

Estudo fitoquímico de *Plumbago auriculata* Lam.

Phytochemical study of *Plumbago auriculata* Lam.

^{1,2}De Paiva, S. R.; ²Figueiredo, M. R.;
³Kaplan, M. A. C.

¹Setor Botânica, Departamento de Biologia Geral, Universidade Federal Fluminense, C. P. 100.436, 24001-970, Niterói, RJ, Brasil; ²Laboratório de Química de Produtos Naturais, Far-Manguinhos, Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, RJ; ³Núcleo de Pesquisas de Produtos Naturais, Universidade Federal do Rio de Janeiro, RJ.

*Correspondência: E-mail: selpai-va@vm.uff.br

Unitermos: *Plumbago auriculata*; metabolismo secundário; fitoquímica.

Key words: *Plumbago auriculata*; secondary metabolism; phytochemistry.

Resumo

A família *Plumbaginaceae* apresenta-se constituída por ervas, arbustos ou subarbustos de distribuição cosmopolita. Seus representantes apresentam produção metabólica caracterizada por naftoquinonas, flavonóides, terpenóides e esteróides, sendo os dois primeiros considerados marcadores quimiosistemáticos do grupo. O gênero *Plumbago*, tido como o mais representativo, compreende aproximadamente 10 espécies e tem sido alvo de estudos químicos e farmacológicos. Os estudos fitoquímicos de *P. auriculata* resultaram no isolamento de sitosterol, estigmasterol, 3-O-glicosil-sitosterol, ácido palmítico, ácido plumbágico, epi-isoshinanolona, plumbagina, e uma mistura de dois flavonóides (luteolina e 5-metoxiluteolina). Apesar dessas substâncias já terem sido descritas na literatura, esse é o primeiro registro de luteolina e 5-metoxiluteolina em *P. auriculata*.

Abstract

The family *Plumbaginaceae* is formed by herbs, shrubs or subshrubs with cosmopolitan distribution. Its metabolic production is characterized by the presence of naphthoquinones, flavonoids, terpenoids and steroids, the formers being considered the chemosystematic markers for the group. The genus *Plumbago*, comprises approximately 10 species, and has already shown some chemical and pharmacological studies. Phytochemical studies of *P. auriculata* resulted on the isolation of sitosterol, stigmasterol; 3-O-glycosyl-sitosterol, palmitic acid; plumbagic acid, epi-isoshinanolone, plumbagin, and a mixture of two flavonoids (luteolin and 5-methoxyluteolin). Although these compounds have been previously reported in literature, this is the first report of the isolation of luteolin and 5-methoxyluteolin in *P. auriculata*.

Introdução

As plantas representam, desde a antiguidade, um recurso para o ser humano, servindo para sua alimentação e para a cura de suas enfermidades. Atualmente inúmeras plantas são utilizadas na medicina popular e a elucidação de seus princípios ativos, pela ciência moderna, busca entender esse efeito terapêutico nas plantas (UGAZ, 1994). Poucas espécies vegetais são conhecidas dos pontos de vista químico e farmacológico e uma análise fitoquímica poderá proporcionar o conhecimento de novas drogas, talvez até mais potentes do que as usadas atualmente. O uso de produtos naturais como matéria-prima para a síntese de novas substâncias bioativas, espe-



cialmente fármacos, tem sido amplamente descrito ao longo do tempo.

