

Evaluation du potentiel allélopathique et antifongique de triterpénoïdes pentacycliques extraits de feuilles de *Lantana Camara*

Auteur : Blistein, Lucas

Promoteur(s) : Fauconnier, Marie-Laure

Faculté : Gembloux Agro-Bio Tech (GxABT)

Diplôme : Master en bioingénieur : chimie et bioindustries, à finalité spécialisée

Année académique : 2021-2022

URI/URL : <http://hdl.handle.net/2268.2/15515>

Avertissement à l'attention des usagers :

Tous les documents placés en accès ouvert sur le site le site MatheO sont protégés par le droit d'auteur. Conformément aux principes énoncés par la "Budapest Open Access Initiative"(BOAI, 2002), l'utilisateur du site peut lire, télécharger, copier, transmettre, imprimer, chercher ou faire un lien vers le texte intégral de ces documents, les disséquer pour les indexer, s'en servir de données pour un logiciel, ou s'en servir à toute autre fin légale (ou prévue par la réglementation relative au droit d'auteur). Toute utilisation du document à des fins commerciales est strictement interdite.

Par ailleurs, l'utilisateur s'engage à respecter les droits moraux de l'auteur, principalement le droit à l'intégrité de l'oeuvre et le droit de paternité et ce dans toute utilisation que l'utilisateur entreprend. Ainsi, à titre d'exemple, lorsqu'il reproduira un document par extrait ou dans son intégralité, l'utilisateur citera de manière complète les sources telles que mentionnées ci-dessus. Toute utilisation non explicitement autorisée ci-avant (telle que par exemple, la modification du document ou son résumé) nécessite l'autorisation préalable et expresse des auteurs ou de leurs ayants droit.

**EVALUATION DU POTENTIEL ALLÉLOPATHIQUE
ET ANTIFONGIQUE DE TRITERPENOÏDES
PENTACYCLIQUES EXTRAITS DE FEUILLES DE
LANTANA CAMARA**

BLISTEIN LUCAS

**TRAVAIL DE FIN D'ÉTUDES PRÉSENTÉ EN VUE DE L'OBTENTION DU DIPLÔME DE
MASTER BIOINGÉNIEUR EN CHIMIE ET BIOINDUSTRIE**

ANNÉE ACADÉMIQUE 2021-2022

PROMOTEUR: MARIE-LAURE FAUCONNIER

Copyright © Toute reproduction du présent document, par quelque procédé que ce soit, ne peut être réalisée qu'avec l'autorisation de l'auteur et de l'autorité académique de Gembloux Agro-Bio Tech

Le présent document n'engage que son auteur

**EVALUATION DU POTENTIEL ALLÉLOPATHIQUE
ET ANTIFONGIQUE DE TRITERPENOÏDES
PENTACYCLIQUES EXTRAITS DE FEUILLES DE
LANTANA CAMARA**

BLISTEIN LUCAS

**TRAVAIL DE FIN D'ÉTUDES PRÉSENTÉ EN VUE DE L'OBTENTION DU DIPLÔME DE
MASTER BIOINGÉNIEUR EN CHIMIE ET BIOINDUSTRIE**

ANNÉE ACADÉMIQUE 2021-2022

PROMOTEUR: MARIE-LAURE FAUCONNIER

Institution d'accueil

Ce travail de fin d'études a été réalisé au sein du Laboratoire de Chimie des Molécules Naturelles de Gembloux Agro-Bio Tech (Université de Liège).

Remerciements

Je tiens en premier lieu à remercier mon encadrante, Laura Lheureux, pour son aide et son soutien tout au long de ce travail de fin d'études. Je tiens également à remercier ma promotrice, le Professeur Marie-Laure Fauconnier, pour ses précieux conseils et ses encouragements. Je remercie également le Professeur Professeur, pour ses précieux conseils pour les analyses RMN. Je remercie également Pierre Burget pour son aide dans les analyses MS.

Je tiens à remercier toute l'équipe du laboratoire de chimie des molécules naturelles, Franck, Danny, Thomas et Laurie, pour leur aides en manipulation, leurs conseils et leur bonne humeur.

Je tiens également à remercier les autres stagiaires présent lors de mon travaux de fin d'étude, pour les moments que l'on a passé ensemble, et particulièrement Maxime et Fanny pour leurs aides dans mes manipulations.

Finalement, je tiens à remercier ma compagne et ma famille pour leur soutien psychologique et leurs motivations.

Résumé

Lantana camara L. est une adventice tropicale invasive de la famille des *Verbenaceae* possédant un grand nombre de composés bioactifs, notamment des triterpénoïdes pentacyclique, dont les plus importants sont le lantadène A et le lantadène B. Une extraction à l'acétate d'éthyle de ses feuilles a été effectuée dans l'objectif d'isoler ces molécules. Les analyses ont permis d'identifier les composés majoritaires de l'extrait comme étant des triterpénoïdes pentacycliques : l'ictérogénine et le lantadène A. Un second objectif était d'évaluer le potentiel allélopathique (plus spécifiquement l'activité herbicide et antigerminative) de l'extrait sur deux adventices communes en Belgique, *Lolium perenne* L. et *Trifolium incarnatum* L. Les résultats n'ont démontré aucune activité herbicide et antigerminative de l'extrait envers les deux espèces aux concentrations testées. Néanmoins, un potentiel effet inhibiteur de croissance a été observé sur *L. perenne*. Un second objectif était l'évaluation de l'activité antifongique de l'extrait sur deux champignons phytopathogènes, *Fusarium verticillioides* et *Aspergillus flavus*. Les résultats ont montré que l'extrait a un effet inhibiteur de croissance envers *F. verticillioides* et *A. flavus* quand il est présent dans leur milieu de culture, et cela dès une concentration de 0,05 mg/mL.

