

## **RAPPORT DE STAGE DE RECHERCHE**

**NOM** : RAMBELOSON

**Prénom** : Volasoa Herilalaina Victorine

**Intitulé** : « ETUDE CHIMIQUE DES DEUX PLANTES ENDEMIQUES BIOLOGIQUEMENT ACTIVES DE MADAGASCAR : *Garcinia* sp et *Anthostema* sp »

**Dates** : Juillet 2013 au juin 2014

**Période de mobilité** : 10 mois

**Nom et adresse de l'établissement d'accueil** : Laboratoire de Chimie de Substances et Chimie Organique Biologique (LCSN/ COB) Q211-Département de Chimie Organique, Faculté des Sciences, Université d'Antananarivo, , Boite postale 906, Antananarivo 101, Madagascar.

**Nom et adresse de l'établissement d'origine** : Département de Chimie, Faculté des Sciences, Université de Fianarantsoa, Boite postale 1264, Fianarantsoa 301, Madagascar.

**Responsable scientifique dans l'Université d'accueil** : RAHARISOLOLALAO Amélie – Professeur Emérite

### **PLAN DU TRAVAIL :**

- 1. Extraction par solvants de polarité croissante (1 mois)**
- 2. Test antioxydant qualitative et quantitative (2mois)**
- 3. Fractionnement bioguidée des extraits actifs par chromatographie sur colonne (3 mois)**
- 4. Isolement et purification (5 mois)**
- 5. Détermination des structures (6 à 10 mois)**

## Sommaire

Introduction .....	3
1. Le centre de recherche / le laboratoire et son domaine d'activité .....	3
1.1 Les centres d'intérêt d'activité .....	3
1.2 Intégration de mon sujet de recherche dans les axes d'intérêt de l'université d'accueil.....	4
2. Le stage de recherche .....	4
2.1 Les objectifs .....	4
2.2 Le bilan.....	4
a) Test antioxydant sur les extraits d' <i>Anthostema madagascariense</i> et de <i>Garcinia chapelieri</i>	4
a.1) Test antioxydant qualitative .....	4
a.2) Test antioxydant quantitative .....	5
b) Activité antibactérienne .....	6
c) Extractions.....	7
c.1) Principe d'extraction .....	7
c.1.1 ) Extraction par solvant de polarité croissante .....	7
c.1.1.1) Extraction sur les écorces de tronc d' <i>Anthostema madagascariense</i> .....	7
c.1.1.2) Extraction sur les écorces de tronc de <i>Garcinia chapelieri</i> .....	8
d) Fractionnement des extraits de chaque plante .....	8
d.1) Fractionnements des extraits d' <i>Anthostema madagascariense</i> .....	8
d.1.1) Fractionnement de l'extrait à l'acétate d'éthyle.....	8
d.1.2) Fractionnement de l'extrait méthanolique .....	8
d.2) Fractionnements des extraits de <i>Garcinia chapelieri</i> .....	9
d.2.1) Fractionnement de l'extrait hexanique.....	9
d.2.2) Fractionnement de l'extrait à l'acétate d'éthyle.....	9
e) Détermination des structures des produits isolés .....	10
e.1) Produits isolés d' <i>Anthostema madagascariense</i> .....	10
e.2) Produits isolés de <i>Garcinia chapelieri</i> .....	11
<b>Enseignements/acquis du stage .....</b>	<b>13</b>
<b>Conclusion.....</b>	<b>13</b>
<b>Bibliographiques.....</b>	<b>14</b>

## **INTRODUCTION**

La santé est une condition essentielle du bien-être des individus et un objectif du développement social et économique. La situation sanitaire laisse à désirer dans les pays en voie de développement comme Madagascar. Or, notre île est très réputée dans le monde pour sa richesse en faune et en flore. Elle compte environ 13000 espèces dont 80 % sont endémiques, et parmi elles on trouve les plantes médicinales qui ont actuellement des grands intérêts grâce à leur usage dans de nombreux domaines tout aussi différents les uns des autres, comme la cosmétique, la pharmacie, et l'agroalimentaire qui sont les mêmes celles employés par les anciens autrefois.[3]

Comme bon nombre de flore, celle de Madagascar compte des plantes à vertus thérapeutiques.

