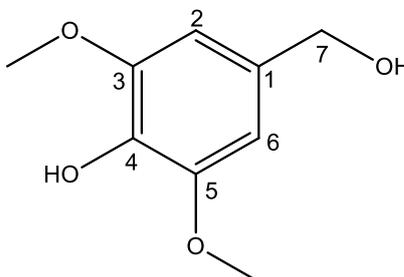
O composto **Bo-13** foi identificado em mistura na fração Bo-D_18/5 (TABELA 2, pg. 55). De acordo com o conjunto de dados obtidos mediante os espectros de RMN de ^1H (ESPECTRO 25) da fração Bo-D_18/5 foi possível identificar a presença de um simpleto, com integração para dois hidrogênios, em δ_{H} 6,64 (2H; s) indicando a presença de um anel aromático 1,3,4-trissubstituído. O espectro exibiu ainda, outros dois simpletos em δ_{H} 3,84 (6H; s), característico de hidrogênios do grupo metoxila e em δ_{H} 4,51 (2H; s) característico de hidrogênios metilênicos. Através da análise dos mapas de correlação heteronuclear HSQC (FIGURA 42) e HMBC (FIGURA 43) puderam ser atribuídos os valores de ^{13}C , e as correlações com seus respectivos hidrogênios. Observou-se, inicialmente, a presença de nove átomos de carbono, sendo, dois carbonos aromáticos hidrogenados em δ_{C} 105,4, um carbono aromático não hidrogenado em δ_{C} 133,3, três carbonos aromáticos oxigenados em δ_{C} 149,0, 135,7 e 149,0 (C-3, C-4 e C-5) e dois carbonos oxigenados sp^3 (δ_{C} 56,7), correspondentes aos carbonos dos grupos metoxila. Os hidrogênios aromáticos em δ_{H} 6,64 (H-2 e H-6) mostraram correlação com os carbonos em δ_{C} 133,3 (C-1), δ_{C} 105,4 (C-6 e C-2, respectivamente), δ_{C} 149,0 (C-3 e C-5, respectivamente) e δ_{C} 65,5 (C-7). Além destes, os hidrogênios em δ_{H} 3,84, correspondentes aos dois grupos metoxila,

mostraram correlação com os carbonos em δ_c 149,0 (C-3 e C-5), Na TABELA 19 estão descritos os dados experimentais observados nos espectros e os dados relatados na literatura. (JALALI-HERAVI et al., 2004; CHANG et al., 2013).

A análise do experimento de varredura, obtido no modo negativo de ionização, revelou o íon deprotonado de m/z 183,2 [M - H]⁻. O íon deprotonado foi submetido a fragmentação através do experimento de ESI-EM/EM (ESPECTRO 26) originando os íons fragmentos de m/z 168,0 e 153,1 referente às perdas consecutivas de duas unidades CH₃. Observaram-se também os íons de m/z 137,1 referente à perda da unidade CH₂OH e uma unidade CH₃; m/z 136,0 a partir do pico base é referente à perda de uma unidade de metoxila; e m/z 108,1 a partir do íon de m/z 124,0 é referente à perda de uma molécula de água.

Considerando-se o conjunto de dados analisados, o composto **Bo-13** foi elucidado como sendo o álcool siríngico (4-hidroxi-3,5-dimetoxibenzenometanol) (FIGURA 41).

FIGURA 41 – ESTRUTURA QUÍMICA DE **Bo-13** (ÁLCOOL SIRÍNGICO)



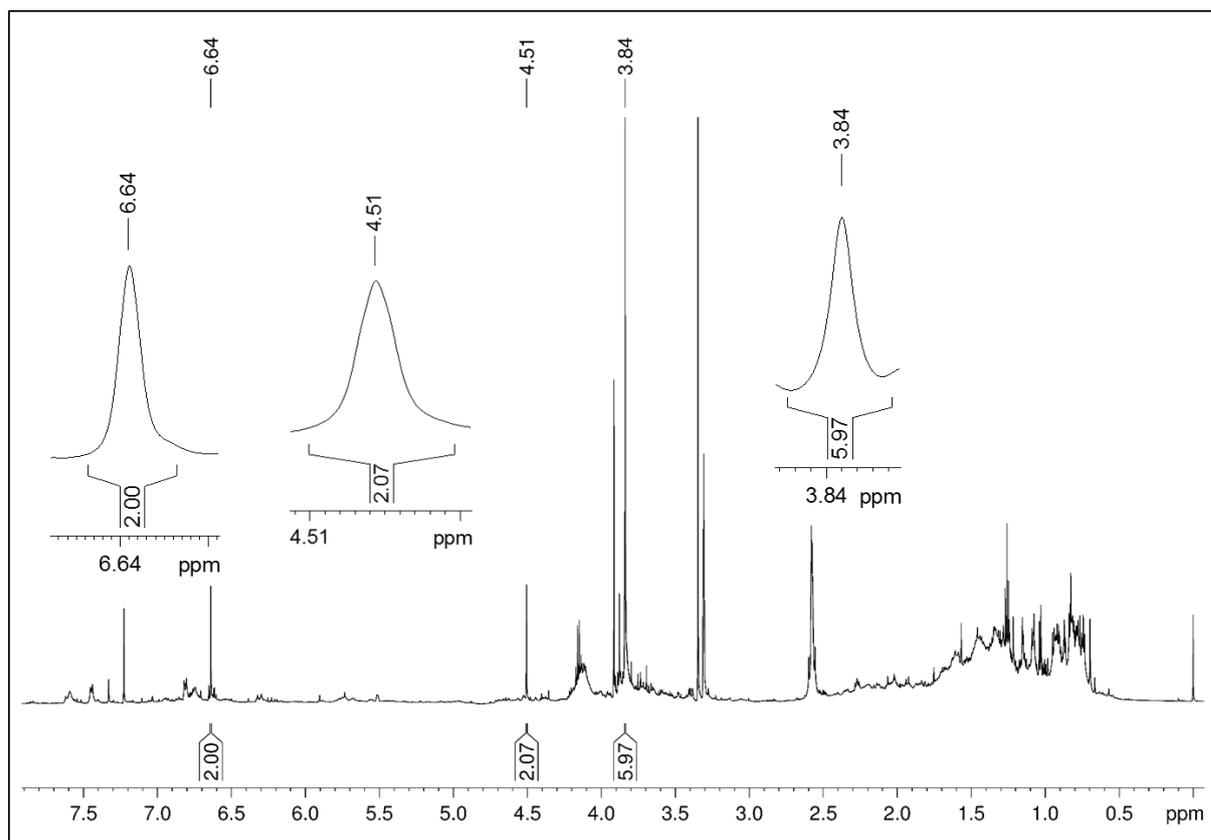
FONTE: O autor (2016).

TABELA 19 – DADOS DE RMN DE ^1H , ^{13}C E HMBC DE **Bo-13** EM COMPARAÇÃO COM A LITERATURA

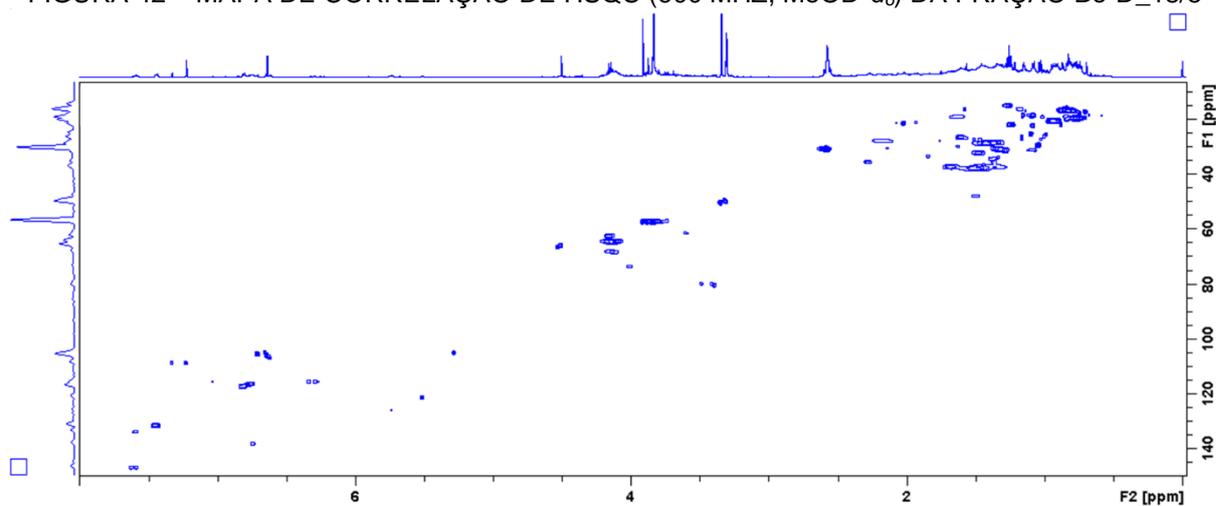
Posição	Bo-7 ^a			Álcool Siríngico ^b	
	δ_{H} (mult., J em Hz)	δ_{C} (^{13}C)	HMBC	δ_{H} (mult., J em Hz)	δ_{C} (^{13}C)
1	-	133,3	-	-	132,1
2	6,64 2H, s	105,4	3,4,6,7	6,66 2H, s	103,9
3	-	149,0	-	-	147,1
4	-	135,7	-	-	134,2
5	-	149,0	-	-	147,1
6	6,64 2H, s	105,4	2,3,4,5,7	6.66 2H, s	103,9
7	4,51 2H, s	65,5	1,2,6	4,53 2H, s	65,7
OCH ₃	3,84 6H, s	56,7	147,1	3,85 6H, s	56,3

FONTE: O autor (2016).

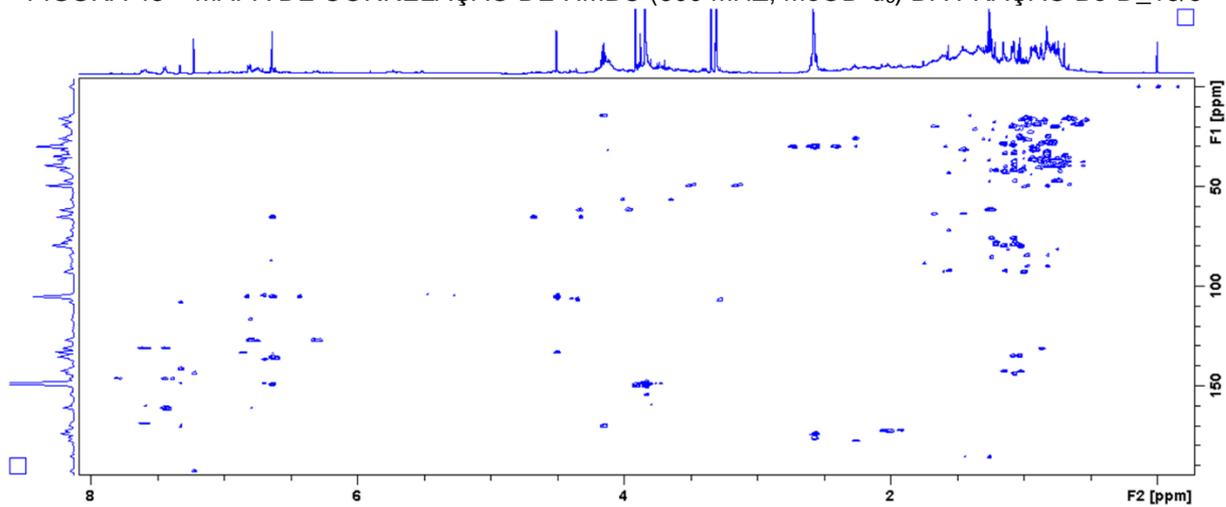
LEGENDA: ^a: Experimento realizado de RMN de ^1H , HSQC e HMBC (600 MHz, MeOD- d_6), utilizando TMS como referência interna. As atribuições de δ_{C} foram obtidas através da análise de espectros de HSQC e HMBC; ^b: Dados da literatura de RMN de ^1H (400 MHz, MeOD- d_6) (CHANG et al., 2013) e de RMN ^{13}C (250 MHz, CDCl₃) (RALPH et al., 2004).

ESPECTRO 25 – ESPECTRO DE RMN DE ^1H (600 MHz, MeOD- d_6) DA FRAÇÃO Bo-D_18/5 COM OS SINAIS INTEGRADOS PARA **Bo-13**

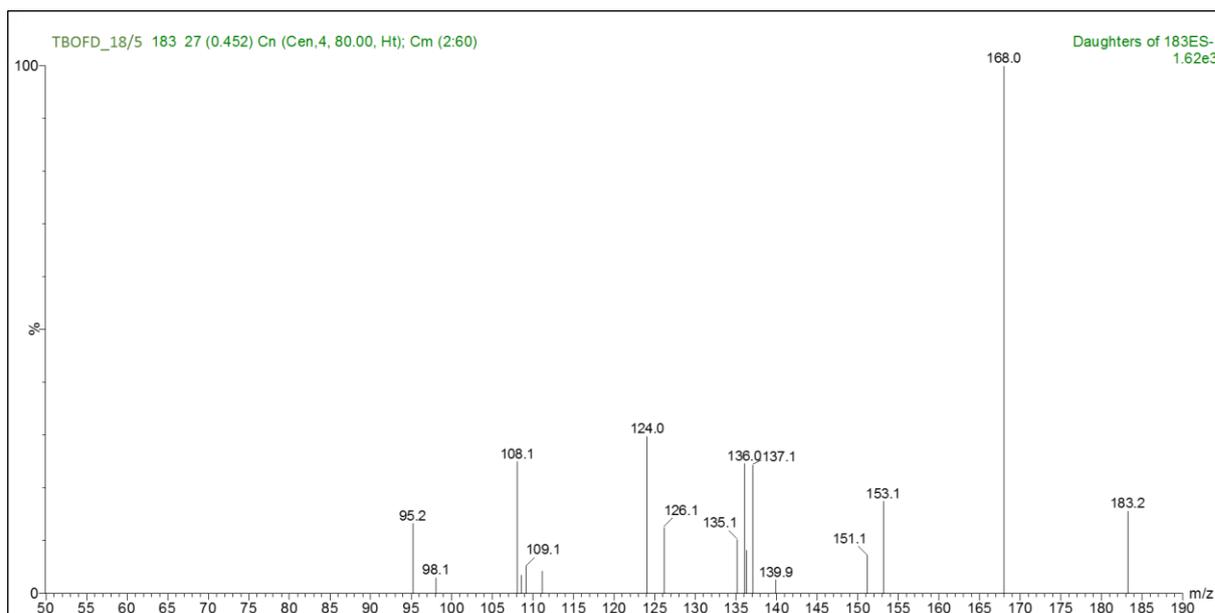
FONTE: O autor (2016).

FIGURA 42 – MAPA DE CORRELAÇÃO DE HSQC (600 MHZ, MeOD- d_6) DA FRAÇÃO Bo-D_18/5

FONTE: O autor (2016).

FIGURA 43 – MAPA DE CORRELAÇÃO DE HMBC (600 MHZ, MeOD- d_6) DA FRAÇÃO Bo-D_18/5

FONTE: O autor (2016).

ESPECTRO 26 - EXPERIMENTO DE ESI-EM/EM (16 eV) DO ÍON DE m/z 183,2 DE **Bo-13**

FONTE: O autor (2016).

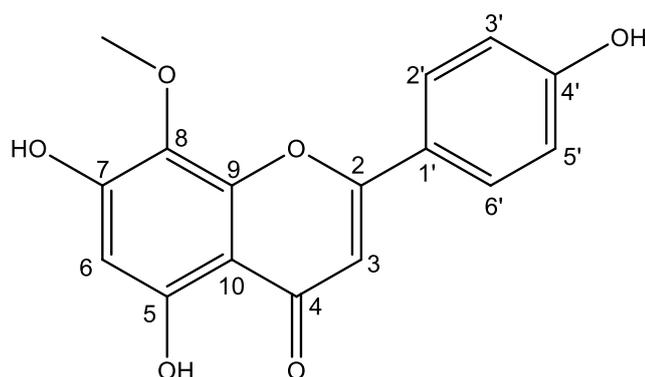
O álcool siríngico foi isolado anteriormente do caule de *Celastrus rugosus* (CHANG et al., 2013), das cascas da raiz de *Morus cathayana*. (SHEN; LIN, 2001). Entretanto, esta é a primeira vez que o composto está sendo identificado em *Baccharis*.

5.3.14 Determinação estrutural de **Bo-14**

Os espectros de RMN de ^1H da fração Bo-D_19/6 (TABELA 2, pg. 55) apresentaram sinais semelhantes aos identificados para o composto **Bo-8**, sugerindo, inicialmente, que fossem a mesma substância. Entretanto, apesar da estreita similaridade o espectro de RMN de ^1H (600 MHz, MeOD- d_6) (ESPECTRO 27) de **Bo-14** foi analisado e revelou a presença de um simpleto, com integração para três hidrogênios, em δ_{H} 3,88 (3H; s) correlacionando com o C-8. Com a análise dos outros sinais, foi possível observar a presença de um simpleto integrando para um hidrogênio em δ_{H} 6,62, característico de hidrogênio olefínico ligado ao C-3 de flavonoides tipo flavona. Além de dois dupletos com integração para dois hidrogênios, em δ_{H} 7,82 (2H; d ; $J = 8,8$ Hz; H-2' e H-6') e em δ_{H} 6,92 (2H; d , $J = 8,8$ Hz, H-3' e H5') referentes a um sistema de acoplamento de segunda ordem do anel *para*-substituído (anel B). O espectro revelou, ainda, um simpleto em δ_{H} 6,54, integrando para um hidrogênio.

As atribuições de δ_c foram obtidas através da análise dos mapas de correlação HSQC (FIGURA 45) e HMBC (FIGURA 46), onde foi possível evidenciar a presença de uma carbonila conjugada em δ_c 184,5, característica do esqueleto tipo flavona. Nestes experimentos, também foi possível observar o acoplamento do hidrogênio em δ_H 6,54 (H-6), com o carbono em δ_c 95,9 (C-6), bem como, do hidrogênio em δ_H 6,62 (H-3) com o carbono em δ_c 103,6 (C-3). Os hidrogênios em δ_H 7,82 (H-2'; H-6') mostraram correlação direta com os carbonos em δ_c 129,5 (C-6'; C-2', respectivamente) e os hidrogênios em δ_H 6,92 (H-3'; H-5') com os carbonos em δ_c 113,1 (C-5'; C-3', respectivamente). As correlações a longa distância entre hidrogênio e carbono, observadas no experimento de HMBC, mostraram que o hidrogênio aromático em δ_H 6,54 (H-6) mostrou correlação com os carbonos em δ_c 154,8 (C-5), δ_c 158,9 (C-7), δ_c 132,9 (C-8) e δ_c 105,5 (C-10) e o hidrogênio olefínico em δ_H 6,62 (H-3) mostrou correlação com os carbonos em δ_c 166,5 (C-2), δ_c 184,5 (C-4), δ_c 105,9 (C-10) e δ_c 123,5 (C-1'). Além destas, ainda foi possível observar as correlações dos hidrogênios do anel *para*-substituído, onde, os hidrogênios em δ_H 7,82 (H-2'; H-6') mostraram correlação com os carbonos em δ_c 166,5 (C-2), δ_c 162,8 (C-4') e δ_c 129,6 (C-6'; C-2', respectivamente) e os hidrogênios em δ_H 6,92 (H-3'; H-5') mostraram correlação com os carbonos em δ_c 123,5 (C-1'), δ_c 162,8 (C-4') e δ_c 113,1 (C-5'; C-3', respectivamente). A análise do experimento de varredura, no modo negativo de ionização, revelou o íon deprotonado de m/z 299,2 [M - H]⁻. A fragmentação deste íon através do experimento de ESI-EM/EM (ESPECTRO 28) originou o íon fragmento de m/z 284,1 referente à perda de uma unidade CH₃.

Comparando os dados de RMN de ¹H e de espectrometria de massas obtidos com os dados descritos na literatura (TABELA 20) (AMEDDAH et al., 2007) foi possível propor que **Bo-14** trata-se do flavonoide 8-metoxiapigenina (4',5,7-trihidroxi-8-metoxiflavona) (FIGURA 44).

FIGURA 44 – ESTRUTURA QUÍMICA DO COMPOSTO **Bo-13** (8-METOXIAPIGENINA)

FONTE: O autor (2016).

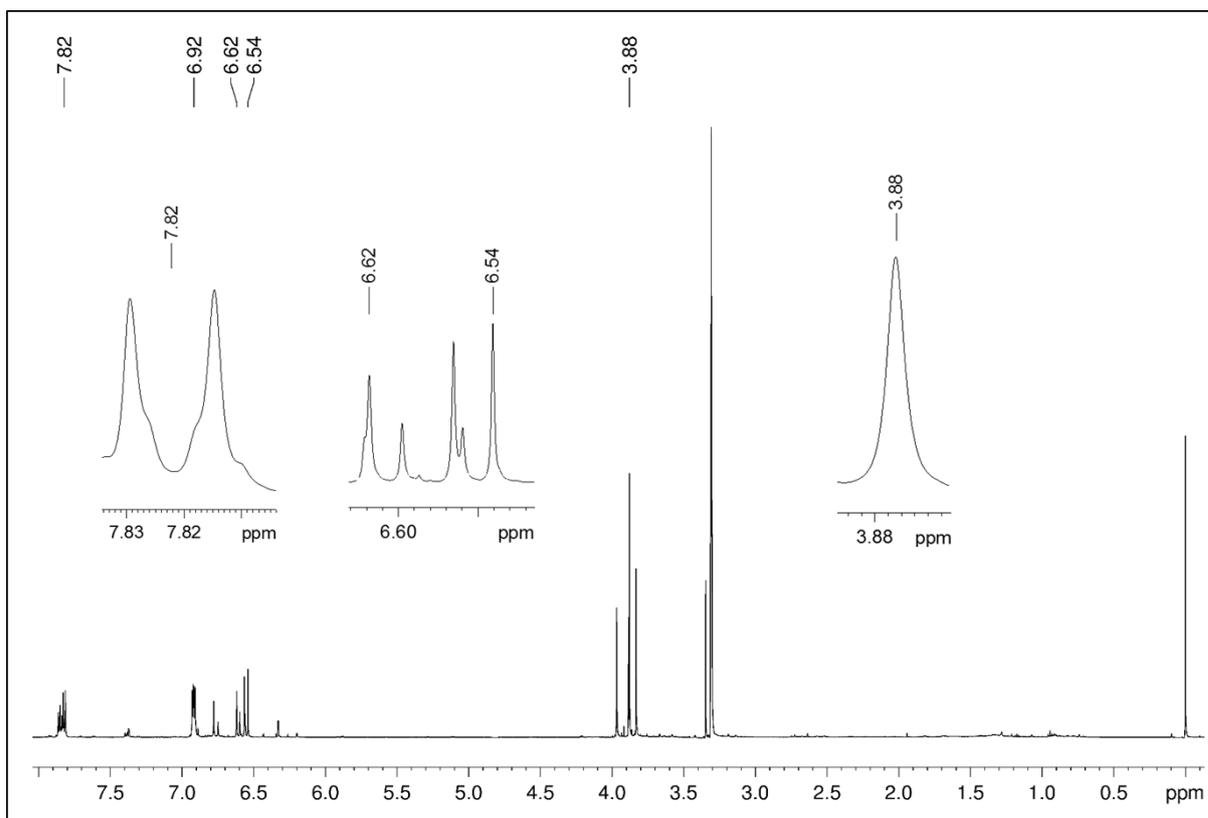
TABELA 20 – DADOS DE RMN DE ^1H , ^{13}C E HMBC DE **Bo-14** EM COMPARAÇÃO COM A LITERATURA

Posição	Bo-14^a			8-Metoxi Apigenina^b	
	δ_{H} (mult., <i>J</i> em Hz)	δ_{C} (^{13}C)	HMBC	δ_{H} (mult., <i>J</i> em Hz)	δ_{C}^* (^{13}C)
2	-	166,5	-	-	*
3	6,62 1H, s	103,6	2,4,10,1'	6,65 1H, s	*
4	-	184,5	-	-	*
5	-	154,8	-	-	*
6	6,54 1H, s	95,9	5,7,8,9	6,55 1H, s	*
7	-	158,9	-	-	*
8	-	132,9	-	-	*
9	-	*	-	-	*
10	-	105,9	-	-	*
1'	-	123,5	-	-	*
2'	7,82 2H, <i>d</i> (8,8)	129,5	2,3',6'	7,85 2H, <i>d</i> , (8,8)	*
3'	6,92 2H, <i>d</i> (8,8)	113,1	1',4',5'	6,93 2H, <i>d</i> , (8,8)	*
4'	-	162,8	-	-	*
5'	6,92 2H, <i>d</i> , (8,8)	113,1	1',3',4'	6,93 2H, <i>d</i> , (8,8)	*
6'	7,82 2H, <i>d</i> (8,8)	129,5	2,2',3'	7,85 2H, <i>d</i> , (8,8)	*
OCH₃	3,88 3H, s	61,0	8	3,68 3H, s	*

FONTE: O autor (2016).

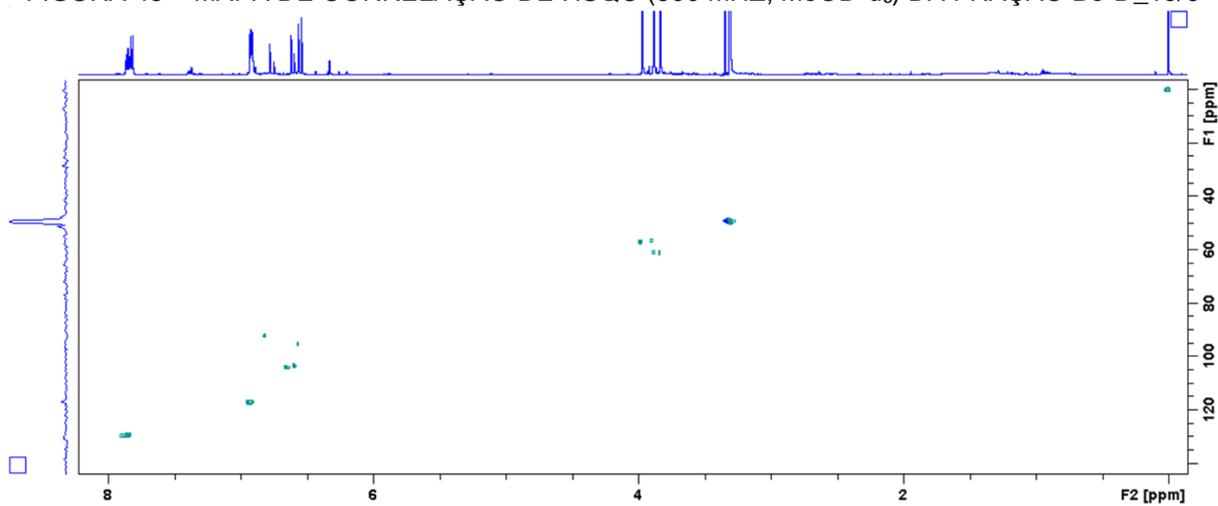
LEGENDA: ^a: Experimento realizado de RMN de ^1H , HSQC e HMBC (600 MHz, MeOD- d_6), utilizando TMS como referência interna. As atribuições de δ_{C} foram obtidas através da análise de espectros de HSQC e HMBC; ^b: Dados da literatura de RMN de ^1H (250 MHz, MeOD) (AMEDDAH et al., 2007). δ_{C}^* : Dados não relatados na literatura.

ESPECTRO 27 – ESPECTRO DE RMN DE ^1H (600 MHz, $\text{MeOD-}d_6$) DA FRAÇÃO Bo-D_19/6 COM OS SINAIS INTEGRADOS PARA **Bo-13**

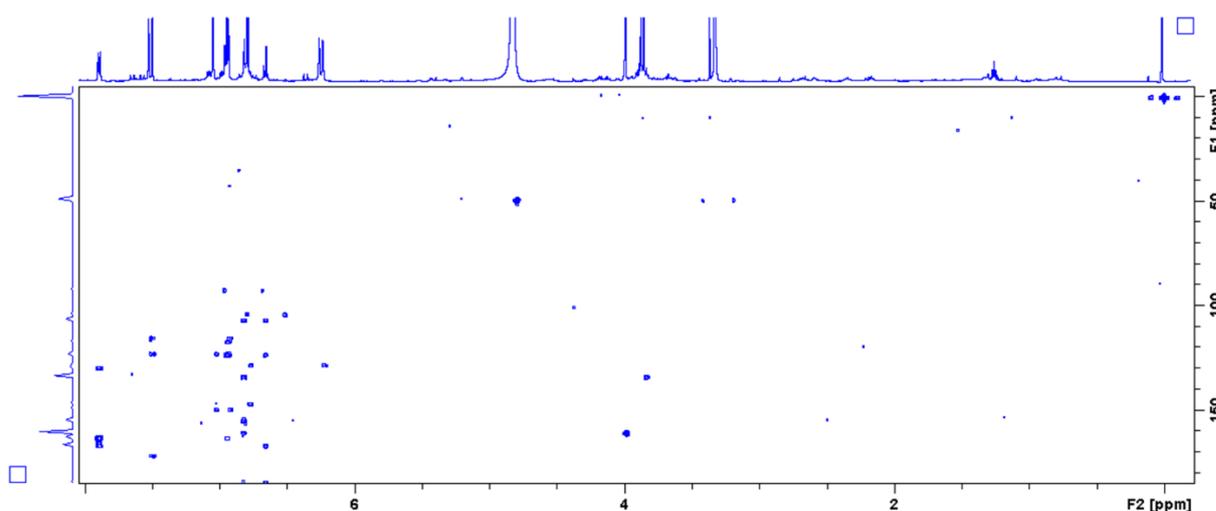


FONTE: O autor (2016).

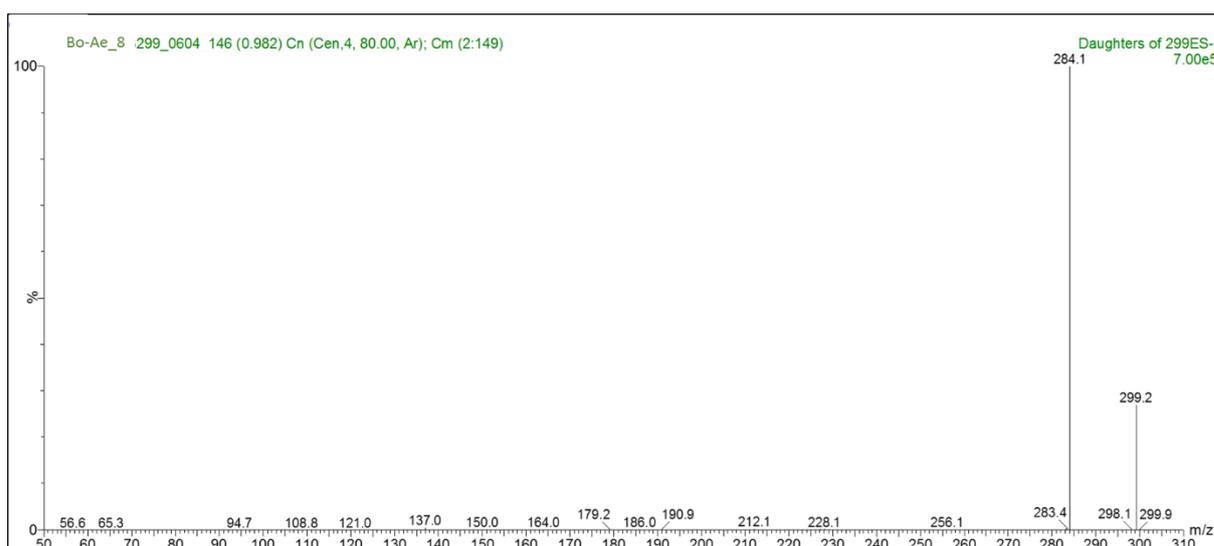
FIGURA 45 – MAPA DE CORRELAÇÃO DE HSQC (600 MHz, $\text{MeOD-}d_6$) DA FRAÇÃO Bo-D_19/6



FONTE: O autor (2016).

FIGURA 46– MAPA DE CORRELAÇÃO DE HMBC (600 MHz, MeOD- d_6) DA FRAÇÃO Bo-D_19/6

FONTE: O autor (2016).

ESPECTRO 28 - EXPERIMENTO DE ESI-EM/EM (19 eV) DO ÍON DE m/z 299,2 DE **Bo-14**

FONTE: O autor (2016).

Conforme levantamento este composto tem poucos relatos na literatura, como em *Scutellaria baicalensis* Georgi (TSAI et al., 2015), e *Chrysanthemum fuscatum* Desf. (AMEDDAH et al., 2007), e apresentou as atividades anti-inflamatória (TSAI et al., 2015) e antiviral. (NAGAI et al., 1995).