Mots-clés : Phytochimie, allélopathie, lantadène, antifongique, extraction, triterpénoïdes pentacycliques, identification, RMN, MS, HPLC

Abstract

Lantana camara L. is a tropical invasive weed of the *Verbenaceae* family containing a large number of bioactive compounds, especially pentacyclic triterpenoids, the main ones being lantaden A and lantaden B. An ethyl acetate extraction of its leaves was performed in order to isolate these molecules. The analyses identified the majority compounds in the extract as pentacyclic triterpenoids : icterogenin and lantadène A. A second objective was to evaluate the allelopathic potential (more specifically the herbicidal and antigerminative activity) of the extract on two common weeds in Belgium, *Lolium perenne* L. and *Trifolium incarnatum* L. The results showed no herbicidal and antigerminative activity of the extract on either species at the concentrations tested. Nevertheless, a potential growth inhibitory effect was observed on *L. perenne*. A second objective was the evaluation of the antifungal activity of the extract on two phytopathogenic fungi, *Fusarium verticillioides* and *Aspergillus flavus*. The results showed that the extract has a growth inhibitory effect on *F. verticillioides* and *A. flavus* when present in their culture medium, and this as early as a concentration of 0.05 mg/mL.

Key-words : Phytochemistry, allelopathy, lantadene, antifungal, extraction, pentacyclic triterpenoids, identification, NMR, MS, HPLC

Abréviations

- ACN : Acétonitrile
- BE : Belgique
- CCM : Chromatographie sur couche mince
- FTIR : Spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier
- h : Heure
- H₂O : Eau
- HFo : Acide formique
- HPLC : High performance liquid chromatography (chromatographie en phase liquide à haute performance)
- LA : Lantadène A
- LB : Lantadène B
- LC : Lantadène C
- LD : Lantadène D
- MeOH : Méthanol
- mg : Milligramme
- min : Minute
- mL : Millilitre
- mm : Millimètre
- MS : Spectrométrie de masse
- nm : Nanomètre
- NL : Pays-Bas
- n.s. : Non significatif
- PDA : Milieu Potato Dextrose Agar
- RLA : Lantadène A réduit
- RLB : Lantadène B réduit
- RMN : Résonance magnétique nucléaire
- SNA : Spezieller Nährstoffärmer Agar
- UV : Ultraviolet
- μ m : Micromètre

Liste des figures

Figure 1. <i>Lantana camara</i> L. ⁵⁰	6
Figure 2. Structures chimiques des lantadènes.....	7
Figure 3. Profil HPLC de l'extrait partiellement purifié. Détection à 210 nm Composés majoritaire de l'extrait : A et B	14
Figure 4. Chromatogramme du fractionnement de l'extrait partiellement purifié par HPLC préparative Mode isocratique; solvant d'éluion : MeOH/ACN/H ₂ O/HFo de ratio volumique (68/20/12/0,01).....	15
Figure 5. Chromatogramme fraction 4+5+6. HPLC analytique ; Détection à 210nm. Solvant d'éluion MeOH/ACN/H ₂ O/HFo de ratio volumique (68/20/12/0,01) A : pic au Tr=8,1 min	16
Figure 6. Chromatogramme fraction 20-27. HPLC analytique ; Détection à 210nm. Solvant d'éluion MeOH/ACN/H ₂ O/HFo de ratio volumique (68/20/12/0,01) B : pic au Tr=13,5 min	16
Figure 7. Spectromètre de masse du standard du lantadène A Q-Exactive MS	17
Figure 8. Spectre 1H-RMN du standard du lantadène	18
Figure 9. Spectre FTIR de la fraction enrichie en composé A	19
Figure 10. Spectre FTIR de la fraction enrichie en composé B	19
Figure 11. Spectromètre de masse de la fraction enrichie en composé A	20
Figure 12. Spectromètre de masse de la fraction enrichie en composé B	21
Figure 13. Spectre 1H-RMN du composé A	22
Figure 14. Spectre HSQC du composé A.....	22
Figure 15. Structure de l'ictérogénine numérotée.....	23
Figure 16. Spectre HMBC du composé A.....	24
Figure 17. Spectre 1H-RMN du composé B	25
Figure 18. Structure du lantadène A avec différence de structure par rapport à l'ictérogénine entouré	25
Figure 19. Estimation de la croissance de <i>L. perenne</i> * : significativement différents de la moyenne du témoin eau	26
Figure 20. . Inhibition de croissance de <i>A. flavus</i> : Moyenne des 3 expérimentations.....	28
Figure 21. Inhibition de croissance de <i>F. verticillioides</i> : Moyenne des 3 expérimentations	28
Figure 22. Inhibition de croissance de <i>A. flavus</i> : 2ème expérimentation	29
Figure 23. Inhibition de croissance de <i>F. verticillioides</i> : 2ème expérimentation.....	30

Liste des tableaux

Tableau 1. Triterpénoïdes pentacycliques identifiés chez <i>L. camara</i> ^{102,114,130-139}	8
Tableau 2. Pics présents dans le profil HPLC de l'extrait partiellement purifié.	14
Tableau 3. Rendement de fractionnement des molécules majoritaire de l'extrait: A et B rendement de fractionnement %=m/m.....	16
Tableau 4. Données de RMN 1H (700 MHz dans CDCl ₃), , 13C (176 MHz dans CDCl ₃) du composé A et données de RMN 1H (800 MHz dans CDCl ₃), 13C (200 MHz dans CDCl ₃) prédits pour la structure de l'ictérogénine.	23
Tableau 5. Résultats des essais sur l'activité antigerminative de l'extrait sur <i>T. incarnatum</i> . * : significativement différents du témoin eau	27
Tableau 6. Résultats des essais sur l'activité antigerminative de l'extrait sur <i>L. perenne</i> . * : significativement différents du témoin eau	27
Tableau 7. P-valeurs d'analyse de la variance des développements fongiques pour la 2ème expérimentation	30
Tableau 8. inhibitions de croissance observées au 6ème jour de la 2ème expérimentation.....	30

