UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS DE RIBEIRÃO PRETO

**Estudos metabolômicos do gênero *Baccharis* (Asteraceae),
avaliação do potencial anti-inflamatório *in vitro* e suas correlações
através de métodos *in silico***

Tese de Doutorado apresentada ao Programa de
Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas para
obtenção do Título de Doutor em Ciências

Área de Concentração: Produtos Naturais e
Sintéticos

Orientada: Rosana Casoti

Orientador: Prof. Dr. Fernando Batista da Costa

Versão corrigida da Tese de Doutorado apresentada ao Programa de Pós-Graduação
em Ciências Farmacêuticas no dia 28/03/2017. A versão original encontra-se disponível
na Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto/USP.

Ribeirão Preto
2017

RESUMO

CASOTI, R. **Estudos metabolômicos do gênero *Baccharis* (Asteraceae), avaliação do potencial anti-inflamatório *in vitro* e suas correlações através de métodos *in silico***. 2017. 182f. Tese (Doutorado). Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto – Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2017.

O gênero *Baccharis* compreende de 433 espécies, as quais estão distribuídas por todo o continente americano, tendo como hábito ervas perenes, lianas, subarbustos e pequenas árvores. A grande quantidade de espécies e a imensa variabilidade tem dificultado os pesquisadores na circunscrição taxonômica do gênero, sendo que recentemente uma nova classificação foi proposta com base em morfologia e dados moleculares. Sabe-se que dados químicos oriundos de substâncias do metabolismo secundário podem auxiliar, corroborar ou sugerir alterações na taxonomia, sendo que a metabolômica é uma ferramenta poderosa para a coleta destes dados. Dessa forma, os estudos de metabolômica não direcionada do gênero *Baccharis* objetivaram: determinar um método de extração eficiente e único para 306 espécimes (211 espécies distintas); realizar um estudo quimiotaxônomico para o gênero a partir de dados de LC-MS e análise multivariada; realizar triagem de espécies com potencial anti-inflamatório a partir de modelos de predição utilizando espécies de outros gêneros de Asteraceae. Os resultados dos estudos de extração mostraram que ambos os solventes etanol ou metanol em solução aquosa propiciaram uma extração eficiente de metabólitos em banho de ultrassom ≥ 10 min. A extração pode ser realizada na faixa de 48,3-85,8% de etanol ou acima de 67% de metanol acidificado com ácido fórmico na faixa de 0,12-0,27%. Os resultados do estudo quimiotaxônomico empregando dados de LC-MS e análise multivariada mostraram uma forte similaridade com a recente classificação taxonômica baseada em morfologia e dados moleculares. Na classificação quimiotaxônomico, 10 grupos principais foram observados, formados quase que exclusivamente por seções de subgêneros: quatro grupos formados por espécies do subgênero *Baccharis*, três grupos formados principalmente por espécies do subgênero *Molina*, dois grupos formados principalmente por espécies do subgênero *Tarchonanthoides* e um grupo formado por espécies do subgênero *Coridifolia*. Substâncias como flavonoides e diterpenos foram determinadas como discriminantes dos grupos formados. Os resultados da triagem de espécies com potencial anti-inflamatório mostraram que a partir de um bom modelo de predição obtido por OPLS-DA, com coeficientes $R^2X = 0,27$, $R^2Y = 0,987$ e $Q^2 = 0,83$, foi possível prever 30 espécies de *Baccharis* capazes de promover a dupla inibição das enzimas 5-LOX e COX-1 e que as substâncias correlacionadas a esta inibição são da classe dos flavonoides e fenilpropanoides. Portanto, o uso de dados de LC-MS com abordagem metabolômica não direcionada foi capaz de gerar descobertas importantes tanto para a quimiotaxonomia do gênero *Baccharis*, quanto na triagem de espécies com potencial anti-inflamatório. Essas descobertas poderão auxiliar tanto os taxonomistas quanto os estudos bioguiados na descoberta de novos fármacos.

Palavras-chave: Compositae, metabolômica, quimiotaxonomia, potencial anti-inflamatório.

1 INTRODUÇÃO

1.1 Introdução

O gênero *Baccharis* L. corresponde ao maior gênero da tribo Asterae, família Asteraceae (MULLER, 2006). É endêmico das Américas, possuindo uma ampla distribuição geográfica que pode influenciar nas suas características das mais variadas formas (GIULIANO, 2001). Esta amplitude de distribuição e a imensa variabilidade de *Baccharis* torna a delimitação de sua circunscrição taxonômica uma tarefa difícil (HEIDEN & PIRANI, 2012; OLIVEIRA et al., 2006)

O uso de dados químicos para classificação de táxons vegetais tem sido empregado há algumas décadas e os avanços nos métodos fitoquímicos e taxonômicos permitiram entender rotas biossintéticas e a diversificação das espécies em todos os níveis taxonômicos (CALABRIA et al., 2009). Determinadas rotas biossintéticas são exclusivas de determinados gêneros, tribos ou até família. Dessa forma, a quimiotaxonomia se torna uma interessante ferramenta para resolver questões de posicionamento de táxons em sistemas de classificação (EMERENCIANO et al., 2001). Características químicas de substâncias presentes nas plantas têm sido consideradas importantes na sistemática vegetal (OHSAKI et al., 1999) e, se associadas a análises quimiométricas, podem favorecer a rápida determinação de metabólitos específicos em táxons.

Sendo assim, o uso de dados químicos por meio de uma abordagem metabolômica envolvendo métodos fitoquímicos e quimiométricos poderá levar a uma proposta de classificação química útil aos taxonomistas para o desenvolvimento de uma classificação mais adequada e precisa, podendo ou não estar aliada a outras análises taxonômicas.

No entanto, deve ficar claro que ainda não é possível assegurar que a identificação de uma determinada espécie possa ser feita exclusivamente pelo seu metaboloma. O metaboloma vegetal pode ser definido como o conjunto de todos os metabólitos presentes em um determinado espécime e que o mesmo pode sofrer variações devido às mudanças ambientais como as climáticas, as geográficas e de estresse (FIEHN, 2002, KAPLAN et al., 2004; SHULAEV et al., 2008, SAMPAIO et al., 2016).

Além disso, até o momento não é possível determinar todas as substâncias presentes em uma espécie utilizando apenas uma única metodologia analítica (DEVOS, 2007). Técnicas analíticas como cromatografia gasosa, cromatografia líquida,

eletroforese capilar, espectrometria no infravermelho e ressonância magnética nuclear (acoplados ou não a um espectrômetro de massas), comumente empregadas em estudos metabolômicos, possuem limitações relacionadas à sensibilidade ou ao peso molecular de cada metabólito (WU, 2008).