5.3.15 Determinação estrutural de **Bo-15**

O espectro de RMN de ^1H (600 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) (ESPECTRO 29) da Bo-Ae_3 (TABELA 3, pg. 56) foi consistente com a presença de um composto glicosilado. A presença de um duplete em δ_{H} 4,92 (1H; d ; $J = 7,3$ Hz; H-1'') caracterizou o sinal de ressonância referente ao hidrogênio anomérico de uma molécula de açúcar. O valor típico da constante de acoplamento do hidrogênio ($J = 7,3$ Hz) e a sua multiplicidade sugerem uma unidade β -D-glicose. (ROSLUND et al., 2008). O valor do deslocamento químico do carbono anomérico em δ_{C} 102,1 indica que a ligação da molécula de glicose à porção aglicona ocorreu através de uma ligação O-glicosídica. Foram observados ainda, dois dupletos em δ_{H} 7,06 (1H; d ; $J = 2,1$ Hz; H-2) e δ_{H} 6,76 (1H; d ; $J = 8,1$ Hz; H-5), e um duplo duplete em δ_{H} 7,02 (1H; dd ; $J = 8,1; 2,1$ Hz; H-6); além de um simpleto em δ_{H} 6,74 (2H; s) integrando para dois hidrogênios. Os dados descritos acima sugerem fortemente a presença de dois anéis aromáticos, que foram designados como A e B (FIGURA 47). Adicionalmente, foram observados, um simpleto em δ_{H} 5,10 (2H; s ; H-7'a e H-7'b), característico de hidrogênios carbinólicos e dois dupletos, típicos de hidrogênios olefínicos, com deslocamento químico em δ_{H} 7,56 (1H; d ; $J = 15,9$ Hz) e δ_{H} 6,34 (1H; d ; $J = 15,9$ Hz).

As atribuições dos valores de ^{13}C foram realizadas com o auxílio dos mapas de correlação HSQC (FIGURA 48) e HMBC (FIGURA 49). Através destas análises evidenciou-se a presença de 24 átomos de carbonos, em δ_{C} 166,3; 152,4; 152,4; 148,3; 145,4; 145,1; 134,1; 131,5; 125,3; 121,3; 115,3; 114,5; 113,1; 106,6; 106,6; 102,1; 76,7; 76,7; 73,7; 69,4; 65,4; 60,4; 56,4 e 56,4; reforçando a hipótese do esqueleto carbônico com núcleo fundamental $\text{C}_6\text{-C}_4\text{-C}_6$ ligado a uma unidade de açúcar. Através do mapa de correlação a longa distância (HMBC), observou-se a correlação do hidrogênio anomérico (H-1'') com o carbono em δ_{C} 134,1 (C-1'), sendo possível confirmar a ligação da unidade de β -glicose com o anel B, presente na molécula. Além deste, observou-se também, a correlação dos hidrogênios em δ_{H} 6,74 (H-2' e H-6') com o carbono em δ_{C} 65,4 (C-7'); os hidrogênios carbinólicos em δ_{H} 5,10 (H-7'a e H-7'b) apresentaram correlação com o carbono da carbonila em δ_{C} 166,3 (C-9), evidenciando a ligação entre os anéis A e B da molécula.

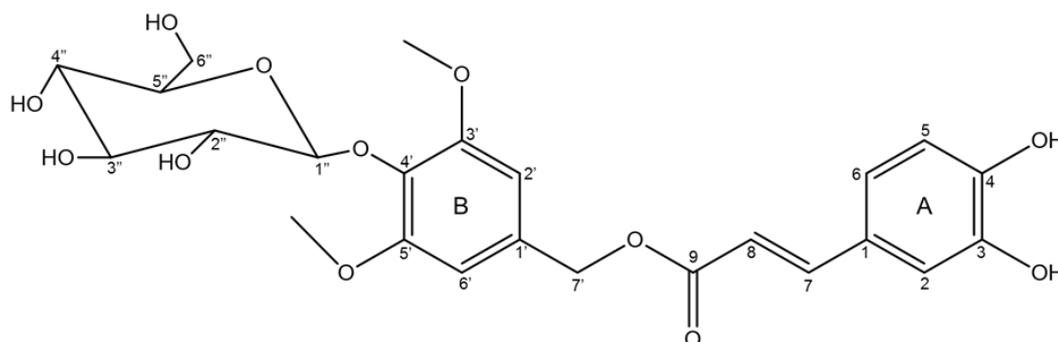
A fórmula molecular $\text{C}_{24}\text{H}_{28}\text{O}_{12}$ foi confirmada com base nos dados obtidos pelo experimento de varredura de alta resolução, modo negativo de ionização, o qual

apresentou o íon deprotonado de m/z 507,1556 $[M - H]^-$. No experimento de ESI-EM/EM (ESPECTRO 30) foram observados dois íons fragmentos de m/z 345,1093 referente à perda da unidade cafeoil ($C_9H_8O_4$) e de m/z 179,0638 referente a perda da unidade glucopiranosil-dimetoxibenzil ($C_{15}H_{20}O_8$).

As informações obtidas através da análise dos espectros de RMN 1D e 2D e espectrometria de massas, aliadas a comparação com valores da literatura (OLIVEIRA et al., 2003), descreitos na TABELA 21, permitiram caracterizar a substância **Bo-14** como sendo cafeato de 4'-O- β -D-glucopiranosil-3',5'-dimetoxibenzila (FIGURA 45).

Este composto foi identificado, também, nas frações Bo-D_20/5, Bo-D_20/6, Bo-D_20/7 (TABELA 2, pg. 55), Bo-Ae_4, Bo-Ae_5 (TABELA 3, pg. 56), Bo-Aq_6, Bo-Aq_7 e Bo-Aq_9 (TABELA 4, pg. 56).

FIGURA 47 – ESTRUTURA QUÍMICA DO COMPOSTO **Bo-15** (CAFEATO DE 4'-O- β -D-GLUCOPIRANOSIL-3',5'-DIMETOXIBENZILA)



FONTE: O autor (2016).

TABELA 21 – DADOS DE RMN DE 1H , ^{13}C E HMBC DE **Bo-15** EM COMPARAÇÃO COM A LITERATURA

Posição	Bo-15 ^a			Cafeato de 4'-O- β -D-glucopiranosil-3',5'-dimetoxibenzila ^b	
	δ_H (mult., J em Hz)	δ_C (^{13}C)	HMBC	δ_H (mult., J em Hz)	δ_C (^{13}C)
1	-	125,3	-	-	127,0
2	7,06 1H, <i>d</i> , (2,1)	114,5	4,6,7	7,70	116,6
3	-	145,4	-	-	148,0
4	-	148,3	-	-	151,0
5	6,76 1H, <i>d</i> , (8,1)	115,3	1,3,4	7,20 1H, <i>m</i>	117,0
6	7,02 1H, <i>dd</i> , (8,1; 2,1)	121,3	1,2,7	7,20 1H, <i>m</i>	117,0
7	7,53 1H, <i>d</i> , (15,9)	145,1	1,2,6,9	8,20 1H, <i>d</i> , (15,8)	147,0
8	6,34 1H, <i>d</i> , (15,9)	113,1	1,7,9	6,70 1H, <i>d</i> , (15,8)	115,4
9	-	166,3	-	-	168,0

(continua)

TABELA 22 – DADOS DE RMN DE ^1H , ^{13}C E HMBC DE **Bo-15** EM COMPARAÇÃO COM A LITERATURA

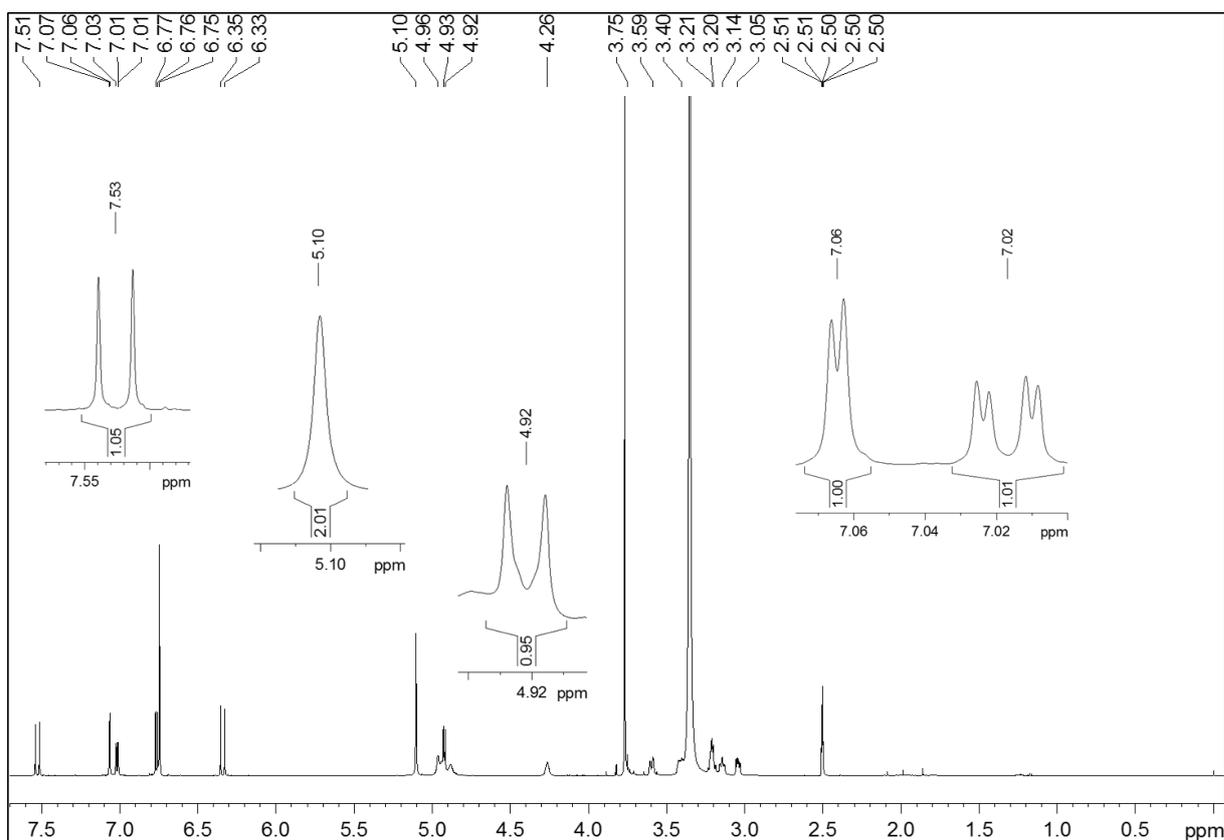
(conclusão)

Posição	Bo-15 ^a			Cafeato de 4'-O- β -D-glucopiranosil-3',5'-dimetoxibenzila ^b	
	δ_{H} (mult., <i>J</i> em Hz)	δ_{C} (^{13}C)	HMBC	δ_{H} (mult., <i>J</i> em Hz)	δ_{C} (^{13}C)
1'	-	131,5	-	-	133,0
2'	6,74 1H, <i>s</i>	106,6	3',4',6',7'	6,90 1H, <i>s</i>	108,0
3'	-	152,4	-	-	154,0
4'	-	134,1	-	-	136,0
5'	-	152,4	-	-	154,0
6'	6,74 1H, <i>s</i>	106,6	2',4',5',7'	6,90 1H, <i>s</i>	108,0
7'	5,10 2H, <i>s</i>	65,4	1',2',5',9	5,30 2H, <i>s</i>	67,0
OCH ₃	3,77 6H, <i>s</i>	56,4	152,4	3,80 6H, <i>s</i>	57,3
1''	4,92 1H, <i>d</i> (7,3)	102,1	4',5''	5,8 1H, <i>d</i> , (7,0)	105,6
2''	3,21 <i>m</i>	73,7	3''	4,38 4H, <i>m</i>	76,8
3''	3,20 <i>m</i>	76,7	2''	4,38 4H, <i>m</i>	79,4
4''	3,14 <i>m</i>	69,4	3''	4,38 4H, <i>m</i>	72,4
5''	3,64 <i>m</i>	76,7	1'',4''	3,90 1H, <i>m</i>	79,1
6''a	3,41 <i>m</i>	60,4	-	4,38 4H, <i>m</i>	63,4
6''b	3,60 <i>m</i>	60,4	4''	4,41 1H, <i>m</i>	63,4

FONTE: O autor (2016).

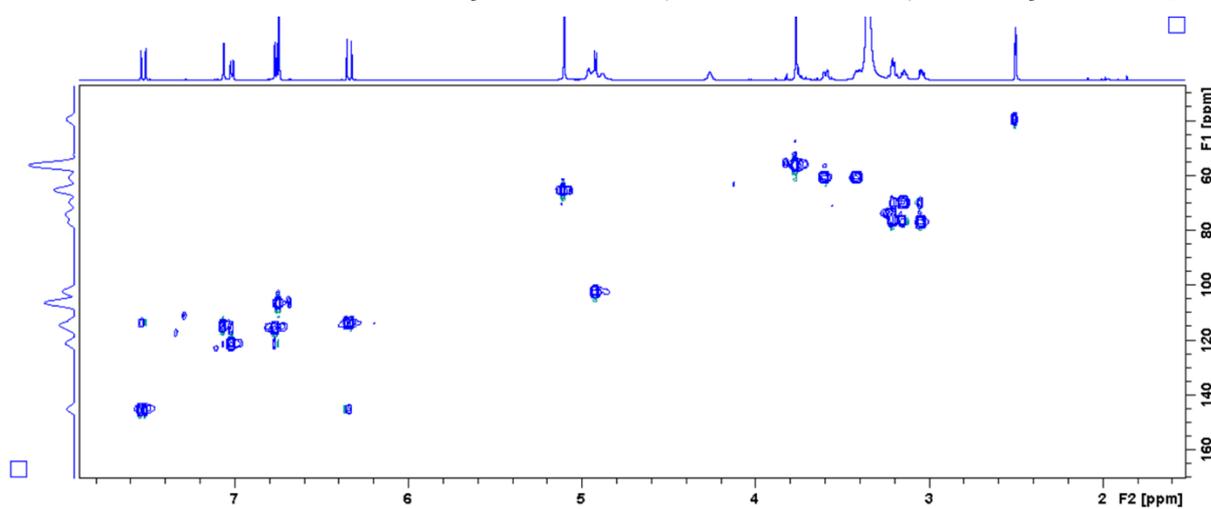
LEGENDA: ^a: Experimento realizado de RMN de ^1H , HSQC e HMBC (600 MHz, DMSO- d_6), utilizando TMS como referência interna. As atribuições de δ_{C} foram obtidas através da análise de espectros de HSQC e HMBC; ^b: Dados da literatura (500 MHz, MeOD- d_4) de acordo com OLIVEIRA e colab., 2003.

ESPECTRO 29 – ESPECTRO DE RMN DE ^1H (600 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) DA FRAÇÃO Bo-Ae_3 COM OS SINAIS INTEGRADOS PARA Bo-15

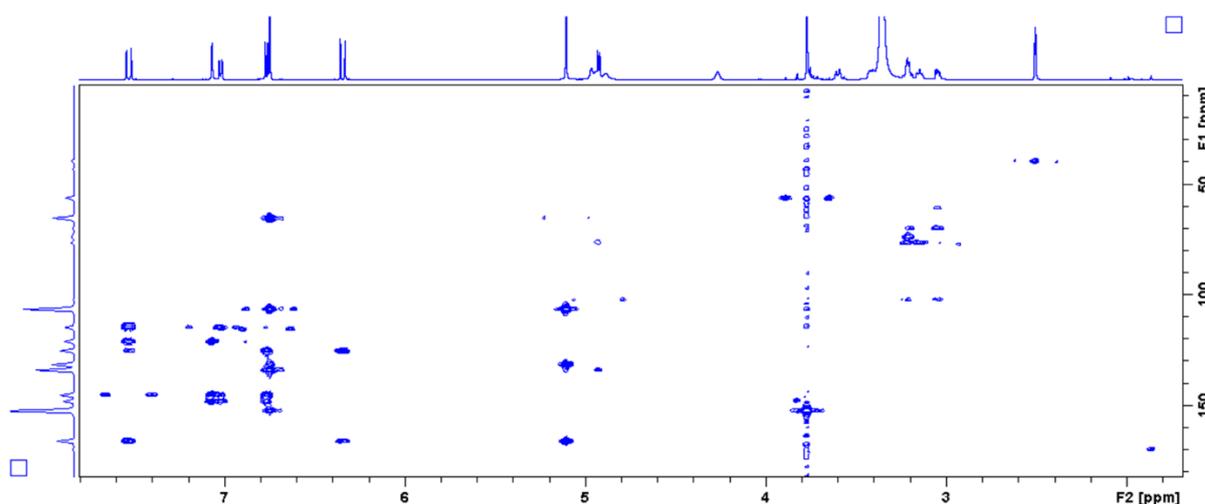


FONTE: O autor (2016).

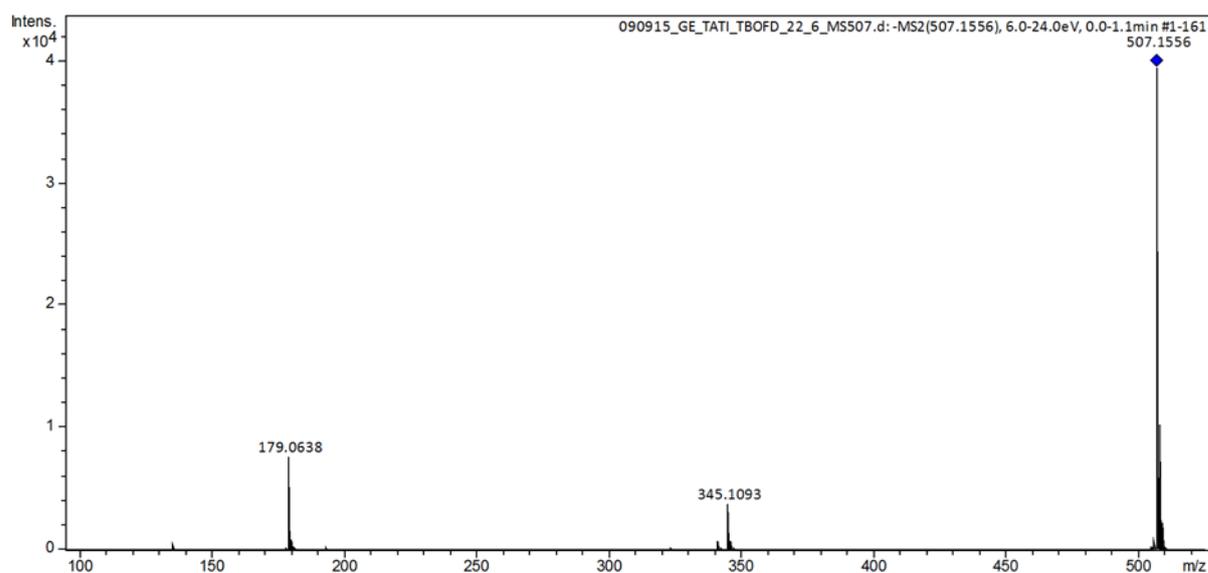
FIGURA 48 – MAPA DE CORRELAÇÃO DE HSQC (600 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) DA FRAÇÃO Bo-Ae_3



FONTE: O autor (2016).

FIGURA 49 – MAPA DE CORRELAÇÃO DE HMBC (600 MHz, DMSO- d_6) DA FRAÇÃO Bo-Ae_3

FONTE: O autor (2016).

ESPECTRO 30 - EXPERIMENTO DE ESI-EM/EM (24 eV) DO ÍON DE m/z 507,1556 DE **Bo-15**

FONTE: O autor (2016).

De acordo com a literatura o composto cafeato de 4'-O- β -D-glucopiranosil-3',5'-dimetoxibenzila apresenta atividade antioxidante e, foi relatado uma única vez em *Baccharis articulata*, pertencente, também, à seção *Caulopterae*. (OLIVEIRA et al., 2003).

5.3.16 Determinação estrutural de **Bo-16**

Os sinais de ressonância observados no espectro de RMN de ^1H (600 MHz, MeOD- d_6) (ESPECTRO 31) da fração Bo-Ae_5 (TABELA 3, pg. 56) revelou dois

dupletos, com integração para dois hidrogênios, em δ_H 8,05 (2H; *d*; $J = 8,8$ Hz; H-2' e H-6') e em δ_H 6,89 (2H; *d*, $J = 8,8$ Hz, H-3' e H5') referentes a um sistema de acoplamento de segunda ordem do anel *para*-substituído (anel B). Também foi visualizado no espectro um par de dupletos em δ_H 6,22 (1H; *d*; $J = 2,1$ Hz; H-8) e δ_H 6,40 (1H; *d*; $J = 2,1$ Hz; H-6), característicos de hidrogênios aromáticos com padrão de acoplamento do tipo *meta*.

As atribuições dos deslocamentos químicos dos carbonos (δ_C) foram obtidas através da análise dos mapas de correlação HSQC (FIGURA 51) e HMBC (FIGURA 52), onde foi possível evidenciar a presença de uma carbonila conjugada em δ_C 177,4. Nestes experimentos, também foi possível observar a correlação do hidrogênio em δ_H 6,22 (H-8), como o carbono em δ_C 99,7 (C-8), bem como, do hidrogênio em δ_H 6,40 (H-6) com o carbono em δ_C 95,0 (C-6).

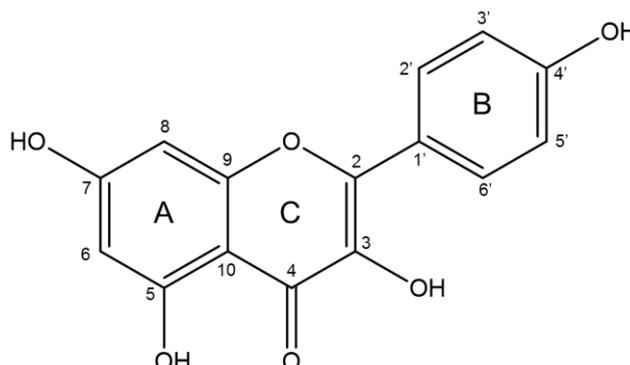
Os hidrogênios em δ_H 8,05 (H-2'; H-6') mostraram correlação direta com os carbonos em δ_C 132,5 (C-6'; C-2', respectivamente) e os hidrogênios em δ_H 6,89 (H-3'; H-5') com os carbonos em δ_C 116,4 (C-5'; C-3', respectivamente). As correlações a mais de uma ligação entre hidrogênio e carbono, observadas no experimento de HMBC, mostraram que o hidrogênio aromático em δ_H 6,22 (H-8) mostrou correlação com os carbonos em δ_C 95,0 (C-6), δ_C 106,0 (C-10) e δ_C 163,8 (C-9). Além destas, ainda foi possível observar as correlações dos hidrogênios do anel *para*-substituído, onde os hidrogênios em δ_H 8,05 (H-2'; H-6') mostraram correlação com os carbonos em δ_C 158,8 (C-2), δ_C 161,3 (C-4') e δ_C 132,5 (C-6'; C-2', respectivamente). Os hidrogênios em δ_H 6,89 (H-3'; H-5') mostraram correlação com os carbonos em δ_C 122,8 (C-1'), δ_C 161,3 (C-4') e δ_C 116,4 (C-5'; C-3', respectivamente).

A análise do experimento varredura, modo negativo de ionização, revelou o íon deprotonado de m/z 285,2 $[M - H]^-$. No experimento ESI-EM/EM (ESPECTRO 32) o íon deprotonado foi fragmentado originando os íons fragmentos de m/z 267,0 referente à saída de uma molécula de água, de m/z 133,1 referente à perda da unidade $C_7H_4O_4$ e de m/z 93,1 referente à saída da unidade $C_9H_4O_5$. (HE et al., 2013).

A combinação de todos os dados espectroscópicos apresentados e a comparação com dados disponíveis na literatura (TABELA 22) (LI et al., 2016) permitiram identificar o composto **Bo-16** ($C_{15}H_{10}O_6$) como sendo o flavonoide kaempferol (FIGURA 50)

Este composto foi identificado, também, nas Bo-Aq_7 e Bo-Aq_9 (TABELA 4, pg. 56).

FIGURA 50 – ESTRUTURA QUÍMICA DO COMPOSTO **Bo-16** (KAEMPFEROL)



FONTE: O autor (2016).

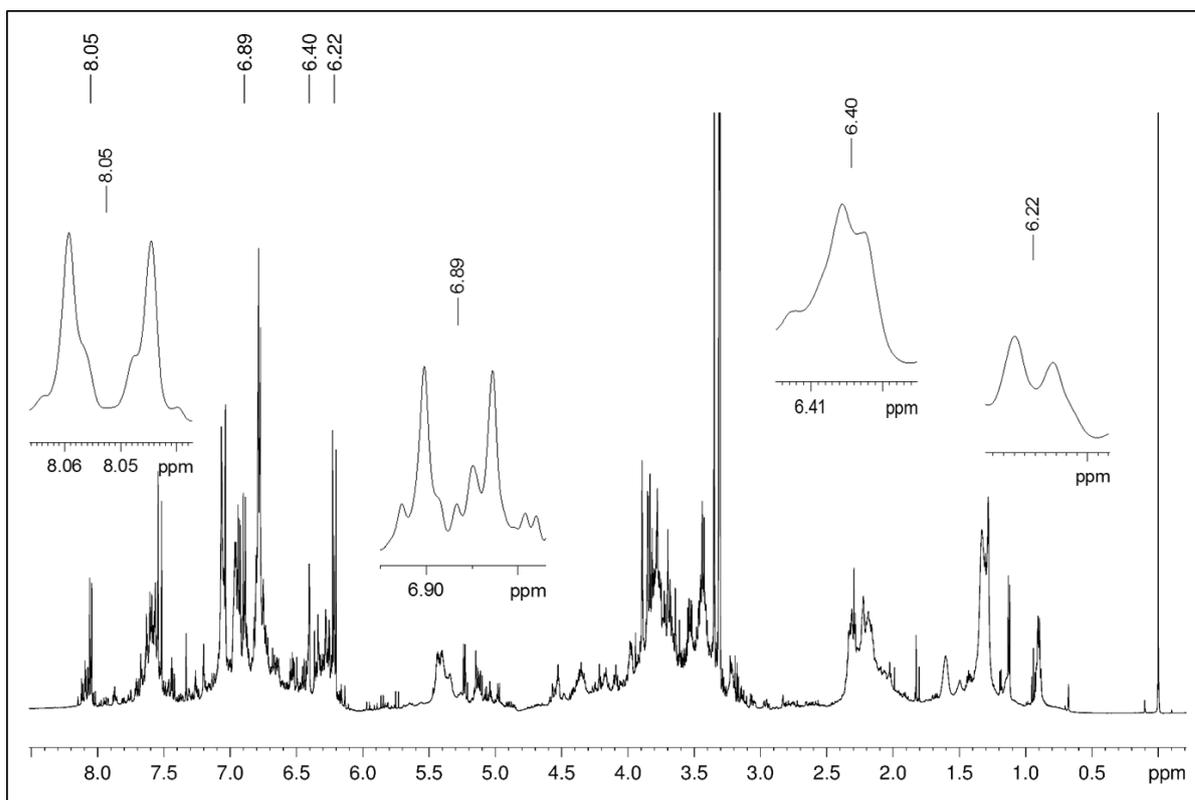
TABELA 23 – DADOS DE RMN DE ^1H , ^{13}C E HMBC DE **Bo-16** EM COMPARAÇÃO COM A LITERATURA

Posição	Bo-16 ^a			Kaempferol ^b	
	δ_{H} (mult., <i>J</i> em Hz)	δ_{C} (^{13}C)	HMBC	δ_{H} (mult., <i>J</i> em Hz)	δ_{C} (^{13}C)
2	-	158,8	-	-	157,6
3	-	137,2	-	-	136,5
4	-	177,4	-	-	176,7
5	-	162,9	-	-	162,0
6	6,22 1H, <i>d</i> , (2,1)	99,7	5,7,8,10	6,19 1H, <i>d</i> , (2,0)	98,6
7	-	166,0	-	-	165,1
8	6,40 1H, <i>d</i> , (2,1)	95,0	5,6,7,9,10	6,38 1H, <i>d</i> , (2,0)	84,1
9	-	163,8	-	-	157,63
10	-	106,0	-	-	103,9
1'	-	122,8	-	-	122,3
2'	8,05 2H, <i>d</i> , (8,8)	132,5	2,4',6'	8,05 2H, <i>d</i> , (9,0)	130,1
3'	6,89 2H, <i>d</i> , (8,8)	116,4	1',4',5'	6,89 2H, <i>d</i> , (9,0)	115,8
4'	-	161,3	-	-	160,0
5'	6,89 2H, <i>d</i> , (8,8)	116,4	1',3',4'	6,89 2H, <i>d</i> , (9,0)	115,8
6'	8,05 2H, <i>d</i> , (8,8)	132,5	2,2',4'	8,05 2H, <i>d</i> , (9,0)	130,1

FONTE: O autor (2016).

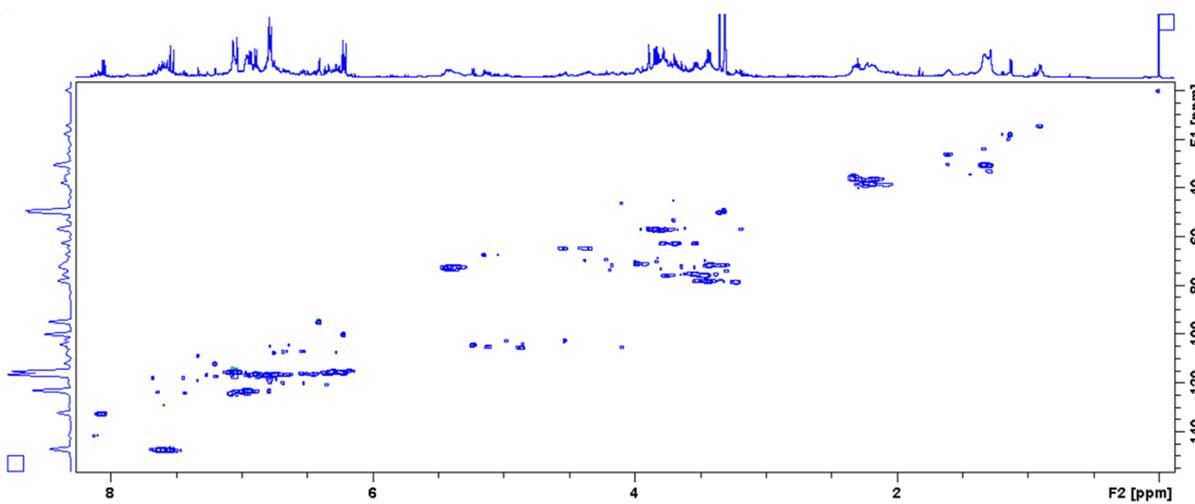
LEGENDA: ^a: Experimento realizado de RMN de ^1H , HSQC e HMBC (600 MHz, MeOD- d_6), utilizando TMS como referência interna. As atribuições de δ_{C} foram obtidas através da análise de espectros de HSQC e HMBC; ^b: Dados da literatura (400 MHz, DMSO- d_6) de acordo com LI e colab., 2016.

ESPECTRO 31 – ESPECTRO DE RMN DE ^1H (600 MHz, $\text{MeOD-}d_6$) DA FRAÇÃO Bo-Ae_5 COM OS SINAIS INTEGRADOS PARA Bo-16

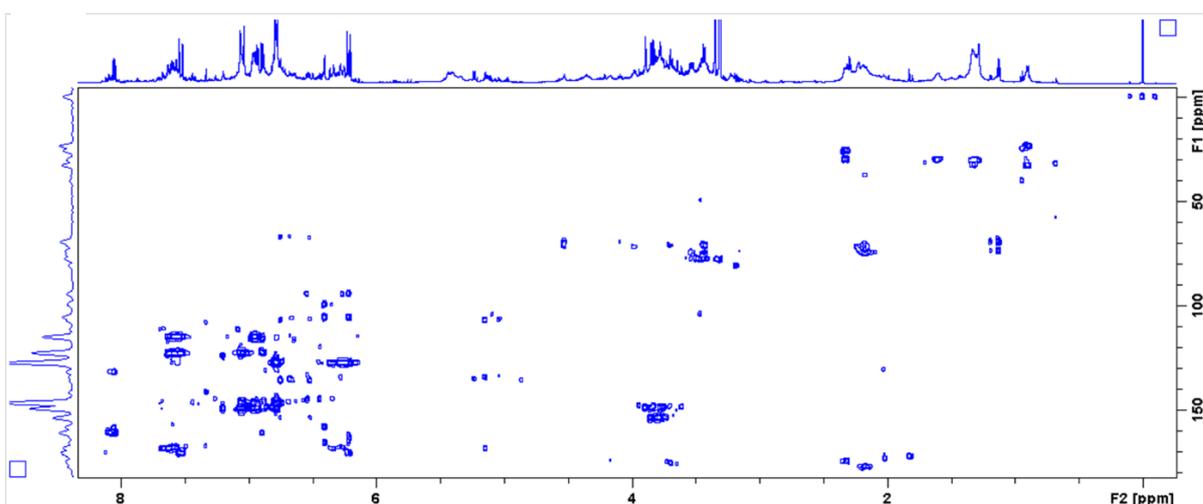


FONTE: O autor (2016).