Table des matières

<i>Institution d'accueil</i>	VII
<i>Remerciements</i>	VII
<i>Résumé</i>	VIII
<i>Abstract</i>	VIII
<i>Abréviations</i>	IX
<i>Liste des figures</i>	X
<i>Liste des tableaux</i>	X
<i>Table des matières</i>	XI
1 Introduction	1
1.1 Contexte de l'étude.....	1
1.2 Objectifs et stratégie adoptée	1
2 État de l'art	2
2.1 Contexte agro-environnemental.....	2
2.1.1 Adventices	2
2.1.2 Champignons phytopathogènes	3
2.2 Allélopathie.....	3
2.2.1 Définition	3
2.2.2 Composés allélochimiques	3
2.2.2.1 Généralités et mécanismes de libération.....	3
2.2.2.2 Classification des composés allélochimiques	4
2.2.2.3 Facteurs affectant la production des composés allélochimiques	4
2.2.2.4 Processus post-libération	4
2.2.3 Activités des composés allélochimiques.....	5
2.3 <i>Lantana camara</i> L.....	6
2.3.1 Généralités.....	6
2.3.2 Phytochimie de <i>L. camara</i>	6
2.3.2.1 Composés phénoliques bioactifs.....	6
2.3.2.2 Lantadènes et autres triterpénoïdes.....	7
2.3.3 Potentiel allélopathique de <i>L. camara</i>	8
2.3.4 Les lantadènes, source de toxicité envers les animaux	9
2.3.5 Activité antifongique de <i>L. camara</i>	9
3 Matériel et méthode	10
3.1 Extraction des lantadènes	10
3.2 Fractionnement par HPLC préparative.....	10
3.3 Analyse chimique et caractérisation des molécules	10
3.3.1 HPLC analytique.....	10
3.3.2 Identification des molécules.....	10
3.3.2.1 Résonnance magnétique nucléaire.....	11
3.3.2.2 Spectrométrie de masse	11
3.3.2.3 FTIR.....	11
3.4 Essais biologiques.....	12
3.4.1 Activités herbicide et antigerminative.....	12
3.4.1.1 Culture des deux adventices	12
3.4.1.2 Formulations	12

3.4.1.3	Expérimentation de l'activité herbicide	12
3.4.1.4	Expérimentation de l'activité antigerminative	12
3.4.2	Activité antifongique	12
3.4.2.1	Préparation des suspensions de spores	13
3.4.2.2	Préparation des milieux de culture	13
3.4.2.3	Expérimentation.....	13
3.5	Analyses statistiques	13
4	Résultats et discussion	14
4.1	Extraction et purification des lantadènes	14
4.1.1	Extraction à l'acétate d'éthyle	14
4.1.2	Fractionnement par HPLC préparative	15
4.2	Identification des composés	17
4.2.1	Analyse du standard du lantadène A	17
4.2.2	Identification des composés A et B.....	19
4.2.2.1	FTIR.....	19
4.2.2.2	MS	20
4.2.2.3	RMN	22
4.3	Essais Biologiques	26
4.3.1	Activité herbicide.....	26
4.3.2	Activité antigerminative	27
4.3.3	Activité antifongique	28
5	Conclusion et perspective	32
6	Bibliographie :.....	33
7	Annexes	43

1 Introduction

1.1 Contexte de l'étude

Lantana camara L., l'espèce la plus connue et répandue du genre *Lantana*, est utilisée dans de nombreux pays en médecine traditionnelle. Dans l'objectif de contribuer à l'étude phytochimique de *L. camara* et de justifier son utilisation en médecine traditionnelle, Fatimata Nea a étudié les huiles essentielles des différents organes de la plante dans le cadre de sa thèse. Elle s'est particulièrement intéressée à la détermination de leur composition chimique ainsi qu'à l'évaluation de leurs activités biologiques. Elle a pu conclure à une variabilité dans la composition des huiles essentielles selon ses organes, ainsi qu'en fonction de son stade phénologique, de facteurs biogéographiques et génétiques. Les huiles essentielles de ses fleurs et de ses feuilles ont montré des activités insecticides, antioxydantes et anti-inflammatoires.¹

Lantana camara L. est également réputée pour son potentiel allélopathique important. L'allélopathie, le phénomène écologique par lequel une plante influence le développement et la croissance d'autres espèces par la libération de composés allélochimiques dans l'environnement, est un domaine de recherche important dans notre laboratoire de Chimie des Molécules Naturelles. Il est très prometteur pour le développement de nouveaux biopesticides. En effet, plusieurs recherches menées étudient l'extraction, la purification et la caractérisation de ces composés ainsi que leur mode d'action.

Ce travail de fin d'études s'inscrit dans le projet d'étude phytochimique de *L. camara* et de son potentiel allélopathique, en s'intéressant cette fois-ci aux triterpénoïdes pentacycliques présents dans ses feuilles, en particulier les lantadènes.

1.2 Objectifs et stratégie adoptée

Ce projet a poursuivi quatre objectifs principaux :

Premièrement, extraire et isoler les triterpénoïdes pentacycliques, particulièrement le lantadène A, présents dans les feuilles de *L. camara*.

En second lieu, le potentiel allélopathique de *L. camara* a été étudié sur deux adventices communes en Belgique, *Lolium perenne* L. et *Trifolium incarnatum* L., respectivement une monocotylédone et une dicotylédone. Plus spécifiquement, l'activité herbicide et antigerminative de l'extrait de feuilles de *L. camara* ont été expérimentées sur ces deux espèces.

Troisièmement, un potentiel effet fongicide de ce même extrait a été étudié sur une sélection de deux espèces de champignons phytopathogènes, *Fusarium verticillioides* et *Aspergillus flavus*.

Finalement, une identification des molécules majoritaires de l'extrait a été réalisée via la caractérisation structurale de celles-ci.