L'utilisation des plantes en thérapie (phytothérapie) est très ancienne et connaît actuellement un regain d'intérêt auprès du public.

Selon OMS, près de 6377 espèces de plantes sont utilisées en Afrique dont 400 sont des plantes médicinales qui constituent 90% de la médecine traditionnelle [2].

La raison d'avoir choisi l'établissement d'accueil, ce qu'il travaille dans le domaine des produits naturels et mieux équipé que les laboratoires dans les autres provinces.

Les objectifs de mes travaux sont :

- de vérifier scientifiquement l'utilisation traditionnelle de cette plante médicinale
- Isoler et identifier les molécules (principes actifs) dans ces plantes,
- Avoir des substances pouvant palier les différentes maladies,
- Avoir des produits qui ont une activité antioxydante.

## **DEVELOPPEMENT- PLAN TYPE**

### **1.Le centre de recherche / le laboratoire et son domaine d'activité**

#### **1.1 Les centres d'intérêt d'activité**

- ✓ Excès d'équipements ;
- ✓ Existence et variation des matériels ;
- ✓ Manipulation des nouveaux matériaux ;
- ✓ Abondance des réactifs et produits à utiliser

## **1.2 Intégration de mon sujet de recherche dans les axes d'intérêt de l'université d'accueil**

- ✓ Obtention des nouvelles techniques de fractionnement des extraits actifs (chromatographie sur colonne) ;
- ✓ Echanges scientifiques

## **2. Le stage de recherche**

### **2.1 Les objectifs**

- ✓ Extraction bioguidée ;
- ✓ Fractionnement des extraits actifs par la méthode de chromatographie sur colonne afin d'isoler et d'identifier les structures de ou des produits purs actifs ;
- ✓ Echanges scientifiques ;
- ✓ Détermination des structurales ;
- ✓ Avoir des substances pouvant palier les différentes maladies ;
- ✓ Avoir des produits qui ont une activité antioxydante.

### **2.2 Le bilan**

- Résultats obtenus (appréciation de l'efficacité – gestion du temps)

#### **a) Test antioxydant sur les extraits d'*Anthostema madagascariense* et de *Garcinia chapelierii***

##### **a.1) Test antioxydant qualitative**

Afin de connaître l'activité de ces extraits, des tests antioxydants qualitatifs ont été réalisés en chromatographie sur couche mince sur les différents extraits de cette plante. La plaque après développement a été immergée dans la solution méthanolique de 2,2-diphénylpicrylhydrazine (DPPH). Les extraits contenant les taches donnant une coloration jaune sur fond violet présentent une activité antioxydante.

Les extraits à l'acétate d'éthyle et méthanolique de *Anthostema madagascariense* ont donné des résultats positifs et nous remarquons une meilleure séparation avec le système hexane / Acétone (80/20) en présentant de plusieurs taches.

Pour *Garcinia chapelierii*, les trois extraits hexanique, à l'acétate d'éthyle et méthanolique ont donné des résultats positifs et nous remarquons aussi une meilleure séparation avec le système hexane / Acétone (80/20) en présentant de plusieurs taches.

### a.2) Test antioxydant quantitative

La capacité de donation des électrons par les extraits de plantes est mise en évidence par une méthode spectrophotométrique, en suivant la disparition de la couleur violette d'une solution méthanolique contenant le radical libre DPPH+ (1,1-Diphényl-2-picrylhydrazyl) [1]. La quantité des produits antioxydants sur les extraits a été évaluée par spectrophotométrie UV en donnant le pourcentage d'inhibition en fonction de la concentration des extraits puis le résultat est présenté par son équivalent en vitamine E.

