

CAPÍTULO 2

IDENTIFICAÇÃO DE QUIMIOTIPOS DE *M. AZUREA* ATRAVÉS DE ANÁLISE DE CLUSTER HIERÁRQUICO E COMPONENTES PRINCIPAIS (PCA) DE METABÓLITOS SECUNDÁRIOS



<https://doi.org/10.22533/at.ed.152152503022>

Data de aceite: 11/02/2025

Júlio César Gonçalves de Souza

Universidade Federal do Amazonas

Manaus, Amazonas

<http://lattes.cnpq.br/1413979852101296>

Ari de Freitas Hidalgo

Universidade Federal do Amazonas

Manaus, Amazonas

<http://lattes.cnpq.br/6312594272028342>

Leiliane do Socorro Sodré de Souza

Universidade Federal do Amazonas

Manaus, Amazonas

<http://lattes.cnpq.br/2624080488947453>

Anderson Mathias Pereira

Universidade Federal do Amazonas

Manaus, Amazonas

<http://lattes.cnpq.br/5653131066807492>

RESUMO: Os metabólitos secundários estão presentes nos óleos essenciais que possuem aromas característicos que refletem as propriedades químicas das plantas de onde são derivados. Eles têm sido amplamente utilizados em diversas culturas ao longo da história, principalmente na medicina tradicional, aromaterapia, cosméticos e perfumaria. Um quimiotípico é a variação química dentro da mesma

espécie de planta, influenciada por fatores climáticos, edáficos ou técnicas de extração. Este trabalho teve como objetivo identificar quimiotipos do óleo essencial da espécie *M. azurea*, uma espécie rica em mono e sesquiterpenos. Os dados foram levantados a partir de pesquisa na literatura, cuja identificação dos compostos foi feita através de cromatografia gasosa e espectrometria de massas. Para a identificação dos quimiotipos foi feita uma análise de cluster hierárquica e análise de componentes principais PCA. O cluster com método de distanciamento Ward apresentou 3 grupos. A PCA também apresentou 3 componentes principais no agrupamento. *M. azurea* possui óleo essencial característico com a presença de β -copaen-4 α -ol e mirtenal independentemente do método de extração ou localização geográfica. A concentração de β -copaen-4 α -ol teve peso significativo na variabilidade entre os grupos.

PALAVRAS-CHAVE: quimiotípico; óleos essenciais; clustering e β -copaen-4 α -ol.

IDENTIFICATION OF CHEMOTYPES OF *M. AZUREA* THROUGH HIERARCHICAL CLUSTER ANALYSIS AND PRINCIPAL COMPONENT ANALYSIS (PCA) OF SECONDARY METABOLITES

ABSTRACT: Secondary metabolites are present in essential oils with characteristic aromas that reflect the chemical properties of the plants from which they are derived. They have been widely used across various cultures throughout history, particularly in traditional medicine, aromatherapy, cosmetics, and perfumery. A chemotype refers to the chemical variation within the same plant species, influenced by climatic, edaphic, or extraction technique factors. This study aimed to identify chemotypes of the essential oil from the species *M. azurea*, which is rich in mono- and sesquiterpenes. Data were gathered through a literature review, and compound identification was performed using gas chromatography and mass spectrometry. To identify the chemotypes, hierarchical cluster analysis and principal component analysis (PCA) were conducted. The cluster analysis, using the Ward linkage method, identified three groups. Similarly, PCA revealed three principal components in the grouping. *M. azurea* exhibits a characteristic essential oil profile with the presence of β -copaen-4 α -ol and myrtenal, regardless of the extraction method or geographical location. The concentration of β -copaen-4 α -ol significantly contributed to the variability among the groups.

KEYWORDS: chemotype; terpenes; clustering, β -copaen-4 α -ol.

INTRODUÇÃO

Óleos essenciais são compostos voláteis extraídos de plantas, geralmente por meio de métodos como hidrodestilação com variações no pré-tratamento. Eles possuem aromas característicos que refletem as propriedades químicas únicas das plantas de onde são derivados. Esses óleos têm sido amplamente utilizados em diversas culturas ao longo da história, principalmente na medicina tradicional, aromaterapia, cosméticos e perfumaria. O etnoconhecimento desses fitoquímicos é uma das bases que orientam as pesquisas em busca de novos princípios ativo. São compostos por uma complexa mistura de moléculas e desempenham funções importantes tanto do ponto de vista fisiológico e ecológico das plantas quanto na saúde e bem-estar dos seres humanos (Assadpour et al., 2024; Almeida et al., 2024).

Atualmente, os óleos essenciais têm grande relevância no mercado global, com aplicações que vão desde a saúde e bem-estar até a produção industrial. A crescente popularidade da aromaterapia, cosméticos naturais e produtos de higiene pessoal fez com que a demanda por óleos essenciais de alta qualidade aumentasse significativamente. Além disso, eles têm atraído o interesse de setores como o alimentício e o farmacêutico, que exploram suas propriedades antimicrobianas, antioxidantes e terapêuticas. Estima-se que o mercado de óleos essenciais continue a crescer, impulsionado por um consumo cada vez mais voltado para produtos naturais e sustentáveis (Bizzo & Rezende, 2022).

Nesse contexto, a identificação e agrupamento de quimiotipos é uma prática fundamental. Um quimiotipo é a variação química dentro da mesma espécie de planta, influenciada por fatores climáticos, edáficos e pela altitude. Essas variações podem alterar significativamente as propriedades terapêuticas e a segurança do uso dos óleos essenciais. Por exemplo, o óleo de alecrim (*Rosmarinus officinalis*) pode apresentar diferentes quimiotipos, como o de cânfora, cineol ou verbenona, cada um com características específicas. Identificar e agrupar os quimiotipos é essencial para garantir a qualidade, eficácia e segurança dos produtos, especialmente em aplicações terapêuticas (Satyal et al., 2017; Marko et al., 2018;).