No entanto, a utilização da técnica de LC-MS em alta resolução com fonte ESI e tecnologia Orbitrap apresenta vantagens nos estudos metabolômicos, mesmo limitando a uma faixa de polaridade de média a alta para os metabólitos em questão. Equipamento deste tipo possui alta sensibilidade, resolução e robustez, e em apenas uma eluição cromatográfica é possível realizar uma prévia separação de diferentes substâncias e posterior ionização no modo positivo, negativo e fragmentação. Desta forma, além de verificar o comprimento de onda (λ) dos picos, é possível assegurar alta resolução de cada pico e alta precisão das massas analisadas (GLAUSER et al., 2013). Estes critérios são considerados pré-requisitos para os estudos metabolômicos, pois têm o desafio analítico de monitorar simultaneamente um grande número de metabólitos, bem como interpretar e padronizar a grande quantidade de dados gerados.

Baccharis é composto por 433 espécies (HEIDEN, 2014), mas apenas 17% delas foram estudadas quimicamente (Alvarenga et al., 2005). Este fato mostra que a química deste gênero ainda é pouco estudada, apesar de ser grande o número de substâncias isoladas. Este gênero pode ser encontrado no Brasil, principalmente nas regiões sudeste e sul (HEIDEN, 2014). Seu uso etnobotânico está focado principalmente nas espécies conhecidas como carquejas, vassourinhas e alecrins, as quais têm sido utilizadas para o tratamento de enfermidades como agentes antimicrobianos, digestivos, antiparasitários, anti-ulcerogênicos, anti-inflamatórios e antioxidantes (CAMPOS et al., 2016). Além disso, algumas espécies são conhecidas por sua toxicidade e deterrência (VERDI et al., 2005).

Os produtos naturais têm desempenhado um papel vital na descoberta de fármacos nos últimos anos, servindo tanto como protótipo para novos fármacos quanto para a semi-síntese de fármacos (YANG et al., 2014). No entanto, este processo é laborioso, caro e demorado. Desta forma, um estudo fitoquímico com abordagem metabolômica pode ser uma alternativa mais rápida e eficaz na descoberta de novas espécies com potencial farmacológico e ainda inferir possíveis substâncias que estão envolvidas em tal propósito.

Neste sentido, é proposto neste trabalho um estudo dos metabólitos secundários de *Baccharis* por uma abordagem metabolômica via LC-MS com intuito de se efetuar um estudo quimiotaxonômico do gênero, descobrir espécies com potencial anti-inflamatório e ainda inferir possíveis biomarcadores taxonômicos e anti-inflamatórios.

1.2 Objetivos

1.2.1 Objetivo geral

Estudar os metabólitos secundários de *Baccharis* por uma abordagem metabolômica utilizando UHPLC-PDA-ESI-Orbitrap e avaliar a inibição *in vitro* das enzimas ciclo-oxigenase (COX) e lipoxigenase (LOX) dos extratos vegetais preditos por métodos *in silico*.

1.2.2 Objetivos específicos

- Desenvolver um método de extração e um método cromatográfico para os extratos foliares de espécies de *Baccharis*;
- Realizar estudo quimiotaxonômico de *Baccharis* utilizando abordagem metabolômica e inferir as substâncias importantes;
- Fazer correlação *in silico* das espécies de *Baccharis* com potencial anti-inflamatório empregando ensaio *in vitro* de extrato foliar de espécies de Asteraceae e inferir as substâncias com potencial anti-inflamatório.

1.3 Estrutura da tese

Esta tese é constituída de 5 capítulos, além de conclusões e apêndices.

- Capítulo 1 é uma introdução geral sobre o tema abordado.
- Capítulo 2 apresenta uma breve revisão do gênero *Baccharis*, metabólitos envolvidos com atividade anti-inflamatória e estudos metabolômicos utilizando espécies vegetais.
- Capítulo 3 apresenta todo desenvolvimento analítico da tese, onde foram abordados os parâmetros cromatográficos como escolha da coluna, tempo de eluição e volume de injeção a partir de um extrato complexo que representa toda a química produzida por *Baccharis*. Em seguida, foi determinada uma condição extratora por meio de otimização de extração utilizando planejamento experimental (*Design Of Experiments* - DOE).
- Capítulo 4 apresenta a quimiotaxonomia de *Baccharis*, mostrando como as espécies deste gênero se agrupam por semelhança química e quais as substâncias discriminantes de cada grupo formado.
- Capítulo 5 apresenta uma triagem de espécies de *Baccharis* com potencial anti-inflamatório frente às enzimas COX-1 e 5-LOX (via das oxigenases), utilizando modelo de predição (*in silico*) a partir de extratos foliares de espécies da família Asteraceae. Além disso, este capítulo apresenta as possíveis substâncias inibidoras dessas enzimas.

CONCLUSÕES

Com base nos resultados das análises dos perfis de LC-MS de 306 espécimes (211 espécies) de *Baccharis* investigadas pela abordagem metabolômica não direcionada aqui descrita foi possível concluir que:

- Uma extração eficiente de metabólitos de *Baccharis* pôde ser realizada tanto com etanol quanto metanol em solução aquosa em banho de ultrassom em um tempo de extração maior ou igual a 10 min. A extração pode ser realizada na faixa de 50-80% de etanol ou acima de 70% de metanol acidificado com ácido fórmico na faixa de 0,06-0,27%. Entretanto, para a extração dos metabólitos de *Baccharis* para os estudos metabolômicos foi selecionada a condição 70% etanol em solução aquosa em banho de ultrassom por 20 min.
- A análise quimiotaxonômica de *Baccharis* com base nos dados da metabolômica revelou grande similaridade com a recente classificação taxonômica baseada em morfologia e dados moleculares. Isso mostra que, a partir de dados químicos, é possível organizar as diferentes espécies desse gênero em grupos similares aos descritos por taxonomistas com base na filogenia. Na análise quimiotaxonômica, 10 grupos foram observados, formados quase que exclusivamente por seções de subgêneros: quatro grupos formados por espécies do subgênero *Baccharis*, três grupos formados principalmente por espécies do subgênero *Molina*, dois grupos formados principalmente por espécies do subgênero *Tarchonanthoides* e um grupo formado por espécies do subgênero *Coridifolia*. Substâncias como flavonoides e diterpenos foram determinadas como discriminantes dos grupos formados.
- A partir de análises *in silico* empregando-se modelos baseados em estatística multivariada foi possível prever 30 extratos de espécies de *Baccharis* com potencial inibitório para as enzimas 5-LOX e COX-1. As espécies ditas com potencial anti-inflamatório estão diretamente correlacionadas às substâncias da classe dos flavonoides e fenilpropanoides.

REFERÊNCIAS

ABAD, MJ; BERMEJO, P. *Baccharis* (Compositae): a review update. **Arkivoc**, v. 7, n. 7, p. 76-96, 2007.

ABDELWAHAB, S. I.; KOKO, W. S.; MOHAMED, M.; TAHA, E.; MOHAN, S.; ACHOU, M.; ABDULLA, M. A.; MUSTAFA, M. R.; AHMAD, S.; NOORDIN, M. I.; YONG, C. L.; SULAIMAN, M. R.; OTHMAN, R.; HASSAN, A. A. Immunopharmacology and Inflammation *in vitro* and *in vivo* anti-inflammatory activities of columbin through the inhibition of cyclooxygenase-2 and nitric oxide but not the suppression of NF- κ B translocation. **European Journal of Pharmacology**, v. 678, p. 61–70, 2012.