A ordem Plumbaginales apresenta uma química caracterizada pela presença de naftoquinonas, flavonóides, terpenóides e esteróides de ocorrências comuns (PAIVA, 1999). Apresenta ainda uma grande produção tanífera, incluindo taninos condensados e hidrolisáveis. Vale ressaltar o isolamento de geraniina, um tanino elágico isolado de *Limonium axillare*, que apresenta atividade anti-tumoral (AHMED et al., 1999). *Plumbago* compreende cerca de 10 espécies, *P. auriculata* (sin. *P. capensis*), *P. coerulea*, *P. europea*, *P. pearsonii* (sin. *P. suffruticosa*), *P. pulchella*, *P. rosea* (sin. *P. indica*, *P. coccinea*), *P. scandens*, *P. tristis* (sin. *P. vogeliaefolia*), *P. wissi* e *P. zeylanica* (sin. *P. viscosa*). A espécie mais comum é *P. zeylanica*, conhecida também popularmente como "chita". Morfologicamente, as plantas desse gênero apresentam geralmente pétalas brancas, com exceção para *P. rosea* e *P. auriculata* que se tornam distintas das demais espécies por apresentar pétalas vermelhas e azuis, respectivamente. (DINDA et al., 1997). Do ponto de vista biológico, espécies de *Plumbago* são descritas na literatura como antiparasitário (CHANBACAB; PEÑA-RODRIGUEZ, 2001), anti-tumoral (DEVI et al., 1994), bactericida (AHMAD et al., 1998; PAIVA, 2003), fungicida (MAHONEY et al., 2000; PAIVA et al., 2003), inseticida (BANERJEE et al., 2001; GHOSH et al., 1994; RAO et al., 1996), antiinflamatório (OYEDAPO, 1996), atividade filaricida (MATHEW et al., 2002) entre outros. O presente estudo visa incrementar o conhecimento sobre a química da família através do isolamento de substâncias a partir de *Plumbago auriculata*.

Materiais e Métodos

Equipamentos: As análises cromatográficas com fase gasosa, acopladas à espectrometria de massas foram realizadas utilizando-se um cromatógrafo Hewlett-Packard 6890, acoplado a um espectrômetro de massas HP 5972 munido de um banco de dados (Wiley 275.1). Foi usada uma coluna capilar do tipo HP-5MS (30 m x 250 μ m x 0,25 μ m de espessura do filme). O gás de arraste foi hélio (1 mL/min) e as separações realizadas com injetor a 250 °C, detector a 280 °C, e a seguinte programação de temperatura: 70 - 290 °C, com taxa de aquecimento de 2 °C/min. Os parâmetros da operação de EM foram 70 eV, fonte iônica 250 °C, impacto de elétrons. A cromatografia em coluna de sílica fase reversa RP-18 (40 - 63 μ m) sob média pressão foi realizada em equipa-

mento Büchi, com bomba modelo 688 e formador de gradiente modelo 687, além de detector de UV. Foi usada uma coluna Büchi 17981, com 30 cm de altura e 3 cm de diâmetro e gradiente metanol: água. A cromatografia contra-corrente foi realizada em CCC Pharma-Tech modelo 1000, acoplado a um coletor de frações Advantec SF-2120. Os espectros de ressonância magnética nuclear de hidrogênio (RMN ¹H) e carbono (RMN ¹³C), além de DEPT, COSY e HETCOR, foram registrados em espectrômetro Brüker modelo AC200, em frequências de 200 e 25,5 MHz, respectivamente. Foram utilizados solventes deuterados e TMS como padrão interno. Os espectros de 400 MHz foram realizados em espectrômetro Brüker DRX. Os espectros na faixa do ultravioleta foram realizados em equipamento Shimadzu modelo UV - 1601 PC. Os pontos de fusão das substâncias isoladas foram obtidos em aparelho MQAPF-301 da Microquímica Ind. e Com. Ltda. Para a obtenção dos extratos, o solvente foi eliminado em evaporador rotatório Büchi R-114, equipado com controlador de vácuo Büchi B-720 e um banho refrigerante Büchi B-480.

Solventes e reagentes: Os fracionamentos cromatográficos foram realizados em colunas com gel de sílica Merck e Sephadex LH-20. Para cromatografia em camada fina foram utilizadas cromatoplasmas de gel de sílica 60 F254+356 Merck e RP-18 Merck. Os reveladores para cromatografia em camada fina utilizados foram Godin (vanilina 1% em etanol e ácido perclórico 3% em água, na proporção 1:1; ácido sulfúrico 10% em etanol) (GODIN, 1954), solução de sulfato cérico a 2% em H₂SO₄, seguidos de aquecimento, e reagente NP/PEG (difetilboriloxietilamina/polietilenoglicol) (WAGNER, 1984).