Les résultats sont rassemblés dans le tableau I.

Extraits	Concentration (mg/ml)	% d'inhibition	Equivalent vitamine E (mM/mg/l d'extrait)
AcOEt <sub>D</sub>	0,25	73,69	<u>1638,48</u>
AcOEt <sub>B</sub>	1	98,93	548,43
H <sub>D</sub>	1	23,54	130,75
blanc	méthanol+ DPPH	0	

Pour une concentration de 0,25mg/ml, l'activité antioxydante de l'extrait à l'acétate d'éthyle de *Garcinia chapelierii* (AcOEt<sub>D</sub>) est 3 fois plus forte que celle de l'extrait à l'acétate d'éthyle de *d'Anthostema madagascariense* (AcOEt<sub>B</sub>) avec une concentration égale à 1mg/ml. Pour l'extrait hexanique de *Garcinia chapelierii* (H<sub>D</sub>), à 1 mg/ml son activité antioxydante est 12 fois moins faible que celle de l'extrait à l'acétate d'éthyle de *Garcinia chapelierii* (AcOEt<sub>D</sub>). **L'extrait à l'acétate d'éthyle *Garcinia chapelierii* (AcOEt<sub>D</sub>) et l'extrait à l'acétate d'éthyle de *d'Anthostema madagascariense* (AcOEt<sub>B</sub>) avec des %d'inhibitions >50% sont considérés comme de bon pouvoir antioxydant.**

## b) Activité antibactérienne

### b.1) Description de la méthode antibiogramme

#### b.1.1) Méthodes d'évaluations de l'activité antibactérienne d'un extrait de plante

##### b.1.1.1) But de l'antibiogramme

Un antibiogramme permet de tester sur milieu de culture, l'action de molécules antibiotiques sur une souche bactérienne. Il donnera donc des indications sur l'efficacité *IN VITRO* de ces antibiotiques

##### b.1.1.2) Méthodes de diffusion en milieu solide

#### Principe

L'antibiotique est présent en quantité connue dans un disque de papier cellulose. Lorsque le disque est déposé à la surface du milieu de culture, l'antibiotique diffuse en créant un gradient de concentration. La bactérieensemencée sur ce milieu va entrer en contact avec des concentrations variables d'antibiotique.

La détermination du diamètre de la zone d'inhibition permet une estimation de la concentration minimale inhibitrice. Les caractères de sensibilité ou de résistance de la souche bactérienne en seront déduits.

Matériels végétaux	Diamètre de l'halo d'inhibition (mm)			
	<i>S. aureus</i>	<i>S. flexneri</i>	<i>S. typhi</i>	<i>E.coli</i>
AcOEt <sub>D</sub>	8±0,66 (++)	0	0	0
AcOEt <sub>B</sub>	0	10±0,66 (+++)	0	0
H <sub>D</sub>	7±0,33 (+)	12±0,0(+++)	0	0
Neomycine (30µg/disc)	16±4	NT	NT	NT
Tétracycline (100µg/disc)	NT	37±1	34±3	NT
Gentamycine (30µg/disc)	NT	NT	NT	22±1

D'après le tableau II, le diamètre d'inhibition varie de 7 à 12 mm de diamètre. La souche *Shigella flexneri* est très sensible vis à vis de l'extrait hexanique de *Garcinia chapelierii* et l'extrait acétate d'éthyle d'*Anthostema madagascariense*.

*Staphylococcus aureus* est sensible sur l'extrait acétate d'éthyle de *Garcinia chapelierii*, elle est assez sensible sur extrait hexanique.

Donc l'extrait hexanique de *Garcinia chapelierii* et l'extrait acétate d'éthyle d'*Anthostema madagascariense* sont actifs sur le germe de *Shigella flexneri* tandis que l'extrait acétate d'éthyle de *Garcinia chapelierii* est actif sur le *Staphylococcus aureus*.