ALVARENGA, S.A. V, FERREIRA, M.J.P., RODRIGUES, G. V., EMERENCIANO, V.P. A general survey and some taxonomic implications of diterpenes in the Asteraceae. **Botanical Journal of the Linnean Society**. 147, 291–308, 2005.

ALVARENGA, S.A.V.; FERREIRA, M.J.P.; 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, 27-37, 2001.

AZMIR, J., ZAIDUL, I.S.M., RAHMAN, M.M., SHARIF, K.M., MOHAMED, A., SAHENA, F., JAHURUL, M.H., GHAFOR, K., NORULAINI, N. a. N., OMAR, A.K.M. Techniques for extraction of bioactive compounds from plant materials: A review. **Journal of Food Engineering**. v.117, p.426–436, 2013.

BACHIEGA, T. F., DE SOUSA, J. P. B., 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.

BOHLMANN, F., ZDERO, C., GRENZ, M., DHAR, A.K., ROBINSON, H., KING, R.M. Five diterpenes and other constituents from nine *Baccharis* species. **Phytochemistry** v.20, 281–286, 1981.

BOHLMANN, F.; KNAUF, W.; KING, R. M.; ROBINSON, H. Ein neues diterpen und weitere inhaltsstoffe aus *Baccharis*-arten. **Phytochemistry**, v. 18, p. 1011–1014, 1979.

BOHLMANN, F.; KRAMP, W.; JAKUPOVIC, J.; ROBINSON, H.; KING, R. M. Diterpenes from *Baccharis* species. **Phytochemistry**, v. 21, p. 399–403, 1982.

BOLLER, S; SOLDI, C; MARQUES, MC; SANTOS, EP; CABRINI, DP; MOACIR, G; ZAMPRONIO, AR; OTUKI, MF. Anti-inflammatory effect of crude extract and isolated compounds from *Baccharis illinita* DC in acute skin inflammation. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 130, n. 2, p. 262-266, 2010.

BREMER, K. **Asteraceae: Cladistics & Classification**. Portland: Timber Press. 752p. 1994.

BROUILLET, L.; LOWREY, T.K.; URBATSCH, L.; KARAMAN-CASTRO, V.; SANCHO, G.; WAGSTAFF, S.; SEMPLE, J.C. **Astereae**. In: V.A. FUNK; A.

SUSANA; T.F. STUESSY; BAYER R.J. Systematics, Evolution, and Biogeography of Compositae. Vienna, Austria: International Association for Plant Taxonomy (IAPT). p.587-629, 2009.

BRUNS, R.E.; SCARMINIO, I.S.; NETO, B.B. **Statistical Design - Chemometrics** (Data Handling in Science and Technology), Elsevier, Amsterdam, 2006.

CALABRIA, L.M., EMERENCIANO, V.P. SCOTTI, M.T. MABRY, T.J. **Secondary chemistry of Compositae**. In: FUNK, V.A.; SUSANNA, A.; STUESSY, T.F.; BAYER, R.J. Systematics, Evolution, and Biogeography of Compositae. Vienna: International Association for Plant Taxonomy; p. 73-87. 2009.

CAMPOS, F.R., BRESSAN, J., JASINSKI, V.C.G., ZUCCOLOTTO, T., SILVA, L.E., CERQUEIRA, L.B. *Baccharis* (Asteraceae): Chemical Constituents and Biological Activities. Review. **Chemical and Biodiversity**. v.13, p.1–17, 2016.

CANDIOTI, L.V., DE ZAN, M.M., CÁMARA, M.S., GOICOECHEA, H.C. Experimental design and multiple response optimization. Using the desirability function in analytical methods development. **Talanta**, v.124, p.123–138, 2014.

CHAGAS-PAULA, DA; OLIVEIRA, TB; FALEIRO, DPV; OLIVEIRA, RB; DA COSTA, FB. Outstanding anti-inflammatory potential of selected Asteraceae species through the potent dual inhibition of Cyclooxygenase-1 and 5-Lipoxygenase. **Planta Medica**, v. 81, n. 14, p. 1296-1307, 2015a.

CHAGAS-PAULA, DA., OLIVEIRA, T. B., ZHANG, T., EDRADA-EBEL, R.; DA COSTA, F. B. Prediction of anti-inflammatory plants and discovery of their biomarkers by machine learning algorithms and metabolomic studies. **Planta Medica**, v. 81, n. 06, p. 450-458, 2015b.

CHOI, Y.H., VERPOORTE, R. Metabolomics: What you see is what you extract. **Phytochemical Analysis**. 25, p.289–290, 2014.

CIFUENTE, D; SIMIRGIOTIS, M J; FAVIER, L S; ROTELLI, E; PELZER, L E. Antiinflammatory activity from aerial parts of *Baccharis medullosa*, *Baccharis rufescens* and *Laennecia sophiifolia* in mice. **Phytotherapy Research**, v. 15, n. 6, p. 529-531, 2001.

CLIFFORD, MN.; KNIGHT, S; KUHNERT, N. Discriminating between the six isomers of dicaffeoylquinic acid by LC-MS n. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 53, n. 10, p. 3821-3832, 2005.

COELHO, M. G. P., REIS, P. A., GAVA, V. B., MARQUES, P. R., GAYER, C. R., LARANJA, G. A. T.; SABINO, K. C. C. Anti-arthritic effect and subacute toxicological evaluation of *Baccharis genistelloides* aqueous extract. **Toxicology letters**, v. 154, n. 1, p. 69-80, 2004.

CUATRECASAS, J. Revisión de las especies Colombianas del género *Baccharis*. **Revista de la Academia Colombiana de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales** 13, p.5–102, 1967.