2 État de l'art

2.1 Contexte agro-environnemental

Le développement de l'agriculture a nécessité la mise en œuvre de moyens de lutte contre les adventices qui, en concurrençant constamment les plantes cultivées, entraînent une perte considérable de leur productivité.^{2,3} Parallèlement, les maladies des plantes, telles que celles causées par des champignons phytopathogènes, ont un impact négatif sur la qualité des cultures et peuvent également entraîner des pertes de rendement massives.⁴ De surcroît, 25% des cultures de céréales récoltées dans le monde sont contaminées par des mycotoxines chaque année, entraînant des pertes économiques considérables pour les produits agricoles et industriels. Ces mycotoxines sont stables dans la nature et ne s'éliminent pas pendant les processus de transformation des aliments.⁵

Dans l'ensemble des cultures, le potentiel de perte dû aux adventices est estimé à 32 % alors que les agents phytopathogènes, tels que les champignons phytopathogènes, présentent un potentiel de perte estimé à 15%.³

2.1.1 Adventices

Le désherbage manuel, le désherbage mécanique ainsi que l'application d'herbicides de synthèse sont les méthodes de lutte contre les adventices les plus utilisées depuis le début de l'agriculture.⁶⁻⁹ Elles ont permis de limiter les infestations d'adventices et par conséquent une amélioration considérable de la productivité. Néanmoins, ces différentes méthodes font face à un certain nombre de défis.

Le désherbage mécanique nécessite un retournement supplémentaire de la terre pouvant altérer la structure du sol et en diminuer sa fertilité. De plus, il n'est pas toujours efficace et peut être couteux ainsi que peu durable.^{10,11} L'utilisation intensive de pesticides de synthèse ces 50 dernières années a engendré un certain nombre d'impacts négatifs sur l'environnement terrestre et aquatique.¹² L'inquiétude quant à l'utilisation de ces pesticides se base notamment sur les effets toxiques avérés sur la santé humaine, animale et des écosystèmes, ainsi que sur le phénomène de bioaccumulation associé.¹³⁻¹⁶ Finalement, des espèces cibles acquièrent une résistance (et une résistance croisée), ayant un impact direct sur le coût et la durabilité de l'utilisation de ces pesticides.^{17,18} Ces différents défis rendent impératif le développement de méthodes alternatives de lutte contre les adventices, telle que l'utilisation du biocontrôle, afin d'amorcer une transition du système agricole vers un système agroécologique.

Le glyphosate, un biocide synthétique devenu le désherbant le plus utilisé au monde, a été classé comme un cancérigène de catégorie 2A (susceptible de provoquer le cancer humain) par le Centre international de recherche sur le cancer (CIRC), une agence de l'Organisation mondiale de la santé (OMS). Par conséquent, différentes actions ont été menées pour développer et promouvoir les stratégies de biocontrôle, telles que le soutien à la recherche et l'innovation dans le domaine du désherbage, le soutien à la politique de sortie du glyphosate en agriculture et l'accompagnement des agriculteurs dans la transition écologique.¹⁹⁻²¹ Les méthodes de biocontrôle reposent sur le principe de gestion des équilibres des populations de ravageurs plutôt que sur leur éradication, et sont donc axées sur l'utilisation de produits agissant via des mécanismes et interactions naturels régulant les relations entre les espèces dans leur environnement. Les recherches se sont donc tournées vers des molécules et produits naturels bioactifs comme sources d'herbicides potentiels.^{19,22-24}

La recherche et la commercialisation de bio-herbicides est encore un domaine sous-exploité, avec seulement treize bio-herbicides enregistrés en Europe, neuf basés sur des micro-organismes fongiques, trois sur des micro-organismes bactériens et uniquement un qui utilise un extrait naturel de plante comme principe actif.²⁵ L'utilisation du phénomène de l'allélopathie comme moyen de gestion des adventices fait partie des méthodes innovantes importantes pour l'avenir de l'agriculture.²⁶

2.1.2 Champignons phytopathogènes

Les espèces de *Fusarium* sont des champignons phytopathogènes omniprésents dans la nature et qui contaminent plusieurs matrices alimentaires. Ils peuvent causer la détérioration des cultures, des grains, des céréales et des fruits pendant les processus post-récolte et le stockage.^{27,28} De plus, certaines espèces de *Fusarium*, notamment *Fusarium verticillioides*, produisent des mycotoxines (en particulier des fumonisines) et des allergènes qui peuvent contaminer les aliments et présentent donc des risques pour la santé des consommateurs de produits contaminés.²⁹⁻³³ Les fumonisines sont des mycotoxines liées à plusieurs problèmes de santé comme le cancer de l'œsophage, la néphrotoxicité, l'incidence de l'hépatocarcinome, ainsi que d'autres affections chez les humains et les animaux.^{34,35}

L'espèce *Aspergillus flavus* est un phytopathogène présent comme saprophyte dans les sols du monde entier, provoquant des maladies sur plusieurs cultures agricoles importantes, avant et après la récolte.³⁶⁻³⁹ L'agent phytopathogène est capable de produire de l'aflatoxine, un métabolite secondaire cancérigène et mutagène dérivé de polykétides.^{38,40} En outre, ce champignon peut provoquer des maladies animales et humaines, soit par une croissance invasive causant l'aspergillose (qui est souvent fatale pour les humains immunodéprimés), soit par la consommation d'aliments contaminés provoquant l'aflatoxicose et/ou le cancer du foie.⁴¹ Il constitue un problème majeur dans les pays en développement, particulièrement en Asie et en Afrique. Entre autre, au Kenya, le nombre de morts dû au maïs contaminé se chiffre en centaines ces dernières années, notamment 125 morts lors d'une des plus grandes épidémies d'aflatoxicose en 2004.⁴²⁻⁴⁴ De surcroît, les contaminations par l'aflatoxines causent des pertes de rendements de l'ordre de millions de dollars aux États-Unis.⁴⁵

L'utilisation de fongicides synthétiques, bien que ce soit une pratique de gestion efficace des maladies des plantes, est de plus en plus déconseillée en raison des effets nocifs sur les organismes non ciblés, de la contamination des systèmes aquatiques et du développement de souches résistantes.⁴⁶⁻⁴⁹ Il est donc nécessaire de développer de nouveaux moyens de contrôle des maladies des plantes induites par des champignons phytopathogènes.