A espécie escolhida para este trabalho foi *Matourea azurea*, um arbusto de notável beleza, grande adaptabilidade e fácil propagação. É conhecida também por ser utilizada em dermatites pelas comunidades tradicionais e por possuir propriedades antifúngicas e contra *Leishmania amazonenses* (Houël et al., 2015). Métodos avançados de análise química, como cromatografia gasosa e espectrometria de massa, permitem que pesquisadores identifiquem padrões específicos que podem ser organizados em grupos que correspondem a diferentes quimiotipos, facilitando a identificação e o uso seguro de produtos fitoquímicos. Portanto, este trabalho teve como objetivo identificar o perfil químico do óleo essencial de *M. azurea* e investigar através de *clustering* hierárquico a existência de quimiotipos.

REVISÃO DE LITERATURA

Descrição da espécie: histórico, taxonomia e distribuição

Nome: *Matourea azurea* (Linden) Colletta & V.C. Souza.

Sinonímia homotípica: *Achetaria azurea* (Linden) V.C. Souza, *Otacanthus azureus* (Linden) Ronse, *Stemodia azurea* Linden.

Sinonímia heterotípica: *Otacanthus caeruleus* Lindl., *Tetraplacus taubertii* Mez.

Em 1890 o gênero *Otacanthus* foi descrito como pertencente à família Scrophulariaceae. A família de hábito cosmopolita compreendia cerca de 306 gêneros e 5850 espécies com ocorrência predominantemente em áreas montanhosas das regiões temperadas do hemisfério norte (Fischer, 2004). No Brasil a distribuição do gênero inclui os estados do Rio de Janeiro, Espírito Santo, Bahia e Minas Gerais, sendo restrita a região fitogeográfica da costa brasileira a leste. Encontrada também na Mata Atlântica entre o nível do mar e 1000 metros (Ronse, 2001). São ervas eretas ou prostadas, com folhas opostas, às vezes alternas, deltoides, ovaladas a lanceoladas, com margens serradas a crenadas. As flores são geralmente bilabiadas, solitárias ou reunidas em inflorescências címosas ou racemosas, os frutos são em sua maioria cápsulas loculicidas (Ribeiro et al., 1999; Ronse, 2001). Souza e Giulietti (2009) posteriormente atribuíram ao gênero *Achetaria*.

De acordo com Souza (2009), em nível morfológico foram reconhecidos dois conjuntos de espécies em *Achetaria*. O primeiro, composto pelas tradicionalmente reconhecidas como *Beyrichia* ou como *Achetaria*, apresenta flores pequenas e foram representados por *A. scutellarioides*, *A. ocyoides* (Cham.; Schltl.) Wetst. e *A. latifolia* V.C. Souza. O segundo, contendo as espécies tratadas como *Otacanthus* apresenta flores grandes e vistosas e foi representado por *A. azurea* (Linden) V.C. Souza, *A. caparaense* (Brade) V.C. Souza, *A. platychila* (Radlk.) V.C. Souza e *A. crenata* (Ronse; Philcox) V.C. Souza. Este caráter, que foi utilizado na separação de *Achetaria* e *Otacanthus*, é bastante útil no reconhecimento das espécies, mas mostra-se frágil em nível genérico, já que *Achetaria erecta* possui flores de tamanho intermediário entre estes dois grupos.

Segundo Colleta et al. (2020), o estudioso Bailon incluiu em 1888 pela primeira vez os gêneros *Dickia*, *Achetaria* e *Beyrichia* como sinônímia de *Matourea*, embora não tivesse proposto nenhuma alteração de nome. Em 1984, o pesquisador Zarucchi incluiu o *Matourea* em *Stemodia*, porém Souza e Giulietti (2009) questionaram a inclusão afirmando que morfologicamente estaria mais próximo de *Achetaria*. Estruturas que em *Achetaria* poderiam ser interpretadas como brácteas ocorriam também em *Otacanthus*. Ademais, o tamanho das flores que havia sido empregado na diferenciação destes dois gêneros não se apresentava de forma descontínua nas espécies de modo que pudesse ser delimitado uma cisão clara, propondo assim a sinonimização dos dois gêneros.

Recentemente, Colletta et al. (2020) incluíram *Achetaria* (Souza; Giulietti, 2009) na sinônímia de *Matourea*. A relação filogenética putativa presumida por Souza; Giulietti (2009) foi corroborada por Scatigna et al. (2022) através de estudos moleculares com abordagem de inferência Bayesiana e máxima parcimônia, cujo cladograma mostra mais aproximação evolutiva de *Matourea* com *Dizygostemon* do que com *Stemodia*.

Matourea se encontra inserido em Plantaginaceae que são angiospermas que apresentam flores coloridas ao longo do ano, de diferentes matizes e local de ocorrência. Na família, é comum a prevalência de herbáceas e arbustos que se desenvolvem em substratos aquáticos, rupícolas e terrícolas. Geograficamente, sua ocorrência se confirma em todas as regiões do território brasileiro, estando presente nos seus principais biomas, Amazônia, Caatinga, Cerrado, Mata Atlântica, Pampa e Pantanal (Scatigna; Mota, 2017; Scatigna et al., 2022).

Plantaginaceae possui óbvio *status* monofilético que se sustenta pela presença de caracteres avançados como: folhas filodiais e veias paralelas; pelos na região axial em todos os seus representantes. No que diz respeito à adaptação anemocórica pode-se citar características como corola escariosa (murcho, seco), ausência de disco nectarífero e tem estigma alongado, filiforme, seco e papilionato (Rahn, 1996).

Todas suas espécies necessitam de alta intensidade luminosa, porém a relação de disponibilidade de água pode ser bastante variável pois é possível encontrar aquelas que ocorrem desde áreas pantanosas até desérticas. (Rahn, 1996).

***Matourea azurea* (Linden) Colletta; V.C. Souza**

De acordo com o *Plants of the World Online* (2023), a espécie (figura 1) foi publicada pela primeira vez no táxon em 2020, sendo nativa do Espírito Santo e Rio de Janeiro adaptada a bioma tropical úmido. Segundo Ronse (2001), o gênero *Otacanthus* foi descrito por Lindley (1862) o qual não tendo disposição de frutos e sementes foi inicialmente classificado como Acanthaceae. Batizou essa espécie como *O. coeruleus* Lindl., porém ele já havia nomeado a mesma espécie de *Stemodia azurea*, e posteriormente resultou em *Otacanthus azureus* (Linden) Ronse.