Material botânico: Indivíduos inteiros de *P. auriculata* foram coletados no campus da Fundação Oswaldo Cruz e a exsicata encontra-se depositada no Herbario do Museu Nacional®, Rio de Janeiro, RJ, sob número de registro 193592.

Preparação dos Extratos: As folhas, caules e raízes foram previamente secas em estufa a 40 °C, e posteriormente reduzidas a pequenos fragmentos. Após o processamento preliminar, caules e folhas foram submetidos, separadamente, à extração por maceração estática com hexano e metanol em seqüência. As raízes foram extraídas em aparelho Soxhlet por 30 horas com CHCl₃ (SANKARAM et al., 1976).



Fracionamento dos Extratos

Extrato hexânico bruto das folhas: O extrato hexânico bruto das folhas de *P. auriculata* foi cromatografado em coluna com gel de sílica eluída com hexano, acetato de etila e metanol em gradiente de polaridades crescente. A fração 1-8 foi identificada como uma mistura de hidrocarbonetos de C²³ a C³³. Da fração eluída com hexano/acetato de etila 10% obteve-se um sólido branco, cristalizado em forma de agulhas, identificado como a mistura dos esteróides 1 e 2.

Mistura: PF: 123-125 °C. CG/EM (m/z%): *Substância* (1): 412 [M]⁺ (1,2); 300 (1,2); 271 (3,7); 255 (4,3); 299 (1,8); 213 (4,3). *Substância* (2): 414 [M]⁺ (1,8); 329 (2,5); 303 (2,5); 255 (3,0); 231 (1,8); 229 (1,2); 213 (5,5). RMN ¹H (200 MHz, CDCl₃) δ ppm: 0,60-2,5 (s, d) sinais de grupos metílicos, metilênicos e metínicos dos esqueletos esteróidicos; 3,5 e 3,65 (m) sinais de hidrogênios carbinólicos; 4,9-5,2 (m) H-22 e H-23 de (1); 5,35 (d, J 5,2 Hz) sinais dos H-6 olefínicos dos dois esteróides. RMN ¹³C (25,5 MHz, CDCl₃) δ ppm: (1): 37,29 (C1); 31,71 (C2); 71,84 (C3); 42,36 (C4); 140,8 (C5); 121,71 (C6); 31,96 (C7); 31,96 (C8); 50,20 (C9); 36,54 (C10); 21,11 (C11); 39,84 (C12); 42,36 (C13); 56,82 (C14); 24,31 (C15); 28,24 (C16); 56,12 (C17); 11,87 (C18); 19,07 (C19); 36,18 (C20); 18,81 (C21); 138,0 (C22); 129,0 (C23); 45,90 (C24); 29,24 (C25); 19,80 (C26); 19,39 (C27); 23,13 (C28); 11,99 (C29); (2): 34,02 (C22); 26,21 (C23).

A fração eluída em hexano/acetato de etila 15%, após recromatografia forneceu a *Substância* (3): C¹⁶H³²O². PF: 53,6 °C; EM: m/z 256[M]⁺ (11), 213 (8,6); 185 (6,1); 171 (6,1); 157 (7,4); 129 (24,7); 115 (11); 97 (13,5); 83 (21); 73 (100).

Extrato clorofórmico bruto das raízes: O fracionamento desse extrato foi realizado por cromatografia contra-corrente, utilizando-se o sistema de solvente hexano:acetato de etila:metanol:água (40:10:10:2 v/v), com fluxo de 2 mL/min e rotação de 1000 rpm. O procedimento de separação foi iniciado utilizando a fase superior como fase móvel. A reunião das frações 1-5 forneceu um sólido branco identificado como a substância (2) e as frações 6-17, após purificação, forneceu a substância (3). Da fração 23, obteve-se a substância (4), como um sólido amorfo de coloração amarela; e as frações 29-36, forneceram a substância (5), com cristalização em forma de agulhas de coloração amarela. Com a inversão do modo de eluição, utilizando a fase inferior

como fase móvel, foram isoladas as substâncias (6) (cristais na forma de agulhas) e (7) (sólido amorfo de coloração branca).