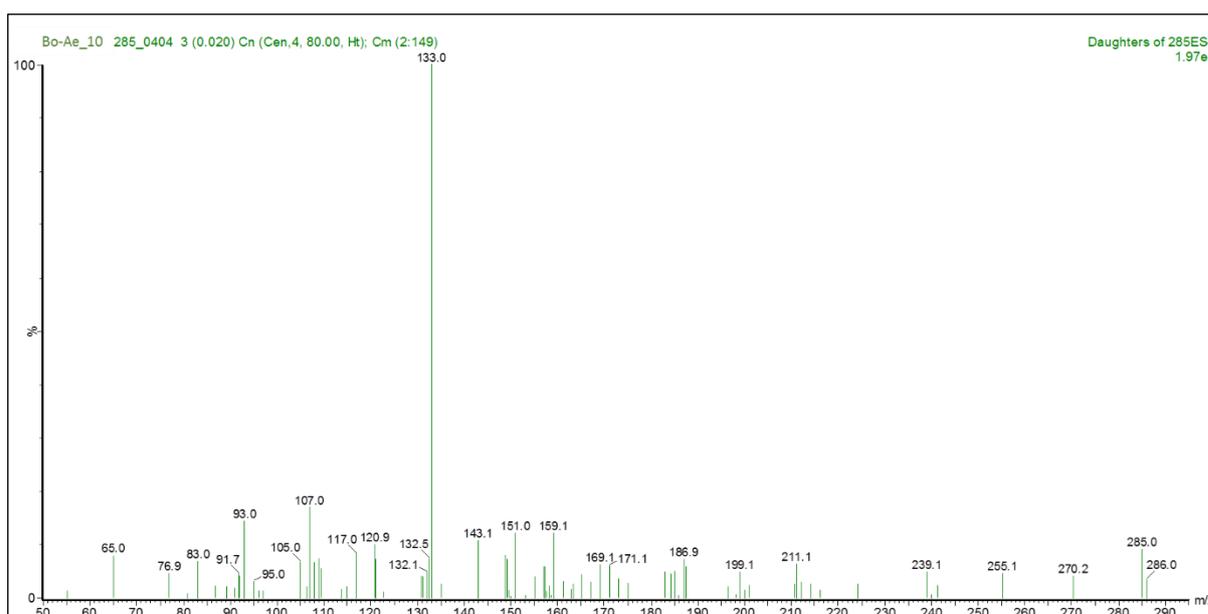
FIGURA 51 - MAPA DE CORRELAÇÃO DE HSQC (600 MHz, $\text{MeOD-}d_6$) DA FRAÇÃO Bo-Ae_5



FONTE: O autor (2016).

FIGURA 52– MAPA DE CORRELAÇÃO DE HMBC (600 MHz, MeOD- d_6) DA FRAÇÃO Bo-Ae_5

FONTE: O autor (2016).

ESPECTRO 32 - EXPERIMENTO DE ESI-EM/EM (38 eV) DO ÍON DE m/z 285,2 DE **Bo-16**

FONTE: O autor (2016).

O kaempferol foi isolado anteriormente de diferentes fontes vegetais, dentre elas podemos destacar *Capparis aegyptia* Lam., *C. orientalis* Veill. (AICHI-YOUSFI et al., 2016), *Fraxinus angustifolia* Vahl (AYOUNI et al., 2016), *Platanus orientalis* L. (THAI et al., 2016), *Ginkgo biloba* L. (BECK; STENGEL, 2016), *Prunus cerasus* L., *Ribes nigrum* L. (NOWAK et al., 2016) e *Hydrolea zeylanica* (L.) Vahl. (BORKAR et al., 2015). Em *Baccharis* foi identificado em *B. dentata* (SARTOR et al., 2013), *B. illinita* (VERDI et al., 2004), *B. pseudotenuifolia* (MOREIRA et al., 2003), *B. retusa*. (GRECCO et al., 2012). Entretanto, está sendo relatado pela primeira vez na seção

Caulopterae. Este composto exibe algumas atividades biológicas importantes, entre elas, antioxidante, anti-inflamatória, antitumoral (NGUYEN et al., 2003; KAMPKÖTTER et al., 2007; KIM et al., 2010; AICHI-YOUSFI et al., 2016; NAYIK; NANDA, 2016), estimulante da diferenciação osteogênica (GUO et al., 2012), protetor contra perda óssea pós menopausa (PANG et al., 2006), antimicrobiana (ESCANDÓN et al., 2016), e hipoglicemiante. (AL-NUMAIR et al., 2015).

5.3.17 Determinação Estrutural de **Bo-17**

O espectro de RMN de ^1H (600 MHz, MeOD- d_6) (ESPECTRO 33) da fração Bo-Ae_8 (TABELA 3, pg. 56) apresentou quatro dupletos em δ_{H} 6,27 (1H; d ; $J = 15,6$ Hz; H-8''), δ_{H} 6,35 (1H; d ; $J = 15,8$ Hz; H-8'), δ_{H} 7,58 (1H; d ; $J = 15,9$ Hz; H-7'') e δ_{H} 7,63 (1H; d ; $J = 15,8$ Hz; H-7'), típicos de hidrogênios olefínicos com configuração *trans*. Observaram-se ainda quatro dupletos em δ_{H} 6,74 (1H; d ; $J = 8,1$ Hz; H-5''), δ_{H} 6,79 (1H; d ; $J = 8,1$ Hz; H-5'), δ_{H} 7,05 (1H; d ; $J = 2,0$ Hz; H-2''), δ_{H} 7,07 (1H; d ; $J = 2,0$ Hz; H-2') e dois duplos dupletos δ_{H} 6,97 (1H; dd ; $J = 8,1; 2,1$ Hz; H-6'') e δ_{H} 6,97 (1H; dd ; $J = 8,1; 2,1$ Hz; H-6'), indicando a ocorrência de dois anéis aromáticos 1,3,4- trissubstituídos, o que permitiu sugerir a presença de duas unidades cafeoíla. Os hidrogênios oximetínicos em δ_{H} 3,99 (1H; dd ; $J = 7,5; 3,3$ Hz; H-4), δ_{H} 5,41 (1H; m ; H-3) e δ_{H} 5,44 (1H; ddd ; $J = 7,0; 3,9; 3,3$ Hz; H-5), e o conjunto de sinais de hidrogênios metilênicos em δ_{H} 2,12 (1H; m ; H-2a e 2b), 2,18 (1H; dd ; $J = 13,7, 7,0$ Hz; H-6a e 6b), sugerem a presença de uma molécula de ácido quínico.

Todas as atribuições dos valores de ^{13}C foram realizadas com o auxílio dos mapas de correlação heteronuclear HSQC (FIGURA 54) e HMBC (FIGURA 55). Através destes experimentos foi possível evidenciar a presença de 25 átomos de carbonos, incluindo duas carbonilas de éster em δ_{C} 168,3 e 168,7, uma carbonila de ácido carboxílico em δ_{C} 177,0; seis carbonos aromáticos (δ_{C} 115,0; 116,5; e 123,0), dois carbonos aromáticos substituídos (δ_{C} 127,6), quatro carbonos aromáticos oxigenados (δ_{C} 146,5; e 149,3), quatro carbonos olefínicos (δ_{C} 115,1; 115,6; 147,0 e 147,3), três carbonos oxigenados sp^3 (δ_{C} 70,6; 72,0 e 72,6), um carbono oxigenado sp^3 (δ_{C} 74,5) e dois metilênicos (δ_{C} 36,1 e 38,4).

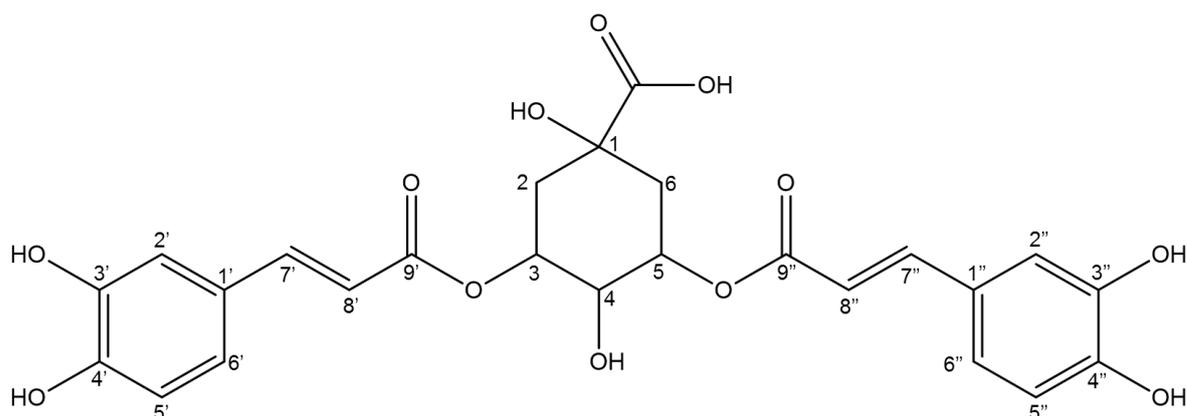
As correlações observadas, no experimento de HMBC, do hidrogênio em δ_{H} 5,44 (H-5) com o carbono em δ_{C} 168,3 (C-9''); e do hidrogênio em δ_{H} 5,41 (H-3)

com o carbono em δ_c 168,7 (C-9') estabeleceram a ligação dos grupos cafeoíla à molécula de ácido quínico. As posições axial ou equatorial dos grupos cafeoíla foram definidas com base nos valores dos deslocamentos químicos e das constantes de acoplamento dos hidrogênios H-3, H-4 e H-5. Os valores das constantes de acoplamento permitiram indicar a ocorrência de um acoplamento axial-equatorial entre H-4 e H-5 ($J = 3,3$ Hz), axial-axial entre H-4 e H-3 ($J = 7,1$ Hz), caracterizando, possivelmente, uma orientação 3-equatorial 5-axial para as unidades cafeoíla e equatorial para a hidroxila da posição C-4.

O experimento de varredura, obtido no modo negativo de ionização revelou a presença do íon deprotonado de m/z 515,1 [M – H]⁻. A presença dos íons fragmentos, obtidos através do experimento ESI-EM/EM (ESPECTRO 34) deste ion, resultou no ion de m/z 353,3 referente à perda de uma unidade C₉H₇O₃; do íon fragmento de m/z 191,2 referente à perda do ácido quínico (C₇H₁₁O₆); e do íon fragmento de m/z 179,1 referente à perda de uma unidade cafeoíla. Na literatura é possível encontrar seis isômeros posicionais com essa estrutura básica (1,3-diACQ; 1,4-diACQ; 1,5-di-ACQ; 3,4-diACQ; 3,5-diACQ e 4,5-diACQ) e com a fórmula molecular C₂₅H₂₄O₁₂. Embora seus perfis de fragmentação sejam bastante similares, é possível realizar a identificação destes isômeros baseado na abundância relativa dos íons fragmentos obtidos. Foi possível observar no experimento de ESI-EM/EM (FIGURA 34) que o íon fragmento de m/z 191,1 apresentou uma abundância relativa maior que o íon fragmento de m/z 179,1. Sendo possível confirmar a estrutura para o ácido 3,5-O-dicafeoilquínico. (CLIFFORD et al., 2003, 2006; GOUVEIA et al., 2013).

Através da interpretação dos dados obtidos da fração Bo-Ae_8 através dos espectros de RMN de ¹H (TABELA 23), mapas de correlação HSQC (FIGURA 54) e HMBC (FIGURA 55) e experimentos de massas foi possível sugerir que a substância Bo-17 é o ácido 3,5-O-dicafeoilquínico (FIGURA 53), um derivado do ácido clorogênico. (GAO et al., 2008; AN et al., 2008).

Este composto foi identificado, também, na fração Bo-Aq_9 (TABELA 4, pg. 56).

FIGURA 53 – ESTRUTURA QUÍMICA DO COMPOSTO **Bo-17** (ÁCIDO 3,5-O-DICAFEILOILQUÍNICO)

FONTE: O autor (2016).

TABELA 24 – DADOS DE RMN DE ^1H , ^{13}C E HMBC DE **Bo-17** EM COMPARAÇÃO COM A LITERATURA

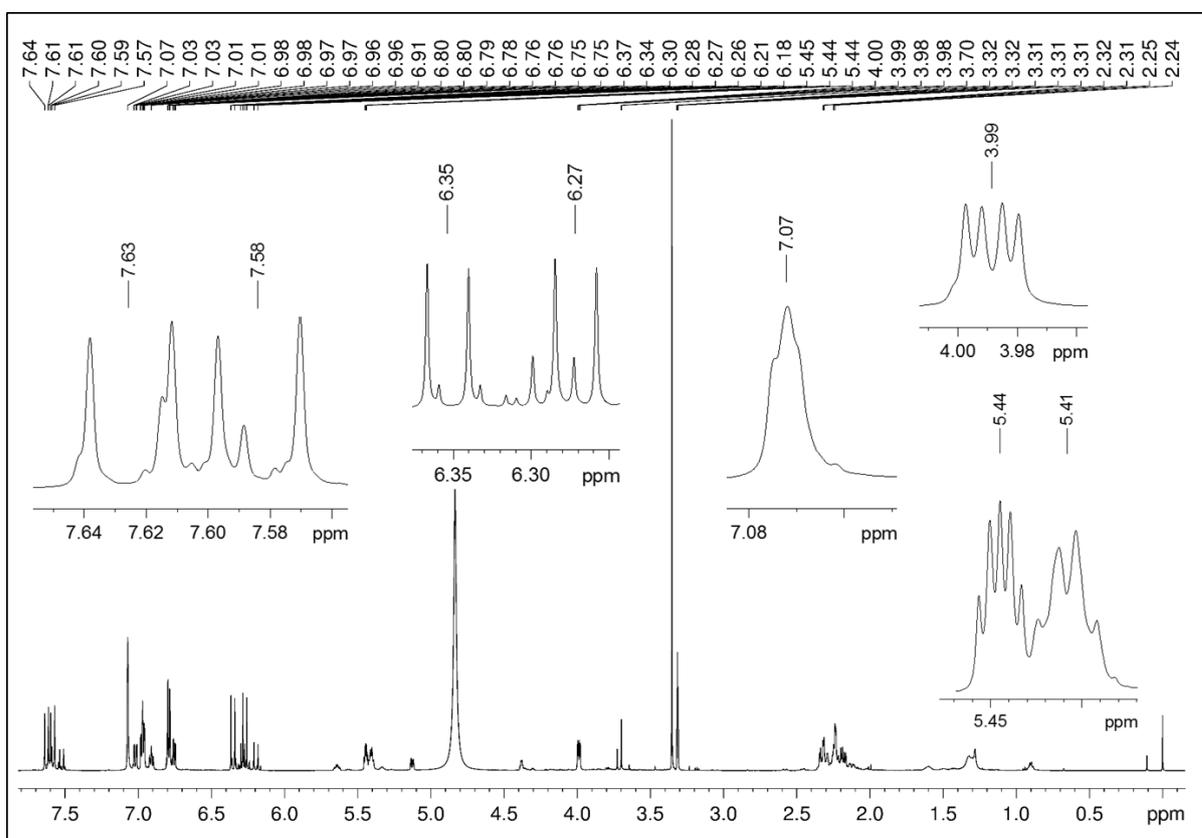
Posição	Bo-16^a			Ácido 3,5-O-dicafeoilquinico^b	
	δ_{H} (mult., <i>J</i> em Hz)	δ_{C} (^{13}C)	HMBC	δ_{H} (mult., <i>J</i> em Hz)	δ_{C} (^{13}C)
1	-	74,5	-	-	74,2
2a	2,12 1H, <i>m</i>	38,4	3,7	2,13 1H, <i>m</i>	36,8
2b	2,12 1H, <i>m</i>	38,4	3,7	2,13 1H, <i>m</i>	36,8
3	5,41 1H, <i>dm</i> (7,1)	72,0	1,2,5,9'	5,42 1H, <i>m</i>	73,9
4	3,99 1H, <i>dd</i> (7,1; 3,3)	70,6	3,6	3,96 1H, <i>dd</i> , (7,6; 3,2)	71,8
5	5,44 1H, <i>ddd</i> , (7,0; 3,9; 3,3)	72,6	1,6,9''	5,41 1H, <i>m</i>	71,9
6a	2,18 1H, <i>dd</i> , (13,7; 3,9)	36,1	1,4,5,7	2,22 1H, <i>m</i>	40,0
6b	2,18 1H, <i>dd</i> , (13,7; 7,0)	36,1	1,4,5,7	2,22 1H, <i>m</i>	40,0
7	-	177,0	-	-	178,3
1'	-	128,0	-	-	121,8
2'	7,07 1H, <i>d</i> , (2,1)	115,0	3',4',6'	7,06 1H, <i>d</i> , (2,2)	115,8
3'	-	146,5	-	-	146,3
4'	-	149,3	-	-	149,2
5'	6,79 1H, <i>d</i> , (8,1)	116,5	1',3',4'	6,88 1H, <i>d</i> , (8,1)	115,2
6'	6,97 1H, <i>dd</i> , (8,1; 2,1)	123,1	2',4',7'	6,96 1H, <i>dl</i> , (8,1)	126,1
7'	7,63 1H, <i>d</i> , (15,8)	147,0	2',6',9'	7,61 1H, <i>d</i> (16,0)	145,2
8'	6,35 1H, <i>d</i> , (15,8)	115,6	1',9'	6,35 1H, <i>d</i> , (16,0)	116,4
9'	-	168,7	-	-	167,1

TABELA 23 – DADOS DE RMN DE ^1H , ^{13}C E HMBC DE **Bo-17** EM COMPARAÇÃO COM A LITERATURA

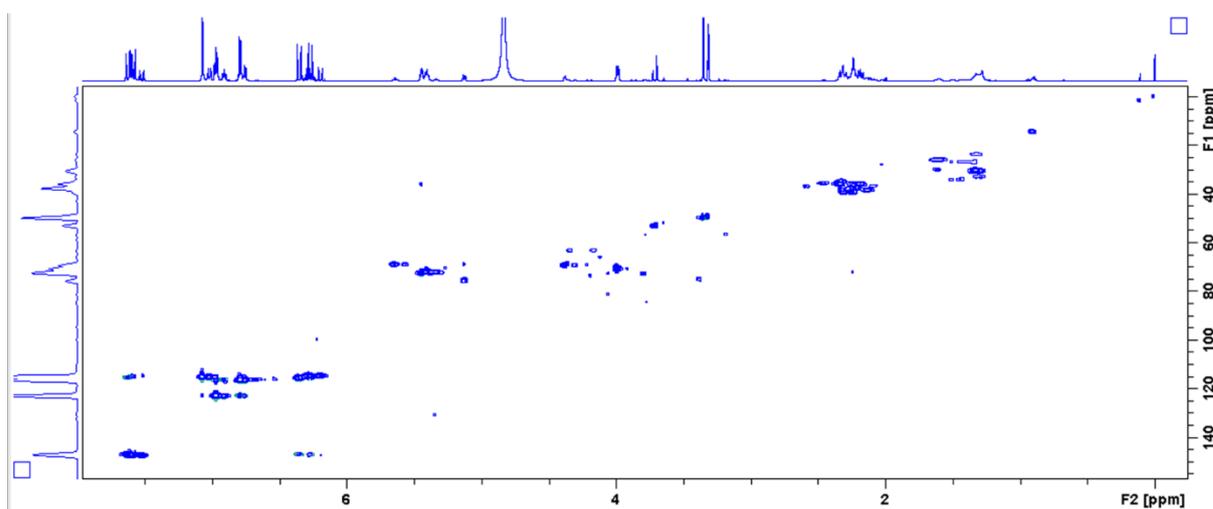
Posição	Bo-16 ^a			(conclusão) Ácido 3,5-O-dicafeoilquínico ^b	
	δ_{H} (mult., J em Hz)	δ_{C} (^{13}C)	HMBC	δ_{H} (mult., J em Hz)	δ_{C} (^{13}C)
1"	-	127,6	-	-	121,5
2"	7,05 1H, <i>d</i> , (2,0)	115,0	3",4",6"	7,05 1H, <i>d</i> , (2,2)	115,7
3"	-	146,5	-	-	146,2
4"	-	149,3	-	-	149,0
5"	6,74 1H, <i>d</i> , (8,1)	116,5	1",3",4"	6,77 1H, <i>d</i> , (8,1)	115,1
6"	6,96 1H, <i>dd</i> , (8,1; 2,1)	123,0	2",4",7"	6,95 1H, <i>dl</i> , (8,1)	126,0
7"	7,58 1H, <i>d</i> , (15,6)	147,3	2",6",9"	7,57 1H, <i>d</i> (16,0)	144,9
8"	6,27 1H, <i>d</i> , (15,6)	115,1	1",9"	6,26 1H, <i>d</i> , (16,0)	116,3
9"	-	168,3	-	-	166,9

FONTE: O autor (2016).

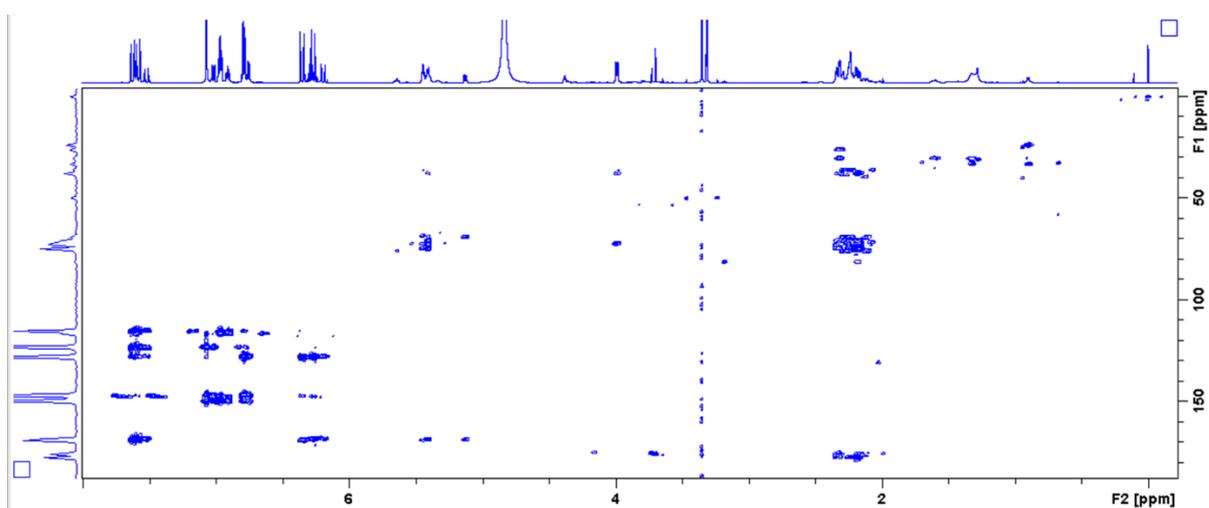
LEGENDA: ^a: Experimento realizado de RMN de ^1H , HSQC e HMBC (600 MHz, DMSO- d_6), utilizando TMS como referência interna. As atribuições de δ_{C} foram obtidas através da análise de espectros de HSQC e HMBC; ^b: Dados da literatura de RMN de ^1H (500 MHz, MeOD- d_4) (GAO et al., 2008) e de RMN de ^{13}C (125 MHz, MeOD) (AN et al., 2008).

ESPECTRO 33 – ESPECTRO DE RMN DE ^1H (600 MHz, MeOD- d_6) DA FRAÇÃO Bo-Ae_8 COM OS SINAIS INTEGRADOS PARA **Bo-16**

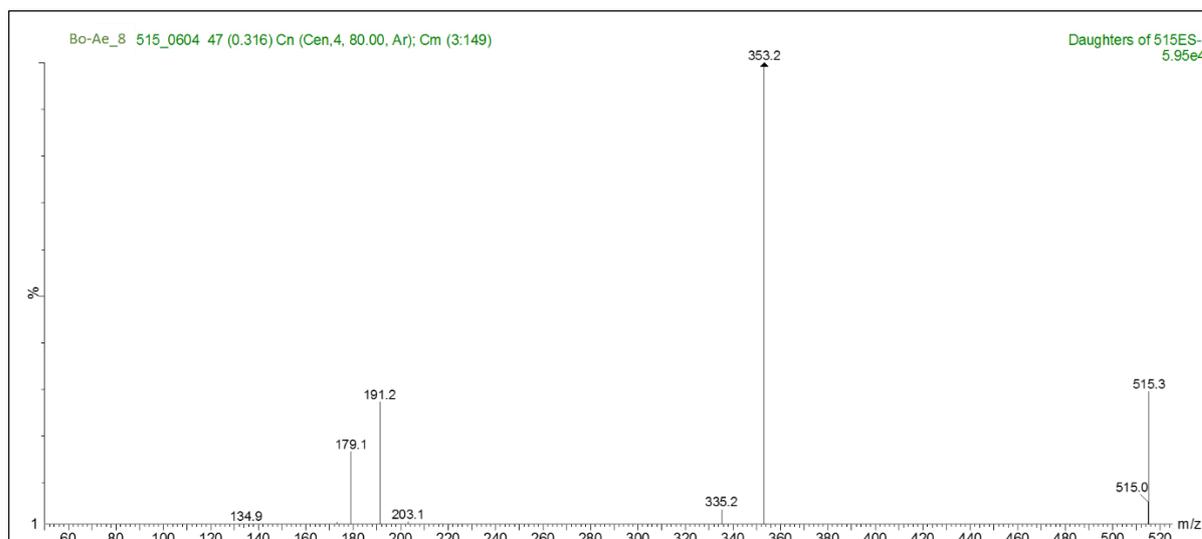
FONTE: O autor (2016).

FIGURA 54 – MAPA DE CORRELAÇÃO DE HSQC (600 MHZ, MeOD- d_6) DA FRAÇÃO Bo-Ae_8

FONTE: O autor (2016).

FIGURA 55 – MAPA DE CORRELAÇÃO DE HMBC (600 MHZ, MeOD- d_6) DA FRAÇÃO Bo-Ae_8

FONTE: O autor (2016).

ESPECTRO 34 – EXPERIMENTO DE ESI-EM/EM (17 eV) DO ÍON DE m/z 515,3 DE **Bo-17**

FONTE: O autor (2016).

O ácido 3,5-dicafeoilquínico já foi identificado, anteriormente, em muitas espécies vegetais, como *Tussilago farfara* L. (WU et al., 2016), *Kalimeris indica* (L.) Sch.Bip. (ZHONG et al., 2015), *Stevia rebaudiana* (Bertoni) Bertoni (BARROSO et al., 2016), *Coleostephus myconis* (L.) Cass. (BESSADA et al., 2016), *Salicornia herbacea* L. (CHO et al., 2016), incluindo diversas *Baccharis*, entre elas, *B. chilco* Kunth, *B. gaudichaudiana*, *B. incarum* (Wedd.) Perkins, *B. retusa*, *B. trimera* (AKAIKE et al., 2003; ZAMPINI et al., 2009; ABOY et al., 2012; GRECCO et al., 2012; ARGOTI et al., 2013).

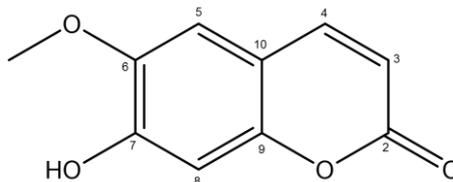
A este composto são atribuídas inúmeras atividade biológicas, entre as quais pode-se citar, atividade antitussígena e expectorante quando combinado com os outros derivados dicafeoilquínicos (WU et al., 2016), atividade citoprotetora (STOJAKOWSKA et al., 2016), atividade anti-HIV (MCDOUGALL et al., 1998; TAMURA et al., 2006; HEYMAN et al., 2015), hepatoprotetora (AN et al., 2008), vasodilatadora (PUEBLA et al., 2011), antitrombótica (SATAKE et al., 2007), hipoglicemiante (OLENNIKOV; KASHCHENKO, 2014), antioxidante (HUSSAIN et al., 2014), analgésica (SANTOS et al., 2005) e antimicrobiana (ZHU et al., 2004).

5.3.18 Determinação estrutural de **Bo-18**

A substância **Bo-18** foi identificada na fração Bo-D_17 (TABELA 1, pg. 54) como a cumarina 7-hidroxi-6-metoxicumarina (Escopoletina) (FIGURA 56). Através da

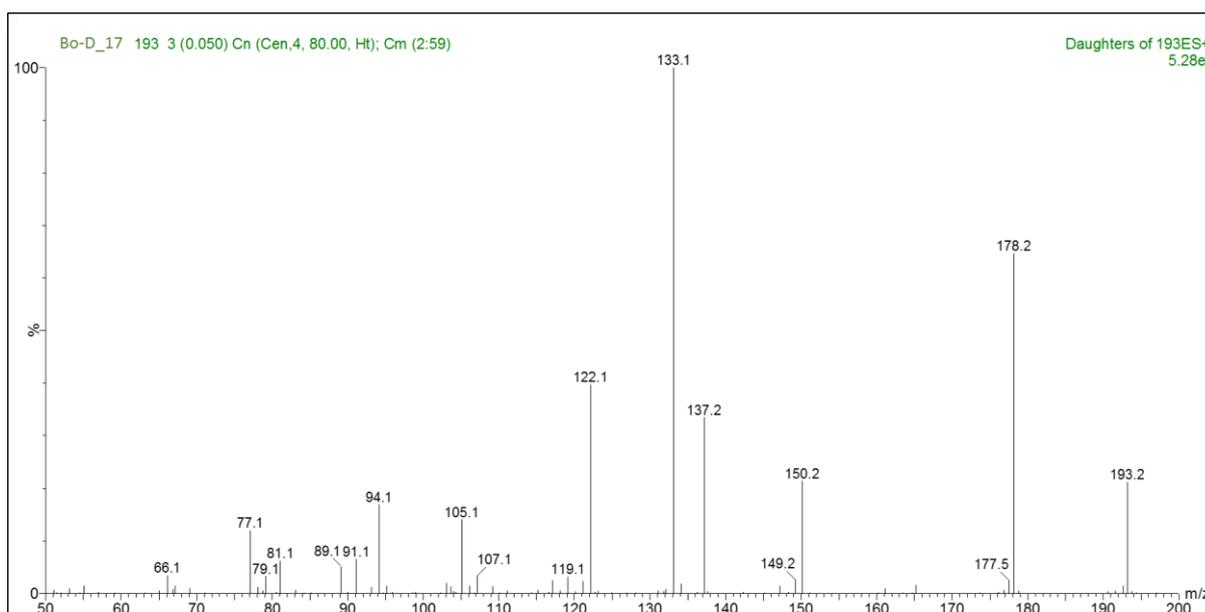
análise do experimento de varredura, no modo positivo de ionização, observou-se a presença do íon protonado de m/z 193 $[M + H]^+$. A fragmentação deste íon, através do experimento de ESI-EM/EM (ESPECTRO 35), originou os íons fragmentos de m/z 178,2, referente a perda da metila e m/z 133,1 referente a perda da molécula de CO_2 o qual é considerado o íon diagnóstico do núcleo das cumarinas. (ZENG et al., 2015).

FIGURA 56 – ESTRUTURA QUÍMICA DO COMPOSTO **Bo-18** (ESCOPOLETINA)



FONTE: O autor (2016).

ESPECTRO 35 – EXPERIMENTO DE ESI-EM/EM (22 eV) DO ÍON DE m/z 193,2 DE **Bo-18**



FONTE: O autor (2016).

A identificação de cumarinas em *Baccharis* não é comum, entretanto, existem alguns relatos da presença da anisocoumarina H, 7-geraniloxicoumarina e diversinina, em *B. darwinii* Hook. & Arn. (KURDELAS et al., 2010) e da esculina em *B. magellanica* (Lam.) Pers. e *B. tricuneata*.(CORDERO et al., 2004).