2.2 Allélopathie

2.2.1 Définition

Le terme allélopathie a été initialement introduit par Molish en 1937 pour décrire les interactions biochimiques, à la fois bénéfiques et nocives, entre tous types de plantes ou micro-organismes.⁵⁰ Cette définition a évolué avec les recherches effectuées au cours du temps pour se focaliser sur les effets négatifs, directs ou indirects, d'une plante sur une autre par la libération de composés chimiques dans l'environnement.

La définition communément admise aujourd'hui désigne le phénomène écologique par lequel une plante (ou un micro-organisme) influence le développement et la croissance d'autres espèces de plantes ou micro-organismes par la libération de métabolites secondaires, appelés composés allélochimiques, dans l'environnement.^{51,52}

2.2.2 Composés allélochimiques

2.2.2.1 Généralités et mécanismes de libération

Les composés allélochimiques sont des métabolites secondaires biosynthétisés à partir du métabolisme des glucides, des lipides et des acides aminés. Bien qu'ils ne soient pas nécessaires aux processus primaires de croissance et à la reproduction des plantes, plusieurs voies de biosynthèse sont responsables de la production des différentes classes de ces composés chimiques.⁵³

Les composés allélochimiques peuvent être présents dans toutes les parties de la plante, à savoir les feuilles, les tiges, les racines, les inflorescences, le pollen, les fruits, les graines et les rhizomes.⁵⁴ Ils sont stockés dans la cellule, où ils n'affectent pas l'activité cellulaire, avant d'être libérés par différentes voies

possibles. En effet, ces substances biosynthétiques peuvent être libérées via quatre mécanismes dans l'environnement : (1) par le lessivage des parties aériennes des plantes via les précipitations, la rosée ou l'irrigation ; (2) via la volatilisation des composés des feuilles et des tiges des plantes, absorbés par les plantes receveuses sous forme de vapeur ou condensat de ces vapeurs ; (3) par l'exsudation racinaire qui constitue un apport direct dans la rhizosphère ; (4) par la décomposition de résidus végétaux qui libèrent des composés allélochimiques. Il est difficile de déterminer si ils sont contenus dans les résidus et libérés lors de la décomposition, ou si ce sont des résidus simples convertis en composés toxiques par les micro-organismes.⁵⁵⁻⁶⁰ Il existe donc de grandes variations dans la dispersion des produits allélochimiques biosynthétiques dans les différentes espèces allélopathiques.⁶¹

2.2.2.2 Classification des composés allélochimiques

Un grand nombre de composés allélochimiques de différentes structures (squelette organique) ont été caractérisés et classifiés en 14 différentes classes : (1) dérivés de l'acide cinnamique, (2) coumarines, (3) phénols simples, dérivés de l'acide benzoïque, acide gallique et acide protocatéchique, (4) flavonoïdes, (5) tanins condensés et hydrolysables, (6) terpénoïdes et stéroïdes, (7) acides organiques hydrosolubles, (8) alcools à chaîne droite, (9) aldéhydes aliphatiques, (10) quinines complexes, (11) acides aminés et polypeptides, (12) alcaloïdes et cyanhydrines, (13) sulfures et glycosides d'huile de moutarde et (14) purines et nucléotides.⁶²

Une nouvelle classification, basée sur leurs structures et leurs propriétés, a regroupé ces composés chimiques en 11 classes: (i) gaz toxiques, (ii) acides organiques et aldéhydes, (iii) acides aromatiques, (iv) lactones insaturées simples, (v) coumarines, (vi) quinines, (vii) flavonoïdes, (viii) tanins, (ix) alcaloïdes, (x) terpénoïdes et stéroïdes et (xi) divers et inconnus.^{56,63-66}

2.2.2.3 Facteurs affectant la production des composés allélochimiques

Différents facteurs influencent la production des composés allélochimiques:^{52,55,56}

1. La quantité, la durée (photopériode) et l'intensité de la lumière, ainsi que les saisons de croissance et le stade de croissance de la plante. En effet, l'exposition aux photopériodes de jours longs et la période de croissance maximale des plantes contribuent à une plus grande production de composés allélochimiques.⁶⁷

2. La carence en minéraux : elle conduit à une plus grande production de produits allélochimiques.

3. Le stress de sécheresse : ces conditions de stress provoquent une augmentation de la production de produits allélochimiques.

4. La température : les températures plus fraîches favorisent la production en plus grande quantité des composés allélochimiques.⁶⁸

5. L'âge et le type de tissu végétal : la production de composés allélochimiques diffère entre les espèces et au sein d'une même espèce, on observe donc une répartition inégale de ces composés en sein de la plante.

6. Les maladies des plantes, les prédateurs, l'ombre et les herbicides peuvent également influencer la production des composés allélochimiques.⁶²

7. La présence de plantes d'autres espèces : la détection de produits chimiques de signalisation d'autres espèces dans le voisinage peut également induire la production de composés allélochimiques, ce phénomène particulier est appelé l'allélopathie induite. Par exemple, la présence d'*Echinochloa crus-galli* induit l'exsudation de molécules allélopathiques chez le riz^{69,70}

2.2.2.4 Processus post-libération

Divers processus d'association se produisent une fois les composés allélochimiques libérés dans l'environnement par la plante donneuse :

- 1) La rétention qui représente le mouvement restreint de la substance à travers le sol, l'eau et l'air, d'une zone à une autre.

- 2) La transformation qui constitue l'altération de la structure ou la forme d'un composé, menant à son changement fractionnel ou à sa décomposition complète.
- 3) Le transport qui décrit le déplacement des composés dans l'environnement.