### c) Extractions

#### c.1) Principe d'extraction

##### c.1.1) Extraction par solvant de polarité croissante

L'extraction consiste à extraire différents composés chimiques à partir d'un échantillon grâce à des solvants de polarité croissante. Selon la « règle de similitude » : un solvant non polaire va extraire les composés apolaires tels que les pigments végétaux tandis que les solvants polaires vont extraire les composés polaires tels que les flavonoïdes glycosides, les hétérosides, les tannins.

L'extraction est réalisée par macération de la poudre de la plante avec de l'hexane, l'acétate d'éthyle puis le méthanol pendant 4 jours à température ambiante et sous agitation. Chaque macération est suivie d'une filtration et le filtrat est évaporé pour éliminer le solvant. On obtient les différents extraits secs obtenus sont nommés H<sub>B</sub>, AcOEt<sub>B</sub>, MeOH<sub>B</sub>, H<sub>D</sub>, AcOEt<sub>D</sub> et MeOH<sub>D</sub>.

##### c.1.1.1) Extraction sur les écorces de tronc d'*Anthostema madagascariense*

L'extraction de 600 g de poudres des écorces de tronc d'*Anthostema madagascariense* a été réalisée par macération avec des solvants de polarité croissante avec de l'hexane, à l'acétate d'éthyle et le méthanol, les résultats sont présentés dans le tableau III ci-dessous.

Extrait	Code	Quantité(g)	Rendement (%)
Extrait hexanique	H <sub>B</sub>	2,05 ±0,01	0,34
Extrait d'acétate d'éthyle	AcOEt <sub>B</sub>	7,02 ±0,01	1,17
Extrait méthanolique	MeOH <sub>B</sub>	7,27 ±0,01	1,21

### **c.1.1.2) Extraction sur les écorces de tronc de *Garcinia chapelierii***

L'extraction de 600 g de poudres des écorces de tronc de *Garcinia chapelierii* a été réalisée par macération avec des solvants de polarité croissante avec de l'hexane, à l'acétate d'éthyle et le méthanol. Les résultats sont consignés dans le tableau III

<b>Extrait</b>	<b>Code</b>	<b>Quantité (g)</b>	<b>Rendement %</b>
<b>Extrait hexanique</b>	H <sub>D</sub>	2,73 ±0,01	0,45
<b>Extrait à l'acétate d'éthyle</b>	AcOEt <sub>D</sub>	18,67 ±0,01	3,11
<b>Extrait méthanolique</b>	MeOH <sub>D</sub>	21,19 ±0,01	3,53

### **d) Fractionnement des extraits de chaque plante**

#### **d.1) Fractionnements des extraits d'*Anthostema madagascariense***

##### **d.1.1) Fractionnement de l'extrait à l'acétate d'éthyle**

Le fractionnement de 4 g de l'extrait à l'acétate d'éthyle d'*Anthostema madagascariense* a été réalisé sur une colonne de verre de hauteur 100 cm et de 3 cm de diamètre, 120 g de gel de silice pour la phase stationnaire. Les caractéristiques des produits isolés de l'extrait à l'acétate d'éthyle sont résumées dans le tableau IV.

<b>Fractions rassemblées</b>	<b>Code (masse mg)</b>	<b>Aspect</b>	<b>Soluble</b>	<b>Insoluble</b>
31-32	VL1 (9)	Fine aiguille blanche cotonneuse	Dichlorométhane	Hexane
39-60	VL11 (10)	Poudre blanche	Dichlorométhane	Hexane
118-131	VL5 (10)	Solide blanc	Méthanol	Dichlorométhane

##### **d.1.2) Fractionnement de l'extrait méthanolique**

Le fractionnement de 4 g de l'extrait méthanolique d'*Anthostema madagascariense* a été réalisé sur une colonne de verre de hauteur 70 cm et de 4 cm de diamètre, 120 g de gel de silice pour la phase stationnaire. Les caractéristiques des produits isolés de l'extrait méthanolique sont résumées dans le tableau V.