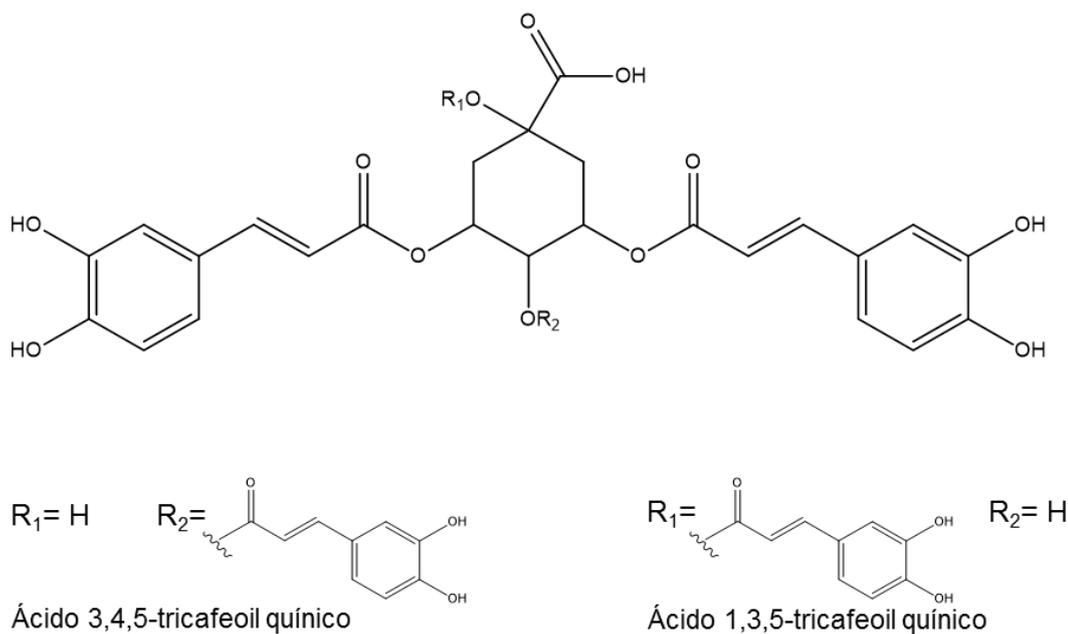
A escopoletina foi relatada apenas em *B. tola* Phil. (MARTÍN et al., 1980), *B. tricuneata* (L.f.) Pers. (WAGNER et al., 1978), *B. megapotamica* (JARVIS et al., 1986), *B. salicifolia* (DEL CORRAL et al., 2012) e *B. burchellii*. (BRESSAN, 2014). A esta

cumarina são atribuídas diversas atividades biológicas, entre elas estão atividade antimicrobiana (GUTKIND et al., 1984; MELO et al., 2001; WENIGER et al., 2005; GNONLONFIN et al., 2011), inibidor da agregação plaquetária (CHAVES et al., 2010), antiviral (CHONG et al., 2002), anti-inflamatória (DING et al., 2008), antiproliferativa (LIU et al., 2001; MANUELE et al., 2006), inibidor da acetilcolinesterase (KHUNNAWUTMANOTHAM et al., 2016) e inibidor da monoamino-oxidase. (BASU et al., 2016).

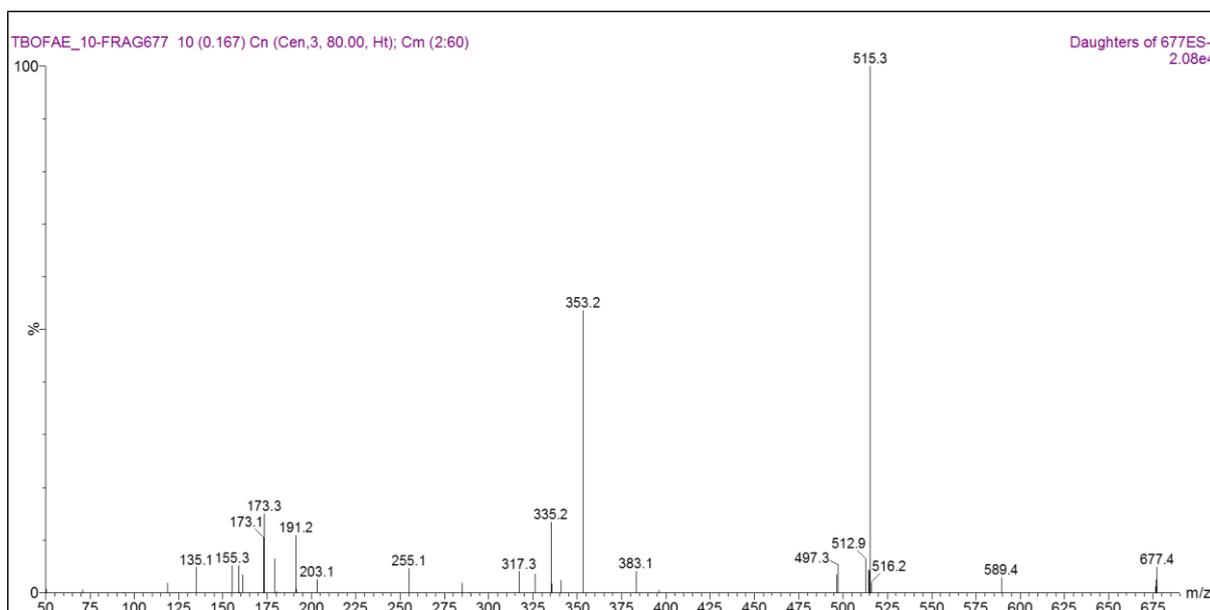
5.3.19 Determinação estrutural de **Bo-19**

A substância **Bo-19** foi identificada na fração Bo-Ae_10 (TABELA 4, pg. 56) como um dos derivados do ácido tricafeoilquínico (ácido 1,3,5-tricafeoilquínico ou ácido 3,4,5-tricafeoilquínico) (FIGURA 57). A fragmentação do íon deprotonado de m/z 677,4 $[M - H]^-$, através do experimento ESI-EM/EM (ESPECTRO 36) no modo negativo de ionização, originou os íons fragmentos de m/z 515,3, característico dos derivados dicafeoilquínicos e referente a perda da primeira unidade $C_9H_7O_3$; m/z 353,2 referente à perda da segunda unidade $C_9H_7O_3$; e do íon de m/z 191,2 referente à perda do ácido quínico ($C_7H_{11}O_6$). Uma característica importante dos derivados tricafeoilquínicos é a presença dos íons de m/z 497,3 referente à perda da unidade cafeoíla e uma molécula de água correspondente à via de fragmentação do ácido 3,5-dicafeoilquínico e de m/z 173,3 referente à perda do ácido quínico e uma molécula de água. (CLIFFORD et al., 2003; SCHRAM et al., 2004; HAN et al., 2009).

FIGURA 57 – ESTRUTURA QUÍMICA DOS DERIVADOS DO ÁCIDO TRICAFEILQUÍNICO

**Bo-19:** Ácido tricafeoilquínico

FONTE: O autor (2016).

ESPECTRO 36 - EXPERIMENTO DE ESI-EM/EM (22 eV) DO ÍON DE m/z 677,4 DE **Bo-19**

FONTE: O autor (2016).

Os derivados do ácido tricafeoilquínico são comuns em Asteraceae, entretanto a identificação destes derivados em misturas complexas enfrenta algumas dificuldades em relação a distinção de seus isômeros de posição, principalmente

quando encontrados em baixa concentração nos extratos vegetais. O desenvolvimento de protocolos para utilização da técnica de CLAE-EM/EM tem auxiliado essa distinção. (CLIFFORD et al., 2003, 2006, 2007). Em *Baccharis* o ácido 3,4,5-tricafeoilquínico foi identificado em *B. trimera* (ABOY et al., 2012). Ao isômero 3,4,5-tricafeoilquínico são atribuídas atividades biológicas importantes, como hipoglicemiante (MATSUI et al., 2002; ISLAM, 2006), anti-HIV (MAHMOOD et al., 1993), antimutagênica e anticarcinogênica. (ISLAM et al., 2003). Segundo Islam (2006) a função fisiológica dos derivados trissubstituídos do ácido cafeoilquínico são mais eficazes em relação aos monossubstituídos.

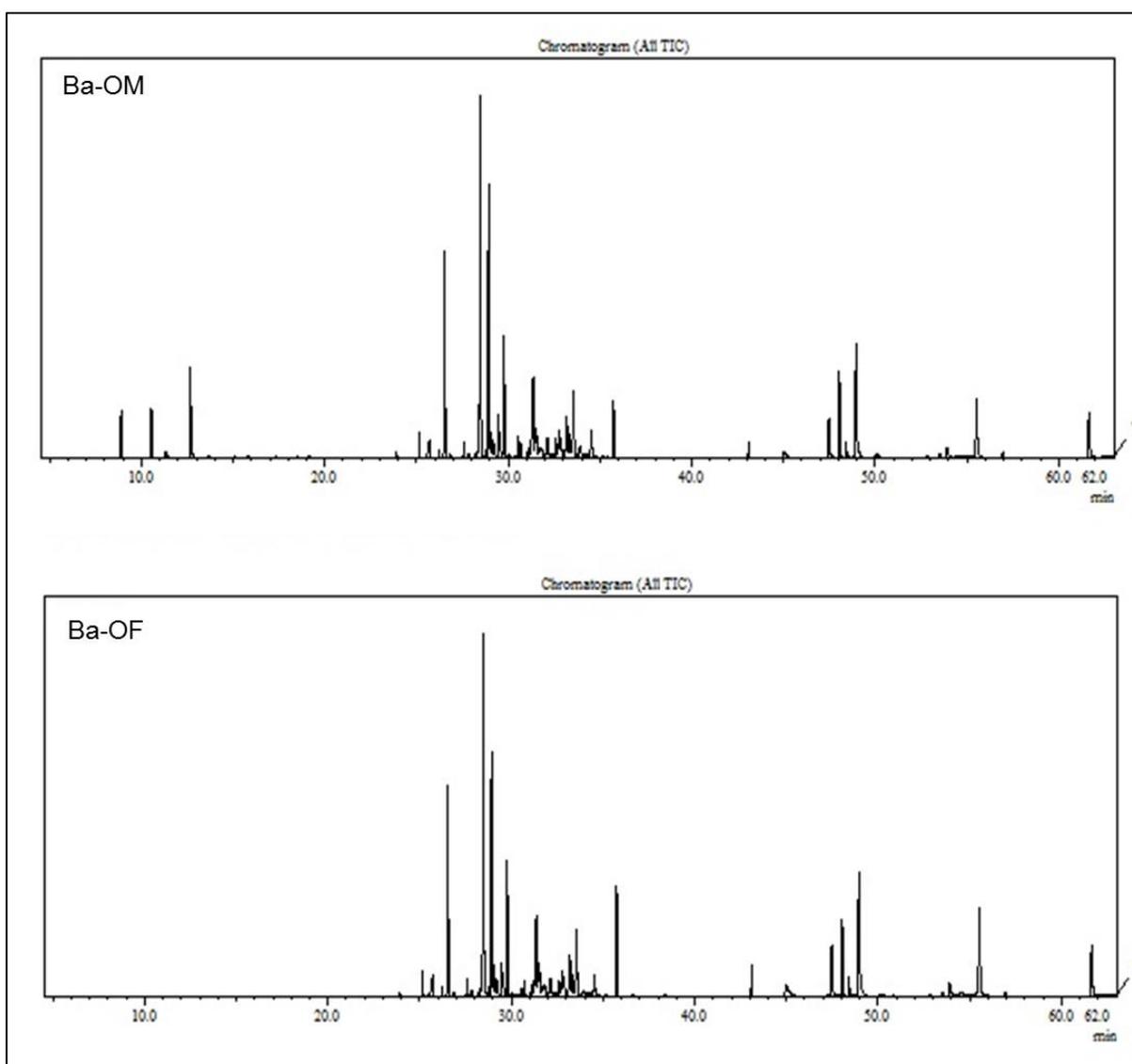
5.4 ANÁLISE DO ÓLEO ESSENCIAL DOS INDIVÍDUOS MASCULINOS E FEMININOS DE *B. aracetubaensis* E *B. organensis*

O óleo essencial das inflorescências de indivíduos masculinos e femininos de *B. aracetubaensis* e *B. organensis* foi extraído por hidrodestilação e analisado por CG-EM. Os óleos obtidos apresentaram coloração amarelo claro e os rendimentos, calculados em relação ao peso seco do material vegetal, foram de 0,2% e 0,1% para *B. aracetubaensis* masculina (Ba-OM) e *B. aracetubaensis* feminina (Ba-OF), respectivamente, e 0,1% para ambos os indivíduos de *B. organensis* (Bo-OM e Bo-OF).

A caracterização dos óleos essenciais foi baseada pela comparação do espectro de massas da substância (EM) e do índice de retenção (IR) com dados reportados na literatura (ADAMS, 2007) e também pela biblioteca NIST (Instituto Nacional de Padrões e Tecnologia). Os cromatogramas de Ba-OM, Ba-OF, Bo-OM e Bo-OF com seus respectivos picos estão demonstrados nas FIGURA 58 e FIGURA 59 e a composição química dos óleos essenciais está descrita na TABELA 24.

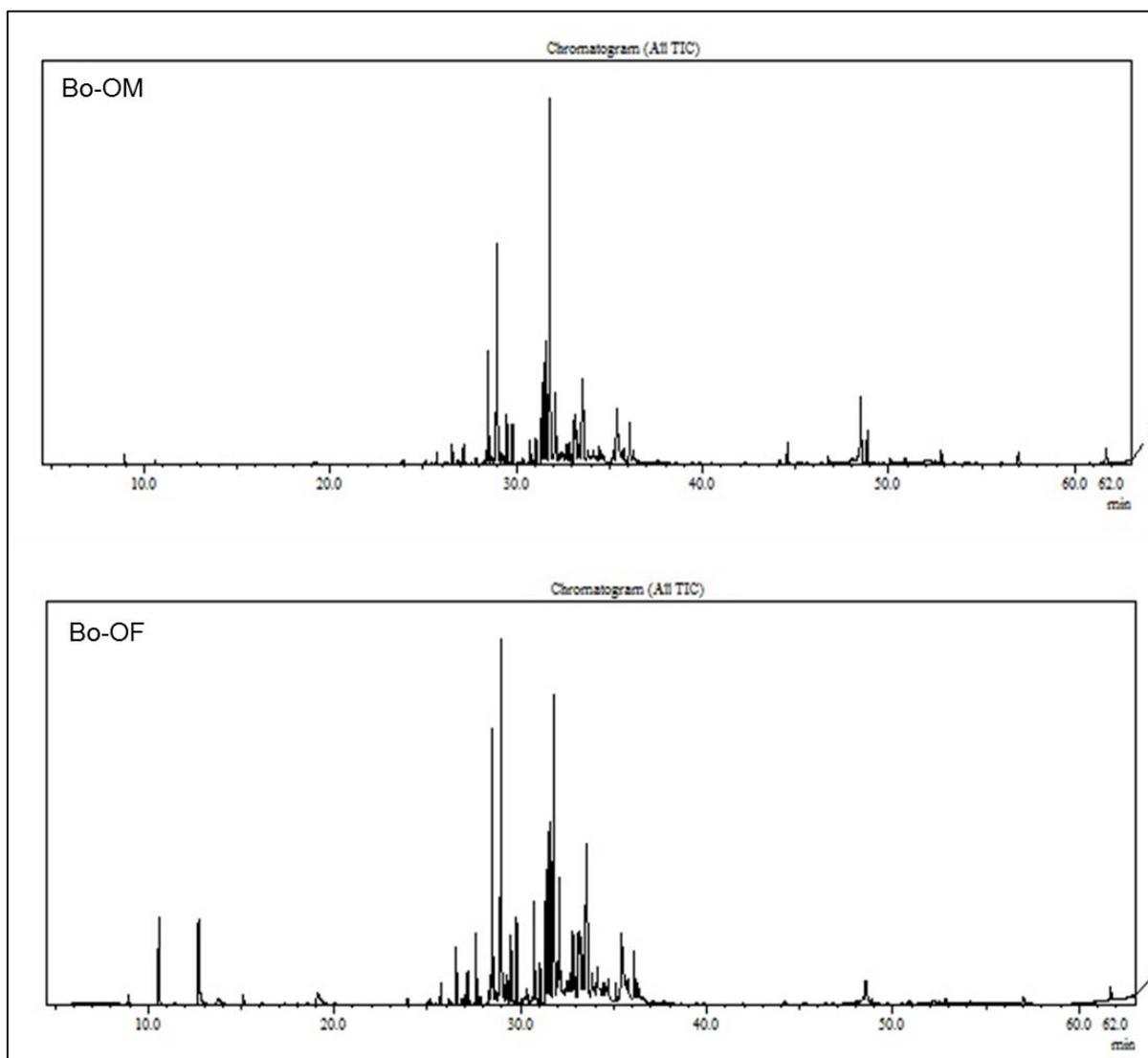
Conforme observado nas FIGURAS 58 e 59 e na TABELA 24 houve diferença na composição química do óleo das inflorescências do indivíduo masculino de *B. aracetubaensis* quando comparado ao indivíduo feminino da mesma espécie; e também observou-se diferença na composição química do óleo das inflorescências do indivíduo feminino de *B. organensis* quando comparado ao indivíduo masculino da mesma espécie.

FIGURA 58 – CROMATOGRAMAS DE Ba-OM E Ba-OF



FONTE: O autor (2016).

FIGURA 59 – CROMATOGRAMAS DE Bo-OM E Bo-OF



FONTE: O autor (2016).

TABELA 25 – COMPOSIÇÃO QUÍMICA DOS ÓLEOS ESSENCIAS DAS INFLORESCÊNCIAS DOS INDIVÍDUOS MASCULINOS E FEMININOS DE *B. aracatubaensis* MALAG. E *B. organensis* BAKER

Compostos	IR ^a	IR ^b	<i>B. aracatubaensis</i>		<i>B. organensis</i>		
			Masc.	Feminina	Masc.	Feminina	
1	α -thujeno	930	929	2,3	-	0,6	0,3
2	Sabineno	970	971	2,5	-	0,3	2,9
3	Limoneno	1024	1024	5,5	-	-	3,6
4	α -terpinoleno	1088	1085	-	-	-	0,5
5	α -terpineol	1189	1189	-	-	-	1,0
7	Ciclosativeno	1371	1370	1,3	1,6	0,2	0,2
8	β -cubebeno	1387	1384	0,4	0,4	-	-
9	β -elemeno	1390	1388	0,4	0,7	0,6	0,6
10	Sibireno	1400	1403	0,4	0,4	-	-
11	β -cariofileno	1418	1414	10,9	12,7	1,1	2,0
12	α - <i>trans</i> -bergamoteno	1431	1430	-	-	0,2	0,3
13	Aromadendreno	1439	1434	-	-	1,2	1,2
14	α -cariofileno	1452	1449	0,8	0,9	0,2	2,5
15	Allo-aromadendreno	1460	1456	-	0,2	0,4	0,2
16	γ -muuroleno	1477	1477	21,4	23,9	6,8	10,4
17	α -amorfenol	1484	1482	-	-	0,3	-
18	Germacreno D	1485	1487	0,2	-	-	-
19	Biciclogermacreno	1494	1493	21,4	21,7	15,2	15,1
20	α -muuroleno	1500	1504	0,9	1,3	0,4	0,7
21	β -bisaboleno	1505	1501	0,6	0,6	-	-
22	δ -cadineno	1523	1521	6,6	8,2	2,1	3,1
23	α -calacoreno	1545	1542	-	-	0,3	0,4
24	Hediacariol	1546	1548	1,0	-	-	-
25	β -germacreno	1556	1554	0,7	0,7	1,4	3,4
26	Globulol	1570	1565	-	-	1,6	1,6
27	Espatuleno	1575	1576	2,9	3,9	4,6	4,5
28	Epiglobulol	1578	1582	-	-	7,4	6,4
39	Viridiflorol	1590	1590	-	-	23,0	11,9
30	Ledol	1602	1602	1,3	1,9	3,9	4,8
31	1- <i>epi</i> -cubenol	1628	1628	1,0	1,2	2,0	2,7
32	<i>cis</i> -Z- α -bisaboleno epóxido	1640	1638	-	-	1,6	1,1
33	τ -muurolol	1642	1642	3,2	3,8	1,2	2,2
34	α -himacheleno	1649	1652	-	-	-	0,2
35	α -cadinol	1654	1654	3,8	4,2	7,5	1,8
36	Shiobunol	1689	1690	2,1	1,1	-	-
37	Eudesm-7(11)-en-4-ol	1700	1696	-	-	1,1	0,9
38	Curcufenol	1718	1723	-	-	5,9	4,8
39	Bisabolona	1749	1749	-	-	2,2	2,2
Monoterpenos				10,3	-	0,9	8,3
Sesquiterpenos				81,3	89,4	92,4	85,2
Total de Compostos Identificados%				91,6	89,4	93,3	93,5

FONTE: O autor (2016).

LEGENDA: IR^a (calc.), índices de retenção relativos calculados para coluna DB-5MS, de acordo com a referência (DOOL, VAN DEN; KRATZ, 1963). IR^b índices de retenção de acordo com literatura. (ADAMS, 2007); -: composto não identificado.

Conforme demonstrado na TABELA 24, foi possível identificar um total de 39 compostos na composição química do óleo essencial de ambas as *Baccharis*, sendo 24 para *B. aracatubaensis* e 32 para *B. organensis*. A composição química dos óleos

essenciais dessas espécies revelou uma alta proporção de sesquiterpenos em machos e fêmeas de *B. aracatubaensis* (81,3% e 100%, respectivamente) e *B. organensis* (92,4% e 85,2%, respectivamente), enquanto os monoterpenos foram minoritários nas amostras analisadas.

Os componentes majoritários identificados nos indivíduos masculinos e femininos de *B. aracatubaensis* foram γ -muuroleno (21,4% e 23,9%), biciclogermacreno (21,4% e 21,7%), β -cariofileno (10,9% e 12,7%), δ -cadineno (6,6% e 8,2%), e limoneno (5,5% apenas para o indivíduo masculino). Já na espécie *B. organensis* foram identificados como majoritários para machos e fêmeas, viridiflorol (23,0% e 11,9%), biciclogermacreno (15,2% e 15,1%), γ -muuroleno (6,8% e 10,4%), epiglobulol (7,4% e 6,4%). Os compostos α -cadinol e curcufenol (7,5% e 5,9%, respectivamente) foram majoritários somente para os indivíduos masculinos de *B. organensis*. Pôde-se observar que os compostos γ -muuroleno e biciclogermacreno estavam presentes em altas concentrações em ambas as espécies, entretanto os compostos curcufenol, α -terpineol, epiglobulol, bisaboleno, eudesm-7(11)-en-4-ol, *cis*-Z- α -bisaboleno epóxi e globulol estavam presentes somente em *B. organensis*. (ARTIGO SUBMETIDO A REVISTA PLOS ONE).

A composição química destes óleos essenciais apresentou diversos constituintes já relatados para outras *Baccharis* (CAMPOS et al., 2016). Os compostos limoneno, β -cariofileno, α -cadinol, biciclogermacreno, espatulenol e viridiflorol foram identificados em *B. uncinella* (AGOSTINI et al., 2005; VANNINI et al., 2012; ASCARI et al., 2012); epiglobulol em *B. trimera* (SIMÕES-PIRES et al., 2005); curcufenol em *B. genistelloides*. (VALDIVIA et al., 2009) e γ -muuroleno e δ -cadineno em *B. dracunculifolia* (MARÓSTICA JUNIOR et al., 2008). Os compostos limoneno, β -cariofileno, γ -muuroleno, biciclogermacreno e espatulenol foram identificados em *B. semiserrata* DC., caracterizando uma composição química muito semelhante à encontrada nas espécies deste estudo. (VANNINI et al., 2012). Além da semelhança química entre as espécies, muitos destes compostos já foram avaliados biologicamente e apresentaram atividades promissoras (CAMPOS et al., 2016), como biciclogermacreno, cubenol e epiglobulol que demonstraram possuir atividade antibacteriana (SOLÍS et al., 2004; YONG-SUK; DONG-HWA, 2004; SANTOS et al., 2013), viridiflorol e curcufenol que apresentaram atividade antifúngica (GIJSEN et al., 1992; SCHER et al., 2004).

Embora existam semelhanças entre as espécies, fatores genéticos, ambientais (temperatura, umidade, luz, solo, latitude, altitude) e fatores técnicos como o horário da coleta e a fase de desenvolvimento da planta na data da coleta podem interferir na constituição química do óleo essencial, levando a diferenças na aparência e diversidade dos vegetais. (KERROLA et al., 1994; BORSATO et al., 2007; BARROS et al., 2009; MORAIS, 2009). Muitos dos compostos voláteis produzidos têm funções estratégicas no vegetal, alguns atuam como um sinal químico para atrair polinizadores, como por exemplo, a mariposa *Manduca sexta* que apresenta células receptoras que captam fortemente certos monoterpenos e sesquiterpenos oxigenados como o geraniol, (*E*)-nerolidol e farnesol. (GERSHENZON; DUDAREVA, 2007) ou ainda, repelir predadores, como por exemplo o monoterpeno linalol produzido por *Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh., que apresenta uma atividade repelente contra o pulgão-verde-do-pessegeiro (*Prunus persicae* (L.) Batsch). (GERSHENZON; DUDAREVA, 2007).

Ao observar a composição e variação química dos óleos de *B. aracatubaensis* e *B. organensis* pode-se relacionar essas diferenças às suas estratégias reprodutivas. Considerando que os polinizadores podem variar durante os meses de floração, a variabilidade química observada pode ser explicada como uma adaptação da planta para atração de diferentes insetos. (STEFANELLO et al., 2006).

5.5 ENSAIOS BIOLÓGICOS

5.5.1 Ensaios de atividade antioxidante

Os radicais livres, ou espécies reativas do oxigênio como são conhecidos, podem reagir de forma aleatória com lípidos, proteínas e ácidos nucleicos celulares. (CUTLER, 1991; BECKMAN; AMES, 1998; MASAKI, 2010; WEN et al., 2013; ZAKHAROVA et al., 2016). Muitos autores têm relacionado essas moléculas ao surgimento de doenças crônicas como câncer (ZAKHAROVA et al., 2016), cardiovasculares (DI PIETRO et al., 2014), degenerativas do sistema nervoso central (MILLER et al., 2014; WOJTUNIK-KULESZA et al., 2016), diabetes (SHARMA et al., 2014), entre outras. (SASTRE, 2003; MASAKI, 2010; YU; KIM, 2014; TANUJA YADAV et al., 2015; HAYASHI; CORTOPASSI, 2015; KRUK et al., 2015). Em função disto, a

busca por moléculas de origem natural, com potencial antioxidante, que possam combater estes radicais livres, vem crescendo nos últimos anos.

A atividade antioxidante dos extratos brutos, frações e óleos essenciais de *B. organensis* e *B. aracatubaensis* foram determinadas pelos métodos de DPPH e ORAC_{FL}, e os resultados estão apresentados na TABELA 25.

No método de ORAC_{FL}, a atividade antioxidante é avaliada através da inibição da oxidação, induzida pelo radical peroxila, por transferência de átomos de hidrogênio. Enquanto que o método DPPH se enquadra na transferência de elétrons. (PRIOR; WU, 2013).

Os resultados obtidos nos ensaios de ORAC_{FL} e DPPH mostraram que todas as amostras apresentaram atividade antioxidante. Contudo, as frações acetato de etila de ambas as espécies (Ba-Ae e Bo-Ae) apresentaram a melhor atividade entre as amostras testadas. Os óleos essenciais demonstraram que no ensaio ORAC_{FL} a capacidade antioxidante encontrada variou entre 536,1 e 1202,2 $\mu\text{mol de TE.g}^{-1}$, que é considerada uma forte capacidade antioxidante (COSTA et al., 2011, 2013), confirmando os resultados qualitativos do ensaio DPPH, onde as amostras apresentaram halos de coloração amarela sobre fundo lilás. Observou-se, também, que os resultados antioxidantes mais elevados foram para o óleo essencial de *B. organensis* (952-1203 $\mu\text{mol de TE.g}^{-1}$) que mostrou uma grande diversidade química.

TABELA 26 – CAPACIDADE ANTIOXIDANTE DETERMINADA PELOS ENSAIOS DPPH E ORAC_{FL} DO ÓLEO ESSENCIAL, EXTRATO BRUTO E FRAÇÕES DE *B. aracatubaensis* E *B. organensis*

Padrão/Amostra	ORAC _{FL} ($\mu\text{mol TE.g}^{-1}$)	DPPH Cl_{50} ($\mu\text{g. mL}^{-1}$)
Ba-F	5239,5 \pm 3,51	23,23 \pm 1,79
Ba-Ae	5371,0 \pm 1,64	5,24 \pm 1,88
Ba-Aq	5144,3 \pm 1,90	-
Bo-F	5088,6 \pm 0,17	35,87 \pm 3,02
Bo-D	4771,5 \pm 3,91	17,89 \pm 2,29
Bo-Ae	5277,6 \pm 3,30	6,92 \pm 1,93
Bo-Aq	2615,0 \pm 2,02	-
Ba-OM	680,6 \pm 1,79	-
Ba-OF	536,1 \pm 5,87	-
Bo-OM	1202,2 \pm 4,77	-
Bo-OF	951,4 \pm 1,04	-
Quercetina** ($\mu\text{mol TER}$)	5,5 \pm 1,50	13,1 \pm 1,8

FONTE: O autor (2016).

LEGENDA: -: não realizado; *Cl₅₀: concentração que inibe 50% do radical DPPH em micrograma por mililitro ($\mu\text{g.mL}^{-1}$); **:Controle positivo; $\mu\text{mol TE.g}^{-1}$: micromol de Trolox equivalentes por grama de extrato ou fração em base seca; os resultados são expressos como média seguido da % coeficiente de variação (CV) dos ensaios em triplicata; $\mu\text{mol TER}$: trolox equivalente relativo.

Observando os resultados obtidos, e baseando-se no conhecimento prévio da constituição química destas frações, podemos sugerir que a capacidade antioxidante está associada, ao menos em parte, à presença dos compostos fenólicos. Estes possuem um ou mais anéis aromáticos com substituintes hidroxílicos que atuam como doadores de elétrons ou de hidrogênios. Muitos autores tem relacionado a presença destes compostos como os responsáveis por esta atividade em vegetais. (SOARES, 2002; HEIM et al., 2002; IMAGA et al., 2009; ARBOS et al., 2010; LI et al., 2014; AICHI-YOUSFI et al., 2016; PEREIRA, E. et al., 2016).

Baccharis tem se destacado pela produção de compostos fenólicos (VERDI et al., 2005; ABAD; BERMEJO, 2006; BRIGHENTE et al., 2007; CAMPOS et al., 2016; ZUCCOLOTTO et al., 2016), o que o torna, um importante objeto de estudos na busca de moléculas bioativas. Muitos trabalhos foram desenvolvidos para se determinar a atividade antioxidante em extratos e frações, principalmente utilizando o método DPPH. (MORAIS et al., 2009; FABRI et al., 2011; SARTOR et al., 2013; ARGOTI et al., 2013; ZIELINSKI et al., 2014; MENEZES et al., 2015; NOGUEIRA SOBRINHO et al., 2016; HOCAYEN et al., 2016). Embora não apresentem a mesma especificidade de outros métodos e os resultados sejam dependentes da concentração de reagentes e do tempo de incubação, este ensaio apresenta uma opção para a avaliação da atividade antioxidante. (TOMEI; SALVADOR, 2007). Além da avaliação pelo método de DPPH, a capacidade antioxidante do gênero foi avaliada, também, pelos métodos da enzima xantina oxidase (BORGIO et al., 2010), ABTS (ácido 2, 2-azinobis-3-etil – benzotiazolína-6-sulfônico) (HOCAYEN et al., 2016), TBARS (substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico) (OLIVEIRA et al., 2004), TRAP (potencial reativo antioxidante total) (OLIVEIRA et al., 2004) e FRAP (poder antioxidante de redução do ferro). (ZIELINSKI et al., 2014; HOCAYEN et al., 2016).

Em contrapartida, os estudos sobre a atividade antioxidante dos óleos essenciais de *Baccharis* são escassos, mesmo tendo-se conhecimento de que as plantas deste gênero são ricas em compostos orgânicos voláteis. (CAMPOS et al., 2016). Entre as espécies analisadas, *B. dracunculifolia* tem alto valor sócio-econômico. Esta espécie é a principal fonte vegetal de própolis verde brasileira (SANTOS et al., 2010; FIGUEIREDO-RINHEL et al., 2013), além de produzir *E*-nerolidol, um composto volátil de alto valor para a indústria de perfume. (VERDI et al., 2005). O óleo de *B. uncinella* mostrou inibição na formação de espécies reativas do oxigênio quando avaliada pelo método da oxidação acoplada de β -caroteno e ácido

linoleico. (FERRONATTO et al., 2006). *Baccharis dracunculifolia* e *B. trinervis* Pers. mostraram inibição na formação de radicais livres quando avaliadas pela oxidação acoplado de β -caroteno e ácido linoleico e ensaios de DPPH. (FERRONATTO et al., 2006; MIRANDA et al., 2016; NOGUEIRA SOBRINHO et al., 2016). Já, o óleo essencial de *B. tridentata* Vahl. não mostrou nenhuma atividade antioxidante significativa contra a oxidação acoplada de β -caroteno e ácido linoleico ou ensaio de DPPH. (SOUZA et al., 2011).

5.5.2 Ensaio antimicrobiano

A avaliação da atividade antimicrobiana dos extratos brutos, frações e óleos essenciais obtidos de *B. aracatubaensis* e *B. organensis* foi realizada pelo método de microdiluição. (VEIGA, 2016). Este se baseia na sucessiva diluição das amostras em placas de 96 poços e submete o micro-organismo a ação do extrato ou fração em estudo.

De acordo com os resultados descritos na TABELA 27, pode-se observar que os extratos e frações de *B. aracatubaensis* e *B. organensis* apresentaram atividade antimicrobiana, que variou de moderada a fraca (CIM 1,1 mg.mL⁻¹ a 26,5 mg.mL⁻¹) (ALIGIANNIS et al., 2001), contra as cepas de *S. aureus* (FIGURA 60), *E. coli* e *P. aeruginosa*, exceto contra a cepa de *C. albicans*, onde as amostras foram inativas (CIM > 1000 mg.mL⁻¹). Os resultados obtidos para concentração inibitória mínima (CIM) estão demonstrados na TABELA 27.