Figura 1: *Matourea azurea* (Linden) Colletta & V.C.Souza

Fonte: Acervo do autor, 2023

Destaca-se das demais espécies do gênero por apresentar as maiores dimensões de cálice e corola (Souza, 2009). Sua taxonomia é descrita por Rosen (2001):

Arbusto mediano com até 1-2 m de altura, ramificado na base. Folhas com lâmina largamente elíptica, ligeiramente triangular a aguda apicalmente, com pecíolos alados, até 120 x 44 mm. Inflorescência 6-17 cm de comprimento na maturidade; pedicelos até 2 mm de comprimento. Cálice glabro, mas coberto com glândulas minúsculas, exceto no margens, os segmentos inferiores estreitamente triangulares a subulados, 15 x 1 mm, o superior segmento amplamente oval, quase circular em o ápice, 11-20 mm de comprimento e 10 mm ampla. Corola azul-violeta a azul celeste com uma mancha branca no lábio inferior na garganta, o tubo de 25-40 mm de comprimento cilíndrico, curvado para baixo no ápice, glabro até 3/4 do comprimento, mais para cima minuciosamente viloso, o lábio superior reniforme, 15-20 x 16-25 mm, o lábio inferior 3-lobado. Anteras com pólen globoso. Estilete 30 mm, mais curto ou mais longo que os estames. Ovário cônico, 3 x 2 mm, frouxamente piloso, bilocular. Cápsula 8 x 4 mm, pubescente, abertura por 2 válvulas dobradas para dentro. Sementes quase ovóides, anguladas por carúnculas dispostas em linhas longitudinais, 0,6 X 0,4 mm (Rosen, 2001).

Perfil químico do óleo essencial de *M. azurea*

De acordo com Ronse et al. (1998), as partes aéreas de *M. azurea* contêm quantidades consideráveis de óleos essenciais secretadas por estruturas denominadas de tricomas glandulares que estão presentes na maioria nas folhas. O óleo essencial de *M. azurea* consiste em uma complexa mistura de mono e sesquiterpenos. A composição do óleo é interessante do ponto de vista fitoquímico, uma vez que β -copaeno-4 α -ol, um sesquiterpeno identificado pela primeira vez nesta espécie, é uma das principais substâncias majoritárias e as pesquisas em relação a ele são escassas. Alguns quimiotipos também podem apresentar moléculas como o cicloacetíveno e o ciclofencheno.

Houël et al. (2014) identificaram seis maiores constituintes do seu óleo essencial e são elas: β -copaeno-4 α -ol (23,3%), α -humuleno (10,6%), α -cpaeno (8,8%), mirtenal (5,6%), viridiflorol (5,1%) e trans-pinocarveol (4,3%). Essas moléculas são bem características dessa espécie e a seguir será abordado brevemente a importância de algumas delas.

O mirtenal é considerado praticamente insolúvel em água e é relativamente neutro. É um monoterpeno que tem ganhado mais importância recentemente, sendo amplamente utilizado no combate a diversas doenças, como tumores, doenças neurodegenerativas e diabetes. Nas plantas, o mirtenal está metabolicamente relacionado ao pineno, pois o α -pineno é metabolizado em mirtenol, com subsequente transformação em mirtenal (Musso et al., 2023). Algumas revisões focam na propriedade anticancerígena do mirtenal, destacando suas propriedades terapêuticas que regulam negativamente as vias do inflamassoma e outras vias de sinalização. Os inflassomas são um complexo proteico multiproteico encontrado no citoplasma das células imunes, principalmente os macrófagos.. Estudos clínicos com o mirtenal têm apresentado resultados positivos, o que pode abrir caminho para uma terapia eficaz contra o câncer (Dragomanova et al., 2023).

O pinocarvone é um composto natural encontrado em diversas plantas, incluindo aquelas do gênero *Pinus* e *Artemisia* (Hassani Moghaddam et al., 2020; Korablova et al., 2023). Ele pode ser sintetizado através de reações de foto oxigenação de (+) e (-) α -pinenos, assim como o trans-pinocarveol (Rosa et al., 2023). Recentemente, este monoterpeno cetônico tem ganhado destaque na pesquisa farmacêutica devido às suas diversas propriedades terapêuticas. Estudos indicam que o pinocarvone pode possuir potente atividade antioxidante, capaz de neutralizar radicais livres e reduzir o estresse oxidativo em células. Isso porque o óleo essencial de espécies como *Cosmos sulphureus*, que apresentam o pinocarvone como um dos componentes majoritários têm atividade antioxidante.

Ou et al. (2023), analisaram um quimiotipo dessa espécie rico em spathulenol (15,8%) e pinocarvone (7,6%) em ABTS+. O resultado mostrou que o óleo essencial exibiu uma atividade moderada de eliminação do radical ABTS+ com um valor de IC₅₀ de 1,06 mg/mL, que é mais fraca do que o controle positivo (Vitamina C) com um valor de IC₅₀ de 0,05 mg/mL. Esta capacidade é particularmente relevante na prevenção de doenças crônicas, como doenças cardiovasculares e neurodegenerativas, onde o estresse oxidativo desempenha um papel fundamental na progressão da doença como mencionado anteriormente.

O viridiflorol é um composto natural que possui um ciclopazuleno na sua estrutura, o que contribui para sua ação anticancerígena contra o câncer de mama. É um sesquiterpenoide isolado de várias plantas aromáticas como *M. quinquenervia* e *Allophylus edulis*. Extratos de viridiflorol dessas plantas mostraram eficácia contra diferentes linhagens de células de câncer de mama, como MCF-7 e MDA-MB-231 (Ganthous et al., 2010; Naeem et al., 2022). Recentemente, Barman et al. (2023) também descobriram esse composto no óleo essencial de *Knema angustifolia*, da família miristicaceae. Os autores também relataram pela primeira vez um espécime que contém óleo essencial em suas folhas e ramos com os respectivos rendimentos: 0,02% e 0,04%. A análise GC-MS do óleo essencial revelou 15 sesquiterpenos oxigenados, como Globulol (30,83-35,46%), Spathulenol (21,46-23,98%), Viridiflorol (6,24-12,40%) entre outros. Os pesquisadores também afirmam que diversas espécies da família Myristicaceae são utilizadas em doenças neurodegenerativas.