Fractions rassemblées	Code (masse mg)	Aspect	Soluble	Insoluble
38-43	VL14 (8)	Poudre jaune	Dichlorométhane	Hexane
82-95	VL16 (3)	Poudre jaune	Dichlorométhane	Hexane
108-115	VL15 (10)	Huileux marron	Méthanol	Dichlorométhane

## **d.2) Fractionnements des extraits de *Garcinia chapelierii***

### **d.2.1) Fractionnement de l'extrait hexanique**

Le fractionnement de 1,31 g de l'extrait hexanique de *Garcinia chapelierii* sur une colonne de silice a été effectué. Les caractéristiques des produits isolés de l'extrait hexanique sont consignées dans le tableau VI.

Fractions rassemblées	Code (masse mg)	Aspect	Soluble	Insoluble
5-6	VL20 (10)	Poudre jaune	Dichlorométhane	Hexane
7-8	VL21 (6)	Poudre jaune	Dichlorométhane	Hexane

### **d.2.2) Fractionnement de l'extrait à l'acétate d'éthyle**

Le fractionnement de 4 g de l'extrait à l'acétate d'éthyle de *Garcinia chapelierii* sur une colonne de silice a été réalisé. Les caractéristiques des produits isolés de l'extrait à l'acétate d'éthyle sont résumées dans le tableau VII.

Fractions rassemblées	Code (masse mg)	Aspect	Soluble	Insoluble
41-42	GC1 (8)	Huileux blanc	Dichlorométhane	Hexane
77-79	GC2 (9)	Poudre blanche	Dichlorométhane	Hexane
80-84	GC11 (11)	Poudre verte	Dichlorométhane	Hexane
93-102	GC6 (17)	Poudre jaune orangée	Dichlorométhane	Hexane
103-112	GC3 (8)	Poudre marron clair	Dichlorométhane	Hexane
113-126	GC8 (8)	Huileux blanc	Dichlorométhane	Hexane
143-157	GC5 (375)	Cristaux huileux marron	Méthanol	Dichlorométhane
168-179	GC7 (14)	Poudre jaune orangée	Méthanol	Dichlorométhane
182-189	GC4 (51)	Poudre marron foncée	Méthanol	Dichlorométhane
190-199	GC9 (423)	Poudre jaune	Méthanol	Dichlorométhane
200-206	GC12 (20)	Poudre jaune	Méthanol	Dichlorométhane
215-221	GC10 (35)	Poudre jaune	Méthanol	Dichlorométhane

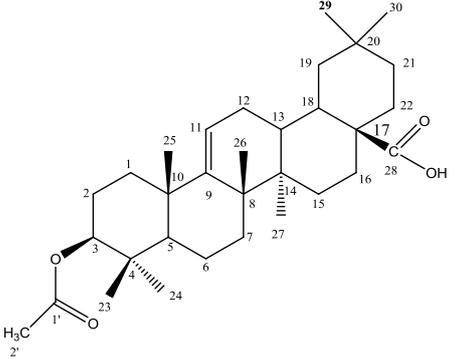
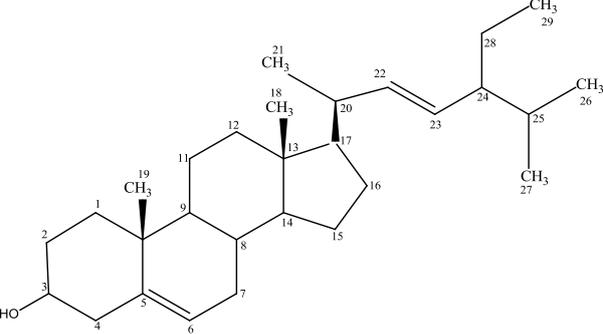
### e) Détermination des structures des produits isolés

Le principe de la RMN est basé sur les propriétés mécaniques magnétiques du noyau à spin non nul ( $I=1/2$ ) dans un champ magnétique et sous l'action de radiofréquence qui produisent un signal FID (Free Induction Decay) sous forme sinusoïdale et l'ensemble de données est fonction du temps. Ce signal FID est transformé en fréquence par la transformation de Fourier. On obtient un spectre de RMN.