- DA SILVA FILHO, A.; DE SOUSA, J. P. B.; SOARES, S.; FURTADO, N. J. C.; ANDRADE SILVA, M. L.; CUNHA, W. R.; GREGÓRIO, L. E.; NANAYAKKARA, N. P. D.; BASTOS, J. K. Antimicrobial activity of the extract and isolated compounds from *Baccharis dracunculifolia* D. C. (Asteraceae). **Zeitschrift für Naturforschung. C, Journal of biosciences**, v. 63, n. 1–2, p. 40–6, 2008.
- DE OLIVEIRA, CB; COMUNELLO, LN; LUNARDELLI, A; AMARAL, RH; PIRES, MGS; DA SILVA, GL. Phenolic enriched extract of *Baccharis trimera* presents anti-inflammatory and antioxidant activities. *Molecules*, 17(1), 1113-1123, 2012.
- DE PAULA, D.A.C. **Estudos metabolômicos de Astedraceae por UPLC-UV-HRFTMS, avaliação do potencial anti-inflamatório *in vitro* e suas correlações através de métodos *in silico***. Ph.D. Thesis. University of São Paulo, 2013.
- DE VOS, R.C.H. MOCO, S., LOMMEN, A., KEURENTJES, J.J.B., BINO, R.J., HALL, R.D. Untargeted large-scale plant metabolomics using liquid chromatography coupled to mass spectrometry. **Nature protocols**. v.2, p.778–91, 2007.
- DEBLE, L.P. Studies in Baccharidinae (Asteraceae: Astereae). I: *Lanugothamnus* a new genus from South America. **Balduinia** v.37, p.2–25. 2012.
- DEBLE, L.P.; OLIVEIRA, A.S.; MARCHIORI, J.N. *Heterothalamulopsis*, gênero novo da subtribe Baccharinae Lessing (Astereae-Asteraceae). **Ciência Florestal** v.14, p.1–7, 2004.
- DEMARQUE, D. P.; CROTTI, A. E. M.; VESSECHI, R.; LOPES, J. L. C.; LOPES, N. P. Fragmentation reactions using electrospray ionization mass spectrometry: an important tool for the structural elucidation and characterization of synthetic and natural products. Review. **Natural Product Reports**. v. 33, p. 432–455, 2016.
- DERRINGER, G. Simultaneous optimization of several response variables. **Journal of Quality Technology**, v. 12, n. 4, p. 214-219, 1980.
- DEWICK, P.M. **Medicinal Natural Products: A Biosynthetic Approach**. John Wiley & Sons, Chichester, UK, 2009.
- DOS SANTOS, D. A., Fukui, M. D. J., Nanayakkara, N. D., Khan, S. I., Sousa, J. P. B., Bastos, J. K.; Quintão, N. L. Anti-inflammatory and antinociceptive effects of *Baccharis dracunculifolia* DC (Asteraceae) in different experimental models. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 127, p. 543-550, 2010.
- DUNN, W.B., ELLIS, D.I. Metabolomics: Current analytical platforms and methodologies. **TrAC Trends in Analytical Chemistry**. v.24, p.285–294, 2005.
- EMERENCIANO, V. P.; MILITÃO, J. S. L. T.; CAMPOS, C. C.; ROMOFF, P.; KAPLAN, M. A. C.; ZAMBON, M.; BRANT, A. J. C. Flavonoids as chemotaxonomic markers for Asteraceae. **Biochemical Systematics and Ecology**, v. 29, n. 9, p. 947–957, 2001.

EMERENCIANO, V.P., CABROL-BASS, M.D., FERREIRA, J.P., ALVARENGA, S.A.V.; BRANT, A.J.C.; SCOTTI, M.T.; BARBOSA, K.O. Chemical evolution in the Asteraceae. The oxidation-redution mechanism and production of secondary metabolites. **Natural Products Communication**, p.495-507, 2006.

ES-SAFI, N.-E., KERHOAS, L., EINHORN, J., DUCROT, P. Application of ESI / MS , CID / MS and tandem MS / MS to the fragmentation study of eriodictyol-7- O-glucosyl-(1→2)-glucoside and luteolin-7- O-glucosyl-(1→2)-glucoside. **Internacional Journal of Mass Spectrometry**. v.247, p.93–100, 2005.

FABRE, N., RUSTAN, I., HOFFMANN, E., QUETIN-LECLERCP, J., Determination of Flavone, Flavonol, and Flavanone Aglycones by Negative Ion Liquid Chromatography Electrospray Ion Trap Mass Spectrometry. **American Society for Mass Spectrometry**. v.305, p.707–715, 2001.

FALEIRO, D.P.V. **Perfil metabólico, desreplicação de extratos de *Aldama la Llave* (Asteraceae) e inibição das enzimas ciclooxigenase e lipoxigenase**. Dissertação de mestrado. Universidade de São Paulo. 2014.

FARIA, A. P. Classificação de montanhas pela altura. **Revista Brasileira de Geomorfologia-Ano**, v. 6, n. 2, 2005.

FERNANDEZ, M. A.; HERAS, B.; GARCIA, M. D.; SAENZ, M. T.; VILLAR, A. New insights into the mechanism of action of the anti-inflammatory triterpene lupeol. **Journal of Pharmacy and Pharmacology**, v. 53, p. 1533–1539, 2001.

FERREIRA, L; HITCHCOCK, D.B. A comparison of hierarchical methods for clustering functional data. **Communications in Statistics-Simulation and Computation**, v. 38, n. 9, p.1925-1949, 2009.

FERREIRA, P.M.P., MILITÃO, G.C.G., LIMA, D.J.B., COSTA, N.D.J., MACHADO, K.C., SANTOS, A.G., CAVALHEIRO, A.J., BOLZANI, V.D.S., SILVA, D.H.S., PESSOA, C. Morphological and biochemical alterations activated by antitumor clerodane diterpenes. **Biochemical Systematics and Ecology**, v.222, p.112–125, 2014.

FIEHN, O. Metabolomics – the link between genotypes and phenotypes. **Plant Molecular Biology**. v.48, p.155–171, 2002.

FIORUCCI, S., MELI, R., BUCCI, M., CIRINO, G. Dual inhibitors of cyclooxygenase and 5-lipoxygenase. A new avenue in anti-inflammatory therapy? **Biochemical pharmacology**, v. 62, p. 1433-1438, 2001.

FLORÃO, A.; BUDEL, J. M.; DUARTE, M. R.; MARCONDES, A.; RODRIGUES, R. A. F.; RODRIGUES, M. V. N.; SANTOS, C. A. M.; WEFFORT-SANTOS, A. M. Essential oils from *Baccharis* species (Asteraceae) have anti-inflammatory effects for human cells. **Journal of Essential oil Research**, v. 24, p. 561–570, 2012.

FORCISI, S.; MORITZ, F.; KANAWATI, B.; TZIOTIS, D.; LEHMANN, R.; SCHMITT-KOPPLIN, P. Liquid chromatography-mass spectrometry in metabolomics research:

mass analyzers in ultra high pressure liquid chromatography coupling. **Journal of Chromatography A**, v.1292, p.51–65, 2013.

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

FUNK, V.A.; SUSANNA, A.; STUESSY, T.F.; BAYER, R.J. **Systematics, Evolution, and Biogeography of Compositae**. IAPT, Washington. 2009.

GENE, R. M.; MARIN, E.; ADZET, T. Anti-inflammatory effect of aqueous extracts of three species of the genus *Baccharis*. **Planta Medica**, v. 58, p. 565-566, 1992.

GIANELLO, J.; GIORDANO, O. S. Barticulidiol as a new furanic diterpene isolated from *Baccharis articulata* Lam (Persoon). **Revista Latinoamericana de Quimica**, v. 13, n. 2, p. 76–78, 1982.

GIULIANO, D. Clasificación infragenérica de las especies Argentinas de *Baccharis* (Asteraceae, Astereae). **Darwiniana** 39: 131-154. 2001.

GIULIANO, D. New Infragenera in *Baccharis* (Asteraceae, Astereae). **Novon** 15(4): 539. 2005.

GIULIANO, Daniel A.; FREIRE, Susana E. Nuevas Secciones En *Baccharis* (Asteraceae, Astereae) de América Del Sur 1. **Annals of the Missouri Botanical Garden**, v. 98, n. 3, p. 331-347, 2011.

GIULIANO, Daniel A.; NESOM, Guy L. A new section of *Baccharis* (Asteraceae: Astereae), and notes on allied taxa. **SIDA, Contributions to Botany**, p. 1481-1484, 2003.