Substância (4):

C₁₁H₁₂O₃. RMN ¹³C (25,5 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 204,1 (C4); 162,0 (C5); 146,4 (C9); 136,8 (C7); 119,1 (C6); 117,8 (C8); 115,3 (C10); 73,0 (C1); 43,3 (C3); 37,3 (C2); 17,7 (C11). CG/EM m/z 192 [M]⁺ (35), 177 (6,2), 175 (5), 163 (5), 159, 121 (100).

Substância (5): C¹¹H⁸O³, PF. 74 °C, UV λ_{máx} (CHCl₃) 253 e 424 nm. RMN ¹³C (25,5 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 190.2 (C4), 184.6 (C1), 161.2 (C5), 149.5 (C2), 136.0 (C7), 135.4 (C3), 132.1 (C9), 124.0 (C6), 119.1 (C8), 115.1 (C10), 16.3 (C11). RMN ¹H (200 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 6.76 (q, H3), 7.20 (dd, H6), 7.55 (d, H7), 2.17 (3H, s, H11). CG/EM m/z 188 [M]⁺ (100), 173 [M - CH₃] (34), 160 (32), 131 (70), 120 (34), 92 (52), 77 (26), 63 (54), 51 (19).

Substância (6): C¹¹H¹²O⁵, PF. 91.8 °C. EM: m/z 224 [M]⁺ (9), 206 [M - H₂O]⁺ (10), 178 (12), 163 (7), 137 (100), 109 (6), 81 (15). RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 3.0 (1H, dd, J 17.0, 9.0 Hz, H2a), 2.51 (1H, dd, J 17.0, 5.0 Hz, H2b), 3.93 (1H, m, H3), 1.29 (3H, d, J 7.0 Hz, H5), 7.35 (1H, d, J 8.0 Hz, H11), 6.83 (1H, dd, J 8.0 Hz, H10) e 7.13 (1H, d, J 8.0 Hz, H9).

Substância (7): C³⁵H⁶⁰O⁶, PF. 277.6-278 °C. RMN ¹H (200 MHz, PyD₅) δ (ppm): 0,6-1,1 (sinais referentes aos grupos metila), 3,5-4,7 (sinais referentes aos hidrogênios carbinólicos), 5,03 (d, J 8,6 Hz, H1 Glu), 5,8 (s, H6). RMN ¹³C (50 MHz, PyD₅) δ (ppm): 141,4 (C5), 122,3 (C6), 103,0 (C1' Glu), 78,7 (C3), 78,2 (C5' Glu), 75,7 (C2' Glu), 72,2 (C4' Glu), 63,3 (C6' Glu), 57,3 (C14), 56,7 (C17), 50,8 (C9), 46,5 (C24), 42,9 (C13), 37,4 (C1), 37,9 (C10), 34,7 (C22), 32,5 (C8), 32,5 (C7), 30,7 (C2), 30,0 (C25), 28,9 (C16), 27,0 (C23), 24,9 (C15), 23,8 (C28), 21,7 (C11), 20,3 (C27), 19,8 (C19), 19,7 (C26), 19,4 (C21), 12,6 (C29), 12,3 (C18).

Extrato metanólico bruto do caule: Do extrato metanólico do caule de *P. auriculata* foi suspenso em água, e submetido a uma partição líquido-líquido com hexano, diclorometano, acetato de etila e butanol. O extrato resultante da partição em acetato de etila foi submetido à cromatografia em coluna com Sephadex LH-20, utilizando como eluente CHCl₃:MeOH (1:1, v/v) em modo isocrático. A fração 18-21 foi dissolvida em água e submetida à cromatografia líquida



de média pressão (MPLC) com celulose, utilizando como eluentes metanol e água em diferentes polaridades com fluxo de 7ml/min. A fração 39, eluída com MeOH 90%, apresentou uma mistura de coloração amarela quando revelada com NP/PEG, sugerindo características flavonoídicas, sendo posteriormente identificadas como as substâncias (8) e (9).