Nous avons distingué les spectres à une dimension (RMN<sup>1</sup>H et <sup>13</sup>C), à deux dimensions homonucléaires (COSY) et à deux dimensions hétéronucléaires (HSQC et HMBC).

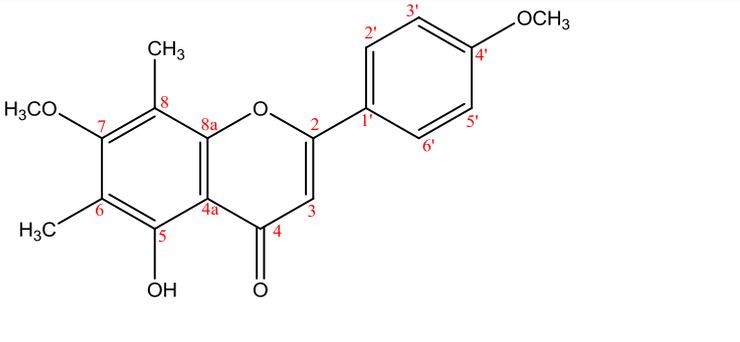
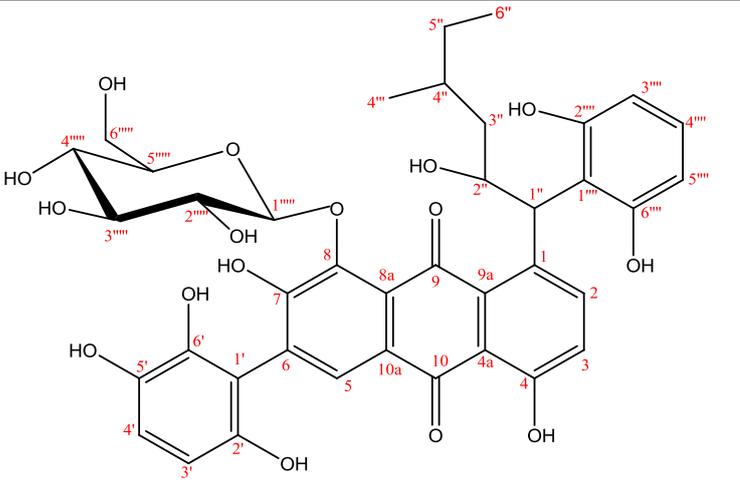
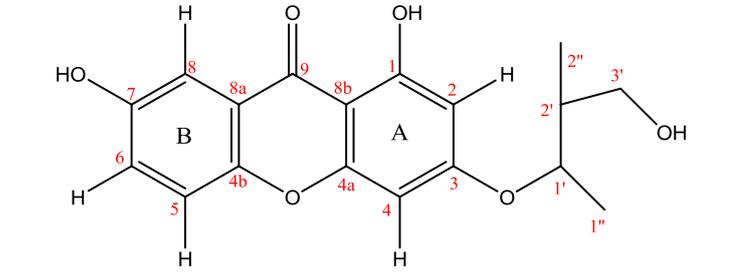
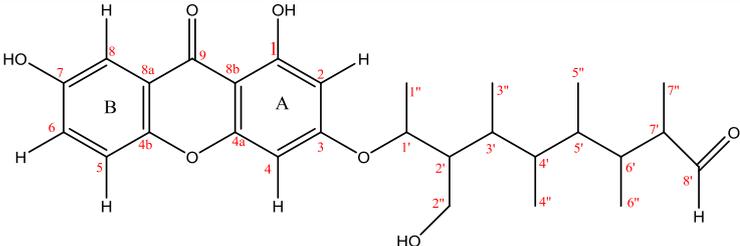
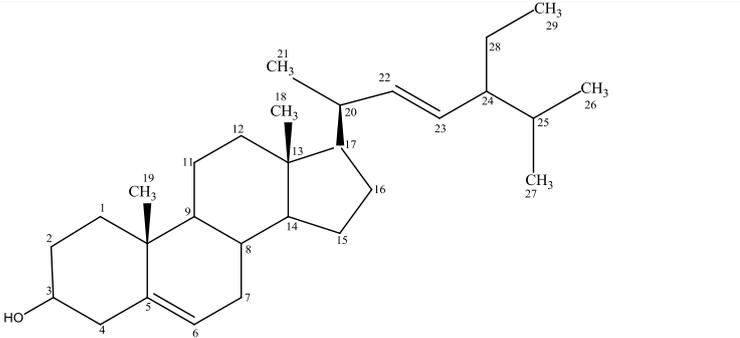
#### e.1) Produits isolés d'*Anthostema madagascariense*