Ces différents processus sont influencés par les facteurs environnementaux, les propriétés du sol, la nature des composés ainsi que les espèces impliquées dans l'interaction.^{55,71,72}

2.2.3 Activités des composés allélochimiques

Les effets allélopathiques sur une plante sont généralement le résultat de l'activité conjointe de divers composés et non d'une phytotoxine unique.⁷³ La réponse de différentes espèces à des produits allélochimiques dépend de la concentration de ceux-ci, le degré d'inhibition augmentant avec la concentration. De plus, un effet d'hormèse a été observé, certaines substances allélochimiques entravent le développement d'une espèce à une certaine concentration mais peuvent également favoriser le développement de cette même espèce à une autre concentration.^{55,74-77}

Une action sélective de certains composés allélochimiques sur différentes plantes a également été rapportée, notamment les lixivats du sureau qui peuvent entraver le développement de l'herbe pangola (*Digitaria eriantha*) mais favoriser le développement d'une autre herbe de pâturage, l'*Andropogon*.⁷⁸

Les modes d'activités des composés allélochimiques sont divisés en actions directes et indirectes. Les influences biochimiques et physiologiques de ces composés sur les processus essentiels du métabolisme des plantes constituent les actions directes. Les actions indirectes quant à elles comprennent la modification des propriétés du sol et l'état nutritionnel ainsi que l'altération de la population ou du rôle des micro-organismes et des nématodes.^{55,79}

Les actions allélopathiques agissent à différents niveaux et peuvent affecter divers processus de la plante, énumérés ci-dessous : ^{52,55,56}

- 1) L'absorption des minéraux : le taux d'absorption des ions des plantes peut être modifié par les substances allélochimiques.⁸⁰ Par exemple, il a été rapporté que les acides phénoliques réduisent l'absorption des macro et micronutriments.⁸¹

- 2) La cytologie et l'ultrastructure : différents produits allélochimiques ont montré une répression de la mitose dans les racines des plantes.^{74,76,82-84}

- 3) Les phytohormones : les hormones de croissance végétale, l'IAA (l'acide indole acétique) et les gibbérellines, contrôlent l'agrandissement des cellules dans les plantes. L'IAA existe sous forme active et inactive, inactivée par l'IAA-oxydase. Il a été rapporté que différents produits allélochimiques répriment l'IAA-oxydase.⁸⁵ De plus, la production d'éthylène et d'acide abscissique augmente en condition de stress allélopathique.⁸⁶

- 4) La perméabilité membranaire : divers composés organiques modifient la perméabilité des membranes des plantes.⁸⁷

- 5) La photosynthèse : les acides benzoïque et cinnamique réduisent la teneur en chlorophylle dans le soja engendrant une inhibition de la photosynthèse.⁸⁸

Les inhibiteurs de la photosynthèse peuvent être des inhibiteurs ou découpleurs d'électrons, des inhibiteurs d'échange d'énergie accepteurs d'électrons ou un mélange de ces différents éléments.⁸⁹

- 6) La respiration : les produits allélochimiques peuvent renforcer ou réprimer la respiration, les deux pouvant être dommageable pour le système de production d'énergie.⁸⁹

- 7) La synthèse des protéines : des études ont rapporté que les composés allélochimiques peuvent entraver la synthèse des protéines.⁹⁰

- 8) L'activité enzymatique : il a été rapporté que divers produits allélochimiques ont un impact sur l'activité enzymatique spécifique dans les plantes.^{62,91}

Par exemple, les produits allélochimiques de *N. plumbaginifolia* ont stimulé l'activité de la catalase et de la superoxyde dismutase.⁹²

- 9) La teneur en proline : une accumulation en proline se produit dans les plantes exposée à un stress.⁹³

- 10) Les tissus conducteurs : la 2(3H)-benz-oxazolinone (BOA) et la 2,4-dihydroxy-1,4-benzoxazin-3(4H)-one (DIBOA), deux composés allélochimiques phytotoxiques isolés du saigle, ont augmenté la largeur des cellules du parenchyme cortical de la racine de *C. sativus*.⁹⁴

11) L'équilibre plante-eau : l'accumulation de certains métabolites comme la proline induit une tolérance à la sécheresse.⁹⁵

12) Le matériel génétique : il a été observé que des acides phénoliques ont réduit l'incorporation de phosphore dans les acides nucléiques de plantules de soja.^{60,88}

13) La croissance et le développement : ils sont influencés par l'exposition aux produits allélochimiques. Des impacts immédiatement visibles ont été rapportés, comprenant : un taux de germination réprimé ou entravé ; des graines gonflées ; une inhibition de l'extension de la racine ou de la radicule ainsi que de la pousse ou du coléoptile ; le gonflement ou la pourriture des extrémités de la racine ; une torsion de l'axe de la racine ; la décoloration et l'absence de poils de la racine ; une augmentation du nombre de racines séminales ; une réduction de l'accumulation de biomasse sèche et une diminution du potentiel de reproduction.⁹⁶ Ces impacts morphologiques nets peuvent être des manifestations secondaires de processus essentiels, causés par un éventail d'influences plus spécifiques agissant au niveau cellulaire dans les plantes réceptrices.⁹⁷

Les impacts des composés allélochimiques sur la germination des graines seraient le résultat d'une interruption des processus cellulaires normaux et ne seraient pas dus à des lésions des organelles. En effet, la mobilisation des réserves, qui est un processus se produisant généralement durant les premières phases de la germination, semble différer ou diminuer en condition de stress allélopathique.⁹⁴

2.3 *Lantana camara* L.