Akiel et al. (2022) investigaram o impacto pró-apoptótico do viridiflorol em células cancerígenas de pulmão, mama e cérebro. O estudo analisou as propriedades anticancerígenas do composto em concentrações variando entre 0,03 e 300 μM , aplicadas em três tipos de linhagens celulares: mama (MCF-7), pulmão (A549) e cérebro (Daoy). A resposta dessas células ao tratamento foi medida por meio dos ensaios MTT e Annexin V. O viridiflorol demonstrou efeitos citotóxicos em todas as linhagens testadas, reduzindo a viabilidade celular de maneira dependente da concentração, com variações nos valores de IC₅₀. As células Daoy e A549 mostraram-se mais sensíveis ao viridiflorol em comparação à temozolomida e doxorrubicina, respectivamente. O composto apresentou a maior atividade anticancerígena nas células Daoy, com um IC₅₀ aproximado de 0,1 mM, seguido pelas células MCF-7 (10 mM) e A549 (30 mM). Além disso, concentrações entre 30 μM e 300 μM de viridiflorol provocaram apoptose precoce e tardia, também de maneira dependente da concentração, nas células Daoy (55,8%-72,1%), MCF-7 (36,2%-72,7%) e A549 (35%-98,9%). Em conclusão, o viridiflorol apresenta efeitos citotóxicos e pró-apoptóticos em três tipos distintos de células cancerígenas: cérebro, mama e pulmão.

O ciclofenseno é um composto presente nos óleos essenciais de diversas plantas, como *Curcuma aeruginosa*, *Curcuma mangga*, *Commiphora caudata*, *Stachys lavandulifolia* e *Ziziphora clinopodioides* (Waman et al., 2018; Peng et al., 2022). Recentemente, Ghavam (2022) identificou um quimiotipo de *Z. clinopodioides*, uma espécie nativa do Irã, que apresentou uma alta concentração de ciclofenseno (25,29%). No entanto, nos testes antimicrobianos, não houve formação de halos de inibição para uma variedade de microrganismos, incluindo bactérias gram-positivas como *S. aureus*, gram-negativas como *E. coli*, e linhagens fúngicas como *A. niger* e *C. albicans*, e as altas concentrações necessárias para inibição mínima indicaram um fraco efeito antimicrobiano do óleo essencial. Apesar disso, a espécie mostrou resultados promissores contra células de câncer de ovário (OVCAR-3), com um IC₅₀ de 144,25 $\mu\text{g/mL}$.

MATERIAIS E MÉTODOS

A análise de *cluster* hierárquico e a *Principal Components Analysis* (PCA) foi feita no software RStudio com os pacotes cluster, factoextra e fpc. O banco de dados foi estruturado com fonte na literatura acadêmica dos seguintes autores: De Pooter et al. (1989), Ronse et al. (1997), Andrade et al. (2006), Houél et al. (2015) e Souza et al. (2025). A tabela 1 abaixo identifica as etiquetas das imagens geradas e informações pertinentes para a variação dos compostos químicos do óleo essencial de *M. azurea*. Para se avaliar a viabilidade da PCA foi feito o teste de correlação de Spearman e o teste de esfericidade de Bartlett com o pacote psych.

Nº	Extração	Local	Fonte
1	Destilação a vapor	Meise, Bélgica	De Pooter et al. (1989)
2	Destilação a vapor	Meise, Bélgica	De Pooter et al. (1989)
3	Destilação a vapor	Meise, Bélgica	De Pooter et al. (1989)
4	Headspace	Meise, Bélgica	De Pooter et al. (1989)
5	Hidrodestilação	Régina, Guiana Francesa	Houél et al. (2014)
6	Hidrodestilação	Belém, Brasil	Andrade et al. (2006)
7	Hidrodestilação	Belém, Brasil	Andrade et al. (2006)
8	Hidrodestilação	Belém, Brasil	Andrade et al. (2006)
9	Hidrodestilação	Belém, Brasil	Andrade et al. (2006)
10	Destilação a vapor	Saint-Philippe, França	Ronse et al. (1997)
11	Hidrodestilação	Amazonas, Brasil	Souza et al. (2025)
12	Hidrodestilação	Amazonas, Brasil	Souza et al. (2025)
13	Hidrodestilação	Amazonas, Brasil	Souza et al. (2025)
14	Hidrodestilação assistida por celulase	Amazonas, Brasil	Souza et al. (2025)
15	Hidrodestilação assistida por celulase	Amazonas, Brasil	Souza et al. (2025)
16	Hidrodestilação assistida por celulase	Amazonas, Brasil	Souza et al. (2025)

Tabela 1: Identificação da origem das amostras de *M. azurea*

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Análise de *Cluster*

A partir do agrupamento hierárquico foi possível identificar 3 grupos como mostra em destaque no dendrograma da figura 2. A amostra 4 formou um grupo isolado. É um quimiotípico rico em α-copaene e foi descrito por De Pooter et al. (1989). Tem como compostos majoritários: α-copaene (25,7%), trans-pinocarveol (13,3%), α-humulene (7,7%), pinocarvone (5,4%) e β-Pinene (4,8%). Esses metabólitos foram identificados de forma distinta através da técnica *Headspace Concentrate* o que provavelmente seja a maior fonte de variação em relação às outras amostras. O ensaio durou uma semana em um sistema hermenêutico além do uso de éter no processo de separação. A diferença entre os compostos identificados em um óleo essencial extraído por hidrodestilação a vapor e aqueles analisados por headspace (HS) está na natureza das técnicas e no tipo de amostra avaliada. A hidrodestilação a vapor envolve o aquecimento do material vegetal em contato

com água ou vapor, promovendo a liberação de compostos voláteis junto com vapor de água, que são condensados e separados em óleo essencial. Esse processo pode modificar termicamente compostos sensíveis ao calor e favorecer a extração de substâncias menos voláteis, que não estariam presentes em condições normais de volatilização. Por outro lado, o *headspace* é uma técnica não invasiva que coleta diretamente os compostos voláteis presentes no espaço gasoso ao redor da amostra em condições naturais ou controladas de temperatura, sem necessidade de aquecimento direto. Isso preserva compostos termolábeis e destaca apenas os voláteis com maior propensão a se evaporar em condições suaves. Assim, a hidrodestilação pode resultar em uma composição mais abrangente, mas com potencial alteração térmica, enquanto o *headspace* reflete um perfil mais próximo do aroma natural do material (Bahmanzadagan et al., 2022; Lancioni et al., 2022)