6 produits ont été isolés pour *Anthostema madagascariense* qui sont l'acide 3-acétoxy oléan-9(11)-èn-28-oïque et le stigmatstérol, ils ont l'objet de publication internationale [5]

Nom	Structure
<b>Acide 3-acétoxy oléan-9(11)-èn-28-oïque</b>	
<b>Stigmatstérol</b>	

**e.2) Produits isolés de *Garcinia chapelierii***

14 produits ont été isolés pour *Garcinia chapelierii* qui sont [5-hydroxy-6, 8-diméthyl-7,4'-dimethoxy-]flavone ; 1-[(2''-hydroxy-4''-méthylhexyl)-(2''''',6''''-hydroxyphényl)]-6-(2', 5',6'-trihydroxyphényl) 8-O-β-D- glucosepyranosyl) anthraquinone ; 1, 7-dihydroxy-3-O-[(1', 2'-dimethylpropan-3'-ol]xanthone nommé chapexanthone B ; 1,7-dihydroxy-3-O-[(1',3',4',5',6',7'-hexamethyloctanal) (2''-hydroxyméthylène)] nommé chapexanthone A et le stigmatstérol , Chapexanthone A et B ont l'objet de publication internationale [4].

Nom	Structure
[5-hydroxy-6, 8-diméthyl-7,4'-diméthoxy-]flavone	
1-[(2''-hydroxy-4''-méthylhexyl)-(2''''',6'''''-hydroxyphényl)]-6-(2',5',6'-trihydroxyphényl) 8-O-β-D-glucopyranosyl anthraquinone	
1, 7-dihydroxy-3-O-[(1', 2'-diméthylpropan-3'-ol)]xanthone	
1,7-dihydroxy-3-O-[(1',3',4',5',6',7'-hexaméthyl-octanal) (2''-hydroxyméthylène)]xanthone	
Stigmastérol	

## Enseignements/acquis du stage

Elles nous ont permis de comprendre la méthodologie de recherche dans le domaine des Produits Naturels, et de nous familiarisé avec les techniques courantes de Laboratoire

- Difficultés rencontrés
  - ✓ Il y a toujours des matériels qui manquent comme le LH-20 pour purifier les produits
- Solutions apportées
  - ✓ Augmentation de l'allocation de recherche
- Enseignement /acquis du stage (connaissances-competences)
  - ✓ Perfectionnement de niveau dans mon domaine de recherche
  - ✓ Amélioration de connaissance en langue Anglaise (scientifique)