Substância (8): C¹⁵H¹²O⁶. RMN ¹H (400 MHz, MeOD) δ (ppm): 7,33 (1H, *d*, *J* 2,2 Hz, H2'); 7,36 (1H, *dd*, *J* 8,5 e 2,2 Hz; H6'); 6,86 (1H, *d*, *J* 8,5 Hz, H5'); 6,39 (1H, *d*, *J* 2,2, H8); 6,49 (1H, *s*, H3); 6,15 (1H, *d*, *J* 2,2 Hz, H6).

Substância (9): C¹⁶H¹⁴O⁶. RMN ¹H (400 MHz, MeOD) δ (ppm): 7,33 (1H, *d*, *J* 2,2 Hz, H2'); 7,36 (1H, *dd*, *J* 8,5 e 2,2 Hz; H6'); 6,86 (1H, *d*, *J* 8,5 Hz, H5'); 6,58 (1H, *d*, *J* 2,2, H6); 6,53 (1H, *s*, H3); 6,30 (1H, *d*, *J* 2,2 Hz, H8), 3,89 (*s*, OMe-7).

Resultados e Discussão

Análise dos rendimentos extrativos obtidos para *P. auriculata* demonstrou superioridade para os extratos obtidos a partir das folhas, como pode ser observado na Tabela 1. O extrato hexânico bruto dos caules de *P. auriculata* não foi fracionado devido ao baixo rendimento extrativo. O fracionamento cromatográfico do extrato hexânico das folhas de *P. auriculata* resultou em uma mistura de hidrocarbonetos de C²³ a C³³, sendo C²⁹ o mais representativo, com 25% de área relativa o cromatograma, tempo de retenção de 22,7 min e peso molecular 408 u.m.a. As demais frações, após recristalização forneceram a mistura dos esteroídes estigmasterol (1) e sitosterol (2), que tiveram seus dados espectrais confirmados pela literatura (CASTILHO, 2001; CHAURASIA; WITCHEL, 1987) e a substância (3) que, após a análise de CG/EM, foi identificada como o ácido palmítico, após comparação com o banco de dados do equipamento. O extrato clorofórmico das raízes foi cromatografado através de cromatografia líquido-líquido contra-corrente,

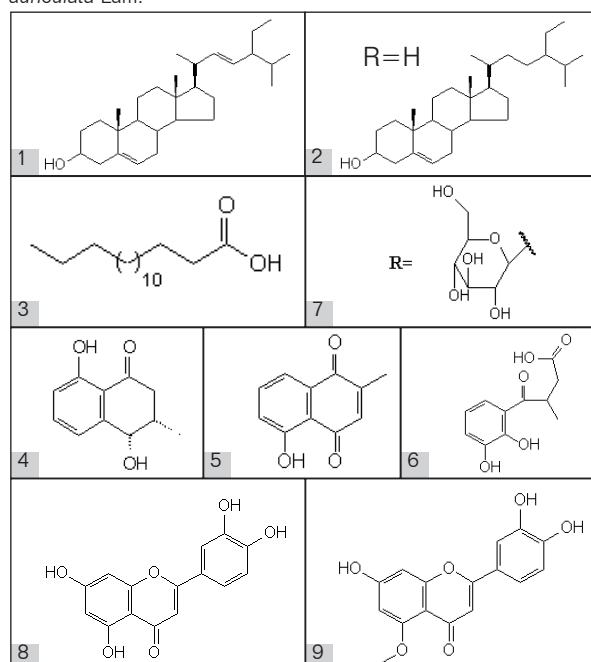
Tabela 1 - Pesos do material seco e extratos de *Plumbago auriculata*