Os melhores resultados foram obtidos com a fração acetato de etila de *B. aracatubaensis* (Ba-Ae) contra as cepas de *S. aureus* e *P. aeruginosa* (CIM 1,1 mg.mL⁻¹), seguido da fração diclorometano de *B. organensis* (Bo-D) contra a cepa *S. aureus* (CIM 2,6 mg.mL⁻¹). Comparando-se os resultados das CIMs destas frações com os extratos brutos frente a estas cepas, podemos inferir que houve um aumento da bioatividade destas. (ZUCCOLOTTO et al., 2016). Um possível aumento na concentração dos compostos ativos após o fracionamento do extrato bruto, pode estar associado a esta atividade. (STERMITZ et al., 2000; MA et al., 2009; BESBES HLILA et al., 2016). Nestas frações foram identificados os compostos cafeato de etila, ácido cafeico, e os derivados dicafeoilquínicos, com exceção do siringaldeído, ácido siringico e ácido *trans*-ferúlico que foram encontrados somente na fração diclorometano.

TABELA 27 – VALORES DE CIM (mg.mL⁻¹) OBTIDOS PARA OS EXTRATOS BRUTOS, FRAÇÕES E ÓLEOS ESSENCIAS DE *B. aracatubaensis* E *B. organensis*

Espécie	Amostra	CIM (mg.mL ⁻¹)			
		<i>S. aureus</i> (ATCC 6538)	<i>E. coli</i> (ATCC 8738)	<i>P. aeruginosa</i> (ATCC 9027)	<i>C. albicans</i> (ATCC 10321)
<i>B. aracatubaensis</i>	Ba-OM	>1000	>1000	>1000	>1000
	Ba-OF	>1000	>1000	>1000	>1000
	Ba-M	8,0	16,0	16,0	>1000
	Ba-F	9,8	19,7	19,7	>1000
	Ba-Ae	1,1	4,5	1,1	>1000
	Ba-Aq	13,2	26,5	26,5	>1000
	<i>B. organensis</i>	Bo-OM	>1000	>1000	>1000
Bo-OF		>1000	>1000	>1000	>1000
Bo-M		3,6	14,4	14,4	>1000
Bo-F		4,0	16,0	16,0	>1000
Bo-D		2,6	10,4	5,2	>1000
Bo-Ae		5,9	11,7	5,9	>1000
Bo-Aq		6,6	26,4	26,4	>1000

FONTE: O autor (2016).

LEGENDA: Controles positivos: cetoconazol (500 µg.mL⁻¹), cloranfenicol (100 µg.mL⁻¹).

Muitos autores tem relatado a atividade antimicrobiana a estes compostos isolados ou identificados em outras *Baccharis*, como *B. dracunculifolia*, *B. articulata* (FABRI et al., 2011; VIVOT et al., 2012), e *B. nitida*. (RANGEL et al., 2001). (COWAN, 1999; REGNAULT-ROGER et al., 2004; ZHU et al., 2004; CUSHNIE; LAMB, 2005, 2011; FORD et al., 2009; ANDRADE et al., 2015; PINHO et al., 2015; ZUCCOLOTTO et al., 2016; CAMPOS et al., 2016; ARASOGLU et al., 2016).

As amostras de óleos essenciais (Ba-OM, Ba-OF, Bo-OM e Bo-OF) apresentaram resultado negativo, para este ensaio de atividade antimicrobiana. Resultados semelhantes também foram encontrados em *B. dracunculifolia* (PARREIRA et al., 2010; MIRANDA et al., 2016) e *B. uncinella* (VANNINI et al., 2012), enquanto *B. semiserrata* mostrou fraca atividade para *S. aureus* (VANNINI et al., 2012). Os resultados negativos apresentados para *B. aracatubaensis* e *B. organensis* podem estar relacionados com a presença minoritária dos monoterpenos na composição do óleo essencial. De acordo com os resultados obtidos por Miranda e colab., os óleos essenciais com maior teor de monoterpenos foram mais eficazes na inibição do crescimento bacteriano que os óleos essenciais ricos em sesquiterpenos. (MIRANDA et al., 2016). Este fato pode estar associado à capacidade destes compostos em atingir o citoplasma da bactéria, através das proteínas dos poros na sua membrana externa. (HELANDER et al., 1998).

6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

A comparação dos extratos **Ba-M**, **Ba-F**, **Bo-M** e **Bo-F** por RMN de ^1H revelou uma grande similaridade entre os indivíduos masculinos e femininos de *B. aracatubaensis* e *B. organensis*. Apesar de estudos relatarem diferenças na composição química entre plantas dióicas, não foi observado diferenças consideráveis, utilizando as técnicas de RMN e Espectrometria de Massas sem estudos de análises multivariadas.

O estudo químico do extrato de **Bo-F** levou a identificação de 19 substâncias, 3-(3',4',5-trimetoxifenil)-prop-2-em-1-ol (**Bo-1**), ácido *trans*-ferúlico (**Bo-2**), 1-etoxietil-3,5-dimetoxi-4-hidroxifenol (**Bo-3**), siringaldeído (**Bo-4**), cafeato de etila (**Bo-5**), cirsimarina (**Bo-6**), hispidulina (**Bo-7**), apigenina (**Bo-8**), ácido *trans*-isoferúlico (**Bo-9**), ferulato de etila (**Bo-10**), ácido siríngico (**Bo-11**), ácido cafeico (**Bo-12**), álcool siríngico (**Bo-13**), 8-Metoxiapigenina (**Bo-14**), cafeato de 4'-O- β -D-glucopiranosil-3',5'-dimetoxibenzila (**Bo-15**), Kaempferol (**Bo-16**), ácido 3,5-dicafeoilquínico (**Bo-17**), escopoletina (**Bo-18**) e ácido tricafeoilquínico (**Bo-19**). Destas, oito substâncias (**Bo-1**, **Bo-3**, **Bo-4**, **Bo-9**, **Bo-10**, **Bo-11**, **Bo-13** e **Bo-14**) estão sendo relatadas pela primeira vez no gênero *Baccharis*, enquanto a substância **Bo-3** é um produto natural novo. As identificações foram realizadas diretamente nos extratos e em frações complexas em misturas, através das técnicas de RMN 1D e 2D e confirmadas através dos experimentos de massas.

Os resultados obtidos estão de acordo com os esperados para *Baccharis*, uma vez que a maioria dos constituintes químicos encontrados, também, foram relatados em outras espécies.

As análises por CG-EM dos óleos essenciais das inflorescências de *B. organensis* (**Bo-OM** e **Bo-OF**) e *B. aracatubaensis* (**Ba-OM** e **Ba-OF**) dos indivíduos femininos e masculinos obtidos por arraste de vapor mostraram que houve diferença na composição química do óleo das inflorescências dos indivíduos masculinos quando comparados aos indivíduos femininos da mesma espécie. Foi possível identificar um total de 25 compostos para *B. aracatubaensis* e 32 para *B. organensis*, com predominância de sesquiterpenos. Os componentes majoritários (masc./fem.) de *B. aracatubaensis* foram γ -muuroleno (21,4/23,9%), biciclogermacreno (21,4/21,7%), β -cariofileno (10,9/12,7%), δ -cadineno (6,6/8,2%) e limoneno (5,5% apenas para o indivíduo masculino). Já na espécie *B. organensis*

foram identificados como majoritários (masc./fem.), viridiflorol (23,0/11,9%), biciclogermacreno (15,2/15,1%), γ -muuroleno (6,8/10,4%), epiglobulol (7,4/6,4%). Os compostos α -cadinol e curcufenol (7,5% e 5,9%, respectivamente) foram majoritários somente para os indivíduos masculinos de *B. organensis*.

Os resultados obtidos nos ensaios biológicos *in vitro* da atividade antioxidante (DPPH e ORAC_{FL}) realizados com os extratos e frações de *B. aracetubaensis* e *B. organensis* mostraram atividade promissora.

A atividade antimicrobiana (técnica de microdiluição) de extratos, frações e óleos essenciais de *B. organensis* e *B. aracetubaensis* foi testada contra as cepas de *S. aureus*, *P. aeruginosa*, *E. coli* e *C. albicans*. Os resultados obtidos para os extratos e frações de ambas as espécies variou de moderada a fraca. Os óleos essenciais, apesar de apresentarem uma alta atividade antioxidante, não mostraram atividade antimicrobiana frente aos micro-organismos testados.

A alta concentração de ácidos fenólicos, principalmente, dos derivados do ácido dicafeoilquínico, nas frações acetato de etila e aquosa de *B. organensis*, confirmam o potencial deste vegetal para investigação de novas atividades biológicas.

7 REFERÊNCIAS

- ABAD, M. J.; BERMEJO, P. *Baccharis* (Compositae): a review update. **Arkivoc**, v. 7, n. 7, p. 76–96, 2006.
- ABDELHALIM, A.; KARIM, N.; CHEBIB, M.; et al. Antidepressant, Anxiolytic and Antinociceptive Activities of Constituents from *Rosmarinus officinalis*. **Journal of pharmacy & pharmaceutical sciences : a publication of the Canadian Society for Pharmaceutical Sciences, Societe canadienne des sciences pharmaceutiques**, v. 18, n. 4, p. 448–59, 2015.
- ABOY, A. L.; APEL, M. A.; DEBENEDETTI, S.; et al. Assay of caffeoylquinic acids in *Baccharis trimera* by reversed-phase liquid chromatography. **Journal of Chromatography A**, v. 1219, p. 147–153, 2012.
- ABREU, P. A. P. DE; ONOFRE, S. B. Atividade Antimicrobiana dos Extratos de *Baccharis dracunculifolia* DC (Asteraceae). **SaBios: Revista de Saúde e Biologia**, v. 5, n. 2, p. 1–6, 2010.
- ADAMS, R. P. **Identification of Essential Oil Components by Gas Chromatography/Mass Spectrometry**. 4th ed. Carol Stream, IL: Allured Publishing Corporation, 2007.
- ADISAKWATTANA, S.; CHANTARASINLAPIN, P.; THAMMARAT, H.; YIBCHOK-ANUN, S. A series of cinnamic acid derivatives and their inhibitory activity on intestinal α -glucosidase. **Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry**, v. 24, n. 5, p. 1194–1200, 2009.
- 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. Elsevier Ireland Ltd.
- AGOSTINI, F.; SANTOS, A. C. A.; ROSSATO, M.; et al. 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.
- AGRA, M. DE F.; FREITAS, P. F. DE; BARBOSA-FILHO, J. M. Synopsis of the plants known as medicinal and poisonous in Northeast of Brazil. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 17, n. 1, p. 114–140, 2007.
- AICHI-YOUSFI, H.; MEDDEB, E.; ROUISSI, W.; et al. Phenolic composition and antioxidant activity of aqueous and ethanolic leaf extracts of six Tunisian species of genus *Capparis* – Capparaceae. **Industrial Crops and Products**, v. 92, p. 218–226, 2016.
- AISSI, O.; BOUSSAID, M.; MESSAOUD, C. Essential oil composition in natural populations of *Pistacia lentiscus* L. from Tunisia: Effect of ecological factors and incidence on antioxidant and antiacetylcholinesterase activities. **Industrial Crops and Products**, v. 91, p. 56–65, 2016.
- AKAIKE, S.; SUMINO, M.; SEKINE, T.; et al. A new ent-Clerodane Diterpene from the Aerial Parts of *Baccharis gaudichaudiana*. **Chemical & Pharmaceutical Bulletin**, v. 51, n. 2, p. 197–199, 2003.
- AL-FARSI, M.; ALASALVAR, C.; MORRIS, A.; BARON, M.; SHAHIDI, F. Comparison of Antioxidant Activity, Anthocyanins, Carotenoids, and Phenolics of Three Native Fresh and Sun-Dried Date (*Phoenix dactylifera* L.) Varieties Grown in Oman. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 53, n. 19, p. 7592–7599, 2005.

AL-MUSAYEIB, N.; MOHAMED, G.; IBRAHIM, S.; ROSS, S. New Thiophene and Flavonoid from *Tagetes minuta* Leaves Growing in Saudi Arabia. **Molecules**, v. 19, n. 3, p. 2819–2828, 2014.

AL-NUMAIR, K. S.; VEERAMANI, C.; ALSAIF, M. A.; CHANDRAMOHAN, G. Influence of kaempferol, a flavonoid compound, on membrane-bound ATPases in streptozotocin-induced diabetic rats. **Pharmaceutical Biology**, v. 53, n. 9, p. 1372–1378, 2015.

ALBUQUERQUE, U. P.; MEDEIROS, P. M. DE; RAMOS, M. A.; et al. Are ethnopharmacological surveys useful for the discovery and development of drugs from medicinal plants? **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 24, n. 2, p. 110–115, 2014.

ALCARÁZ, L. .; BLANCO, S. .; PUIG, O. .; TOMÁS, F.; FERRETTI, F. Antibacterial Activity of Flavonoids Against Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* strains. **Journal of Theoretical Biology**, v. 205, n. 2, p. 231–240, 2000.

ALIGIANNIS, N.; KALPOUTZAKIS, E.; MITAKU, S.; CHINO, I. B. Composition and antimicrobial activity of the essential oils of two *Origanum* species. **Journal of agricultural and food chemistry**, v. 49, n. 9, p. 4168–4170, 2001.

ALLAOUA, Z.; BENKHALED, M.; DIBI, A.; et al. Chemical composition, antioxidant and antibacterial properties of *Pteranthus dichotomus* from Algerian Sahara. **Natural Product Research**, v. 30, n. 6, p. 700–704, 2016.

ALONSO, J. . **Tratado de fitomedicina: bases clínicas y farmacológicas**. 1st ed. Buenos Aires, 1998.

ALVARENGA, S. A. .; FERREIRA, M. J. .; EMERENCIANO, V. .; CABROL-BASS, D. Chemosystematic studies of natural compounds isolated from Asteraceae: characterization of tribes by principal component analysis. **Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems**, v. 56, n. 1, p. 27–37, 2001.

ALVES, C. T.; FERREIRA, I. C.; BARROS, L.; et al. Antifungal activity of phenolic compounds identified in flowers from North Eastern Portugal against *Candida* species. **Future Microbiology**, v. 9, n. 2, p. 139–146, 2014.

ALWAHSH, M. A. A.; KHAIRUDDEA, M.; CHONG, W. K. Chemical Constituents and Antioxidant Activity of *Teucrium barbeyanum* Aschers. **RECORDS OF NATURAL PRODUCTS**, v. 9, n. 1, p. 159–163, 2015.

AMEDDAH, S.; DENDOUGUI, H.; MENAD, A.; et al. Flavonoids from *Chrysanthemum fuscatum*. **Chemistry of Natural Compounds**, v. 43, n. 2, p. 210–211, 2007.

AN, R.-B.; SOHN, D.-H.; JEONG, G.-S.; KIM, Y.-C. In Vitro hepatoprotective compounds from *Suaeda glauca*. **Archives of Pharmacal Research**, v. 31, n. 5, p. 594–597, 2008.

ANDRADE, M.; BENFEITO, S.; SOARES, P.; et al. Fine-tuning of the hydrophobicity of caffeic acid: studies on the antimicrobial activity against *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*. **RSC Adv.**, v. 5, n. 66, p. 53915–53925, 2015.

ARASOGLU, T.; DERMAN, S.; MANSUROGLU, B. Comparative evaluation of antibacterial activity of caffeic acid phenethyl ester and PLGA nanoparticle formulation by different methods. **Nanotechnology**, v. 27, n. 2, p. 25103, 2016.

ARAUJO, 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, n. 4, p. 483–490, 2003.

- ARBOS, K. A.; FREITAS, R. J. S. DE; STERTZ, S. C.; DORNAS, M. F. Atividade antioxidante e teor de fenólicos totais em hortaliças orgânicas e convencionais. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 30, n. 2, p. 501–506, 2010.
- AREND, D. P.; SANTOS, T. C. DOS; CAZAROLLI, L. H.; et al. In vivo potential hypoglycemic and in vitro vasorelaxant effects of *Cecropia glaziovii* standardized extracts. **Brazilian Journal of Pharmacognosy**, v. 25, n. 5, p. 473–484, 2015.
- ARGOTI, J. C.; LINARES-PALOMINO, P. J.; SALIDO, S.; et al. On-Line Activity Screening for Radical Scavengers from *Baccharis chilco*. **Chemistry & Biodiversity**, v. 10, n. 2, p. 189–197, 2013.
- ARTHUR CRONQUIST. **The evolution and classification of flowering plants**. 2nd ed. New York: New York Botanical Garden Pr Dept, 1988.
- ASCARI, J.; SENS, S. L.; NUNES, D. S.; et al. Sedative effects of essential oils obtained from *Baccharis uncinella*. **Pharmaceutical Biology**, v. 50, n. 1, p. 113–119, 2012.
- ATIF, M.; ALI, I.; HUSSAIN, A.; et al. Pharmacological assessment of hispidulin--a natural bioactive flavone. **Acta poloniae pharmaceutica**, v. 72, n. 5, p. 829–42, 2015.
- ÁVILA, H. P.; SMÂNIA, E. DE F. A.; MONACHE, F. D.; SMÂNIA, A. Structure–activity relationship of antibacterial chalcones. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**, v. 16, n. 22, p. 9790–9794, 2008.
- AYLTHON BRANDÃO JOLY. **Botânica: Introdução a Taxonomia Vegetal**. 13th ed. São Paulo, 2002.
- AYOUNI, K.; BERBOUCHA-RAHMANI, M.; KIM, H. K.; et al. Metabolomic tool to identify antioxidant compounds of *Fraxinus angustifolia* leaf and stem bark extracts. **Industrial Crops and Products**, v. 88, p. 65–77, 2016.
- AZOFEIFA, G.; QUESADA, S.; BOUDARD, F.; et al. Antioxidant and Anti-inflammatory in Vitro Activities of Phenolic Compounds from Tropical Highland Blackberry (*Rubus adenotrichos*). **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 61, n. 24, p. 5798–5804, 2013.
- BACHIEGA, T. F.; SOUSA, J. P. B. DE; BASTOS, J. K.; SFORCIN, J. M. Immunomodulatory/anti-inflammatory effects of *Baccharis dracunculifolia* leaves. **Natural Product Research**, v. 27, n. 18, p. 1646–1650, 2013.
- BAKER, J. G. Compositae - III. Asteroidae. In: C. F. P. MARTIUS; A. W. EICHLER (Eds.); **Flora Brasiliensis**. v. 6, p.1–100, 1882. München, Wien and Leipzig.
- BALACHANDRAN, C.; EMI, N.; ARUN, Y.; et al. In vitro anticancer activity of methyl caffeate isolated from *Solanum torvum* Swartz. fruit. **Chemico-Biological Interactions**, v. 242, p. 81–90, 2015.
- BANSKOTA, A. H.; NAGAOKA, T.; SUMIOKA, L. Y.; et al. Antiproliferative activity of the Netherlands propolis and its active principles in cancer cell lines. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 80, n. 1, p. 67–73, 2002.
- BARISON, A.; BIAVATTI, M. W. Aplicação de técnicas bidimensionais de RMN na investigação de produtos naturais. In: G. H. B. . SOUZA; J. C. P. . MELLO; N. P. LOPES (Eds.); **Revisões em processos e técnicas avançadas de isolamento e determinação estrutural de ativos de plantas medicinais**. p.255–288, 2012. Ouro Preto - MG: UFOP.
- BARREIRO, E. J.; BOLZANI, V. D. S. Biodiversidade: Fonte Potencial para a Descoberta de Fármacos. **Química Nova**, v. 32, n. 3, p. 679–688, 2009.

- BARROS, F. M. C. DE; ZAMBARDA, E. DE O.; HEINZMANN, B. M.; MALLMANN, C. A. Variabilidade sazonal e biossíntese de terpenóides presentes no óleo essencial de *Lippia alba* (Mill.) N. E. Brown (Verbenaceae). **Química Nova**, v. 32, n. 4, p. 861–867, 2009.
- BARROSO, G. M. Compositae, Subtribo *Baccharidinae* Hoffman. Estudo das espécies ocorrentes no Brasil. **Rodriguésia**, v. 28, n. 40, p. 1–273, 1976.
- BARROSO, G. M.; BUENO, O. L. **Compostas - Subtribo: Baccharidinae**. Itajai-SC: Ministério do Meio Ambiente, 2002.
- BARROSO, M.; BARROS, L.; RODRIGUES, M. Â.; et al. *Stevia rebaudiana* Bertoni cultivated in Portugal: A prospective study of its antioxidant potential in different conservation conditions. **Industrial Crops and Products**, v. 90, p. 49–55, 2016.
- BASU, M.; MAYANA, K.; XAVIER, S.; BALACHANDRAN, S.; MISHRA, N. Effect of scopoletin on monoamine oxidases and brain amines. **Neurochemistry International**, v. 93, p. 113–117, 2016.
- BAWA, K. S. Evolution of Dioecy in Flowering Plants. **Annual Review of Ecology and Systematics**, v. 11, n. 1, p. 15–39, 1980.
- BAYER, R. J.; STARR, J. R. Tribal Phylogeny of the Asteraceae Based on Two Non-Coding Chloroplast Sequences, the trnL Intron and trnL/trnF Intergenic Spacer. **Annals of the Missouri Botanical Garden**, v. 85, n. 2, p. 242–256, 1998.
- BECK, S.; STENGEL, J. Mass spectrometric imaging of flavonoid glycosides and biflavonoids in *Ginkgo biloba* L. **Phytochemistry**, v. 130, p. 201–206, 2016.
- BECKMAN, K. B.; AMES, B. N. The free radical theory of aging matures. **Physiol. Rev.**, v. 78, n. 2, p. 547–581, 1998.
- BEER, M. F.; GERMAN, E. O.; GIBERTI, G.; et al. Trypanocidal and leishmanicidal activities of flavonoids isolated from *Stevia satureiifolia* var. *satireiifolia*. **Pharmaceutical biology**, v. 54, n. 10, p. 1–8, 2016.
- BENEDEK, B.; KOPP, B.; MELZIG, M. F. *Achillea millefolium* L. s.1. – Is the anti-inflammatory activity mediated by protease inhibition? **Journal of Ethnopharmacology**, v. 113, n. 2, p. 312–317, 2007.
- BENYAHIA, S.; BENAYACHE, F.; BENAYACHE, S. Flavonoids from *Artemisia arborescens*. **Chemistry of Natural Compounds**, v. 49, n. 6, p. 1132–1133, 2014.
- BERETTA, M. E.; FERNANDES, A. C.; SCHNEIDER, A.; RITTER, M. R. A família Asteraceae no Parque Estadual de Itapuã, Viamão, Rio Grande do Sul, Brasil. **Revista Brasileira de Biociências**, v. 6, n. 3, p. 189–216, 2008.
- BESBES HLILA, M.; MOSBAH, H.; MAJOUJI, K.; et al. Antimicrobial Activity of *Scabiosa arenaria* Forssk . Extracts and Pure Compounds Using Bioguided Fractionation. **Chemistry & Biodiversity**, p. 1262–1272, 2016.
- BESSADA, S. M. F.; BARREIRA, J. C. M.; BARROS, L.; FERREIRA, I. C. F. R.; OLIVEIRA, M. B. P. P. Phenolic profile and antioxidant activity of *Coleostephus myconis* (L.) Rchb.f.: An underexploited and highly disseminated species. **Industrial Crops and Products**, v. 89, p. 45–51, 2016.
- BESTEN, M. A.; JASINSKI, V. C. G.; COSTA, Â. G. L. C. DE; et al. 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, n. 6, p. 1041–1047, 2012.
- BESTEN, M. A.; NUNES, D. S.; GRANATO, D.; et al. Chemical Composition

of Essential Oils from Cladodes and Inflorescences from Male and Female Specimens of *Baccharis milleflora*. **Journal of Essential Oil Bearing Plants**, v. 17, n. 5, p. 899–905, 2014.

BESTEN, M. A.; NUNES, D. S.; WISNIEWSKI JR., A.; et al. 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. **Química Nova**, v. 36, n. 8, p. 1096–1100, 2013.

BHATT, B. Chemical constituents of *Solanum xanthocarpum*. **Journal of Chemical and Pharmaceutical Research**, v. 3, n. 3, p. 176–181, 2011.

BOCCO, B. M.; FERNANDES, G. W.; LORENA, F. B.; et al. Combined treatment with caffeic and ferulic acid from *Baccharis uncinella* C. DC. (Asteraceae) protects against metabolic syndrome in mice. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v. 49, n. 3, p. 3–9, 2016.

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. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 20, n. 1, p. 12–17, 2010.

BORKAR, V.; KUMARAN, S.; SENTHIL, K.; HEMANT, G. Antidiabetic activity and isolation of bioactive. **Indonesian Journal Pharmaceutical**, v. 26, n. 4, p. 185–191, 2015.

BORRÁS-LINARES, I.; STOJANOVIĆ, Z.; QUIRANTES-PINÉ, R.; et al. *Rosmarinus Officinalis* Leaves as a Natural Source of Bioactive Compounds. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 15, n. 11, p. 20585–20606, 2014.

BORSATO, A. V.; DONI-FILHO, L.; CÔCCO, L. C.; PAGLIA, E. C. Rendimento e composição química do óleo essencial da camomila [*Chamomilla recutita* (L.) Rauschert] submetida à secagem à 70° C. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 28, n. 4, p. 635, 2007.

BOSI, C. F.; ROSA, D. W.; GROUGNET, R.; et al. Pyrrolizidine alkaloids in medicinal tea of *Ageratum conyzoides*. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 23, n. 3, p. 425–432, 2013.

BOUNTAGKIDOU, O. G.; ORDOUDI, S. A.; TSIMIDOU, M. Z. Structure–antioxidant activity relationship study of natural hydroxybenzaldehydes using in vitro assays. **Food Research International**, v. 43, n. 8, p. 2014–2019, 2010.

BOWERS, M. D.; STAMP, N. E. Effects of Plant Age, Genotype and Herbivory on Plantago Performance and Chemistry. **Ecology**, v. 74, n. 6, p. 1778–1791, 1993.

BRAHMI, F.; ABDENOUR, A.; BRUNO, M.; et al. Chemical composition and in vitro antimicrobial, insecticidal and antioxidant activities of the essential oils of *Mentha pulegium* L. and *Mentha rotundifolia* (L.) Huds growing in Algeria. **Industrial Crops and Products**, v. 88, p. 96–105, 2016.

BRASIL. Relação Nacional de Plantas Mediciniais de interesse ao SUS (RENISUS). Disponível em: <<http://portal.saude.gov.br/portal/arquivos/pdf/RENISUS.pdf>>. Acesso em: 30/7/2015.

BRASIL. **Farmacopéia Brasileira - V. II**. 5th ed. Brasília: Fiocruz, 2010a.

BRASIL. **Farmacopéia Brasileira - V. I**. 5th ed. Brasília: Fiocruz, 2010b.

BRASIL. MINISTÉRIO DO MEIO AMBIENTE. **Biomass**.

BRAVO, L. Polyphenols: Chemistry, Dietary Sources, Metabolism, and Nutritional Significance. **Nutrition Reviews**, v. 56, n. 11, p. 317–333, 1998.

BRAZ FILHO, R. Contribuição da fitoquímica para o desenvolvimento de um país emergente. **Química Nova**, v. 33, n. 1, p. 229–239, 2010.

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

BRESSAN, J. **CONSTITUINTES QUÍMICOS, ATIVIDADE ANTIOXIDANTE E CITOTÓXICA DAS PARTES AÉREAS DE *Baccharis burchellii* Baker (ASTERACEAE)**, 2014. Universidade Federal do Paraná.

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, n. 2, p. 156–161, 2007.

BUDEL, J. M.; DUARTE, M. R.; SANTOS, C. A. M. Stem morpho-anatomy of *Baccharis cylindrica* (Less.) DC. (Asteraceae). **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v. 40, n. 1, p. 93–99, 2004.

BÚFALO, M. C.; FIGUEIREDO, A. S.; SOUSA, J. P. B. DE; et al. Antipoliovirus activity of *Baccharis dracunculifolia* and propolis by cell viability determination and real-time PCR. **Journal of Applied Microbiology**, v. 107, n. 5, p. 1669–1680, 2009.

BUJOR, O.-C.; BOURVELLEC, C. LE; VOLF, I.; POPA, V. I.; DUFOUR, C. Seasonal variations of the phenolic constituents in bilberry (*Vaccinium myrtillus* L.) leaves, stems and fruits, and their antioxidant activity. **Food Chemistry**, v. 213, p. 58–68, 2016.

BYLKA, W.; MATLAWSKA, I.; PILEWSKI, N. Natural Flavonoids as Antimicrobial Agents. **J Am Nutraceutical Assoc**, v. 7, n. 2, p. 24–31, 2004.

CABRAL, E. C.; CRUZ, G. F. DA; SIMAS, R. C.; et al. Typification and quality control of the Andiroba (*Carapa guianensis*) oil via mass spectrometry fingerprinting. **Analytical Methods**, v. 5, n. 6, p. 1385, 2013.

CALIXTO, J. B. Efficacy, safety, quality control, marketing and regulatory guidelines for herbal medicines (phytotherapeutic agents). **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v. 33, n. 2, p. 179–189, 2000.

CAMPOS, A. C. T. DE; RADUNZ, L. L.; RADÜNZ, A. L.; et al. Atividade repelente e inseticida do óleo essencial de carqueja doce sobre o caruncho do feijão. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v. 18, n. 8, p. 861–865, 2014.

CAMPOS, F. R.; BRESSAN, J.; JASINSKI, V. C. G.; et al. *Baccharis* (Asteraceae): Chemical Constituents and Biological Activities. **Chemical and Biodiversity**, v. 13, p. 1–17, 2016.

CANAS, S.; CASANOVA, V.; PEDRO BELCHIOR, A. Antioxidant activity and phenolic content of Portuguese wine aged brandies. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 21, n. 8, p. 626–633, 2008.

CANESCHI, C.; MARTINS, F.; LARRUDÉ, D.; et al. *In vitro* Antifungal Activity of *Baccharis trimera* Less (DC) Essential Oil against Dermatophytes. **Tropical Journal of Pharmaceutical Research**, v. 14, n. 11, p. 2083, 2015.

CARNEIRO, M. A. A.; FERNANDES, G. W.; SOUZA, O. F. F. DE; SOUZA, W. V. M. Sex-mediated herbivory by galling insects on *Baccharis concinna* (Asteraceae). **Revista Brasileira de Entomologia**, v. 50, n. 3, p. 394–398, 2006.

CECHINEL FILHO, V.; YUNES, R. A. Estratégias para a obtenção de compostos farmacologicamente ativos a partir de plantas medicinais: conceitos sobre modificação estrutural para otimização da atividade. **Química Nova**, v. 21, n. 1, p. 99–105, 1998.

ÇELİK, S. E.; TUFAN, A. N.; BEKDEŞER, B.; et al. Identification and Determination of Phenolics in *Lamiaceae* Species by UPLC-DAD-ESI-MS/MS. **Journal of Chromatographic Science**, v. 55, n. 3, p. 291–300, 2017.

CHAN, W.-K.; TAN, L.; CHAN, K.-G.; LEE, L.-H.; GOH, B.-H. Nerolidol: A Sesquiterpene Alcohol with Multi-Faceted Pharmacological and Biological Activities. **Molecules**, v. 21, n. 5, p. 529, 2016.

CHANG, R.; WANG, C.; ZENG, Q.; et al. Chemical constituents of the stems of *Celastrus rugosus*. **Archives of Pharmacal Research**, v. 36, n. 11, p. 1291–1301, 2013.

CHAROENYING, P.; TEERARAK, M.; LAOSINWATTANA, C. An allelopathic substance isolated from *Zanthoxylum limonella* Alston fruit. **Scientia Horticulturae**, v. 125, n. 3, p. 411–416, 2010.

CHAVES, D. S. DE A.; COSTA, S. S.; ALMEIDA, A. P. DE; et al. Metabólitos secundários de origem vegetal: uma fonte potencial de fármacos antitrombóticos. **Química Nova**, v. 33, n. 1, p. 172–180, 2010.

CHEN, B.; YUE, R.; YANG, Y.; et al. Protective Effects of (E)-2-(1-Hydroxyl-4-Oxocyclohexyl) Ethyl Caffeine Against Hydrogen Peroxide-Induced Injury in PC12 Cells. **Neurochemical Research**, v. 40, n. 3, p. 531–541, 2015.

CHEN, J.-J.; HUANG, S.-Y.; DUH, C.-Y.; et al. A New Cytotoxic Amide from the Stem Wood of *Hibiscus tiliaceus*. **Planta Medica**, v. 72, n. 10, p. 935–938, 2006.

CHEN, Y.-F.; TSAI, H.-Y.; WU, T.-S. Anti-Inflammatory and Analgesic Activities from Roots of *Angelica pubescens*. **Planta Medica**, v. 61, n. 1, p. 2–8, 1995.