Cluster Dendrogram

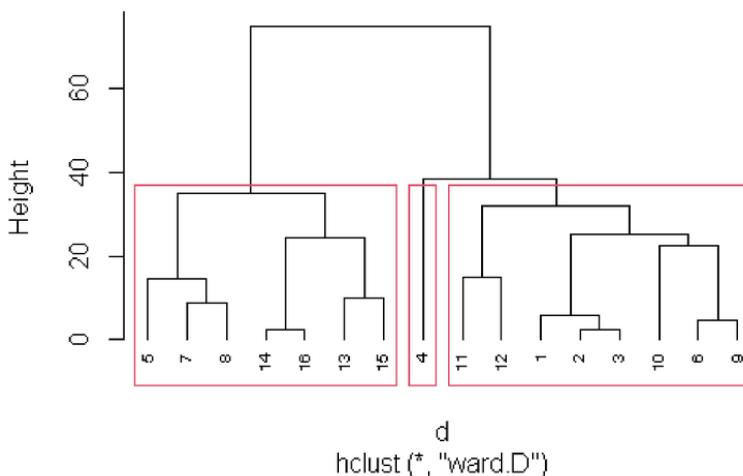


Figura 2: Quimiotipos de *Matorea azurea*

O segundo grupo que contém as amostras 5,7,8,13,14,15 e 16 são caracterizados por possuírem maior porcentagem de β -copaen-4 α -ol entre todas com intervalo de 19,09% a 27,4%. A amostra 5 é do trabalho de Houël et al. (2014) e o óleo essencial foi extraído da parte aérea total de um plantio localizado no Brasil, em Belém do Pará. Já as amostras 7 e 8 são do trabalho de Andrade et al. (2006) oriundos de um plantio na França e correspondem aos óleos do talo e da flor respectivamente. O subgrupo 13-16 são amostras do óleo essencial do mesmo plantio localizado em Manaus – AM do estudo de Souza et al. (2025). A amostra 13 foi obtida por hidrodestilação tradicional com aparelho Clevenger, enquanto que o restante foi extraído com pré-tratamento enzimático em diferentes concentrações. A interação da enzimólise da celulase resultou em quimiotipos com a presença do 1,4,7-Cycloundecatriene, 1,5,9,9-tetramethyl- Z,Z,Z-, um hidrocarboneto cílico com poucos estudos reportados na literatura.

O terceiro *cluster* a ser mencionado é caracterizado por menores concentrações de β -copaen-4 α -ol. O subgrupo 1,2 e 3 possui quimiotipos tendo o *trans*-pinocarveol como composto majoritário (11,6% - 13,4%), também não possuem viridiflorol o que pode contribuir para a formação desse *cluster*, além de terem origem da mesma região geográfica. As amostras 11 e 12 são do óleo essencial extraído de forma tradicional com Clevenger de clones mais jovens do trabalho de Souza et al. (2025), onde na amostra 11 foi utilizado como matéria prima a parte aérea total e a 12 apenas as folhas. Na amostra 11 foi identificada a molécula isoeugenil fenilacetato <(E)->, até então não reportada na literatura ocorrendo na espécie *M. azurea*. Esse subgrupo também é caracterizado por ter como composto majoritário o mirtenal. As amostras 6 e 9 possuem proporções similares na concentração de mirtenal, β -copaen-4 α -ol e *trans*-pinocarveol e são do trabalho de Andrade et al. (2009).

Principal Component Analysis - PCA

A PCA é uma técnica estatística usada para reduzir a dimensionalidade de um conjunto de dados, mantendo ao máximo a variabilidade presente. É amplamente utilizada em análises exploratórias e processamento de dados em diversas áreas, incluindo a análise de quimiotipos. A PCA transforma variáveis correlacionadas em um conjunto menor de variáveis não correlacionadas chamadas componentes principais. Estes são ordenados de acordo com a quantidade de variância dos dados que eles explicam. O primeiro componente principal explica a maior parte da variância, o segundo, a segunda maior parte, e assim por diante (Hasan et al., 2021).

Essa técnica ajuda a identificar padrões ou agrupamentos nos dados que correspondem a diferentes quimiotipos. A redução da dimensionalidade permite a visualização clara de agrupamentos ou distinções entre quimiotipos em gráficos bidimensionais ou tridimensionais. Além disso pode destacar quais compostos químicos (variáveis) contribuem mais para a variância entre os quimiotipos, ajudando na identificação de biomarcadores relevantes. A figura 3 a seguir mostra o resultado da correlação de Spearman dos indivíduos de *M. azurea* com base no seu perfil químico. Esse é um parâmetro importante para a viabilidade da PCA pois ela utiliza essas correlações para maximizar a variância explicada por cada componente principal, permitindo que dimensões redundantes sejam reduzidas e destacando as características mais importantes dos dados. Assim, uma análise de correlação robusta é fundamental para garantir que a PCA forneça resultados precisos e úteis (Greenacre et al., 2022)