	<i>Plumbago auriculata</i>		
	FOLHAS	CAULE	RAIZ
Peso seco	1000,0g	850,0g	902,0g
Extrato hexânico	4,7g	0,4g	-
Extrato metanólico	69,0g	15,0g	-
Extrato clorofórmico	-	-	7,2g

utilizando o sistema de solvente hexano: acetato de etila: metanol: água (40:10:10:2). A partir deste fracionamento, também foram isolados: sitosterol (2), ácido palmítico (3), além de epi-isoshinanolona (4), plumbagina (5); ácido plumbágico (6) e 3-O-glicosil-sitosterol (7). Os dados referentes a esse isolamento encontram-se em Paiva et al. (2005).

O extrato metanólico do caule foi submetido à partição líquido-líquido, e a fração em acetato de etila foi cromatografada em coluna com Sephadex. As frações 18-21 foram reunidas e submetidas à cromatografia líquida de média pressão com celulose. A fração eluída com MeOH 90%, forneceu um sólido amorfo de cor amarelada. Análise através de RMN ¹H indicou sinais característicos da presença de duas moléculas flavonoídicas. Foram observados dois singletos em δ 6,49 e 6,53, relativos ao H3, o que sugere uma mistura de duas flavonas. O padrão de substituição do anel A nas posições 5 e 7 para as duas flavonas da mistura apresenta dois conjuntos de dubletos em δ 6,15 e 6,39 e em δ 6,30 e 6,58. Essas correlações foram estabelecidas através do espectro de COSY. A presença de um singlete em δ 3,89 refere-se a um grupo metoxila em uma das flavonas, o que favorece o deslocamento dos dubletos em δ 6,30 e 6,58 para campo mais baixo. Os sinais observados na faixa de δ 6,84 - 6,87 referem-se ao hidrogênio da posição 5', enquanto os sinais entre 7,32 - 7,37 correspondem aos hidrogênios das posições 6' e 2', do anel B. As

Figura 1 - Estruturas de substâncias isoladas a partir de *Plumbago auriculata* Lam.





duas substâncias foram portanto identificadas como a luteolina (8) e a 5-metoxiluteolina (9), sendo descritas pela primeira vez para a espécie *Plumbago auriculata*. Os dados espectrais dos dois flavonóides foram confirmados com os descritos na literatura (HARBORNE, 1994). As substâncias isoladas a partir de extratos de *P. auriculata*, descritas no presente trabalho, estão representadas na Figura 1.

O presente estudo fitoquímico revelou substâncias ainda não descritas na literatura para *P. auriculata*, como foi o caso dos flavonóides luteolina e 5-metoxiluteolina. Esses resultados corroboram estudos anteriores de quimiosistemática e reforçam a representatividade na produção de flavonóides e naftoquinonas por espécies de Plumbaginaceae.

Agradecimentos

Os autores agradecem à Central Analítica de Far-Manguinhos, ao Dr. Alvicler Magalhães e ao CNPq.