CHEPLOGOI, P. K.; MULHOLLAND, D. A.; COOMBES, P. H.; RANDRIANARIVELOJOSIA, M. An azole, an amide and a limonoid from *Vepris uguenensis* (Rutaceae). **Phytochemistry**, v. 69, n. 6, p. 1384–1388, 2008.

CHI, J.; BAO-CAI, L.; BO-TAO, Y.; ZHANG, M. Chemical Components and Their Bioactivities of *Artemisia austro-yunnanensis*. **Journal of the Chemical Society of Pakistan**, v. 38, n. 3, p. 533–537, 2016.

CHIANG, Y.-M.; LO, C.-P.; CHEN, Y.-P.; et al. Ethyl caffeate suppresses NF- κ B activation and its downstream inflammatory mediators, iNOS, COX-2, and PGE 2 in vitro or in mouse skin. **British Journal of Pharmacology**, v. 146, n. 3, p. 352–363, 2005.

CHIJI, H.; TANAKA, S.; IZAWA, M. Phenolic Germination Inhibitors in the Seed Balls of Red Beet (*Beta vulgaris* L. var. *rubra*). **Agricultural and Biological Chemistry**, v. 44, n. 1, p. 205–207, 1980.

CHO, J.-Y.; KIM, J.; LEE, Y.; et al. Four New Dicafeoylquinic Acid Derivatives from Glasswort (*Salicornia herbacea* L.) and Their Antioxidative Activity. **Molecules**, v. 21, n. 8, p. 1097, 2016.

CHONG, J.; BALTZ, R.; SCHMITT, C.; et al. Downregulation of a pathogen-responsive tobacco UDP-Glc:phenylpropanoid glucosyltransferase reduces scopoletin glucoside accumulation, enhances oxidative stress, and weakens virus resistance. **The Plant cell**, v. 14, n. 5, p. 1093–107, 2002.

CHUNG, C.-P.; HSIA, S.-M.; LEE, M.-Y.; et al. Gastroprotective Activities of Adlay (*Coix lachryma-jobi* L. var. *ma-yuen* Stapf) on the Growth of the Stomach Cancer AGS Cell Line and Indomethacin-Induced Gastric Ulcers. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 59, n. 11, p. 6025–6033, 2011.

CIMANGA, K.; KAMBU, K.; TONA, L.; et al. Correlation between chemical composition and antibacterial activity of essential oils of some aromatic medicinal plants growing in the Democratic Republic of Congo. **Journal of**

Ethnopharmacology, v. 79, n. 2, p. 213–220, 2002.

CIOANCA, O.; HANCIANU, M.; MIRCEA, C.; TRIFAN, A.; HRITCU, L. Essential oils from Apiaceae as valuable resources in neurological disorders: *Foeniculi vulgare aetheroleum*. **Industrial Crops and Products**, v. 88, p. 51–57, 2016.

CLIFFORD, M. N.; JOHNSTON, K. L.; KNIGHT, S.; KUHNERT, N. Hierarchical Scheme for LC-MS n Identification of Chlorogenic Acids. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 51, n. 10, p. 2900–2911, 2003.

CLIFFORD, M. N.; KNIGHT, S.; SURUCU, B.; KUHNERT, N. Characterization by LC-MS n of Four New Classes of Chlorogenic Acids in Green Coffee Beans: Dimethoxycinnamoylquinic Acids, Diferuloylquinic Acids, Caffeoyl-dimethoxycinnamoylquinic Acids, and Feruloyl-dimethoxycinnamoylquinic Acids. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 54, n. 6, p. 1957–1969, 2006.

CLIFFORD, M. N.; WU, W.; KIRKPATRICK, J.; KUHNERT, N. Profiling the Chlorogenic Acids and Other Caffeic Acid Derivatives of Herbal Chrysanthemum by LC-MS n. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 55, n. 3, p. 929–936, 2007.

CLOSE, D. C.; MCARTHUR, C. Rethinking the role of many plant phenolics - protection from photodamage not herbivores? **Oikos**, v. 99, n. 1, p. 166–172, 2002.

CLOSE, D. C.; MCARTHUR, C.; HAGERMAN, A. E.; DAVIES, N. W.; BEADLE, C. L. Phenolic acclimation to ultraviolet-A irradiation in *Eucalyptus nitens* seedlings raised across a nutrient environment gradient. **Photosynthetica**, v. 45, n. 1, p. 36–42, 2007.

COBOS, M. I.; RODRIGUEZ, J. L.; LAS M. OLIVA, M. DE; et al. Composition and Antimicrobial Activity of the Essential Oil of *Baccharis notoserghila*. **Planta Medica**, v. 67, n. 1, p. 84–86, 2001.

CONKERTON, E. J.; CHAPITAL, D. C. High-performance liquid chromatography separation of the cis-trans isomers of cinnamic acid derivatives. **Journal of Chromatography A**, v. 281, p. 326–329, 1983.

COPPO, E.; MARCHESE, A. Antibacterial activity of polyphenols. **Current Pharmaceutical Biotechnology**, v. 15, n. 4, p. 380–90, 2014.

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, n. 2, p. 225–227, 2004.

CORRADINI, E.; FOGLIA, P.; GIANSAANTI, P.; et al. Flavonoids: chemical properties and analytical methodologies of identification and quantitation in foods and plants. **Natural Product Research**, v. 25, n. 5, p. 469–495, 2011.

CORRAL, S. DEL; CUFFINI, S. L.; CARDOSO, S. G.; BORTOLUZZID, A. J.; PALACIOS, S. M. Phytotoxic halimanes isolated from *Baccharis salicifolia* (Ruiz & Pad.) Pers. **Phytochemistry Letters**, v. 5, n. 2, p. 280–283, 2012. Phytochemical Society of Europe.

CORTADI, A.; SAPIO, O. DI; CARGO, J.; et al. Anatomical Studies of *Baccharis artriculata*, *Baccharis crispa* and *Baccharis trimeria*, “Carquejas” Used in Folk Medicine. **Pharmaceutical Biology**, v. 37, n. 5, p. 357–365, 1999.

COSTA, E. V.; DUTRA, L. M.; JESUS, H. C. R. DE; et al. Chemical Composition and Antioxidant, Antimicrobial, and Larvicidal Activities of the Essential Oils of *Annona salzmannii* and *A. pickelli* (Annonaceae). **Natural Product Communications**, v. 6, n. 6, p. 907–912, 2011.

COSTA, E. V.; SILVA, T. B. DA; MENEZES, L. R. A.; et al. Biological

activities of the essential oil from the leaves of *Xylopi laevigata* (Annonaceae). **Journal of Essential Oil Research**, v. 25, n. 3, p. 179–185, 2013.

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, n. 7, p. 819–825, 1998.

COWAN, M. M. Plant products as antimicrobial agents. **Clinical microbiology reviews**, v. 12, n. 4, p. 564–82, 1999.

CRANKSHAW, D. R.; LANGENHEIM, J. H. Variation in terpenes and phenolics through leaf development in *Hymenaea* and its possible significance to herbivory. **Biochemical Systematics and Ecology**, v. 9, n. 2–3, p. 115–124, 1981.

CUNHA, A. L. B.; CHAVES, F. C. M.; BIZZO, H. R.; SOUZA, A. M. Caracterização química do óleo essencial de erva-cidreira, nas condições de Manaus, AM. **Horticultura Brasileira**, v. 30, n. 2, p. 5780–5784, 2012.

CUNHA, F.; TINTINO, S. R.; FIGUEREDO, F.; et al. HPLC-DAD phenolic profile, cytotoxic and anti-kinetoplastidae activity of *Melissa officinalis*. **Pharmaceutical Biology**, v. 54, n. 9, p. 1664–1670, 2016.

CUNHA, F. V. M.; GOMES, B. D. S.; NETO, B. D. S.; et al. Ferulic acid ethyl ester diminished Complete Freund's Adjuvant-induced incapacitation through antioxidant and anti-inflammatory activity. **Naunyn-Schmiedeberg's Archives of Pharmacology**, v. 389, n. 1, p. 117–130, 2016.

CUSHNIE, T. P. T.; LAMB, A. J. Antimicrobial activity of flavonoids. **International Journal of Antimicrobial Agents**, v. 26, n. 5, p. 343–356, 2005.

CUSHNIE, T. P. T.; LAMB, A. J. Recent advances in understanding the antibacterial properties of flavonoids. **International Journal of Antimicrobial Agents**, v. 38, n. 2, p. 99–107, 2011.

CUTLER, R. G. Antioxidants and aging. **The American journal of clinical nutrition**, v. 53, n. 1, p. 3735–3795, 1991.

D'ALMEIDA, R. E.; ALBERTO, M. R.; QUISPE, C.; SCHMEDA-HIRSCHMANN, G.; ISLA, M. I. Antimicrobial phenylpropanoids from the Argentinean highland plant *Parastrephia lucida* (Meyen) Cabrera. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 142, n. 2, p. 407–414, 2012.

DARROW, K.; BOWERS, M. D. Phenological and population variation in iridoid glycosides of *Plantago lanceolata* (Plantaginaceae). **Biochemical Systematics and Ecology**, v. 25, n. 1, p. 1–11, 1997.

DELGENES, J. P.; MOLETTA, R.; NAVARRO, J. M. Effects of lignocellulose degradation products on ethanol fermentations of glucose and xylose by *Saccharomyces cerevisiae*, *Zymomonas mobilis*, *Pichia stipitis*, and *Candida shehatae*. **Enzyme and Microbial Technology**, v. 19, n. 3, p. 220–225, 1996.

DETTMER, K.; ARONOV, P. A.; HAMMOCK, B. D. Mass spectrometry-based metabolomics. **Mass Spectrometry Reviews**, v. 26, n. 1, p. 51–78, 2007.

DEWICK, P. M. **Medicinal Natural Products: a biosynthetic approach**. 2nd ed. London: West Sussex John Wiley & Sons, 2002.

DIAS, D. A.; URBAN, S.; ROESSNER, U. A Historical Overview of Natural Products in Drug Discovery. **Metabolites**, v. 2, n. 4, p. 303–336, 2012.

DILSHARA, M. G.; LEE, K.-T.; JAYASOORIYA, R. G. P. T.; et al. Downregulation of NO and PGE2 in LPS-stimulated BV2 microglial cells by trans-isoferulic acid via suppression of PI3K/Akt-dependent NF-κB and activation of Nrf2-mediated HO-1. **International Immunopharmacology**, v. 18, n. 1, p. 203–211,

2014.

DING, Z.; DAI, Y.; HAO, H.; et al. Anti-Inflammatory Effects of Scopoletin and Underlying Mechanisms. **Pharmaceutical Biology**, v. 46, n. 12, p. 854–860, 2008.

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

DUARTE, M. Atividade antimicrobiana de plantas medicinais e aromáticas utilizadas no Brasil. **Multiciência**, v. 7, 2006.

DUARTE, M. C. T.; FIGUEIRA, G. M.; SARTORATTO, A.; REHDER, V. L. G.; DELARMELENA, C. Anti-Candida activity of Brazilian medicinal plants. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 97, n. 2, p. 305–311, 2005.

DYKES. Phenolic Compounds in Cereal Grains and Their Health Benefits. **Cereal Foods World**, v. 52, n. 3, p. 105–111, 2007.

EHRET, C.; MAUPETIT, P. Two sinapyl alcohol derivatives bergamot essential oil. **Phytochemistry**, v. 21, n. 12, p. 2984–2985, 1982.

ESCADÓN, R. A.; CAMPO, M. DEL; LÓPEZ-SOLIS, R.; OBREQUE-SLIER, E.; TOLEDO, H. Antibacterial effect of kaempferol and (–)-epicatechin on *Helicobacter pylori*. **European Food Research and Technology**, v. 242, n. 9, p. 1495–1502, 2016.

ESHWARAPPA, R. S. B.; RAMACHANDRA, Y. L.; SUBARAMAIHHA, S. R.; et al. Antioxidant activities of leaf galls extracts of *Terminalia Chebula* (gaertn.) retz. (combretaceae). **Acta Scientiarum Polonorum, Technologia Alimentaria**, v. 14, n. 2, p. 97–105, 2015.

ESPIRITO-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 Brasílica**, v. 13, n. 2, p. 167–174, 1999.

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 Medicinais**, v. 13, n. 2, p. 183–189, 2011.

FAN, L.; MA, J.; CHEN, Y.-H.; CHEN, X. Antioxidant and Antimicrobial Phenolic Compounds from *Setaria viridis*. **Chemistry of Natural Compounds**, v. 50, n. 3, p. 433–437, 2014.

FARAH, A.; DONANGELO, C. M. Phenolic compounds in coffee. **Brazilian Journal of Plant Physiology**, v. 18, n. 1, p. 23–36, 2006.

FENN, J.; MANN, M.; MENG, C.; WONG, S.; WHITEHOUSE, C. Electrospray ionization for mass spectrometry of large biomolecules. **Science**, v. 246, n. 4926, p. 64–71, 1989.

FERESIN, G. E.; TAPIA, A.; GIMENEZ, A.; et al. Constituents of the Argentinian medicinal plant *Baccharis grisebachii* and their antimicrobial activity. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 89, n. 1, p. 73–80, 2003.

FERESIN, G. E.; TAPIA, A.; LÓPEZ, S. N.; ZACCHINO, S. A. Antimicrobial activity of plants used in traditional medicine of San Juan province, Argentina. **Journal of ethnopharmacology**, v. 78, n. 1, p. 103–7, 2001.

FERREIRA, F. P.; OLIVEIRA, D. C. R. DE. New constituents from *Mikania laevigata* Shultz Bip. ex Baker. **Tetrahedron Letters**, v. 51, n. 52, p. 6856–6859, 2010.

FERRONATTO, R.; MARCHESAN, E. D.; BEDNARSKI, F.; ALENCAR, S. M. DE; ONOFRE, S. B. Atividade antioxidante dos óleos essenciais produzidos por

Baccharis dracunculifolia D.C. e *Baccharis uncinella* D.C. (Asteraceae). **Arquivos de Ciências da Saúde da UNIPAR**, v. 10, n. 2, p. 67–70, 2006.

FIELDING, R. R. *Baccharis*: A genus of the Asteraceae new to Canada. **Nova Scotian Institute of Science**, v. 41, n. 4, p. 214–215, 2001.

FIGUEIREDO-RINHEL, A. S. G.; KABEYA, L. M.; BUENO, P. C. P.; et al. 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, n. 2, p. 655–664, 2013.

FORD, C. S.; AYRES, K. L.; TOOMEY, N.; et al. Selection of candidate coding DNA barcoding regions for use on land plants. **Botanical Journal of the Linnean Society**, v. 159, n. 1, p. 1–11, 2009.

FORZZA, R. C.; BAUMGRATZ, J. F. A.; COSTA, A.; et al. As angiospermas do Brasil. **Instituto De Pesquisas Jardim Botânico Do Rio De Janeiro**, p. 78–89, 2010.

FREIRE, S. E.; URTUBEY, E.; GIULIANO, D. A. Epidermal characters of *Baccharis* (Asteraceae) species used in traditional medicine. **Caldasia**, v. 29, n. 1, p. 23–38, 2007.

FRIZZO, C. D.; ATTO-SERAFINI, L.; LAGUNA, S. E.; et al. Essential oil variability in *Baccharis uncinella* DC and *Baccharis dracunculifolia* DC growing wild in southern Brazil, Bolivia and Uruguay. **Flavour and Fragrance Journal**, v. 23, n. 2, p. 99–106, 2008.

FULLAS, F.; HUSSAIN, R. A.; CHAI, H.-B.; et al. Cytotoxic constituents of *Baccharis gaudichaudiana*. **Journal of Natural Products**, v. 57, n. 6, p. 801–807, 1994.

FUNARI, C. S.; CASTRO-GAMBOA, I.; CAVALHEIRO, A. J.; SILVA BOLZANI, V. DA. Metabolômica, uma abordagem otimizada para exploração da biodiversidade brasileira: Estado da arte, perspectivas e desafios. **Química Nova**, v. 36, n. 10, p. 1605–1609, 2013.

FUNK, V. A.; BAYER, R. J.; KEELEY, S.; et al. Everywhere but Antarctica: Using a supertree to understand the diversity and distribution of the Compositae. **Biologiske Skrifter**, v. 55, p. 343–374, 2005.

GABRIELSON, J.; HART, M.; JARELÖV, A.; et al. Evaluation of redox indicators and the use of digital scanners and spectrophotometer for quantification of microbial growth in microplates. **Journal of Microbiological Methods**, v. 50, n. 1, p. 63–73, 2002.

GADETSKAYA, A. V.; TARAWNEH, A. H.; ZHUSUPOVA, G. E.; et al. Sulfated phenolic compounds from *Limonium caspium*: Isolation, structural elucidation, and biological evaluation. **Fitoterapia**, v. 104, p. 80–85, 2015.

GALVÃO, L. C. DE C.; FURLETTI, V. F.; BERSAN, S. M. F.; et al. Antimicrobial Activity of Essential Oils against *Streptococcus mutans* and their Antiproliferative Effects. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**, v. 2012, p. 1–12, 2012.

GAO, H.; HUANG, Y.-N.; GAO, B.; et al. α -Glucosidase inhibitory effect by the flower buds of *Tussilago farfara* L. **Food Chemistry**, v. 106, n. 3, p. 1195–1201, 2008.

GARCEZ, W. S.; GARCEZ, F. R.; SILVA, L. M. G. E. DA; SARMENTO, U. C. Naturally Occurring Plant Compounds with Larvicidal Activity Against *Aedes aegypti*. **Revista Virtual de Química**, v. 5, n. 3, p. 363–393, 2013.

GARRIDO, J.; GASPAR, A.; GARRIDO, E. M.; et al. Alkyl esters of

hydroxycinnamic acids with improved antioxidant activity and lipophilicity protect PC12 cells against oxidative stress. **Biochimie**, v. 94, n. 4, p. 961–967, 2012.

GERSHENZON, J. Changes in the Levels of Plant Secondary Metabolites Under Water and Nutrient Stress. **Phytochemical Adaptations to Stress**. p.273–320, 1984.

GERSHENZON, J.; DUDAREVA, N. The function of terpene natural products in the natural world. **Nature Chemical Biology**, v. 3, n. 7, p. 408–414, 2007.

GIANELLO, J. C.; CENAL, J. P.; GIORDANO, O. S.; et al. Medicamentos Herbarios en el Centro-Oeste Argentino. II. “Carquejas”: Control de Calidad de las Drogas Oficiales y Sustituyentes. **Acta Farmaceutica Bonaerense**, v. 19, n. 2, p. 99–103, 2000.

GIJSEN, H. J. M.; WIJNBERG, J. B. P. A.; STORK, G. A.; et al. The synthesis of mono- and dihydroxy aromadendrane sesquiterpenes, starting from natural (+)-aromadendrene-III. **Tetrahedron**, v. 48, n. 12, p. 2465–2476, 1992.

GIULIANO, D. A. Clasificación infragenérica de las especies Argentinas de *Baccharis* (Asteraceae, Astereae). **Darwiniana**, v. 39, n. 1–2, p. 131–154, 2001.

GNONLONFIN, G. J. B.; ADJOVI, Y.; GBAGUIDI, F.; et al. Scopoletin in cassava products as an inhibitor of aflatoxin production. **Journal of Food Safety**, v. 31, n. 4, p. 553–558, 2011.

GOBBO-NETO, L.; LOPES, N. P. Plantas medicinais: fatores de influência no conteúdo de metabólitos secundários. **Química Nova**, v. 30, n. 2, p. 374–381, 2007.

GOUVEIA, S.; GONÇALVES, J.; CASTILHO, P. C. Characterization of phenolic compounds and antioxidant activity of ethanolic extracts from flowers of *Andryala glandulosa* ssp. *varia* (Lowe ex DC.) R.Fern., an endemic species of Macaronesia region. **Industrial Crops and Products**, v. 42, p. 573–582, 2013.

GRACE, S. C.; LOGAN, B. A. Energy dissipation and radical scavenging by the plant phenylpropanoid pathway. **Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences**, v. 355, n. 1402, p. 1499–1510, 2000.

GRECCO, S. DOS S.; DORIGUETO, A. C.; LANDRE, I. M.; et al. Structural Crystalline Characterization of Sakuranetin — An Antimicrobial Flavanone from Twigs of *Baccharis retusa* (Asteraceae). **Molecules**, v. 19, n. 6, p. 7528–7542, 2014.

GRECCO, S. DOS S.; FÉLIX, M. J. P.; LAGO, J. H. G.; et al. Anti-trypansomal phenolic derivatives from *Baccharis uncinella*. **Natural product communications**, v. 9, n. 2, p. 171–3, 2014.

GRECCO, S. DOS 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. DOS S.; GIMENES, L.; FERREIRA, M. J. P.; et al. Triterpenoids and phenolic derivatives from *Baccharis uncinella* C.DC. (Asteraceae). **Biochemical Systematics and Ecology**, v. 38, n. 6, p. 1234–1237, 2010.

GREENAWAY, W.; MAY, J.; SCAYSBROOK, T.; WHATLEY, F. R. Identification by Gas Chromatography-Mass Spectrometry of 150 Compounds in Propolis. **Zeitschrift fur Naturforschung - Section C Journal of Biosciences**, v. 46, n. 1–2, p. 111–121, 1991.

GUIMARÃES, L. G. D. L.; CARDOSO, M. D. G.; SILVA, L. F.; et al. Chemical analyses of the essential oils from leaves of *Mikania glauca* Mart. ex Baker. **Journal of Essential Oil Research**, v. 24, n. 6, p. 599–604, 2012.

GULCIN, I. Antioxidant activity of caffeic acid (3,4-dihydroxycinnamic acid). **Toxicology**, v. 217, n. 2–3, p. 213–220, 2006.

GÜLÇİN, İ.; BURSAL, E.; ŞEHİTOĞLU, M. H.; BİLSEL, M.; GÖREN, A. C. Polyphenol contents and antioxidant activity of lyophilized aqueous extract of propolis from *Erzurum*, Turkey. **Food and Chemical Toxicology**, v. 48, n. 8–9, p. 2227–2238, 2010.

GUO, A.; CHOI, R.; ZHENG, K.; et al. Kaempferol as a flavonoid induces osteoblastic differentiation via estrogen receptor signaling. **Chinese Medicine**, v. 7, n. 1, p. 10, 2012.

GUO, Y.; LI, Y.; XU, J.; et al. Clerodane Diterpenoids and Flavonoids with NGF-Potentiating Activity from the Aerial Parts of *Baccharis gaudichaudiana*. **CHEMICAL & PHARMACEUTICAL BULLETIN**, v. 55, n. 10, p. 1532–1534, 2007.

GURPILHARES, D. B.; PESSOA, A.; ROBERTO, I. C. Glucose-6-phosphate dehydrogenase and xylitol production by *Candida guilliermondii* FTI 20037 using statistical experimental design. **Process Biochemistry**, v. 41, n. 3, p. 631–637, 2006.

GUTKIND, G.; NORBEDO, C.; MOLLERACH, M.; et al. Antibacterial activity of *Achyrocline flaccida*. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 10, n. 3, p. 319–321, 1984.

HAN, T.; ZHANG, Q.-Y.; ZHANG, H.; et al. Authentication and quantitative analysis on the chemical profile of *Xanthium fruit* (Cang-Er-Zi) by high-performance liquid chromatography-diode-array detection tandem mass spectrometry method. **Analytica Chimica Acta**, v. 634, n. 2, p. 272–278, 2009.

HARTMANN, T. Diversity and variability of plant secondary metabolism: a mechanistic view. **Entomologia Experimentalis et Applicata**, v. 80, n. 1, p. 177–188, 1996.

HATTORI, E. K. O.; NAKAJIMA, J. N. A família Asteraceae na Estação de Pesquisa e desenvolvimento Ambiental Galheiro, Perdizes, Minas Gerais, Brasil. **Rodriguésia**, v. 59, n. 4, p. 673–685, 2008.

HAVSTEEN, B. H. The biochemistry and medical significance of the flavonoids. **Pharmacology & Therapeutics**, v. 96, n. 2–3, p. 67–202, 2002.

HAYASHI, G.; CORTOPASSI, G. Oxidative stress in inherited mitochondrial diseases. **Free Radical Biology and Medicine**, v. 88, p. 10–17, 2015.

HE, G.-L.; LUO, Z.; YANG, J.; et al. Curcumin Ameliorates the Reduction Effect of PGE2 on Fibrillar β -Amyloid Peptide (1-42)-Induced Microglial Phagocytosis through the Inhibition of EP2-PKA Signaling in N9 Microglial Cells. (T. Langmann, Ed.) **PLOS ONE**, v. 11, n. 1, p. e0147721, 2016.

HE, J.; FENG, Y.; OUYANG, H.-Z.; et al. A sensitive LC–MS/MS method for simultaneous determination of six flavonoids in rat plasma: Application to a pharmacokinetic study of total flavonoids from mulberry leaves. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 84, p. 189–195, 2013.

HE, L.; WU, Y.; LIN, L.; et al. Hispidulin, a small flavonoid molecule, suppresses the angiogenesis and growth of human pancreatic cancer by targeting vascular endothelial growth factor receptor 2-mediated PI3K/Akt/mTOR signaling pathway. **Cancer Science**, v. 102, n. 1, p. 219–225, 2011.

HEIDEN, G. *Baccharis* in Flora do Brasil 2020 em construção. .

HEIDEN, G.; BARBIERI, R. L.; STUMPF, E. R. Considerações sobre o uso de plantas ornamentais nativas. **Revista Brasileira de Horticultura Ornamental**, v.

12, n. 1, p. 2–7, 2006.

HEIDEN, G.; IGANCI, J. R. V.; MACIAS, L. *Baccharis* sect. *Caulopterae* (Asteraceae, Astereae) no Rio Grande do Sul, Brasil. **Rodriguesia**, v. 60, n. 4, p. 943–983, 2009.

HEIDEN, G.; MACIAS, L.; BOBROWSKI, V. L.; IGANCI, J. R. VIEIRRA. Comercialização de carqueja por ervateiros da zona central de Pelotas, Rio Grande do Sul. **Revista de Biologia e Ciências da Terra**, v. 6, n. 2, p. 50–57, 2006.

HEIDEN, G.; PIRANI, J. R. Taxonomy of *Baccharis* subgen. *Tarchonanthoides* (Asteraceae: Astereae: Baccharidinae), a group from the southeastern South American grasslands and savannas. **Phytotaxa**, v. 241, n. 1, p. 1, 2016.

HEIM, K. E.; TAGLIAFERRO, A. R.; BOBILYA, D. J. Flavonoid antioxidants: chemistry, metabolism and structure-activity relationships. **The Journal of Nutritional Biochemistry**, v. 13, n. 10, p. 572–584, 2002.

HELANDER, I. M.; ALAKOMI, H.-L.; LATVA-KALA, K.; et al. Characterization of the Action of Selected Essential Oil Components on Gram-Negative Bacteria. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 46, n. 9, p. 3590–3595, 1998.

HERRMANN, K.; NAGEL, C. W. Occurrence and content of hydroxycinnamic and hydroxybenzoic acid compounds in foods. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 28, n. 4, p. 315–347, 1989.

HEYMAN, H. M.; SENEJOUX, F.; SEIBERT, I.; et al. Identification of anti-HIV active dicaffeoylquinic- and tricaffeoylquinic acids in *Helichrysum populifolium* by NMR-based metabolomic guided fractionation. **Fitoterapia**, v. 103, p. 155–164, 2015.

HOCAYEN, P. D. A. S.; GRASSIOLLI, S.; LEITE, N. C.; et al. *Baccharis dracunculifolia* methanol extract enhances glucose-stimulated insulin secretion in pancreatic islets of monosodium glutamate induced-obesity model rats. **Pharmaceutical Biology**, v. 54, n. 7, p. 1263–1271, 2016.

HU, T.; HE, X.-W.; JIANG, J.-G.; XU, X.-L. Efficacy evaluation of a Chinese bitter tea (*Ilex latifolia* Thunb.) via analyses of its main components. **Food & function**, v. 5, n. 5, p. 876–81, 2014.

HUSSAIN, S. H.; LATIF, A.; COX, R. J.; et al. Phytochemicals from the aerial parts of *Ligularia thomsonii* and their radical scavenging activity. **Phytochemistry Letters**, v. 7, n. 1, p. 6–10, 2014.

IBRAHIM, M. N. M.; SRIPRASANATHI, R. B.; SHAMSUDEEN, S.; ADAM, F.; BHAWANI, S. A. A Concise Review of the Natural Existence, Synthesis, Properties, and Applications of Syringaldehyde. **Bioresources.com**, v. 7, n. 3, p. 4377–4399, 2012.

IMAGA, N. O. A.; GBENLE, G. O.; OKOCHI, V. I.; et al. Antisickling property of *Carica papaya* leaf extract. **African Journal of Biochemistry Research**, v. 3, n. 4, p. 102–106, 2009.

INSTITUTO DE PESQUISAS JARDIM BOTÂNICO DO RIO DE JANEIRO. Lista Vermelha.

IŞCAN, G.; KIRIMER, N.; KÜRKÇÜOĞLU, M.; et al. Biological Activity and Composition of the Essential Oils of *Achillea schischkinii* Sosn. and *Achillea aleppica* DC. subsp. *aleppica*. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 54, n. 1, p. 170–173, 2006.

ISLAM, M. S.; YOSHIMOTO, M.; YAMAKAWA, O. Distribution and

Physiological Functions of Caffeoylquinic Acid Derivatives in Leaves of Sweetpotato Genotypes. **Journal of Food Science**, v. 68, n. 1, p. 111–116, 2003.

ISLAM, S. Sweetpotato (*Ipomoea batatas* L.) Leaf: Its Potential Effect on Human Health and Nutrition. **Journal of Food Science**, v. 71, n. 2, p. R13–R121, 2006.

ITOH, A.; ISODA, K.; KONDOH, M.; et al. Hepatoprotective effect of syringic acid and vanillic acid on concanavalin a-induced liver injury. **Biological & pharmaceutical bulletin**, v. 32, n. 7, p. 1215–9, 2009.

ITOH, A.; ISODA, K.; KONDOH, M.; et al. Hepatoprotective Effect of Syringic Acid and Vanillic Acid on CCl₄-Induced Liver Injury. **Biological & Pharmaceutical Bulletin**, v. 33, n. 6, p. 983–987, 2010.

JALALI-HERAVI, M.; MASOUM, S.; SHAHBAZIKHAH, P. Simulation of ¹³C nuclear magnetic resonance spectra of lignin compounds using principal component analysis and artificial neural networks. **Journal of Magnetic Resonance**, v. 171, n. 1, p. 176–185, 2004.

JANSEN, R. K.; HOLSINGER, K. E.; MICHAELS, H. J.; PALMER, J. D. Phylogenetic Analysis of Chloroplast DNA Restriction Site Data at Higher Taxonomic Levels: An Example from the Asteraceae. **Evolution**, v. 44, n. 8, p. 2089–2105, 1990.

JANSEN, R. K.; PALMER, J. D. A chloroplast DNA inversion marks an ancient evolutionary split in the sunflower family (Asteraceae). **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 84, n. 16, p. 5818–5822, 1987.

JANSSEN, A.; SCHEFFER, J.; SVENDSEN, A. Antimicrobial Activity of Essential Oils: A 1976-1986 Literature Review. Aspects of the Test Methods. **Planta Medica**, v. 53, n. 5, p. 395–398, 1987.

JARVIS, B. B. Macrocyclic Trichothecenes from Brazilian *Baccharis* Species: from Microanalysis to Large-Scale Isolation. **Phytochemical Analysis**, v. 3, n. 6, p. 241–249, 1992.

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

JARVIS, B. B.; PENA, N. B.; CÔMEZÓĞLU, S. N.; RAO, M. M. Non-trichothecenes from *Baccharis megapotamica*. **Phytochemistry**, v. 25, n. 2, p. 533–535, 1986.

JASINSKI, V. C. G.; SILVA, R. Z. DA; PONTAROLO, R.; BUDEL, J. M.; CAMPOS, F. R. Morpho-anatomical characteristics of *Baccharis glaziovii* in support of its pharmacobotany. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 24, n. 6, p. 609–616, 2014.

JEON, H.-J.; KANG, H.-J.; JUNG, H.-J.; et al. Anti-inflammatory activity of *Taraxacum officinale*. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 115, n. 1, p. 82–88, 2008.

JIANG, C.; LUO, P.; ZHAO, Y.; et al. Carolignans from the Aerial Parts of *Euphorbia sikkimensis* and Their Anti-HIV Activity. **Journal of Natural Products**, v. 79, n. 3, p. 578–583, 2016.

JOFRÉ BARUD, F.; LÓPEZ, S.; TAPIA, A.; FERESIN, G. E.; LÓPEZ, M. L. Attractant, sexual competitiveness enhancing and toxic activities of the essential oils from *Baccharis spartioides* and *Schinus polygama* on *Ceratitis capitata* Wiedemann. **Industrial Crops and Products**, v. 62, p. 299–304, 2014.

KAMPKÖTTER, A.; GOMBITANG NKWONKAM, C.; ZURAWSKI, R. F.; et al. Effects of the flavonoids kaempferol and fisetin on thermotolerance, oxidative stress and FoxO transcription factor DAF-16 in the model organism *Caenorhabditis*

elegans. **Archives of Toxicology**, v. 81, n. 12, p. 849–858, 2007.