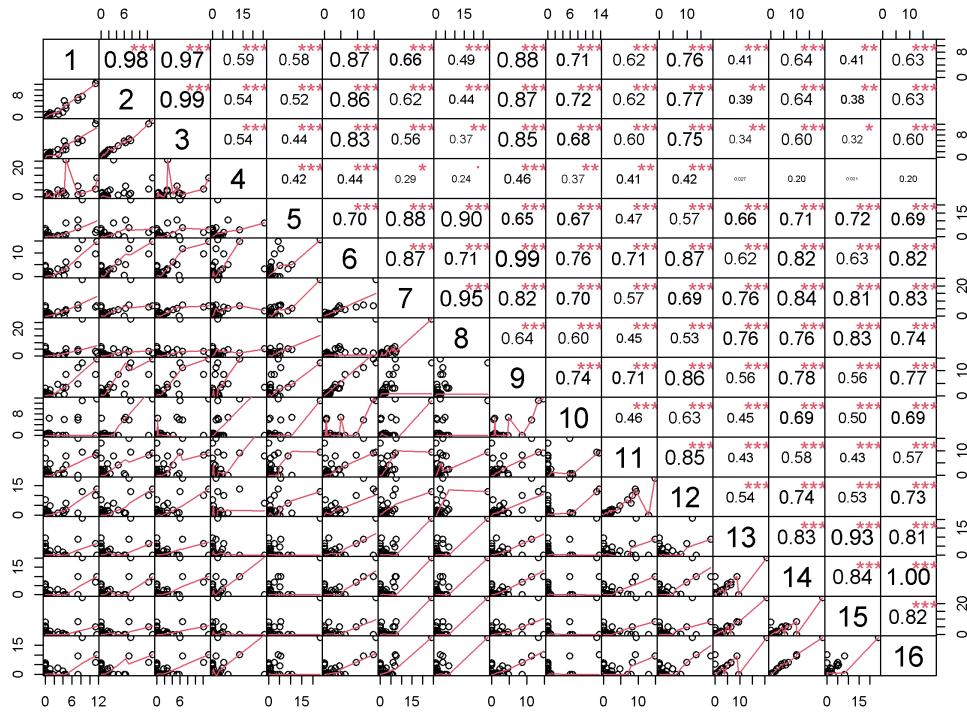


Figura 3: Correlação entre os indivíduos de *M. azurea*

Para facilitar a visualização o tamanho da fonte é disposto proporcionalmente ao valor da correlação.

Note que entre os indivíduos 14 e 16 o valor é de aproximadamente 0,996 porém o software arredondou.

Além disso foi feito o teste de esfericidade de Bartlett que avalia a adequação dos dados para a PCA, verificando se a matriz de correlação das variáveis é significativamente diferente de uma matriz identidade. Uma matriz identidade possui correlações iguais a zero entre as variáveis, indicando que elas são independentes e não compartilham informações. O valor da estatística do teste, neste caso 3.381,55, mede o desvio da matriz de correlação em relação a uma matriz identidade (Ibrahim et al., 2023).

Este valor sugere que existe correlações significativas entre as variáveis, ou seja, que elas não são independentes, o que é essencial para justificar a aplicação da PCA. Se o valor-p associado ao teste for muito baixo (geralmente $< 0,05$), rejeita-se a hipótese nula de que a matriz de correlação é uma matriz identidade. O Scree Plot apresentado na figura 3, é utilizado para determinar o número ideal de componentes a serem retidos. No eixo X, temos as dimensões ou componentes principais (PC1, PC2, PC3 ...), ordenadas de acordo com a quantidade de variância que explicam. O eixo Y apresenta a porcentagem de variância explicada por cada componente. As barras azuis indicam a variância explicada individualmente por cada componente, enquanto a linha amarela mostra a variância acumulada.

O gráfico revela uma queda acentuada nos primeiros componentes (PC1 e PC2), indicando que eles explicam a maior parte da variância total. Após o segundo ou terceiro componente, a curva começa a se estabilizar, sugerindo que componentes adicionais explicam apenas uma pequena porção da variância restante. O ponto de inflexão, conhecido como “elbow point”, está localizado no terceiro componente, indicando que 3 componentes principais são suficientes para capturar a maior parte da variância dos dados (Schreiber et al., 2021).

Com a elucidação da variância compartilhada dos componentes, se torna mais intuitivo a interpretação das cargas fatoriais representada na figura 4. As cargas fatoriais representam as correlações entre as variáveis originais e os fatores ou componentes extraídos em uma PCA ou em uma análise fatorial. Elas indicam a contribuição de cada variável para a formação de um componente ou fator específico, ajudando a interpretar o significado de cada dimensão gerada na análise.

Valores altos, positivos ou negativos, sugerem que a variável está fortemente associada ao fator, enquanto valores próximos de zero indicam uma contribuição insignificante.

Em outras palavras, as cargas fatoriais mostram o peso ou a influência de cada variável na estrutura dos componentes, permitindo identificar quais variáveis estão mais relacionadas entre si e como elas contribuem para explicar a variância dos dados.