GIVOVICH, A.; SAN-MARTÍN, A.; CASTILLO, M. Neo-clerodane diterpenoids from *Baccharis incarum*. **Phytochemistry**, v. 25, n. 12, p. 2829–2831, 1986.

GLAUSER, G., VEYRAT, N., ROCHAT, B., WOLFENDER, J.L., TURLINGS, T. C. J. Ultra-high pressure liquid chromatography-mass spectrometry for plant metabolomics: a systematic comparison of high-resolution quadrupole-time-of-flight and single stage Orbitrap mass spectrometers. **Journal of Chromatography A**. v.1292, p.151–159, 2013.

GORROCHATEGUI, E., JAUMOT, J., LACORTE, S., TAULER, R. Data analysis strategies for targeted and untargeted LC-MS metabolomic studies: Overview and workflow. **TrAC Trends in Analytical Chemistry**. 82, p.425–442, 2016.

GOTTLIEB, O.R. Phytochemical evolution: the redox theory. **Natural Products Letters** v 2, p.171-176, 1993.

GOTTLIEB, Otto Richard. **Micromolecular evolution, systematics and ecology: an essay into a novel botanical discipline**. Springer Science:Heidelberg. 1982.

GOVINDARAGHAVAN, S.; HENNEL, J. R.; SUCHER, N. J. From classical taxonomy to genome and metabolome: Towards comprehensive quality standards for medicinal herb raw materials and extracts. **Fitoterapia**, v. 83, p. 979–988, 2012.

GULLBERG, J., JONSSON, P., NORDSTRÖM, A., SJÖSTRÖM, M., MORITZ, T. Design of experiments: an efficient strategy to identify factors influencing extraction and derivatization of *Arabidopsis thaliana* samples in metabolomic studies with gas chromatography/mass spectrometry. **Analytical Biochemistry**. v.331, p.283–95, 2004.

HARBORNE, J.B. Flavonoids and the evolution of angiosperms. **Biochemical Systematics and Ecology** v.5, p.7-22, 1977.

HEERING, W. *Baccharis* L. In: REICHE, C. Estudios críticos sobre la flora de Chile. **Anales de la Universidad de Chile** v.111, p.151-196, 1905.

HEERING, W. **Über einige Arten der Gattung *Baccharis* besonders des Kieler Herbars**. Schriften Naturwissenschaften Vereins Schleswig-Holstein v.13, p.39-55, 1904.

HEGNAUER, R. Phytochemistry and plant taxonomy – an essay on the chemotaxonomy of higher plants. **Phytochemistry** v.25, p.1519-1535, 1996.

HEIDEN, G. **Systematics of *Baccharis* (Asteraceae: Astereae)**. Ph.D. Thesis. University of São Paulo, 2014.

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

HEIDEN, G.; PIRANI, J. R. Novelties towards a phylogenetic infrageneric classification of *Baccharis* (Asteraceae, Astereae). **Phytotaxa**, v. 289, n. 3, p. 285–290, 2016.

HEIDEN, G., PIRANI, J. R. A synopsis and notes for *Baccharis* subgen. *Tarchonanthoides* (Asteraceae: Astereae). **Phytotaxa** v.60, p.41–49, 2012.

HEIDEN, G., SCHNEIDER, A. ***Baccharis* in: Lista de Espécies da Flora do Brasil**. Jardim Botânico do Rio de Janeiro, 2012.

HELLWIG, F. H. Taxonomy and evolution of Baccharidinae (Compositae). In: **Compositae: Systematics. Proceedings of the International Compositae Conference, Kew**. p. 575-590. 1996.

HELLWIG, F. The genera *Pingraea* Cassini and *Neomolina* Hellwig (Compositae-Astereae). **Candollea** v.48, p.203-219, 1993.

HERAS, B.; HOULT, J. R. . Non- Cytotoxic Inhibition of Macrophage Eicosanoid Biosynthesis and Effects on Leukocyte Functions and Reactive Oxygen Species of Two Novel Anti-Inflammatory Plant Diterpenoids. **Planta Medica**, v. 60, p. 501–506, 1994.

HERNANDEZ, Y., LOBO, M., GONZALEZ, M. Factors affecting sample extraction in the liquid chromatographic determination of organic acids in papaya and pineapple. **Food Chem.** 114, 734–741, 2009.

HIKAWCZUK, V. E. J.; VERRILLI, M. A. L.; BORKOWSKI, E. J.; SOSA, M. E.; GIORDANO, O. S.; SAAD, J. R.; TONN, C. E. Antifeedant activity of neo-clerodane diterpenes from *Baccharis flabellata* Hook & Arn var . *flabellata* toward *Tribolium castaneum* Herbst : structure – activity relationships. **Natural Product Research**, v. 20, p. 813–819, 2006.

HWANG, S. J.; KIM, Y.; PARK, Y.; LEE, H.; KIM, K. Anti-inflammatory effects of chlorogenic acid in lipopolysaccharide-stimulated RAW 264 . 7 cells. **Inflammation research**, v. 63, p. 81–90, 2014.

JAISWAL, R.; KUHNERT, N. How to identify and discriminate between the methyl quinates of chlorogenic acids by liquid chromatography – tandem mass spectrometry. **Journal of mass spectrometry**, v. 46, p. 269–281, 2011.

JAKUPOVIC, J., WARNING, U., BOHLMANN, F., KING, R. M. New coumaric acid derivatives and other constituents from Argentinian *Baccharis* species, **Latinoamericana de Química**, v.18, 75-6, 1987.

JAKUPOVIC, J.; SCHUSTER, A.; GANZER, U.; BOHLMANN, F.; BOLDT, P. E. Sesqui- and diterpenes from *Baccharis* species. **Phytochemistry**, v. 29, p. 2217–2222, 1990.

JEFFREY, C. Introduction with key to tribes. in: KADEREIT, J.W.; JEFFREY, C. (eds.). **The Families and Genera of Vascular Plants**, vol. 8, Flowering Plants. Eudicots. Asterales. Springer. Berlim, p.61-87, 2007.

JUSTESEN, U. Collision-induced fragmentation of deprotonated methoxylated flavonoids, obtained by electrospray ionization mass spectrometry. **Journal of Mass Spectrometry**, v. 36, p.169-178, 2001.

KAPLAN, F., KOPKA, J., HASKELL, D.W., ZHAO, W., SCHILLER, K.C., GATZKE, N., SUNG, D.Y., GUY, C.L. Exploring the Temperature-Stress Metabolome. **Plant Physiology**. v.136, p.4159–4168, 2004.

KATAJAMAA, M., ORESIC, M. Data processing for mass spectrometry-based metabolomics. **Journal of Chromatography A**. v.1158, p.318–28, 2007.

KATO, H., KODAMA, O., AKATSUKA, T. Oryzaalexin e, a diterpene phytoalexin rice leaves. **Phytochemistry** v.33, p.79–81, 1993.

KELLER H.R., MASSART D.L., LIANG Y.Z., KVALHEIM O.M. Evolving factor analysis in the presence of heteroscedastic noise. **Analytica Chimica Acta**, v.263, p.29-36, 1992.