KATINAS, L.; GUTIERREZ, D. G.; GROSSI, M. A.; CRISCI, J. Panorama de la familia Asteraceae (Compositae) en la Introducción Breve historia taxonómica de la familia. **Boletín de la Sociedad Argentina de Botánica**, v. 42, n. 1–2, p. 113–130, 2007.

KERROLA, K.; GALAMBOSI, B.; KALLIO, H. Volatile Components and Odor Intensity of Four Phenotypes of Hyssop (*Hyssopus officinalis* L.). **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 42, n. 3, p. 776–781, 1994.

KESKITALO, M.; ANGERS, P.; EARLE, E.; PEHU, E. Chemical and genetic characterization of calli derived from somatic hybridization between tansy (*Tanacetum vulgare* L.) and pyrethrum (*Tanacetum cinerariifolium* (Trevir.) Schultz-Bip.). **TAG Theoretical and Applied Genetics**, v. 98, n. 8, p. 1335–1343, 1999.

KHADEM, S.; MARLES, R. J. Monocyclic Phenolic Acids; Hydroxy- and Polyhydroxybenzoic Acids: Occurrence and Recent Bioactivity Studies. **Molecules**, v. 15, n. 11, p. 7985–8005, 2010.

KHAN, A. L.; HUSSAIN, J.; HAMAYUN, M.; et al. Secondary Metabolites from *Inula britannica* L. and Their Biological Activities. **Molecules**, v. 15, n. 3, p. 1562–1577, 2010.

KHUNNAWUTMANOTHAM, N.; CHIMNOI, N.; SAPARPAKORN, P.; TECHASAKUL, S. Synthesis and anti-acetylcholinesterase activity of scopoletin derivatives. **Bioorganic Chemistry**, v. 65, p. 137–145, 2016.

KIM, H. J.; KIM, H. M.; RYU, B.; et al. Constituents of PG201 (Layla®), a multi-component phytopharmaceutical, with inhibitory activity on LPS-induced nitric oxide and prostaglandin E2 productions in macrophages. **Archives of Pharmacal Research**, v. 39, n. 2, p. 231–239, 2016.

KIM, H. K.; JEONG, T.-S.; LEE, M.-K.; PARK, Y. B.; CHOI, M.-S. Lipid-lowering efficacy of hesperetin metabolites in high-cholesterol fed rats. **Clinica Chimica Acta**, v. 327, n. 1–2, p. 129–137, 2003.

KIM, H.; KIM, I.; DONG, Y.; et al. Melanogenesis-Inducing Effect of Cirsimaritin through Increases in Microphthalmia-Associated Transcription Factor and Tyrosinase Expression. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 16, n. 4, p. 8772–8788, 2015.

KIM, H.; RALPH, J.; LU, F.; et al. NMR analysis of lignins in CAD-deficient plants. Part 1. Incorporation of hydroxycinnamaldehydes and hydroxybenzaldehydes into lignins. **Organic & biomolecular chemistry**, v. 1, n. 2, p. 268–81, 2003.

KIM, J. M.; LEE, E. K.; KIM, D. H.; YU, B. P.; CHUNG, H. Y. Kaempferol modulates pro-inflammatory NF- κ B activation by suppressing advanced glycation endproducts-induced NADPH oxidase. **AGE**, v. 32, n. 2, p. 197–208, 2010.

KIM, J.; SONG, S.; LEE, I.; et al. Anti-inflammatory activity of constituents from *Glechoma hederacea* var. *longituba*. **Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters**, v. 21, n. 11, p. 3483–3487, 2011.

KING, A.; YOUNG, G. Characteristics and Occurrence of Phenolic Phytochemicals. **Journal of the American Dietetic Association**, v. 99, n. 2, p. 213–218, 1999.

KOBAISY, M.; TELLEZ, M. R.; DAYAN, F. E.; DUKE, S. O. Phytotoxicity and volatile constituents from leaves of *Callicarpa japonica* Thunb. **Phytochemistry**, v. 61, p. 37–40, 2002.

KONG, W.; ZHAO, Y.; SHAN, L.; XIAO, X.; GUO, W. Thermochemical Studies on the Quantity–Antibacterial Effect Relationship of Four Organic Acids from

Radix Isatidis on *Escherichia coli* Growth. **Biological & Pharmaceutical Bulletin**, v. 31, n. 7, p. 1301–1305, 2008.

KOSANIĆ, M.; RANKOVIĆ, B.; STANOJKOVIĆ, T.; et al. *Lasallia pustulata* lichen as possible natural antigenotoxic, antioxidant, antimicrobial and anticancer agent. **Cytotechnology**, v. 68, n. 4, p. 999–1008, 2016.

KRUK, J.; KUBASIK-KLADNA, K.; ABOUL-ENEIN, H. The Role Oxidative Stress in the Pathogenesis of Eye Diseases: Currnt Status and a Dual Role of Physical Activity. **Mini-Reviews in Medicinal Chemistry**, v. 16, n. 3, p. 241–257, 2015.

KRZACZEK, T.; GAWROŃSKA-GRZYWACZ, M. Free and bound phenolic acids in inflorescences and rhizomes with roots of *Hieracium pilosella* L. (Asteraceae). **Acta Societatis Botanicorum Poloniae**, v. 75, n. 3, p. 215–218, 2011.

KUDDUS, M. R. .; RUMI, F.; KAISAR, M. A. .; HASAN, C. M. .; RASHID, M. A. Trans-isoferulic acid from *Curcuma longa*. **Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas**, v. 9, n. 4r, p. 319–321, 2010.

KUETE, V.; NKUETE, A. H. L.; MBAVENG, A. T.; et al. Cytotoxicity and modes of action of 4'-hydroxy-2',6'-dimethoxychalcone and other flavonoids toward drug-sensitive and multidrug-resistant cancer cell lines. **Phytomedicine**, v. 21, n. 12, p. 1651–1657, 2014. Elsevier GmbH.

KURDELAS, R. R.; LIMA, B.; TAPIA, A.; et al. Antifungal Activity of Extracts and Prenylated Coumarins Isolated from *Baccharis darwinii* Hook & Arn. (Asteraceae). **Molecules**, v. 15, n. 7, p. 4898–4907, 2010.

LAI, W.-C.; WU, Y.-C.; DANKÓ, B.; et al. Bioactive Constituents of *Cirsium japonicum* var. *australe*. **Journal of Natural Products**, v. 77, n. 7, p. 1624–1631, 2014.

LAMBERT, M.; MEUDEEC, E.; VERBAERE, A.; et al. A High-Throughput UHPLC-QqQ-MS Method for Polyphenol Profiling in Rosé Wines. **Molecules**, v. 20, n. 5, p. 7890–7914, 2015.

LANG, G.; BUCHBAUER, G. A review on recent research results (2008-2010) on essential oils as antimicrobials and antifungals. A review. **Flavour and Fragrance Journal**, v. 27, n. 1, p. 13–39, 2012.

LEE, H. N.; KIM, J.-K.; KIM, J. H.; et al. A mechanistic study on the anti-cancer activity of ethyl caffeate in human ovarian cancer SKOV-3 cells. **Chemico-Biological Interactions**, v. 219, p. 151–158, 2014.

LEE, J. P.; MIN, B. S.; AN, R. B.; et al. Stilbenes from the roots of *Pleuropterus ciliinervis* and their antioxidant activities. **Phytochemistry**, v. 64, n. 3, p. 759–763, 2003.

LEE, S.-J.; JANG, H.; KIM, Y.; et al. Inhibitory effects of IL-6-induced STAT3 activation of bio-active compounds derived from *Salvia plebeia* R.Br. **Process Biochemistry**, p. 3–10, 2016.

LEMOS, M.; BARROS, M. P. DE; SOUSA, J. P. B.; et al. *Baccharis dracunculifolia*, the main botanical source of Brazilian green propolis, displays antiulcer activity. **Journal of Pharmacy and Pharmacology**, v. 59, n. 4, p. 603–608, 2007.

LI, H.; ZHANG, Y.; LIU, Q.; et al. Preparative Separation of Phenolic Compounds from *Chimonanthus praecox* Flowers by High-Speed Counter-Current Chromatography Using a Stepwise Elution Mode. **Molecules**, v. 21, n. 8, p. 1016, 2016.

LI, W.; SUN, Y. N.; YAN, X. T.; et al. Anti-inflammatory and antioxidant activities of phenolic compounds from *Desmodium caudatum* leaves and stems. **Archives of Pharmacal Research**, v. 37, n. 6, p. 721–727, 2014.

LI, Y.; LUO, Y.; HU, Y.; et al. Design, synthesis and antimicrobial activities of nitroimidazole derivatives containing 1,3,4-oxadiazole scaffold as FabH inhibitors. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**, v. 20, n. 14, p. 4316–4322, 2012.

LILOV, D.; ANGELOVA, Y. Changes in the content of some phenolic compounds in connection with flower- and fruit-formation of vine. **Biologia Plantarum**, v. 29, n. 1, p. 34–37, 1987.

LIMA, T. C.; SOUZA, R. J.; SANTOS, A. D. C.; et al. Evaluation of leishmanicidal and trypanocidal activities of phenolic compounds from *Calea uniflora* Less. **Natural Product Research**, v. 30, n. 5, p. 551–557, 2016.

LIN, T.-Y.; LU, C.-W.; WANG, C.-C.; LU, J.-F.; WANG, S.-J. Hispidulin inhibits the release of glutamate in rat cerebrocortical nerve terminals. **Toxicology and applied pharmacology**, v. 263, n. 2, p. 233–43, 2012.

LINDROTH, R. L.; HSIA, M. T. S.; SCRIBER, J. M. Seasonal patterns in the phytochemistry of three *Populus* species. **Biochemical Systematics and Ecology**, v. 15, n. 6, p. 681–686, 1987.

LITVINENKO, V.; POPOVA, T.; SIMONJAN, A.; ZOZ, I.; SOKOLOV, V. „Gerbstoffe“ und oxyzimtsäureabkömmlinge in labiaten. **Planta Medica**, v. 27, n. 4, p. 372–380, 1975.

LIU, I.-M.; CHI, T.-C.; HSU, F.-L.; CHEN, C.-F.; CHENG, J.-T. Isoferulic Acid as Active Principle from the Rhizoma of *Cimicifuga dahurica* to Lower Plasma Glucose in Diabetic Rats. **Planta Medica**, v. 65, n. 8, p. 712–714, 1999.

LIU, X. L.; ZHANG, L.; FU, X. L.; CHEN, K.; QIAN, B. C. Effect of scopoletin on PC3 cell proliferation and apoptosis. **Acta pharmacologica Sinica**, v. 22, n. 10, p. 929–33, 2001.

LIU, X.; TIAN, F.; TIAN, Y.; et al. Isolation and Identification of Potential Allelochemicals from Aerial Parts of *Avena fatua* L. and Their Allelopathic Effect on Wheat. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 64, n. 18, p. 3492–3500, 2016.

LIU, Y.; NIU, L.; CUI, L.; et al. Hesperetin inhibits rat coronary constriction by inhibiting Ca²⁺ influx and enhancing voltage-gated K⁺ channel currents of the myocytes. **European Journal of Pharmacology**, v. 735, n. 1, p. 193–201, 2014.

MA, X. H.; ZHENG, C. J.; HAN, L. Y.; et al. Synergistic therapeutic actions of herbal ingredients and their mechanisms from molecular interaction and network perspectives. **Drug Discovery Today**, v. 14, n. 11–12, p. 579–588, 2009.

MACIEL, M. A. M.; PINTO, A. C.; VEIGA JR., V. F.; GRYNBERG, N. F.; ECHEVARRIA, A. Plantas Mediciniais: A necessidade de Estudos Multidisciplinares. **Quimica Nova**, v. 25, n. 3, p. 429–438, 2002.

MADMANANG, S.; CHEYENG, N.; HEEMBENMAD, S.; et al. Constituents of *Fagraea fragrans* with Antimycobacterial Activity in Combination with Erythromycin. **Journal of Natural Products**, v. 79, n. 4, p. 767–774, 2016.

MAHADEVA RAO, U. S.; ZIN, T.; ABDURRAZAKB, M.; AHMAD, A. A. Chemistry and pharmacology of syringin, a novel bioglycoside: A review. **Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research**, v. 8, n. 3, p. 20–25, 2015.

MAHMOOD, N.; MOORE, P. S.; TOMMASI, N. DE; et al. Inhibition of HIV Infection by Caffeoylquinic Acid Derivatives. **Antiviral Chemistry and Chemotherapy**, v. 4, n. 4, p. 235–240, 1993.

- MALDONADO, E. M. Cytotoxic Sesquiterpene Lactones from *Kaunia lasiophthalma* Griseb. **Scientia Pharmaceutica**, v. 82, n. 1, p. 147–160, 2014.
- MALDONADO, E. M.; SVENSSON, D.; OREDSSON, S. M.; STERNER, O. A novel cytotoxic terpenoid from the flowers of *Kaunia lasiophthalma* Griseb. **Phytochemistry Letters**, v. 8, n. 1, p. 105–108, 2014.
- MANACH, C.; SCALBERT, A.; MORAND, C.; RÉMÉSY, C.; JIMÉNEZ, L. Polyphenols: food sources and bioavailability. **The American journal of clinical nutrition**, v. 79, n. 5, p. 727–47, 2004.
- MANUELE, M. G.; FERRARO, G.; BARREIRO ARCOS, M. L.; et al. Comparative immunomodulatory effect of scopoletin on tumoral and normal lymphocytes. **Life Sciences**, v. 79, n. 21, p. 2043–2048, 2006.
- MARÓSTICA JUNIOR, M. R.; DAUGSCH, A.; MORAES, C. S.; et al. Comparison of volatile and polyphenolic compounds in Brazilian green propolis and its botanical origin *Baccharis dracunculifolia*. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 28, n. 1, p. 178–181, 2008.
- MARTÍN, A. S.; ROVIROSA, J.; BECKER, R.; CASTILLO, M. Diterpenoids from *Baccharis tola*. **Phytochemistry**, v. 19, n. 9, p. 1985–1987, 1980.
- MARTINS, E. .; CASTRO, D. .; CASTELLANI, D. .; DIAS, J. . **Plantas Mediciniais**. 1st ed. Viçosa, 2000.
- MASAKI, H. Role of antioxidants in the skin: Anti-aging effects. **Journal of Dermatological Science**, v. 58, n. 2, p. 85–90, 2010.
- MATSUI, T.; EBUCHI, S.; KOBAYASHI, M.; et al. Anti-hyperglycemic Effect of Diacylated Anthocyanin Derived from Ipomoea batatas Cultivar Ayamurasaki Can Be Achieved through the α -Glucosidase Inhibitory Action. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 50, n. 25, p. 7244–7248, 2002.
- MATYSIK, G.; WÓJCIAK-KOSIOR, M.; PADUCH, R. The influence of Calendulae officinalis flos extracts on cell cultures, and the chromatographic analysis of extracts. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 38, n. 2, p. 285–292, 2005.
- MCDUGALL, B.; KING, P. J.; WU, B. W.; et al. Dicafeoylquinic and dicafeoyltartaric acids are selective inhibitors of human immunodeficiency virus type 1 integrase. **Antimicrobial agents and chemotherapy**, v. 42, n. 1, p. 140–6, 1998.
- MCGAW, L. J.; ELOFF, J. N. Ethnoveterinary use of southern African plants and scientific evaluation of their medicinal properties. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 119, n. 3, p. 559–574, 2008.
- MEDEIROS, P. M. DE; LADIO, A. H.; SANTOS, A. M. M.; ALBUQUERQUE, U. P. DE. Does the selection of medicinal plants by Brazilian local populations suffer taxonomic influence? **Journal of Ethnopharmacology**, v. 146, n. 3, p. 842–852, 2013.
- MEEPROM, A.; SOMPONG, W.; CHAN, C.; ADISAKWATTANA, S. Isoferulic Acid, a New Anti-Glycation Agent, Inhibits Fructose- and Glucose-Mediated Protein Glycation in Vitro. **Molecules**, v. 18, n. 6, p. 6439–6454, 2013.
- MELO, S. DE F.; SOARES, S. F.; COSTA, R. F. DA; et al. Effect of the *Cymbopogon citratus*, *Maytenus ilicifolia* and *Baccharis genistelloides* extracts against the stannous chloride oxidative damage in Escherichia coli. **Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis**, v. 496, n. 1–2, p. 33–38, 2001.
- MENA, P.; CALANI, L.; DALL’ASTA, C.; et al. Rapid and Comprehensive Evaluation of (Poly)phenolic Compounds in Pomegranate (*Punica granatum* L.) Juice by UHPLC-MSn. **Molecules**, v. 17, n. 12, p. 14821–14840, 2012.

MENEZES, A. P. S.; SILVA, J. DA; ROSSATO, R. R.; et al. Genotoxic and biochemical changes in *Baccharis trimera* induced by coal contamination.

Ecotoxicology and Environmental Safety, v. 114, p. 9–16, 2015.

MESSENS, E.; DEKEYSER, R.; STACHEL, S. E. A nontransformable *Triticum monococcum monocotyledonous* culture produces the potent *Agrobacterium* vir-inducing compound ethyl ferulate. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 87, n. 11, p. 4368–72, 1990.

MICHALAK, A. Phenolic Compounds and Their Antioxidant Activity in Plants Growing under Heavy Metal Stress. **Plant Cell**, v. 15, n. 4, p. 523–530, 2006.

MICHALSKA, K.; KISIEL, W. The First Guaian-12-oic Acid Glucopyranosyl Ester and Other Constituents from *Picris rhagadioloides* (L.) Desf. (Asteraceae). **Molecules**, v. 13, n. 2, p. 444–451, 2008.

MILLER, E.; MOREL, A.; SALUK, J. Melatonin Redox Activity. Its Potential Clinical application in Neurodegenerative Disorders. **Current topics in medicinal chemistry**, 2014.

MIRANDA, C. A. S. F.; CARDOSO, M. DAS G.; BATISTA, L. R.; RODRIGUES, L. M. A.; FIGUEIREDO, A. C. DA S. Óleos essenciais de folhas de diversas espécies: propriedades antioxidantes e antibacterianas no crescimento espécies patogênicas. **Revista Ciência Agrônômica**, v. 47, n. 1, p. 213–220, 2016.

MIRANDA, C. A. S. F. DE; CARDOSO, M. DAS G.; MARCUSSI, S.; TEIXEIRA, M. L. Clotting and fibrinogenolysis inhibition by essential oils from species of the Asteraceae family. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v. 59, n. December, p. 1–11, 2016.

MIYAZAKI, C. M. S.; HIROTA, B. C.; LIMA, C. P. DE; et al. Coumarin isolation and comparative study of biological activities of *Pterocaulon alopecuroides* DC and *Pterocaulon lorentzii* Malme. **International Journal of Phytomedicine**, v. 5, n. 3, p. 298–301, 2013.

MIYAZAWA, M.; HISAMA, M. Antimutagenic Activity of Flavonoids from *Chrysanthemum morifolium*. **Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry**, v. 67, n. 10, p. 2091–2099, 2003.

MOCAN, A.; VODNAR, D.; VLASE, L.; et al. Phytochemical Characterization of *Veronica officinalis* L., *V. teucrium* L. and *V. orchidea* Crantz from Romania and Their Antioxidant and Antimicrobial Properties. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 16, n. 9, p. 21109–21127, 2015.

MOHAMMAD, I.; WATERMAN, P. G.; THOMAS, D. W. Chemistry in the Annonaceae, XVII. Phenylpropenes from *Uvariadendron connivens* Seeds. **Journal of Natural Products**, v. 48, n. 2, p. 328–329, 1985.

MOJARRAB, M.; EMAMI, S. A.; TAYARANI-NAJARAN, Z. Cytotoxic properties of three isolated coumarin-hemiterpene ether derivatives from *Artemisia armeniaca* Lam. **Iranian Journal of Pharmaceutical Research**, v. 16, n. 1, p. 221–229, 2017.

MOLLER, J. K. S.; CATHARINO, R. R.; EBERLIN, M. N. Electrospray ionization mass spectrometry fingerprinting of essential oils: Spices from the Labiatae family. **Food Chemistry**, v. 100, n. 3, p. 1283–1288, 2007.

MORAIS, L. A. S. DE. Influência Dos Fatores Abióticos Na Composição Química Dos Óleos Essenciais. **Horticultura Brasileira**, v. 27, n. 2, p. S4050–S4063, 2009.

MORAIS, S. M. DE; 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, n. 1B, p. 315–320, 2009.

MOREIRA, F. DE P. M.; COUTINHO, V.; MONTANHER, A. B. IPMENTEL; et al. Flavonoides e Triterpenos de *Baccharis pseudotenuifolia* - Bioatividade sobre Artemia salina. **Química Nova**, v. 26, n. 3, p. 309–311, 2003.

MULLER, J. Systematics of *Baccharis* (Compositae-Astereae) in Bolivia, including an Overview of the Genus. **American Society of Plant Taxonomists**, v. 76, p. 1–341, 2006.

MÜLLER, J. *Baccharis malmei* (Asteraceae), a new species from southeastern Brazil. **Annales Botanici Fennice**, v. 43, p. 471–474, 2006.

MURTAZA, G.; SAJJAD, A.; MEHMOOD, Z.; SHAH, S. H.; SIDDIQI, A. R. Possible molecular targets for therapeutic applications of caffeic acid phenethyl ester in inflammation and cancer. **Journal of Food and Drug Analysis**, v. 23, n. 1, p. 11–18, 2015.

NACZK, M.; SHAHIDI, F. Extraction and analysis of phenolics in food. **Journal of Chromatography A**, v. 1054, n. 1–2, p. 95–111, 2004.

NAGAI, T.; SUZUKI, Y.; TOMIMORI, T.; YAMADA, H. Antiviral Activity of Plant Flavonoid, 5,7,4'-Trihydroxy-8-methoxyflavone, from the Roots of *Scutellaria baicalensis* against Influenza A (H3N2) and B Viruses. **Biological & Pharmaceutical Bulletin**, v. 18, n. 2, p. 295–299, 1995.

NAKASUGI, T.; KOMAI, K. Antimutagens in the Brazilian Folk Medicinal Plant Carqueja (*Baccharis trimera* Less.). **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 46, n. 7, p. 2560–2564, 1998.

NAYIK, G. A.; NANDA, V. A chemometric approach to evaluate the phenolic compounds, antioxidant activity and mineral content of different unifloral honey types from Kashmir, India. **LWT - Food Science and Technology**, v. 74, p. 504–513, 2016. Elsevier Ltd.

NAZARÉ, A.; FARIA, C. DE; CHIARI, B.; et al. Ethyl Ferulate, a Component with Anti-Inflammatory Properties for Emulsion-Based Creams. **Molecules**, v. 19, n. 6, p. 8124–8139, 2014.

NEWMAN, D. J.; CRAGG, G. M. Natural Products as Sources of New Drugs from 1981 to 2014. **Journal of Natural Products**, v. 79, n. 3, p. 629–661, 2016.

NGUYEN, T. T. T.; TRAN, E.; ONG, C. K.; et al. Kaempferol-induced growth inhibition and apoptosis in A549 lung cancer cells is mediated by activation of MEK-MAPK. **Journal of Cellular Physiology**, v. 197, n. 1, p. 110–121, 2003.

NOGUEIRA SOBRINHO, A. C.; SOUZA, E. B.; ROCHA, M. F. G.; et al. Chemical composition, antioxidant, antifungal and hemolytic activities of essential oil from *Baccharis trinervis* (Lam.) Pers. (Asteraceae). **Industrial Crops and Products**, v. 84, p. 108–115, 2016.

NOWAK, A.; CZYZOWSKA, A.; EFENBERGER, M.; KRALA, L. Polyphenolic extracts of cherry (*Prunus cerasus* L.) and blackcurrant (*Ribes nigrum* L.) leaves as natural preservatives in meat products. **Food Microbiology**, v. 59, p. 142–149, 2016.

OBESO, J. R. Costs of Reproduction in *Ilex Aquifolium*: Effects at Tree, Branch and Leaf Levels. **The Journal of Ecology**, v. 85, n. 2, p. 159, 1997.

OLENNIKOV, D. N.; KASHCHENKO, N. I. Componential Profile and Amylase Inhibiting Activity of Phenolic Compounds from *Calendula officinalis* L. Leaves. **The Scientific World Journal**, v. 2014, p. 1–9, 2014.

OLIVEIRA, A. S. DE; DEBLE, L. P.; SCHNEIDER, A. A.; MARCHIORI, J. N.

C. Checklist do Gênero *Baccharis* L. para o Brasil (Asteraceae-Astereae). **Balduinia**, n. 9, p. 17–27, 2006.

OLIVEIRA, S. DE; SOUZA, G. A. DE; ECKERT, C. R.; et al. Evaluation of antiradical assays used in determining the antioxidant capacity of pure compounds and plant extracts. **Química Nova**, v. 37, n. 3, p. 497–503, 2014.

OLIVEIRA, S. Q. DE; DAL-PIZZOL, F.; GOSMANN, G.; et al. Antioxidant Activity of *Baccharis articulata* Extracts: Isolation of a New Compound with Antioxidant Activity. **Free radical research**, v. 37, n. 5, p. 555–559, 2003.

OLIVEIRA, S. Q. DE; DAL-PIZZOL, F.; MOREIRA, J. C. F.; SCHENKEL, E. P.; GOSMANN, G. Antioxidant activity of *Baccharis spicata*, *Baccharis trimera* and *Baccharis usterii*. **Acta Farmaceutica Bonaerense**, v. 23, n. 3, p. 365–368, 2004.

OLIVEIRA, S. Q. DE; KAPPEL, V. D.; PIRES, V. S.; et al. Antioxidant Properties of Phenolic Compounds from *Baccharis articulata* and *B. usterii*. **Natural Products Communication**, v. 9, n. 7, p. 941–942, 2014.

OMAR, E.; PAVLOVIĆ, I.; DROBAC, M.; et al. Chemical composition and spasmolytic activity of *Cymbopogon nervatus* (Hochst.) Chiov. (Poaceae) essential oil. **Industrial Crops and Products**, v. 91, p. 249–254, 2016.

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**, v. 18, p. 9–32, 2000.

OSEI-SAFO, D.; CHAMA, M.; ADDAE-MENSAH, I.; WAIBEL, R. Hispidulin And Other Constituents Of *Scoparia dulcis* Linn. **Journal of Science and Technology (Ghana)**, v. 29, n. 2, 2009.

OSMAN, C. P.; ISMAIL, N. H.; WIBOWO, A.; AHMAD, R. Two new pyranoanthraquinones from the root of *Rennellia elliptica* Korth. (Rubiaceae). **Phytochemistry Letters**, v. 16, p. 225–229, 2016.

PAGNUSSATT, F. A.; LIMA, V. R. DE; DORA, C. L.; et al. Assessment of the encapsulation effect of phenolic compounds from *Spirulina* sp. LEB-18 on their antifusarium activities. **Food Chemistry**, v. 211, p. 616–623, 2016.

PAIVA, L. B. DE; GOLDBECK, R.; SANTOS, W. D. DOS; SQUINA, F. M. Ferulic acid and derivatives: molecules with potential application in the pharmaceutical field. **Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 49, n. 3, p. 395–411, 2013.

PALÁ-PAÚL, J.; PÉREZ-ALONSO, M. J.; VELASCO-NEGUERUELA, A.; et al. Seasonal variation in chemical constituents of *Santolina rosmarinifolia* L. ssp. *rosmarinifolia*. **Biochemical systematics and ecology**, v. 29, n. 7, p. 663–672, 2001.

PALACIOS, P.; GUTKIND, G.; RONDINA, R.; TORRES, R. DE; COUSSIO, J. Genus *Baccharis* II. Antimicrobial activity of *B. crispa* and *B. notoserigila*. **Planta Medica**, v. 49, n. 10, p. 128–128, 1983.

PALO, R. T.; SUNNERHEIM, K.; THEANDER, O. Seasonal variation of phenols, crude protein and cell wall content of birch (*Betula pendula* Roth.) in relation to ruminant in vitro digestibility. **Oecologia**, v. 65, n. 3, p. 314–318, 1985.

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, n. 2, p. 757–782, 2008.

PANG, J. L.; RICUPERO, D. A.; HUANG, S.; et al. Differential activity of kaempferol and quercetin in attenuating tumor necrosis factor receptor family

signaling in bone cells. **Biochemical Pharmacology**, v. 71, n. 6, p. 818–826, 2006.

PANYO, J.; MATSUNAMI, K.; PANICHAYUPAKARANANT, P. Bioassay-guided isolation and evaluation of antimicrobial compounds from *Ixora megalophylla* against some oral pathogens. **Pharmaceutical Biology**, v. 54, n. 9, p. 1522–1527, 2016.

PARREIRA, N. A.; MAGALHÃES, L. G.; MORAIS, D. R.; et al. Antiprotozoal, Schistosomicidal, and Antimicrobial Activities of the Essential Oil from the Leaves of *Baccharis dracunculifolia*. **Chemistry & Biodiversity**, v. 7, n. 4, p. 993–1001, 2010.

PARVEEN, M.; MALLA, A. M.; ALAM, M.; et al. Two new phenolic compounds from *Ficus rumphii* and their antiproliferative activity. **Natural Product Research**, v. 28, n. 9, p. 646–652, 2014.

PASSERO, L. F. D.; BONFIM-MELO, A.; CORBETT, C. E. P.; et al. Anti-leishmanial effects of purified compounds from aerial parts of *Baccharis uncinella* C. DC. (Asteraceae). **Parasitology Research**, v. 108, n. 3, p. 529–536, 2011.

PATTERSON, B. Systematics, Evolution, and Biogeography of Compositae. **Madroño**, v. 56, n. 3, p. 209–211, 2009.

PAUCAR, A. G.; GIULIANO, D. A. ACERCA DE LA IDENTIDAD DE BACCHARIS SUBSCULPTA (ASTERACEAE: ASTEREA). **SIDA, Contributions to Botany**, v. 21, n. 2, p. 705–710, 2004.

PAULA, J. T.; AGUIAR, A. C.; SOUSA, I. M. O.; et al. Scale-up study of supercritical fluid extraction process for *Baccharis dracunculifolia*. **The Journal of Supercritical Fluids**, v. 107, p. 219–225, 2016.

PEDROSO, A. P. D.; SANTOS, S. C.; STEIL, A. A.; et al. Isolation of syringaldehyde from *Mikania laevigata* medicinal extract and its influence on the fatty acid profile of mice. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 18, n. 1, p. 63–69, 2008.

PEREIRA, C. A.; COSTA, A. C. B. P.; LIPORONI, P. C. S.; REGO, M. A.; JORGE, A. O. C. Antibacterial activity of *Baccharis dracunculifolia* in planktonic cultures and biofilms of *Streptococcus mutans*. **Journal of Infection and Public Health**, v. 9, n. 3, p. 324–330, 2016.

PEREIRA, D. M.; GODOY, M. M. DE; SAMPAIO, C. C.; et al. Uso do Girassol (*Helianthus annuus*) na Alimentação Animal: Aspectos Produtivos e Nutricionais. (Intergovernmental Panel on Climate Change, Ed.) **Veterinária e Zootecnia**, v. 23, n. 2, p. 174–183, 2016.

PEREIRA, E.; BARROS, L.; ANTONIO, A. L.; et al. Infusions from *Thymus vulgaris* L. treated at different gamma radiation doses: Effects on antioxidant activity and phenolic composition. **LWT - Food Science and Technology**, v. 74, p. 34–39, 2016.

PETENATTI, E. M.; PETENATTI, MARTA E CIFUENTE, D. A.; GIANELLO, J. C.; et al. Medicamentos herbarios en el Centro-Oeste Argentino. **Latin American Journal of Pharmacy**, v. 26, n. 2, p. 201–208, 2007.

PIETRO, M. DI; FILARDO, S.; SANTIS, F. DE; MASTROMARINO, P.; SESSA, R. *Chlamydia pneumoniae* and Oxidative Stress in Cardiovascular Disease: State of the Art and Prevention Strategies. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 16, n. 1, p. 724–735, 2014.

PIETTA, P.-G. Flavonoids as Antioxidants. **Journal of Natural Products**, v. 63, n. 7, p. 1035–1042, 2000.