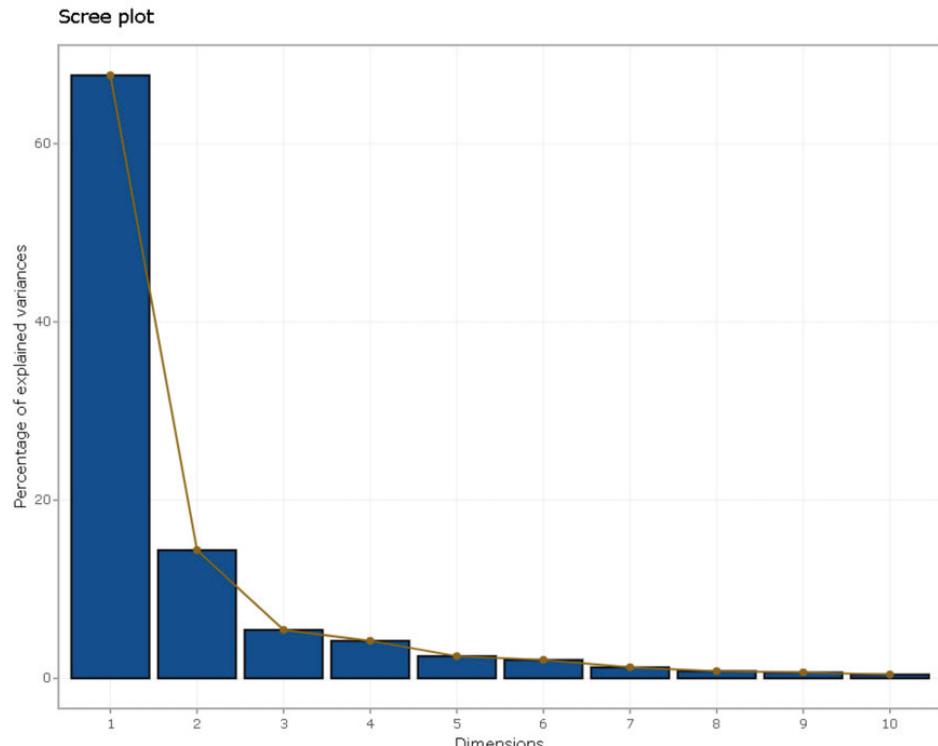


Figura 3: Scree Plot

Quando uma análise de *cluster* e uma análise de componentes principais (PCA) resultam no mesmo número de grupos, pode-se concluir que há uma forte concordância entre as duas abordagens na identificação de padrões ou estrutura nos dados. Isso indica que os grupos formados pela análise de cluster, que segmenta os dados com base em semelhanças ou distâncias, são consistentes com as dimensões principais capturadas pela PCA, que reduz a dimensionalidade dos dados destacando as variáveis mais relevantes. Essa convergência reforça a robustez dos grupos identificados, sugerindo que eles são representativos das características principais dos dados e que os métodos estão capturando as mesmas tendências subjacentes.

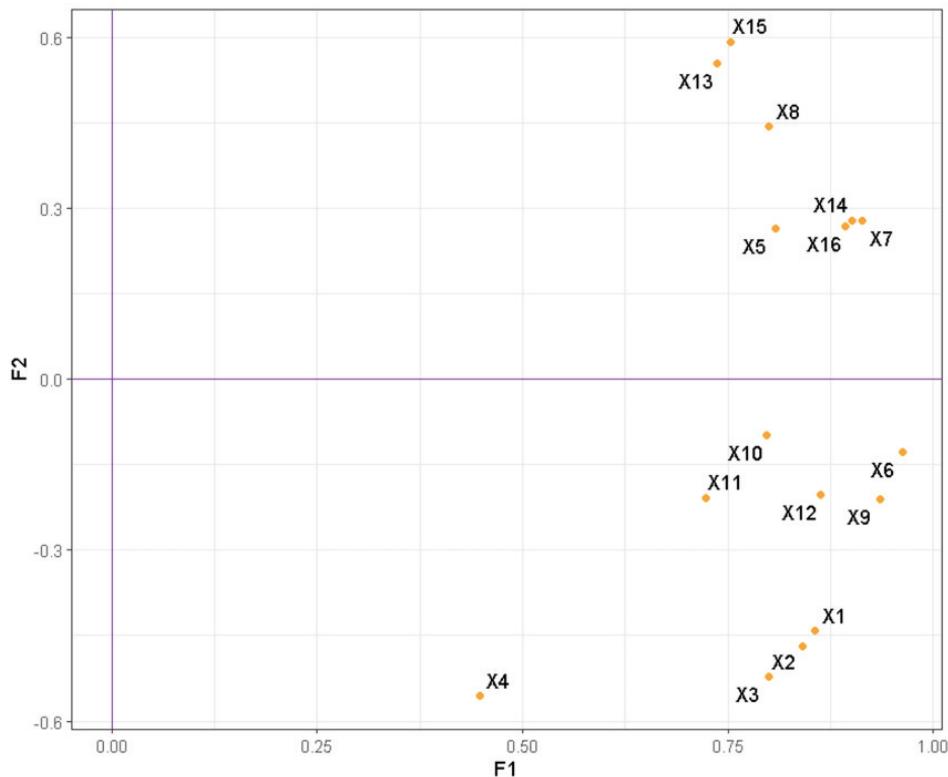


Figura 4: Cargas fatoriais da PCA de *M. azurea*

CONSIDERAÇÕES FINAIS

O óleo essencial de *M. azurea* é característico por conter a molécula β -copaen-4a-ol sendo identificado tanto pela técnica *headspace* quanto pela espectrometria do seu óleo essencial obtido por diferentes técnicas de extração. A concentração desse sesquiterpeno provavelmente é a principal variável que explica a formação dos grupos gerados pelas técnicas de agrupamento propostas. O mirtenal também é uma molécula de destaque nessa espécie por estar presente em todas as amostras. De forma geral, essa planta possui compostos de interesse para a indústria farmacêutica e de aromatizantes.

REFERÊNCIAS

- AKIEL, Maaged A. et al. **Viridiflorol induces anti-neoplastic effects on breast, lung, and brain cancer cells through apoptosis.** Saudi Journal of Biological Sciences, v. 29, n. 2, p. 816-821, 2022.
- ALMEIDA, Naara A. et al. **Essential oils: An eco-friendly alternative for controlling toxigenic fungi in cereal grains.** Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety, v. 23, n. 1, p. e13251, 2024.
- ANDRADE, Eloisa Helena A. et al. **Volatiles of the leaves, stems and flowers of *Otacanthus azureus* (Linden Ronse.** Journal of Essential Oil Research, v. 18, n. 5, p. 481-482, 2006.
- ASSADPOUR, Elham et al. **Application of essential oils as natural biopesticides; recent advances.** Critical Reviews in Food Science and Nutrition, v. 64, n. 19, p. 6477-6497, 2024.
- BAHMANZADAGAN, Atefeh et al. Chemical composition of essential oils using hydrodistillation and headspace methods of Lagoecia cuminoides. Chemistry of Natural Compounds, v. 58, n. 6, p. 1164-1166, 2022.
- BARMAN, Rubi et al. **Oxygenated sesquiterpenes, molecular docking, and the trait-linked occurrence of essential oil in *Knema angustifolia* (Roxb.) Warb.(Myristicaceae).** South African Journal of Botany, v. 159, p. 617-626, 2023.
- BIZZO, Humberto R.; REZENDE, Claudia M. **O mercado de óleos essenciais no Brasil e no mundo na última década.** Química Nova, v. 45, p. 949-958, 2022.
- CHEEK, Martin. Flora da Reserva Ducke. **Guia de identificação das plantas vasculares de uma floresta de terra-firme na Amazônia Central.** Kew Bulletin, v. 57, n. 1, p. 238, 2002.
- COLLETTA, Gabriel Dalla; SCATIGNA, André Vito; SOUZA, Vinicius Castro. **Assessment of *Matourea pratensis* (Plantaginaceae: Gratiolaeae) reveals an older name for Achetaria.** Taxon, v. 69, n. 6, p. 1354-1360, 2020.
- DE POOTER, Herman. et al. **The volatile fraction of *Otacanthus coeruleus* Lindl. containing the new copaene derivative β -copaen-4 α -ol.** Flavour and fragrance journal, v. 4, n. 2, p. 47-51, 1989.
- DRAGOMANOVA, Stela et al. **Therapeutic Potential of Myrtenal and Its Derivatives—A Review.** Life, v. 13, n. 10, p. 2086, 2023.
- FISCHER, Eberhard. **Scrophulariaceae.** In: Flowering Plants-Dicotyledons: Lamiales (except Acanthaceae including Avicenniaceae). Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg, 2004. p. 333-432.
- GHANTOUS, Akram et al. **What made sesquiterpene lactones reach cancer clinical trials?.** Drug discovery today, v. 15, n. 15-16, p. 668-678, 2010.
- GHAHAM, Mansureh. **In vitro biological potential of the essential oil of some aromatic species used in Iranian traditional medicine.** Inflammopharmacology, v. 30, n. 3, p. 855-874, 2022.
- GREENACRE, Michael et al. Principal component analysis. **Nature Reviews Methods Primers**, v. 2, n. 1, p. 100, 2022.