## **Conclusion**

Des études chimiques et biologiques de deux plantes endémiques malgaches *Anthostema madagascariense* Baill. de la famille Euphorbiaceae et *Garcinia chapelierii* H.Perr. de la famille Clusiaceae ont été réalisées au cours de ce travail. L'extraction par macération dans les solvants de polarité croissante a été faite respectivement de l'écorce d'*Anthostema madagascariense* et de l'écorce de *Garcinia chapelierii* afin de séparer leurs constituants par polarité. Les activités antimicrobiennes et antioxydants des extraits ont été évalués. Les extraits hexanique et à l'acétate d'éthyle de *Garcinia chapelierii* et l'extrait à l'acétate d'éthyle d'*Anthostema madagascariense* présentent une bonne activité antioxydante sur le DDPH avec la méthode spectrophotométrique. Les extraits hexanique et à l'acétate d'éthyle sont actifs sur la souche *Staphylococcus aureus* de *Garcinia chapelierii*. L'extrait à l'acétate d'éthyle d'*Anthostema madagascariense* présente une activité antimicrobienne sur *Shigella flexneri*.

Les fractionnements des extraits actifs ont été réalisés sur une colonne de silice en éluant avec l'hexane en gradient avec l'acétone puis méthanol. Vingt produits ont été isolés dont six d'*Anthostema madagascariense* et quatorze de *Garcinia chapelierii*. L'identification des sept produits a été faite grâce à l'analyse concertée des spectres RMN et masse.

Les produits identifiés appartiennent aux deux familles chimiques : terpénoïdes et polyphénols.

Un triterpène, l'acide 3-acétoxy oléan-9(11)-èn-28-oïque et un stéroïde, le stigmatstérol sont identifiés de l'écorce d'*Anthostema madagascariense*. Un stéroïde, le stigmatstérol, un flavonoïde, le [5,7-diméthyl-6,4''-diméthoxy-8-hydroxy]flavone, un anthraquinone, le 1-[(2''-hydroxy-4''-méthylhexyl)-(2''',6''''-hydroxyphényl)]-6-(2', 5',6'-trihydroxyphényl) 8-O-β-D- glucopyrannosyl)anthraquinone et deux xanthones 1, 7-dihydroxy-3-O-[(1', 2'-diméthylpropan-3'-ol)xanthone et 1,7-dihydroxy-3-O-[(1',3',4',5',6',7'-hexaméthyl-octanal (2''hydroxyméthylène)]xanthone sont rencontrés dans l'écorce de *Garcinia chapelieri*.

Comme perspective, il s'avère indispensable de :

- Déterminer les structures des autres produits actifs d'*Anthostema madagascariense* Baill. et *Garcinia chapelieri* H.Perr.
- Approfondir les activités biologiques des produits isolés de ces deux plantes
- Pré-élaborer de pharmacopée de Vatovavy Fitovinany
- Etudier les autres espèces de *Garcinia* afin d'établir une relation structure-activité

Certains résultats obtenus à l'issue de la préparation de la présente thèse ont fait l'objet des publications dans des revues de notoriété internationale [4,5].

## Bibliographiques

### 1 Burits M. Bucar F., 2000

Antioxydant activity of *Nigella sativa* essential oil  
Phytotherapy Research, 14, 323-328.

### 2 Diallo A., 2005,

Etude de la phytochimie et des activités biologiques de *Syzygium guincense* Willd., Thèse de doctorat de Pharmacie, Bamako, Mali

3 CIRAD – CITE – GREF, 17 au 22 juin 1996, Plantes Aromatiques et Médicinales à Madagascar Séminaire tenu au CITE

### 4 Rambeloson V. H. V., Rasoanaivo L. H., Wadouachi A., Rivoarison Randrianasolo R., Krebs H. C., Raharisolalao A., 2014

Two new Xanthenes from *Garcinia chapelieri*: Chapexanthone A; chapexanthone B  
Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry 2 (5): 98-105.

### 5 Rambeloson V. H. V., Rasoanaivo L. H., Wadouachi A., Raharisolalao A., 2014

A new triterpene and stigmastérol from *Anthostema madagascariense* (Euphorbiaceae)  
International Journal of Chemical Studies 1(5) : 42-48.