2.3.1 Généralités

Lantana Camara L. (Figure 1)⁹⁸ est un arbuste pérenne de la famille des *Verbenaceae*, originaire d'Amérique tropicale. L'espèce a été introduite dans d'autres pays comme plante ornementale et s'est aujourd'hui naturalisée dans plus de 60 pays comme adventice nuisible. Elle est considérée comme l'une des 100 pires espèces exotiques envahissantes dans le monde.⁹⁹⁻¹⁰¹



Figure 1. *Lantana camara* L.⁵⁰

L. camara est également répertoriée comme

l'une des plus importantes herbes médicinales à l'échelle mondiale. Elle est utilisée en médecine traditionnelle pour le traitement de diverses maladies tels que le paludisme, les ulcères, les éruptions d'eczéma et les rhumatismes.¹⁰²⁻¹⁰⁶

L'espèce présente une grande diversité génétique, avec des espèces diploïdes, triploïdes, tétraploïdes et pentaploïdes, ainsi que de grandes variations morphologiques dues à sa reproduction extensive.^{99,107-110}

Elle forme des peuplements monospécifiques denses, démontrant sa haute capacité compétitive avec les autres espèces végétales. L'allélopathie de *L. camara* est l'un des facteurs importants contribuant à sa prédominance dans divers écosystèmes.^{99,111-115}

2.3.2 Phytochimie de *L. camara*

Un grand nombre de métabolites secondaires ont été identifiés chez *L. camara*, tels que des triterpénoïdes, des stéroïdes, des flavonoïdes, des coumarines, des phénols, des tanins, des saponines, des anthraquinones, des naphthoquinones et des glycosides cardiaques.¹¹⁶⁻¹¹⁸

2.3.2.1 Composés phénoliques bioactifs

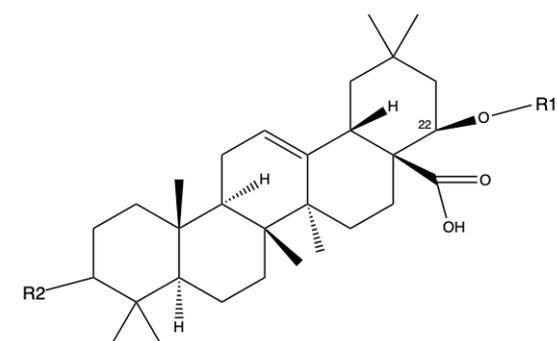
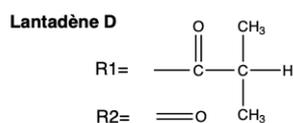
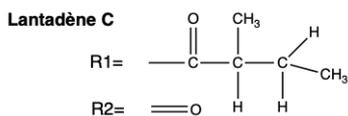
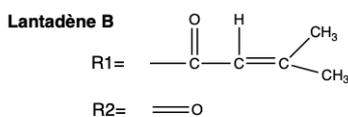
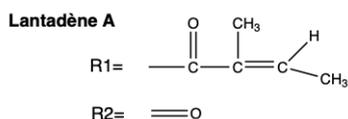
Dix-sept composés phénoliques ont été identifiés dans des extraits aqueux de *L. camara* ayant inhibé la croissance de *Lolium multiflorum* Lam. et *Lemna minor* L.. L'acide salicylique et la méthyl coumarine étaient les composés identifiés ayant l'activité d'inhibition la plus importante.^{99,119,120}

L'acide p-coumarique, qui a été identifié comme le composé phénolique principal dans un extrait aqueux de *L. camara*¹²⁰, est un type d'acide cinnamique possédant une activité oxydante. Il possède également des activités biologiques aux applications pharmacologiques, comme un effet antiprolifératif sur le cancer du côlon et la prévention de la perte osseuse en favorisant l'ostéoblastogenèse.^{101,121,122}

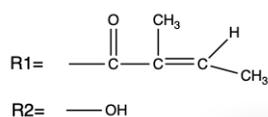
2.3.2.2 Lantadènes et autres triterpénoïdes

Une étude de Kong et al. (2006) a montré que la croissance de l'adventice aquatique *Eichhornia crassipes* et de l'algue *Microcystis aeruginosa* est inhibée par les feuilles de *L. camara* tombées dans l'eau ainsi que par leurs extraits. Ils ont également démontré que les substances allélochimiques prédominantes de *L. camara* contre *E. crassipes* et *M. aeruginosa* ne sont pas des acides phénoliques, mais le lantadène A (LA) et le lantadène B (LB), qui, même à une faible concentration, ont inhibé de manière significative leur croissance.^{112,123}

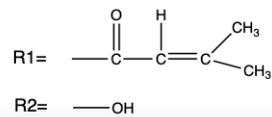
Les lantadènes (Figure 2) sont des triterpénoïdes pentacycliques de la série des oléanes, possédant une chaîne latérale en C22, présents dans les feuilles de *L. camara*.¹²⁴⁻¹²⁶ Les différents lantadènes identifiés chez *L. camara* sont les lantadènes A, B, C et D, qui diffèrent par la structure de la chaîne latérale fixée en position C-22 par une liaison ester. Il semblerait que ces variations structurales peuvent jouer un rôle clé sur leur activité pharmacologique.^{127,128}



Lantadène A réduit



Lantadène B réduit



Acide 22-hydroxyoléanonique

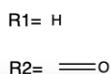


Figure 2. Structures chimiques des lantadènes

Le lantadène A et le lantadène B sont les constituants majeurs des feuilles de *L. camara* alors que les lantadènes C et D en sont des constituants mineurs. De plus, les formes réduites des lantadènes A et B (RLA et RLB) ont également été identifiées chez *L. camara*. Les lantadènes sont les esters de l'acide 22-hydroxyoléanonique qui forme la structure centrale des lantadènes.^{124,126,129-131}

La majorité des triterpénoïdes observés chez *L. camara* sont pentacycliques et appartiennent à la série des oléanes, quelques-uns appartiennent également aux séries des ursanes et des lupanes, et d'autres ont un pont oxyde de C-3 à C-25.¹¹² Différentes études ont mené à l'isolement et à la caractérisation de la structure de différents autres triterpénoïdes chez *L. camara* (voir tableau 1).^{104,116,132-141}

Tableau 1. Triterpénoïdes pentacycliques identifiés chez *L. camara* ^{102,114,130-139}

acide camarique	camarine	ictérogénine
acide camarinique	camarinine	3 β ,17-dihydroxy-oléane-12-ène
acide lantanolique	acide camarolique	acide oléanolique
acide lantanilique	acide lantrigloylique	acide oléanonique
acide lantoïque	acide lanthanolique	acide katonique
acide ursolique	acide ursolique	acide 3-hydroxy-10,19-en-urs-28-oïque
acide pomolique	acide bétulonique	acide 22-angeloyloxy-9-hydroxy-3-oxo-olean-12-en-28-oïque
lantacine	acide bétulinique	