Referências

- AHMAD, I.; MEHMOOD, Z.; MOHAMMAD, F. Screening of some Indian medicinal plants for their antimicrobial properties. *Journal of Ethnopharmacology*, v.62, p.183-193, 1998.
- AHMED, K.M.; KANDIL, F.E.; MABRY, T.J. An anticancer tannin and other phenolics from *Limonium axillare* (Fam. Plumbaginaceae). *Asian Journal of Chemistry*, v.11, n.1, p.261-263, 1999.
- BANERJEE, S.; MAGDUM, S.; KALENA, G.P.; BANERJI, A. Insect growth regulatory activity of naturally occurring quinones and their derivatives in *Dysdercus koenigii* Fabr. (Hem, Pyrrhocoridae). *Applied Entomology*, v.125, n.1-2, p.25-30, 2001.
- CASTILHO, R.O. *Química de Chrysobalanus icaco L. e Licania tomentosa Benth. (Chrysobalanaceae): plantas brasileiras com potencial terapêutico*. Rio de Janeiro, 176p. Tese (Doutorado) - Núcleo de Pesquisas de Produtos Naturais, Universidade Federal do Rio de Janeiro, 2001.
- CHAN-BACAB, M.J.; PEÑA-RODRÍGUEZ, L.M. Plant natural products with leishmanicidal activity. *Natural Product Reports*, v.18, p.674-688, 2001.
- CHAURASIA, N.; WITCHEL, M. Sterols and sterol glycosides from *Urtica dioica*. *Journal of Natural Products*, v.50, p.881-885, 1987.
- DEVI, P.U.; SOLOMON, F.E.; SHARADA, A.C. *In vivo* tumor inhibitory and radiosensitizing effects of an Indian medicinal plant, *Plumbago rosea* on experimental mouse tumors. *Indian Journal of Experimental Biology*, v.32, p.523-528, 1994.
- DINDA, B.; HAJRA, A.K.; CHEL, G. Naphthoquinones of *Plumbago* species: a Review. *Journal of the Indian Chemical Society*, v.74, n.11-12, p.974-979, 1997.
- GODIN, P. A new spray reagent for paper chromatography of polyols and cetoses. *Nature*, v.174, p.134, 1954.
- GHOSH, D.; SOM, K.; DINDA, B.; CHEL, G. Potentiality of plumbagin to *Culex fatigans*. A growth inhibitor. *Journal of Advanced Zoology*, v.15, n.2, p.112-115, 1994.
- HARBORNE, J.B. *The flavonoids: advances in research since 1986*. London: Chapman & Hall, 1994.
- MAHONEY, N.; MOLYNEUS, R.J.; CAMPBELL, B.C. Regulation of aflatoxin production by naphthoquinones of wanut (*Juglans regia*). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v.48, n.9, p.4418-4421, 2000.
- MATHEW, N.; PAILY, K.P.; ABIDHA, V.P.; KALYANASUNDARAM, M.; BALAMARAM, K. Macrophilicidal activity of the plant *Plumbago indica/ rosea in vitro*. *Drug Development Research*, v.56, n.1, p.33-39, 2002.
- OYEDAPO, O.O. Studies on bioactivity of the root extract of *Plumbago zeylanica*. *International Journal of Pharmacognosy*, v.34, n.5, p.365-369, 1996.
- PAIVA, S.R.de. *Aspectos da Biologia Celular e Molecular de Espécies de Plumbaginaceae*. Rio de Janeiro, 102p. Dissertação de Mestrado - Museu Nacional, Universidade Federal do Rio de Janeiro, 1999.
- PAIVA, S.R.; ARAGÃO, T.V.; FIGUEIREDO, M.R.; KAPLAN, M.A.C. Antimicrobial activity in vitro of plumbagin isolated from *Plumbago species*. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, v.98, n.7, p.959-961, 2003.
- PAIVA, S.R.de; FIGUEIREDO, M.R.; KAPLAN, M.A.C. Isolation of secondary metabolites from roots of *Plumbago auriculata* Lam. by countercurrent chromatography. *Phytochemical Analysis*, v.16, n.4, p.278-281, 2005.
- RAO, J.V.; SREENIVASAN, C.; MAKKAPATI, A.K. Plumbagin effect on growth and metamorphosis of housefly *Musca domestica* L. (Diptera: Muscidae). *International Pest Control*, v.38, n.1, p.24-25, 1996.
- SANKARAM, A.V.B.; SRINIVASARAO, A.; SIDHU, G.S. Chitranone - a new binaphthaquinone from *Plumbago zeylanica*. *Phytochemistry*, v.15, n.1, p.237-238, 1976.
- UGAZ, O.L. *Investigación Fitoquímica*. Pontificia. Peru: Universidad Católica del Peru, 1994.
- WAGNER, W.H.; BLADT, S.; ZGAINSKI, E.M. *Plant drug analysis. A thin layer chromatography atlas*. Berlin: Springer-Verlag, 1984.