KEURENTJES, J.J.B., FU, J., DE VOS, C.H.R., LOMMEN, A., HALL, R.D., BINO, R.J., VAN DER PLAS, L.H.W., JANSEN, R.C., VREUGDENHIL, D., KOORNNEEF,

M. The genetics of plant metabolism. **Nature genetics**, v.38, p. 842–9, 2006.

KIM, W.; PEEVER, T. L.; PARK, J.; PARK, C.; GANG, D. R.; XIAN, M.; DAVIDSON, J. A.; INFANTINO, A.; KAISER, W. J.; CHEN, W. Use of metabolomics for the chemotaxonomy of legume-associated *Ascochyta* and allied genera. **Scientific Reports**, v. 6, p. 1–12, 2016.

KIND, T.; FIEHN, O. Seven Golden Rules for heuristic filtering of molecular formulas obtained by accurate mass spectrometry. **BMC Bioinformatics** v.8, p.105, 2007.

KUHN, F.; OEHME, M.; ROMERO, F.; ABOU-MANSOUR, E.; TABACCHI, R. Differentiation of isomeric flavone/isoflavone aglycones by MS2 ion trap mass spectrometry and a double neutral loss of CO. **Rapid Communications in Mass Spectrometry**, v. 17, n. 17, p. 1941–1949, 2003.

KUROYANAGI, M.; UCHIDA, K.; UENO, A.; SATAKE, M.; SHIMOMURA, K. Neoclerodane type diterpenes from *Baccharis trinervis*. **Phytochemistry**, v. 34, p. 1377–1384, 1993.

KUROYANAGU, M.; FUJITA, K.; KAZAOKA, M.; MATSUMOTO, S.; UENO, A.; FUKUSHIMA, S.; KATSUOKA, M. Studies on the constituents of *Baccharis genistelloides*. **Chemical and Pharmaceutical Bulletin**, v. 33, n. 11, p. 5075–5078, 1985.

LABBE, C.; CASTILLO, M.; MARGARITA, H. Diterpenoids from *Baccharis leija*. **Phytochemistry**, v. 30, 1991.

LABBE, C.; FAINI, F.; CASTILLO, M. FROM CHILEAN SPECIES. **Phytochemistry**, v. 29, p. 324–325, 1990.

LANEKOFF, I.; GEYDEBREKHT, O.; PINCHUK, G. E.; KONOPKA, A. E.; LASKIN, J. Spatially resolved analysis of glycolipids and metabolites in living *Synechococcus* sp. PCC 7002 using nanospray desorption electrospray ionization. **Analyst**, v. 138, p. 1971–1978, 2013.

LAVETI, D.; KUMAR, M.; HEMALATHA, R.; SISTLA, R.; NAIDU, V.; TALLA, V.; VERMA, V.; KAUR, N.; NAGPAL, R. Anti-Inflammatory Treatments for Chronic Diseases: A Review. **Inflammation & Allergy-Drug Targets**, v. 12, p. 349–361, 2013.

LUQUE DE CASTRO, M.D., DELGADO-POVEDANO, M.M. Ultrasound: a subexploited tool for sample preparation in metabolomics. **Analytica Chimica Acta**. v.806, p.74–84, 2014.

MABRY, T.J. **Is the Centrospermae monophyletic**. A review of phylogenetically significant molecular, ultrastructural and other data for Centrospermae families. in: BEDNZ, G., SANTESSON, J.; RUNNUNSTROM-REIO, V. (eds), *Chemistry in Botanical Classification*. Nobel Foundation, Stockholm; Academic Press, New York. p.75-85, 1973.

MABRY, T.J.; MARKHAM, K.R.; THOMAS, M.B. **The systematic identification of flavonoids**. Springer Berlin Heidelberg, p.35-40, 1970.

MALAGARRIGA HEBRAS, R. de P. Nomenclator Baccharidinarum omnium.:[Baccharidinarum omnium nomenclature]. **Memoria de la Sociedad de Ciencias Naturales la Salle (Venezuela)**. v. 37, n. 107, p. 129-224, 1977.

MARAN, J. Prakash; MANIKANDAN, S.; MEKALA, V. Modeling and optimization of betalain extraction from *Opuntia ficus-indica* using Box–Behnken design with desirability function. **Industrial Crops and Products**, v. 49, p. 304-311, 2013.

MARTUCCI, M.E.P. **Metabolômica e screening de interações ecoquímicas de plantas da subtribo Lychnophorinae (Asteraceae)**. Ph.D. Thesis. University of São Paulo, 2015.

MARTUCCI, M.E.P., DE VOS, R.C.H., CAROLLO, C.A., GOBBO-NETO, L. Metabolomics as a potential chemotaxonomical tool: application in the genus *Vernonia* schreb. **PLoS One** v.9, p1-8, 2014.

MOCO, S., BINO, R.J., VORST, O., VERHOEVEN, H.A., DE GROOT J., VAN BEEK, T.A.J., VERVOORT, R., DE VOS, R. A liquid chromatography-mass spectrometry-based metabolome database for tomato A Liquid Chromatography-Mass Spectrometry-Based Metabolome Database for Tomato, **Plant physiology**. v.141, p.1205–1218, 2006.

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

MÜLLER, J. **World checklist of *Baccharis* L. (Compositae–Astereae)**. Version 2013-09-03. Available from: <http://www.spezb.uni-jena.de/wp-content/uploads/2013/09/World-checklist-of-Baccharis-L>, 2013.

MUSHTAQ, M.Y., CHOI, Y.H. , VERPOORTE, R. WILSON, E.G. Extraction for metabolomics: Access to the metabolome, **Phytochemical Analysis**. v.25, p. 291–306, 2014.

MYERS, R.H., MONTGOMERY, D.C. **Response Surface Methodology: Process and Product Optimization Using Designed Experiments** (Wiley Series in Probability and Statistics). Wiley, New York, 2009.

NATHAN, C. Points of control in inflammation. **Nature**, v. 420, p. 846–852, 19 dez. 2002.

NESOM, G.L. *Baccharis* sect. *Baccharidastrum* (Compositae: Astereae), including two monoecious and one dioecious species. **Phytologia** v.65, p.169- 173, 1988.

NESOM, G.L. Infrageneric taxonomy of North and Central American *Baccharis* (Asteraceae: Astereae). **Phytologia** v.68, p.40-46, 1990.

NESOM, G.L.; ROBINSON, H. XV. Tribe Astereae Cass. In: KEDEREIT, J.W.; JEFFREY, C. **The families and genera of vascular plants** (K. Kubitzki), Vol. VIII. Flowering plants: Eudicots: Asterales. Springer, Berlin, p. 284-342, 2007.

OHSAKI, A., SHIBATA, K., KUBOTA, T., TOKOROYAMA, T. Phylogenetic and chemotaxonomic significance of diterpenes in some *Portulaca* species (Portulacaceae). **Biochemical systematics and ecology**. v.27, 289–296, 1999.