HASAN, Basna Mohammed Salih; ABDULAZEEZ, Adnan Mohsin. A review of principal component analysis algorithm for dimensionality reduction. **Journal of Soft Computing and Data Mining**, v. 2, n. 1, p. 20-30, 2021.

HASSANI MOGHADDAM, Esfandiar et al. **Identification and Comparison of Some Essential Oils Components in Seven *Eucalyptus* Species Cultivated in Khoramabad**. Journal of Medicinal plants and By-Products, v. 9, n. Special, p. 59-66, 2020.

HOUËL, Emeline et al. **Therapeutic switching: from antidermatophytic essential oils to new leishmanicidal products**. Memórias do Instituto Oswaldo Cruz, v. 110, n. 1, p. 106-113, 2015.

HOUËL, Emeline. et al. **In vitro antidermatophytic activity of *Otacanthus azureus* (Linden) Ronse essential oil alone and in combination with azoles**. Journal of Applied Microbiology, v. 116, n. 2, p. 288-294, 2014.

IBRAHIM, Aminu et al. Water quality modelling using principal component analysis and artificial neural network. **Marine Pollution Bulletin**, v. 187, p. 114493, 2023.

KORABLOVA, Olha et al. Chromatographic **Profiles of Essential Oils from Some Species the *Artemisia* L. Genus**. Scientific committee, p. 46, 2023.

LANCIONI, Carlina et al. Headspace solid-phase microextraction: Fundamentals and recent advances. **Advances in Sample Preparation**, v. 3, p. 100035, 2022.

MARKO, N. V. et al. **Chemotypic diversity of *Rosmarinus officinalis* L. in the collection of the Nikita Botanical Gardens**. In: XXX International Horticultural Congress IHC2018: International Symposium on Medicinal and Aromatic Plants, Culinary Herbs and 1287. 2018. p. 111-116.

Musso, F. A., Gutierrez, V., Volpe, M. A., & Faraoni, M. B. **Allylic Oxidation Of Alpha-Pinene Over Supported Seo 2-Based Catalysts**. Latin American Applied Research, v. 53, n. 4, p. 287-293, 2023.

NAEEM, Muhammad et al. **A review of twenty years of research on the regulation of signaling pathways by natural products in breast cancer**. Molecules, v. 27, n. 11, p. 3412, 2022.

OU, Hong et al. **Chemical Composition and Antioxidant Activity of Essential Oil from *Cosmos sulphureus***. Chemistry of Natural Compounds, v. 59, n. 6, p. 1187-1188, 2023.

PENG, Weiyao et al. **Diversity of volatile compounds in ten varieties of Zingiberaceae**. Molecules, v. 27, n. 2, p. 565, 2022.

Plants of the World Online | Kew Science. Disponível em: <<http://www.plantsoftheworldonline.org>>. Acesso em: 10/08/2023.

RAHN, Knud. **A phylogenetic study of the Plantaginaceae**. Botanical Journal of the Linnean Society, v. 120, n. 2, p. 145-198, 1996.

RONSE, Anne. **A revision of *Otacanthus* Lindl.(Scrophulariaceae)**. Brittonia, v. 53, p. 137-153, 2001.

RONSE, Anne; DE POOTER, Herman; DE PROFT, Maurice. **Essential oils of *Otacanthus***. Phytochemistry, v. 46, n. 8, p. 1365-1368, 1997.

ROSA, Gabriel HS et al. **Diverse continuous photooxygenation reactions of (+) and (-)- α -pinenes to the corresponding pinocarvones or trans-pinocarveols.** Reaction Chemistry & Engineering, v. 8, n. 4, p. 790-797, 2023.

SATYAL, Prabodh et al. **Chemotypic characterization and biological activity of *Rosmarinus officinalis*.** Foods, v. 6, n. 3, p. 20, 2017.

SCATIGNA, André Vito et al. **Phylogenetics of Gratiolae (Plantaginaceae): paraphyly of Stemodia and its implications for generic circumscriptions, with insights from floral evolution.** Botanical Journal of the Linnean Society, v. 200, n. 2, p. 194-217, 2022.

SCHREIBER, James B. Issues and recommendations for exploratory factor analysis and principal component analysis. **Research in Social and Administrative Pharmacy**, v. 17, n. 5, p. 1004-1011, 2021.

SOUZA, Vinicius Castro; GIULIETTI, Ana Maria. **Levantamento das espécies de Scrophulariaceae sensu lato nativas do Brasil.** Pesquisas, Botânica, v. 60, p. 7-288, 2009.

WAMAN, Ajit Arun; BOHRA, Pooja; SOUNDERARAJAN, Aarthi. **Propagule size affects yield and quality of *Curcuma mangga* Val. et Zijp.: An important medicinal spice.** Industrial Crops and Products, v. 124, p. 36-43, 2018.