PIMENTEL, V. P.; VIEIRA, V. A. M.; MITIDIERI, T. L.; OLIVEIRA, F. F. S.;

- PIERONI, J. P. Biodiversidade brasileira como fonte da inovação farmacêutica: uma nova esperança? **Revista do BNDES**, , n. 43, p. 41–89, 2015.
- PINHO, E.; SOARES, G.; HENRIQUES, M. Evaluation of antibacterial activity of caffeic acid encapsulated by β -cyclodextrins. **Journal of Microencapsulation**, v. 32, n. 8, p. 804–810, 2015.
- PIZZOLITTO, R. P.; BARBERIS, C. L.; DAMBOLENA, J. S.; et al. Inhibitory Effect of Natural Phenolic Compounds on *Aspergillus parasiticus* Growth. **Journal of Chemistry**, v. 2015, p. 1–7, 2015.
- PORTILLO, A.; VILA, R.; FREIXA, B.; ADZET, T.; CAÑIGUERAL, S. Antifungal Activity of Paraguayan Plants used in Traditional Medicine. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 76, n. 1, p. 93–98, 2001.
- PRACHAYASITTIKUL, S.; SUPHAPONG, S.; WORACHARTCHEEWAN, A.; et al. Bioactive Metabolites from *Spilanthes acmella* Murr. **Molecules**, v. 14, n. 2, p. 850–867, 2009.
- PRIOR, R. L.; WU, X. Diet Antioxidant Capacity: Relationships to Oxidative Stress and Health. **American Journal of Biomedical Sciences**, v. 5, n. 2, p. 126–139, 2013.
- PUEBLA, P.; ARANGUREN, N.; RINCÓN, J.; et al. Polar compounds isolated from the leaves of *Calea prunifolia* H.B.K. and their anti-adrenergic related vasodilator activity. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 16, n. 12, p. 9153–9160, 2011.
- QUEIROGA, C. L.; FUKAI, A.; MARSAIOLI, A. J. Composition of the essential oil of vassoura. **J Braz Chem Soc**, 1990.
- RAJAURIA, G.; FOLEY, B.; ABU-GHANNAM, N. Identification and characterization of phenolic antioxidant compounds from brown Irish seaweed *Himanthalia elongata* using LC-DAD–ESI-MS/MS. **Innovative Food Science & Emerging Technologies**, v. 37, p. 261–268, 2016.
- RALPH, S.; LANDUCCI, L.; RALPH, J. NMR Database of Lignin and Cell Wall Model Compounds. **NMR Database**, p. 449, 2004.
- RANA, S.; KUMAR, S.; RANA, A.; et al. Phenolic constituents from apple tree leaves and their in vitro biological activity. **Industrial Crops and Products**, v. 90, p. 118–125, 2016.
- RANGEL, D.; GARCIA, I.; VELASCO, J.; BUITRAGO, D. Actividad antimicrobiana de los extractos etanólico , acetónico y acuoso de *Baccharis nitida* (Ruiz et Pavon) Pers. **Revista De La Facultad De Farmacia**, v. 42, p. 43–46, 2001.
- RASHED, K.; ĆIRIĆ, A.; GLAMOČLIJA, J.; SOKOVIĆ, M. Antibacterial and antifungal activities of methanol extract and phenolic compounds from *Diospyros virginiana* L. **Industrial Crops and Products**, v. 59, p. 210–215, 2014.
- RASHID, M. U.; ALAMZEB, M.; ALI, S.; et al. A new ceramide along with eight known compounds from the roots of *Artemisia incisa* pamp. **Records of Natural Products**, v. 9, n. 3, p. 297–304, 2015.
- RAVEN, P. H. Tropical Floristic Tomorrow. **Taxon**, v. 37, n. 3, p. 549–560, 1988.
- RECHNER, A. R.; SPENCER, J. P. .; KUHNLE, G.; HAHN, U.; RICE-EVANS, C. A. Novel biomarkers of the metabolism of caffeic acid derivatives in vivo. **Free Radical Biology and Medicine**, v. 30, n. 11, p. 1213–1222, 2001.
- REGNAULT-ROGER, C.; RIBODEAU, M.; HAMRAOUI, A.; et al. Polyphenolic compounds of Mediterranean Lamiaceae and investigation of

orientational effects on *Acanthoscelides obtectus* (Say). **Journal of Stored Products Research**, v. 40, n. 4, p. 395–408, 2004.

REN, Q.; XIA, T.; QUAN, X.-G.; DING, L.; WANG, H.-Y. Antileukemic activity of the chemical constituents from *Scutellaria barbata* D. Don. **Acta Chromatographica**, p. 1–15, 2016.

RIBEIRO, M.; ALBIERO, A. L. M.; MILANEZZE-GUTIERRE, M. A. *Taraxacum officinale* Weber (Dente de Leão) - Uma Revisão e Potencialidades Medicinais. **Arquvos Apadec**, v. 8, n. 2, p. 46–49, 2004.

RIBEIRO, P. R. V.; GIRÃO, D. DE C.; PIMENTA, A. T. Á.; et al. Clerodane and patchoulene terpenes as new constituents from *Baccharis salzmännii* DC. **Biochemical Systematics and Ecology**, v. 50, p. 101–105, 2013.

RODRÍGUEZ, M. V.; GATTUSO, M.; GATTUSO, S. *Baccharis crispa* y *Baccharis trimeria* (Asteraceae): revisión y nuevos aportes para su normalización micrográfica. **Latin American Journal of Pharmacy**, v. 27, n. 3, p. 387–397, 2008.

ROMANO, E.; RASCHI, A. B.; BENAVENTE, A. M.; GONZALEZ, A. M.; PIRO, O. E. Characterization and crystal structure of 2 R $-(-)$ -6-hydroxytremetone from *Xenophyllum poposum* (Phil.) V.A. Funk. **Natural Product Research**, v. 22, n. 2, p. 124–135, 2008.

ROQUE, N.; BAUTISTA, H. **Asteraceae: Caracterização e Morfologia Floral**. Salvador-BA: EDUFBA, 2008.

ROSLUND, M. U.; TÄHTINEN, P.; NIEMITZ, M.; SJÖHOLM, R. Complete assignments of the ^1H and ^{13}C chemical shifts and JH,H coupling constants in NMR spectra of d-glucopyranose and all d-glucopyranosyl-d-glucopyranosides. **Carbohydrate Research**, v. 343, n. 1, p. 101–112, 2008.

ROSS, J. A.; KASUM, C. M. D. Bioavailability, Metabolic Effects, and Safety. **Annual Review of Nutrition**, v. 22, n. 1, p. 19–34, 2002.

SAHAN, Y.; GURBUZ, O.; GULDAS, M.; DEGIRMENCIOGLU, N.; BEGENIRBAS, A. Phenolics, antioxidant capacity and bioaccessibility of chicory varieties (*Cichorium* spp.) grown in Turkey. **Food Chemistry**, v. 217, p. 483–489, 2017.

SAKIHAMA, Y. Plant phenolic antioxidant and prooxidant activities: phenolics-induced oxidative damage mediated by metals in plants. **Toxicology**, v. 177, n. 1, p. 67–80, 2002.

SANDOVAL, G.; QUINTANA, P. G.; BALDESSARI, A.; BALLESTEROS, A. O.; PLOU, F. J. Lipase-catalyzed preparation of mono- and diesters of ferulic acid. **Biocatalysis and Biotransformation**, v. 33, n. 2, p. 89–97, 2015.

SANTOS, D. A. DOS; FUKUI, M. DE J.; NANAYAKKARA, N. P. D.; et al. Anti-inflammatory and antinociceptive effects of *Baccharis dracunculifolia* DC (Asteraceae) in different experimental models. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 127, n. 2, p. 543–550, 2010.

SANTOS, M. D. DOS; GOBBO-NETO, L.; ALBARELLA, L.; SOUZA, G. E. P. DE; LOPES, N. P. Analgesic activity of di-caffeoylquinic acids from roots of *Lychnophora ericoides* (Arnica da serra). **Journal of Ethnopharmacology**, v. 96, n. 3, p. 545–549, 2005.

SANTOS, T. G.; DOGNINI, J.; BEGNINI, I. M.; et al. Chemical Characterization of Essential Oils from *Drimys angustifolia* Miers (Winteraceae) and Antibacterial Activity of their Major Compounds. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 24, n. 1, p. 164–170, 2013.

SANZ, M.; SIMÓN, B. F.; CADAHÍA, E.; et al. LC-DAD/ESI-MS/MS study of

phenolic compounds in ash (*Fraxinus excelsior* L. and *F. americana* L.) heartwood. Effect of toasting intensity at cooperage. **Journal of Mass Spectrometry**, v. 47, n. 7, p. 905–918, 2012.

SARTOR, T.; XAVIER, V. B.; FALCÃO, M. A.; et al. 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.

SASTRE, J. The role of mitochondrial oxidative stress in aging. **Free Radical Biology and Medicine**, v. 35, n. 1, p. 1–8, 2003.

SATAKE, T.; KAMIYA, K.; AN, Y.; OISHI(NEE TAKA), T.; YAMAMOTO, J. The Anti-thrombotic Active Constituents from *Centella asiatica*. **Biological & Pharmaceutical Bulletin**, v. 30, n. 5, p. 935–940, 2007.

SATO, M.; TSUCHIYA, H.; MIYAZAKI, T.; et al. Antibacterial activity of hydroxychalcone against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. **International journal of antimicrobial agents**, v. 6, n. 4, p. 227–31, 1996.

SCAPAGNINI, G.; BUTTERFIELD, D. A.; COLOMBRITA, C.; et al. Ethyl Ferulate, a Lipophilic Polyphenol, Induces HO-1 and Protects Rat Neurons Against Oxidative Stress. **Antioxidants & Redox Signaling**, v. 6, n. 5, p. 811–818, 2004.

SCHER, J. M.; SPEAKMAN, J.-B.; ZAPP, J.; BECKER, H. Bioactivity guided isolation of antifungal compounds from the liverwort *Bazzania trilobata* (L.) S.F. Gray. **Phytochemistry**, v. 65, p. 2583–2588, 2004.

SCHMIDT, J. P. Sex ratio and spatial pattern of males and females in the dioecious sandhill shrub, *Ceratiola ericoides ericoides* (Empetraceae) Michx. **Plant Ecology**, v. 196, n. 2, p. 281–288, 2008.

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

SCHRAM, K.; MIKETOVA, P.; SLANINA, J.; HUMPA, O.; TABORSKA, E. Mass spectrometry of 1,3- and 1,5-dicaffeoylquinic acids. **Journal of Mass Spectrometry**, v. 39, n. 4, p. 384–395, 2004.

SHAFIQ, N.; RIAZ, N.; AHMED, S.; et al. Bioactive phenolics from *Seriphidium stenocephalum*. **Journal of Asian Natural Products Research**, v. 15, n. 3, p. 286–293, 2013.

SHARMA, M.; AKHTAR, N.; SAMBHAV, K.; et al. Emerging Potential Of Citrus Flavanones As An Antioxidant In Diabetes And Its Complications. **Current topics in medicinal chemistry**, 2014.

SHARP; BARTHOLOMEW; BRIGHT; et al. 6-Oxygenated flavones from *Baccharis trinervis* (Asteraceae). **Biochemical systematics and ecology**, v. 29, n. 1, p. 105–107, 2001.

SHEN, R.-C.; LIN, M. Diels–Alder type adducts from *Morus cathayana*. **Phytochemistry**, v. 57, n. 8, p. 1231–1235, 2001.

SHIYI, O.; KIN-CHOR, K. Ferulic acid: pharmaceutical functions, preparation and applications in foods. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 84, n. 11, p. 1261–1269, 2004.

SILVA, A. A.; ANDRADE, L. D. H. C. Utilização de espécies de Asteraceae por comunidades rurais do nordeste do Brasil: relatos em Camocim de São Félix, Pernambuco. **Biotemas**, v. 26, n. 2, 2013.

SILVA, L. A. L. DA; FAQUETI, L. G.; REGINATTO, F. H.; et al. Phytochemical analysis of *Vernonanthura tweedieana* and a validated UPLC-PDA method for the quantification of eriodictyol. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 25, n. 4, p. 375–381, 2015.

SILVA, M. L. DA; SOARESMAIA, J. G.; MATAREZENDE, C. M. A. DA; GOTTLIEB, O. R. Arylpropanoids from *Licaria puchury-major*. **Phytochemistry**, v. 12, n. 2, p. 471–472, 1973.

SILVA FILHO, A. A. DA; BUENO, P. C. P.; GREGÓRIO, L. E.; et al. In-vitro trypanocidal activity evaluation of crude extract and isolated compounds from *Baccharis dracunculifolia* D.C. (Asteraceae). **Journal of pharmacy and pharmacology**, v. 56, n. 9, p. 1195–1199, 2004.

SIMIRGIOTIS, M. J.; GARCIA, M.; SOSA, M. E.; GIORDANO, O. S.; TONN, C. E. An Ent-Kaurene Derivative from Aerial Parts of *Baccharis rufescens*. **The Journal of the Argentine Chemical Society**, v. 91, n. 4/6, p. 109–116, 2003.

SIMÕES-PIRES, C. A.; DEBENEDETTI, S.; SPEGAZZINI, E.; et al. 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, n. 1–4, p. 23–32, 2005.

SIMÕES-PIRES, C. A.; QUEIROZ, E. F.; HENRIQUES, A. T.; HOSTETTMANN, K. Isolation and on-line identification of anti-oxidant compounds from three *Baccharis* species by HPLC-UV-MS/MS with post-column derivatisation. **Phytochemical Analysis**, v. 16, n. 5, p. 307–314, 2005.

SIMÕES-PIRES, C. A.; SCHENKEL, E. P.; GOSMANN, G.; et al. **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 5th ed. Florianópolis, 2003.

SINGH, B.; KAUR, T.; KAUR, S.; MANHAS, R. K.; KAUR, A. Insecticidal potential of an endophytic *Cladosporium velox* against *Spodoptera litura* mediated through inhibition of alpha glycosidases. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, v. 131, p. 46–52, 2016.

SINGH, H.; DIXIT, S.; VERMA, P. C.; SINGH, P. K. Evaluation of Total Phenolic Compounds and Insecticidal and Antioxidant Activities of Tomato Hairy Root Extract. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 62, n. 12, p. 2588–2594, 2014.

SOARES, S. E. Ácidos fenólicos como antioxidantes. **Revista de Nutrição**, v. 15, n. 1, p. 71–81, 2002.

SOICKE, H.; LENG-PESCHLOW, E. Characterisation of Flavonoids from *Baccharis trimera* and their Antihepatotoxic Properties*. **Planta Medica**, v. 53, n. 1, p. 37–39, 1987.

SOLÍS, C.; BECERRA, J.; FLORES, C.; ROBLEDO, J.; SILVA, M. Antibacterial and Antifungal Terpenes from *Pilgerodendron uviferum* (D. DON) Florin. **Journal of the Chilean Chemical Society**, v. 49, n. 2, p. 157–161, 2004.

SOSA, T.; VALARES, C.; ALÍAS, J. C.; CHAVES LOBÓN, N. Persistence of flavonoids in *Cistus ladanifer* soils. **Plant and Soil**, v. 337, n. 1–2, p. 51–63, 2010.

SOS MATA ATLÂNTICA & INPE. FLORESTAS: MATA ATLÂNTICA. Disponível em: <<https://www.sosma.org.br/nossa-causa/a-mata-atlantica/>>. Acesso em: 18/10/2016.

SOUSA, C. M. D. M.; SILVA, H. R. E.; VIEIRA-JR., G. M.; et al. Fenóis totais e atividade antioxidante de cinco plantas medicinais. **Química Nova**, v. 30, n. 2, p. 351–355, 2007.

SOUSA, L. A.; GRATÃO, A. S.; LEITE, M. N.; et al. Plasticidade fenotípica de *Baccharis genistelloides* subsp. *crispa* (Spreng.) Joch. Müll. (2006) - Asteraceae - sob manejo orgânico. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 16, n. 2, p. 231–236, 2014.

SOUZA, C. M. .; BRANDÃO, D. O.; SILVA, M. S. P.; et al. Utilização de

plantas medicinais com atividade antimicrobiana por usuários do serviço público de saúde em Campina Grande - Paraíba. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 15, n. 2, p. 188–193, 2013.

SOUZA, S. P.; CARDOSO, M. G.; SOUZA, P. E.; et al. 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 Mediciniais**, v. 13, n. 4, p. 456–466, 2011.

SOUZA, V. C.; LORENZI, H. **Botânica sistemática : guia ilustrado para identificação das famílias de Angiospermas da flora brasileira, baseado em APG II**. 1st ed. São Paulo, 2005.

SRIBUOHOM, T.; SRIPHANA, U.; THONGSRI, Y.; YENJAI, C. Chemical constituents from the stems of *Alyxia schlechteri*. **Phytochemistry Letters**, v. 11, p. 80–84, 2015.

STASI, L. C. DI; OLIVEIRA, G. P.; CARVALHAES, M. A.; et al. Medicinal plants popularly used in the Brazilian Tropical Atlantic Forest. **Fitoterapia**, v. 73, n. 1, p. 69–91, 2002.

STEFANELLO, M. É. A.; CERVI, A. C.; WISNIEWSKI JÚNIOR, A.; SIMIONATTO, E. L. Óleo essencial de *Gochnatia polymorpha* (Less) Cabr. ssp *floccosa* Cabr. **Química Nova**, v. 29, n. 5, p. 999–1002, 2006.

STERMITZ, F. R.; LORENZ, P.; TAWARA, J. N.; ZENEWICZ, L. A.; LEWIS, K. Synergy in a medicinal plant: Antimicrobial action of berberine potentiated by 5'-methoxyhydnocarpin, a multidrug pump inhibitor. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 97, n. 4, p. 1433–1437, 2000.

STOJAKOWSKA, A.; MALARZ, J.; KISS, A. K. Hydroxycinnamates from elecampane (*Inula helenium* L.) callus culture. **Acta Physiologiae Plantarum**, v. 38, n. 2, p. 41, 2016.

STRAPASSON, L. B.; RÚDIGER, A. L.; BURROW, R. A.; BARISON, A.; STEFANELLO, M. E. A. A new sesquiterpene lactone and other constituents of *Moquiniastrum polymorphum* subsp. *floccosum* (Asteraceae). **Natural product communications**, v. 9, n. 11, p. 1541–3, 2014.

SUMCZYNSKI, D.; KOTÁSKOVÁ, E.; DRUŽBÍKOVÁ, H.; MLČEK, J. Determination of contents and antioxidant activity of free and bound phenolics compounds and in vitro digestibility of commercial black and red rice (*Oryza sativa* L.) varieties. **Food Chemistry**, v. 211, p. 339–346, 2016.

SURESH, G.; POORNIMA, B.; BABU, K. S.; et al. Cytotoxic sesquiterpenes from *Hedychium spicatum*: Isolation, structure elucidation and structure–activity relationship studies. **Fitoterapia**, v. 86, n. 1, p. 100–107, 2013.

SURESH, G.; PRABHAKAR REDDY, P.; SURESH BABU, K.; SHAIK, T. B.; KALIVENDI, S. V. Two new cytotoxic labdane diterpenes from the rhizomes of *Hedychium coronarium*. **Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters**, v. 20, n. 24, p. 7544–7548, 2010.

SUTTISRI, R.; KINGHORN, A. D.; WRIGHT, A. D.; STICHERT, O. Neo-clerodane diterpenoids and other constituents from *Baccharis genistelloides*. **Phytochemistry**, v. 35, n. 2, p. 443–446, 1994.

TAMURA, H.; AKIOKA, T.; UENO, K.; et al. Anti-human immunodeficiency virus activity of 3,4,5-tricaffeoylquinic acid in cultured cells of lettuce leaves. **Molecular Nutrition & Food Research**, v. 50, n. 4–5, p. 396–400, 2006.

TANG, L.; LI, X.-F.; YANG, S.-X.; QIU, Y.; YUAN, K. [Chemical constituents

of *Hyptis rhomboidea* and their antifungal activity]. **Zhongguo Zhong yao za zhi = Zhongguo zhongyao zazhi = China journal of Chinese materia medica**, v. 39, n. 12, p. 2284–8, 2014.

TANUJA YADAV; MISHRA, S.; DAS, S.; AGGARWAL, S.; RANI, V. Anticedants and natural prevention of environmental toxicants induced accelerated aging of skin. **Environmental Toxicology and Pharmacology**, v. 39, n. 1, p. 384–391, 2015.

TAPIA, A.; RODRIGUEZ, J.; THEODULOZ, C.; et al. Free radical scavengers and antioxidants from *Baccharis grisebachii*. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 95, p. 155–161, 2004.

TASDEMIR, D.; KAISER, M.; BRUN, R.; et al. Antitrypanosomal and Antileishmanial Activities of Flavonoids and Their Analogues: In Vitro, In Vivo, Structure-Activity Relationship, and Quantitative Structure-Activity Relationship Studies. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 50, n. 4, p. 1352–1364, 2006.

THAI, Q. D.; TCHOUMTCHOUA, J.; MAKROPOULOU, M.; et al. Phytochemical study and biological evaluation of chemical constituents of *Platanus orientalis* and *Platanus acerifolia* buds. **Phytochemistry**, v. 130, p. 170–181, 2016.

TIDJANI, S.; OKUSA, P. N.; ZELLAGUI, A.; et al. Analysis of pyrrolizidine alkaloids and evaluation of some biological activities of Algerian *Senecio delphinifolius* (Asteraceae). **Natural product communications**, v. 8, n. 4, p. 439–40, 2013.

TOFIGHI, Z.; MOLAZEM, M.; DOOSTDAR, B.; et al. Antimicrobial Activities of Three Medicinal Plants and Investigation of Flavonoids of *Tripleurospermum disciforme*. **Iranian journal of pharmaceutical research : IJPR**, v. 14, n. 1, p. 225–31, 2015.

TOMAZZONI, M. I.; NEGRELLE, R. R. B.; CENTA, M. D. L. Fitoterapia popular: a busca instrumental enquanto prática terapêuta. **Texto & Contexto - Enfermagem**, v. 15, n. 1, p. 115–121, 2006.

TOMEI, R. R.; SALVADOR, M. J. Metodologias analíticas atuais para avaliação da atividade antioxidante de produtos naturais. **XI Encontro Latino Americano de Iniciação Científica e VII Encontro Latino Americano de Pós-Graduação.**, p. 1963–1967, 2007.

TOMINAGA, H.; KOBAYASHI, Y.; GOTO, T.; KASEMURA, K.; NOMURA, M. DPPH Radical-scavenging Effect of Several Phenylpropanoid Compounds and Their Glycoside Derivatives. **YAKUGAKU ZASSHI**, v. 125, n. 4, p. 371–375, 2005.

TOYAMA, D. O.; FERREIRA, M. J. P.; ROMOFF, P.; et al. Effect of Chlorogenic Acid (5-Caffeoylquinic Acid) Isolated from *Baccharis oxyodonta* on the Structure and Pharmacological Activities of Secretory Phospholipase A2 from *Crotalus durissus terrificus*. **BioMed Research International**, v. 2014, p. 1–10, 2014.

TOYODA, K.; YAOITA, Y.; KIKUCHI, M. Constituents of the leaves and roots of *Ligularia stenocephala* MATSUM. et KOIDZ. **Journal of Natural Medicines**, v. 60, n. 4, p. 329–330, 2006.

TSAI, P.-J.; HUANG, W.-C.; HSIEH, M.-C.; et al. Flavones Isolated from *Scutellariae radix* Suppress Propionibacterium Acnes-Induced Cytokine Production In Vitro and In Vivo. **Molecules**, v. 21, n. 1, p. 15, 2015.

TSUCHIYA, H.; SATO, M.; MIYAZAKI, T.; et al. Comparative study on the antibacterial activity of phytochemical flavanones against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. **J.Ethnopharmacol.**, v. 50, n. 1, p. 27–34, 1996.

UWAI, K.; OSANAI, Y.; IMAIZUMI, T.; et al. Inhibitory effect of the alkyl side chain of caffeic acid analogues on lipopolysaccharide-induced nitric oxide production in RAW264.7 macrophages. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**, v. 16, n. 16, p. 7795–7803, 2008.

VALAREZO, E.; ROSALES, J.; MOROCHO, V.; et al. Chemical composition and biological activity of the essential oil of *Baccharis obtusifolia* Kunth from Loja, Ecuador. **Journal of Essential Oil Research**, v. 27, n. 3, p. 212–216, 2015.

VALDIVIA, A. C.; BOKETOF, Å.; OLDE, B.; et al. Activation of the free fatty acid receptor GPR40 by (+)-curcuphenol and related synthetic compounds. **Revista Boliviana de Química**, v. 26, n. 2, p. 77–82, 2009.

VALLI, M.; SANTOS, R. N. DOS; FIGUEIRA, L. D.; et al. Development of a Natural Products Database from the Biodiversity of Brazil. **Journal of Natural Products**, v. 76, n. 3, p. 439–444, 2013.

VANNINI, A. B.; SANTOS, T. G.; FLEMING, A. C.; et al. Chemical characterization and antimicrobial evaluation of the essential oils from *Baccharis uncinella* D.C. and *Baccharis semiserrata* D.C. (Asteraceae). **Journal of Essential Oil Research**, v. 24, n. 6, p. 547–554, 2012.

VARASCHIN, M. S.; BARROS, C. S. L.; JARVIS, B. B. Intoxicação experimental por *Baccharis coridifolia* (Compositae) em Bovinos. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 18, n. 2, p. 69–74, 1998.

VARGA, S.; KYTOVIITA, M. M. Sex ratio and spatial distribution of male and female *Antennaria dioica* (Asteraceae) plants. **Acta Oecologica**, v. 37, n. 5, p. 433–440, 2011.

VEIGA, A. **Padronização e validação do método de microdiluição para determinação da concentração inibitória mínima de compostos antimicrobianos.**, 2016. Universidade Federal do Paraná.

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.

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.

VIVOT, E. P.; SÁNCHEZ, C.; CACIK, F.; SEQUIN, C. Actividad antibacteriana en plantas medicinales de la flora de Entre Ríos (Argentina). **Ciencia Exactas y Naturales**, , n. 45, p. 165–185, 2012.

WAGENITZ, G. Systematics and phylogeny of the Compositae (Asteraceae). **Plant Systematics and Evolution**, v. 125, n. 1, p. 29–46, 1976.

WAGNER, H.; SEITZ, R.; LOTTER, H. New Furanoid ent-Clerodanes from *Baccharis tricuneata*. **The Journal of Organic Chemistry**, v. 43, n. 17, p. 3339–3345, 1978.

WANG, H.-P.; LU, J.-F.; ZHANG, G.-L.; et al. Endothelium-dependent and -independent vasorelaxant actions and mechanisms induced by total flavonoids of *Eisholtzia splendens* in rat aortas. **Environmental Toxicology and Pharmacology**, v. 38, n. 2, p. 453–459, 2014.

WANG, L.; CHEN, C.; SU, A.; et al. Structural characterization of phenolic compounds and antioxidant activity of the phenolic-rich fraction from defatted adlay (*Coix lachryma-jobi* L. var. *ma-yuen* Stapf) seed meal. **Food Chemistry**, v. 196, p. 509–517, 2016.

WANG, W.; GUO, J.; ZHANG, J.; et al. Isolation, identification and

antioxidant activity of bound phenolic compounds present in rice bran. **Food Chemistry**, v. 171, p. 40–49, 2015.

WANG, Y.-M.; ZHAO, J.-Q.; ZHOU, S.-Y.; et al. New sesquiterpenes and benzofuran derivatives from the aerial parts of *Asterothamnus centrali-asiaticus*. **Tetrahedron**, v. 72, n. 32, p. 4910–4917, 2016.

WEIMANN, C.; GÖRANSSON, U.; PONGPRAYOON-CLAESON, U.; et al. Spasmolytic effects of *Baccharis conferta* and some of its constituents. **Journal of Pharmacy and Pharmacology**, v. 54, n. 1, p. 99–104, 2002.

WEN, X.; WU, J.; WANG, F.; et al. Deconvoluting the role of reactive oxygen species and autophagy in human diseases. **Free Radical Biology and Medicine**, v. 65, p. 402–410, 2013.

WENIGER, B.; LOBSTEIN, A.; UM, B.-H.; et al. Bioactive triterpenoids from *Vochysia pacifica* interact with cyclic nucleotide phosphodiesterase isozyme PDE4. **Phytotherapy Research**, v. 19, n. 1, p. 75–77, 2005.

WHO. Regulatory situation of herbal medicines : a worldwide review. Disponível em: <<http://apps.who.int/iris/handle/10665/63801>>. Acesso em: 15/11/2016.

WOJTUNIK-KULESZA, K. A.; ONISZCZUK, A.; ONISZCZUK, T.; WAKSMUNDZKA-HAJNOS, M. The influence of common free radicals and antioxidants on development of Alzheimer's Disease. **Biomedicine and Pharmacotherapy**, v. 78, p. 39–49, 2016.

WU, G.; JOHNSON, S. K.; BORNMAN, J. F.; et al. Growth temperature and genotype both play important roles in sorghum grain phenolic composition. **Scientific Reports**, v. 6, n. 1, p. 21835, 2016.

WU, Q.; FU, D.-X.; HOU, A.-J.; et al. Antioxidative Phenols and Phenolic Glycosides from *Curculigo orchoides*. **CHEMICAL & PHARMACEUTICAL BULLETIN**, v. 53, n. 8, p. 1065–1067, 2005.

WU, Q.; ZHAO, D.; XIANG, J.; et al. Antitussive, expectorant, and anti-inflammatory activities of four caffeoylquinic acids isolated from *Tussilago farfara*. **Pharmaceutical Biology**, v. 54, n. 7, p. 1117–1124, 2016.

XU, Q.; XIE, H.; WU, P.; WEI, X. Flavonoids from the capitula of *Eriocaulon australe*. **Food Chemistry**, v. 139, n. 1–4, p. 149–154, 2013.

XU, Q.; XIE, H.; XIAO, H.; WEI, X. Phenolic Constituents from the Roots of *Mikania micrantha* and Their Allelopathic Effects. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 61, n. 30, p. 7309–7314, 2013.

YONG-SUK, K.; DONG-HWA, S. Volatile Constituents from the Leaves of *Callicarpa japonica* Thunb. and Their Antibacterial Activities. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 52, n. 4, p. 781–787, 2004.

YU, J. H.; KIM, H. Oxidative stress and inflammatory signaling in cerulein pancreatitis. **World Journal of Gastroenterology**, v. 20, n. 46, p. 17324, 2014.

ZAKHAROVA, O. D.; FROLOVA, T. S.; YUSHKOVA, Y. V.; et al. Antioxidant and antitumor activity of trolox, trolox succinate, and α -tocopheryl succinate conjugates with nitroxides. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 122, p. 127–137, 2016.

ZALDIVAR, J.; MARTINEZ, A.; INGRAM, L. O. Effect of selected aldehydes on the growth and fermentation of ethanologenic *Escherichia coli*. **Biotechnology and Bioengineering**, v. 65, n. 1, p. 24–33, 1999.

ZALEWSKI, C. A.; PASSERO, L. F. D.; MELO, A. S. R. B.; et al. Evaluation of anti-inflammatory activity of derivatives from aerial parts of *Baccharis uncinella*. **Pharmaceutical biology**, v. 49, n. 6, p. 602–607, 2011.

ZAMPINI, I. C.; ISLA, M. I.; SCHMEDA-HIRSCHMANN, G. Antimicrobial and Antioxidant Compounds From the Infusion and Methanolic Extract of *Baccharis incarum* (Wedd.) Perkins. **Journal of the Chilean Chemical Society**, v. 54, n. 4, p. 477–481, 2009.

ZENG, Y.; LI, S.; WANG, X.; et al. Validated LC-MS/MS Method for the Determination of Scopoletin in Rat Plasma and Its Application to Pharmacokinetic Studies. **Molecules**, v. 20, n. 10, p. 18988–19001, 2015.

ZGÓRKA, G.; GŁOWNIAK, K. Variation of free phenolic acids in medicinal plants belonging to the Lamiaceae family. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 26, n. 1, p. 79–87, 2001.

ZHANG, B.-Y.; WANG, H.; LUO, X.-D.; et al. Chemical constituents of *Euphorbia tangutica*. **Natural Product Research**, v. 26, n. 24, p. 2309–2315, 2012.

ZHAO, Y.; GENG, C.-A.; SUN, C.-L.; et al. Polyacetylenes and anti-hepatitis B virus active constituents from *Artemisia capillaris*. **Fitoterapia**, v. 95, p. 187–193, 2014.

ZHONG, R.-F.; XU, G.-B.; WANG, Z.; et al. Identification of anti-inflammatory constituents from *Kalimeris indica* with UHPLC-ESI-Q-TOF-MS/MS and GC-MS. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 165, p. 39–45, 2015.

ZHU, X.; ZHANG, H.; LO, R. Phenolic Compounds from the Leaf Extract of Artichoke (*Cynara scolymus* L.) and Their Antimicrobial Activities. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 52, n. 24, p. 7272–7278, 2004.

ZIEGLER, H.; SPITELLER, G. Coumarins and psoralens from sicilian lemon oil (*Citrus limon* (L.) Burm. f.). **Flavour and Fragrance Journal**, v. 7, n. 3, p. 129–139, 1992.

ZIELINSKI, A. A. F.; HAMINIUK, C. W. I.; ALBERTI, A.; et al. 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.

ZUCCOLOTTO, T.; LOURENCO AV, F.; BRUGINSKI, E.; et al. Antimicrobial Activity of the Crude Extracts and Fractions of Three *Baccharis* Species. **Medicinal chemistry**, v. 6, n. 8, p. 557–560, 2016.

ZUNINO, M. P.; LÓPEZ, M. L.; ZYGADLO, J. A.; LÓPEZ, A. G. Essential Oil Composition of *Baccharis articulata* (Lam.) Pers. **Journal of Essential Oil Research**, v. 16, n. 1, p. 29–30, 2011.