OLIVEIRA, A.S., DEBLE, L.P., SCHNEIDER, A.A.; MARCHIORI, J.N.C. Checklist do gênero *Baccharis* L. para o Brasil (Asteraceae, Astereae). **Balduinia** 17–27, 2006.

PANERO, J.L.; FUNK, V.A. The value of sampling anomalous taxa in phylogenetic studies: major clades of the Asteraceae revealed. **Molecular Phylogenetics and Evolution** v.47, p.757-782, 2008.

PARHIZ, H.; ROOHBAKHSH, A.; SOLTANI, F.; REZAEI, R.; IRANSHAHI, M. Antioxidant and anti-inflammatory properties of the citrus flavonoids hesperidin and hesperetin: An updated review of their molecular mechanisms and experimental models. **Phytotherapy Research**, v. 29, p. 323–331, 2015.

PATRICK, Graham L. **An Introduction to Medicinal Chemistry**. Oxford university press, 2013.

PATTI, G.J., YANES, O., SIUZDAK, G., Innovation: Metabolomics: the apogee of the omics trilogy. **Nature Reviews Molecular Cell Biology**. v.13, p.263–269, 2012.

PAUL, E.L.; LUNARDELLI, A.; CABERLON, E.; DE OLIVEIRA, C.B.; SANTOS, R.C.V.; BIOLCHI, V.; BASTOS, C.M.A.; MOREIRA, K.B.; NUNES, F.B.; GOSMANN, G.; DE OLIVEIRA, J.R. Anti-inflammatory and immunomodulatory effects of *Baccharis trimera* aqueous extract on induced pleurisy in rats and lymphoproliferation in vitro. **Inflammation**, v. 32, n. 6, p. 419–25, dez. 2009.

PAULINO, N.; ABREU, S. R. L.; UTO, Y.; KOYAMA, D.; NAGASAWA, H.; HORI, H.; DIRSCH, V. M.; VOLLMAR, A. M.; SCREMIN, A.; BRETZ, W. A. Anti-inflammatory effects of a bioavailable compound Artepillin C in Brazilian propolis. **European Journal of Pharmacology**, v. 587, p. 296–301, 2008.

PINTO, C.; VESSECCHI, R.; GOMES, C. G.; AMORIM, A. C. L.; SANTOS-JÚNIOR, H. M.; REZENDE, M. J. C.; GATES, P. J.; REZENDE, C. M.; LOPES, N. P. Electrospray ionization tandem mass spectrometry analysis of isopimarane diterpenes from Velloziaceae. **Rapid Communications in Mass Spectrometry**, v. 30, p. 61–68, 2016.

PLUSKAL, T., CASTILLO, S., VILLAR-BRIONES, A., OREŠIČ, M. MZmine 2: modular framework for processing, visualizing, and analyzing mass spectrometry-based molecular profile data. **BMC Bioinformatics**, v. 11, n. 1, p. 395, 2010.

PRASAD MAHARJAN, R., FERENCI, T. Global metabolite analysis: The influence of extraction methodology on metabolome profiles of *Escherichia coli*. **Analytical Biochemistry**. v.313, p.145–154, 2003.

- RADULOVIC, N.S.; DENIC, M.S. Essential Oils from the Roots of *Echinops bannaticus* Rochel ex Schrad . and *Echinops sphaerocephalus* L. (Asteraceae): Chemotaxonomic and Biosynthetic Aspects. **Chemistry & Biodiversity**, v. 10, p. 658–676, 2013.
- ROSILLO, M.A.; SÁNCHEZ-FIDALGO, M.; CÁRDENO, A.; APARICIO-SOTO, M.; SÁNCHEZ-HIDALGO, S.; VILLEGAS, I.; LASTRA, C. A. Dietary supplementation of an ellagic acid-enriched pomegranate extract attenuates chronic colonic inflammation in rats attenuates chronic colonic inflammation in rats. **Pharmacological Research**, v. 66, n. 3, p. 235–242, 2012.
- SAAD, J.R.; DAVICINO, J.G.; GIORDANO, O.S. A diterpene and flavonoids of *Baccharis flabellata*. **Phytochemistry**, v. 27, n. 6, p. 1884–1887, 1988.
- SALINAS-SÁNCHEZ, D. O., HERRERA-RUIZ, M., PÉREZ, S., JIMÉNEZ-FERRER, E.; ZAMILPA, A. (Anti-inflammatory activity of hautriwaic acid isolated from *Dodonaea viscosa* leaves. **Molecules**, v. 17, n. 4, p. 4292-4299, 2012.
- SAMPAIO, B.L., EDRADA-EBEL, R., DA COSTA, F.B. Effect of the environment on the secondary metabolic profile of *Tithonia diversifolia*: a model for environmental metabolomics of plants. **Scientific Reports**. 6, 29265, p.1-11, 2016.
- SANTOS, D. A.; FUKUI, M. J.; NANAYAKKARA, N. P. D.; KHAN, S. I.; SOUSA, J. P. B.; BASTOS, J. K.; ANDRADE, S. F.; FILHO, A. A. S.; QUINTÃO, N. L. M. Anti-inflammatory and antinociceptive effects of *Baccharis dracunculifolia* DC (Asteraceae) in different experimental models. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 127, p. 543–550, 2010.
- SARGENTI, S.R., VICHNEWSKI, W. Sonication and liquid chromatography as a rapid technique for extraction and fractionation of plant material. **Phytochemical Analysis**. 11, 69–73, 2000.
- SCHMEDA-HIRSCHMANNA, G., ASTUDILLO, L., SEPÚLVEDA, B., RODRÍGUEZ, J. A., THEODULOZ, C., YÁÑEZ, T., & PALENZUELA, J. A. Gastroprotective effect and cytotoxicity of natural and semisynthetic labdane diterpenes from *Araucaria araucana* resin. **Zeitschrift für Naturforschung C**, v. 60, n. 7-8, p. 511-522, 2005.
- SEAMAN, F.; BOHLMANN, F.; ZDERO, C.; MABRY, T.J. Diterpenes of Flowering Plants: Compositae (Asteraceae). Springer-Verlag: New York. 1990.
- SHULAEV, V., CORTES, D., MILLER, G., MITTLER, R. Metabolomics for plant stress response. **Plant Physiology**. v.132, p.199–208, 2008.
- SIMIRGIOTIS, M. J.; GARCIA, M.; SOSA, M. E.; GIORDANO, O. S.; TONN, C. E. An ent-kaurene derivative from aerial parts of *Baccharis rufescens*. **Anales-Asociacion Quimica Argentina**. v.91, p. 109-116, 2003.
- SIMÕES-PIRES, C. A., DEBENEDETTI, S., SPEGAZZINI, E., MENTZ, L. A., MATZENBACHER, N. I., LIMBERGER, R. P; HENRIQUES, A. T. Investigation of the

essential oil from eight species of *Baccharis* belonging to sect. *Caulopterae* (Asteraceae, Astereae): a taxonomic approach. **Plant Systematics and Evolution**, v. 253, n. 1, p. 23-32, 2005.

SMITH, L. W.; CULVENOR, C. C. J. Plant sources of hepatotoxic pyrrolizidine alkaloids. *Journal of Natural Products*, v.44, n.2, 129-152, 1981.

SNEATH, P.H.A.; SOKAL, R.R. **Numerical Taxonomy: The Principles and Practice of Numerical Classification**. Freeman, San Francisco, 1973.

SPADARO, A.C; BASTOS, J.K.; LOPEZ, R.F.; LEITÃO, D.P.S; POLIZELLO, A.C.M; LEITE, M.F. Essential oils and compounds isolated from extracts of *Baccharis* spp. and cosmetic and pharmaceutical formulation containing them. Patente nº2009000802BR, 2010.

SRIVASTAVA, P.; GUPTA, N.; MAURYA, A. K.; SHANKER, K. New anti-inflammatory triterpene from the root of *Ricinus communis*. **Natural Product Research**, v. 28, n. 5, p. 306–311, 2013.

STOLFI, C.; SIMONE, V. DE; PALLONE, F.; MONTELEONE, G. Mechanisms of Action of Non-Steroidal Anti-Inflammatory Drugs (NSAIDs) and Mesalazine in the Chemoprevention of Colorectal Cancer. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 14, p. 17972–17985, 2013.

TABAS, I.; GLASS, C. K. Anti-Inflammatory Therapy in Chronic Disease: Challenges and Opportunities. **Science**, v. 339, p. 166–172, 2013.

TAGUCHI, L.; PINHEIRO, N. M.; OLIVO, C. R.; CHOQUETA-TOLEDO, A.; GRECCO, S. S.; LOPES, F. D. T. Q. S.; CAPERUTO, L. C.; MARTINS, M. A.; TIBERIO, I. F. L. C.; CÂMARA, N. O.; LAGO, J. H. G.; PRADO, C. M. A flavanone from *Baccharis retusa* (Asteraceae) prevents elastase-induced emphysema in mice by regulating NF- κ B, oxidative stress and metalloproteinases. **Respiratory Research**, p. 1–15, 2015.

TSUJII, M.; KAWANO, S.; DUBOIS, R.N. Cyclooxygenase-2 expression in human colon cancer cells increases metastatic potential. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 94, n. 7, p. 3336-3340, 1997.

URBAIN, A.; MARSTON, A.; MARSDEN-EDWARDS, E.; HOSTETTMANN, K. Ultra-performance Liquid Chromatography / Time-of-flight Mass Spectrometry as a Chemotaxonomic Tool for the Analysis of. **Phytochemical Analysis**, v. 20, p.134–138, 2009.

VAN DEN BERG, R.A., HOEFSLOOT, H.C.J., WESTERHUIS, J.A., SMILDE, A.K., VAN DER WERF, M.J. Centering, scaling, and transformations: improving the biological information content of metabolomics data. **BMC Genomics** v.7, p.142, 2006.

- VERDI, L.G., BRIGHENTE, I.M.C., PIZZOLATTI, M.G. Gênero *Baccharis* (Asteraceae): aspectos químicos, econômicos e biológicos. **Química Nova** v.28, p.85–94, 2005.
- WAGNER, H.; SEITZ, R.; LOTTER, H. New furanoid ent-clerodanes from *Baccharis tricuneata*. **Journal of Organic Chemistry**, v. 43, n. 17, p. 3339–3345, 1978.
- WARNING, U.; BOHLMANN, F.; SANCHEZ, V. H.; DEL RIO, S. E.; DOMINGUEZ, X. A. New constituents of *Baccharis salicifolia*. **Revista Latinoamericana de Química**, v. 17, p. 199-200, 1986.
- WATERMAN, P.G.; GRAY, A.I. Chemical systematics. **Natural Products Reports** v.4 p.175-203, 1987.
- WOLLENWEBER, E.; VALANT-VETSCHERA, K. M.; FERNANDES, G. W. Chemodiversity of exudate flavonoids in *Baccharis concinna* and three further South-American *Baccharis* species. **Natural Product Communications**, v.1, p.627-632, 2006.
- WORLEY, B., POWERS, R. Multivariate Analysis in Metabolomics. **Current Metabolomics** v.1, p.92–107, 2013.
- WU HF, SOUTHAM AD, HINES A, VIANT MR. High-throughput tissue extraction protocol for NMR- and MS-based metabolomics. **Analytical Biochemistry**. p.204–212, 2008.
- XIA, J., BROADHURST, D.I., WILSON, M., WISHART, D.S. Translational biomarker discovery in clinical metabolomics: An introductory tutorial. **Metabolomics** v.9, p.280–299, 2013.
- YANG, J., LIANG, Q., WANG, M., JEFFRIES, C., SMITHSON, D., TU, Y., BOULOS, N., JACOB, M.R., SHELAT, A.A., WU, Y., RAVU, R.R., GILBERTSON, R., AVERY, M.A., KHAN, I.A., WALKER, L.A., GUY, R.K., LI, X. UPLC-MS-ELSD-PDA as a powerful dereplication tool to facilitate compound identification from small-molecule natural product libraries. **Journal of Natural Products**. v.77, p.902–909, 2014.
- YUAN, J., HUANG, J., WU, G., TONG, J., XIE, G., DUAN, J., QIN, M. Multiple responses optimization of ultrasonic-assisted extraction by response surface methodology (RSM) for rapid analysis of bioactive compounds in the flower head of *Chrysanthemum morifolium* Ramat. **Industrial Crops and Products**. v.74, p.192–199, 2015.
- ZALEWSKI, C; PASSERO, LFD; MELO, ASRB; CORBETT, CP; LAURENTI, MD; TOYAMA, MH; TOYAMA, DO; ROMOFF, PF; LAGO, JHG. Evaluation of anti-inflammatory activity of derivatives from aerial parts of *Baccharis uncinella*. **Pharmaceutical biology**, v. 49, n. 6, p. 602-607, 2011.
- ZANOWIAK, D.J. **An analysis of systematic and phyletic relationships within the Baccharidinae (Asteraceae: Astereae)**. Tese de doutorado. Texas A&M University, 82p, 1991.

ZDERO, C., BOHLMANN, F., SOLOMON, J.C., KING, R.M., ROBINSON, H. *Ent-clerodanes and other constituents from Bolivian Baccharis species*. **Phytochemistry** v.28, p.531–542, 1989.

ZHOU, B., XIAO, J.F., TULI, L., RESSOM, H.W. LC-MS-based metabolomics. **Molecular BioSystems**. V.8, p.470–48, 2012.

ZHOU, Y., YANG, B. L., YANG, J., HUANG, S. X., SUN, H. D., XU, H. X., DING, L. S. Electrospray ionization tandem mass spectrometric analysis of ent-6, 7-seco-kaurane diterpenoids from the *Isodon* species. **Rapid Communications in Mass Spectrometry**, v. 23, n. 1, p. 138-146, 2009.

ZHOU, Y.; HUANG, S.; LI, L.; YANG, J.; LIU, X.; PENG, S.; DING, L.; SUN, H. Negative electrospray ionization tandem mass spectrometric investigation of ent-kaurane diterpenoids from the genus *Isodon*. **Journal of Mass Spectrometry**, v. 43, p. 63–73, 2008.