La composition en triterpénoïdes varie en fonction des parties de la plante et des variétés de *L. camara*. Dans la variété à feuilles rouges, le lantadène A, le lantadène B, le lantadène C et le lantadène D sont les constituants majeurs des feuilles de *L. camara* alors que les lantadènes réduits A et B sont des constituants mineurs.^{112,124,142-145} Pour le taxon « Townsville Prickly Orange », l'acide oléanique et l'acide ursonique ont été rapportés comme constituants majeurs de ses feuilles et de ses tiges alors que les LA et LB ont été rapportés comme constituants mineurs.^{112,146} L'ictérogénine, un autre triterpénoïde pentacyclique, dont la présence dans les feuilles et la tige du taxon « Townsville Prickly Orange » a été rapportée, n'a pas été détecté dans la variété à fleurs rouges.^{112,124,145,146} Le profil de triterpénoïdes des racines de *L. camara* diffère de celui des parties aériennes. L'acide oléanolique et l'acide oléanonique sont les principaux constituants des racines de *L. camara* Helidon white.^{112,146}

Les triterpénoïdes pentacycliques possèdent un certain nombre de propriétés pharmacologiques telles que des activités antitumorales, anti-SIDA, antibactériennes et anti-inflammatoires. Les triterpénoïdes de *L. camara* présentent un large spectre d'activités pharmacologiques, y compris des effets antitumoraux.^{128,147-150} En effet, des activités anti-inflammatoires et anticancéreuses ont été rapportées pour les lantadènes et en particulier pour les lantadènes A et B. Le potentiel pharmacologique du lantadène A suscite un grand intérêt dû à son inhibition significative de la protéine du facteur nucléaire- κ B (NF- κ B), qui joue un rôle central dans la transcription de protéines pro-inflammatoires et cancérogènes.^{151,147,152-157}

2.3.3 Potentiel allélopathique de *L. camara*

L'allélopathie de *L. camara* a fait l'objet d'un grand nombre d'études qui se sont intéressées au potentiel allélopathique de ses extraits, de ses lixiviats, de ses résidus et du sol de sa rhizosphère.⁹⁹

Il a été démontré que les extraits aqueux de *L. camara* possèdent une capacité inhibitrice de la croissance et de la germination d'un certain nombre d'autres espèces végétales, ainsi qu'une capacité herbicide envers *Eichhornia crassipes*.¹⁵⁸⁻¹⁶⁸ Les mécanismes qui ont été rapportés sont liés au stress oxydatif causé par la toxicité élevée des extraits.^{166,168} Il a également été observé que les extraits méthanoliques de *L. camara* ont inhibé la croissance et la germination de *Lolium multiflorum* Lam.¹⁶⁹

Quant aux lixiviats de *L. Camara*, ils ont inhibé la croissance et/ou la germination de plusieurs autres espèces végétales (*Mimosa pudica* L., *Triticum aestivum* L., *Pennisetum americanum* L., *Setaria italica* L., *Lactuca sativa* L.)¹⁷⁰⁻¹⁷³, inhibé la croissance radicale de *Cucurbita pepo* L., *Phaseolus vulgaris* L., et *Lycopersicon esculentum* Mill. et modifié la synthèse des protéines cytoplasmiques dans ces radicaux¹⁷⁴, inhibé la croissance et finalement causé la mort de *E. crassipes*.^{175,176} Ces considérations laissent supposer que des composés allélochimiques peuvent être libérés dans le sol sous forme de lixiviats, entraînés par la pluie ou l'eau d'irrigation à partir de différentes parties de *L. camara* (feuilles, fleurs, racines, etc.).⁹⁹

Les investigations sur le potentiel allélopathique des résidus de *L. camara* laissent présumer que des composés allélochimiques sont libérés dans le sol durant le processus de décomposition de ces résidus. En effet, les résidus de *L. camara* ont montré une activité d'inhibition de la croissance des semis de plusieurs autres espèces végétales.^{99,177-179}

Finalement, les essais sur la rhizosphère ont également montré leur potentiel d'inhibition de croissance sur différentes espèces, ce qui révèle la présumable présence de composés allélochimiques au sein de la rhizosphère, pouvant provenir de lixiviats (drainés des parties aériennes ou exsudés par les racines) ou de résidus en décomposition.^{99,180,181}

2.3.4 Les lantadènes, source de toxicité envers les animaux

En plus de sa phytotoxicité, certains taxons de *L. camara* sont toxiques pour les animaux. Elle peut par conséquent causer des problèmes importants de toxicité envers le bétail, dû à sa prédominance en tant qu'adventice invasive. De ce fait, différentes recherches ont été menées sur sa toxicité envers les animaux. Il a été observé que chez les taxons toxiques pour le bétail, LA et LB étaient des composants principaux et les RLA et RLB étaient également présents en quantités mineures, contrairement aux taxons non toxiques, tels que Helidon white, Townsville Prickly Orange ou rose commune, qui ne contenaient pas de LA et LB ou en contenaient en très faibles quantités.^{112,146,182} Le LA a montré une toxicité chez les moutons contrairement au LB qui ne provoquait aucune toxicité.^{112,183,184}

Différents groupes de recherche se sont penchés sur l'hépatotoxicité de *L. camara*, et principalement sur le LA, chez différents animaux (moutons, lapins, agneaux, cobayes). Des observations contradictoires ont été rapportées sur la toxicité du LA^{112,185-189} et sont attribuées à son polymorphisme cristallin.^{112,190} En effet, il est connu que l'action et l'effet des xénobiotiques sont modulés par la forme polymorphique de la matière cristalline administrée.^{112,191-193} Le LA a pu être obtenu sous 2 formes polymorphes: cristalline et amorphe et des études ont rapporté que seule la forme amorphe avait induit une toxicité.¹⁹⁴⁻¹⁹⁶

Le RLA a également été toxique pour des rats femelles mais les rats mâles y étaient insensibles.¹⁹⁷ Le LA, dû à sa toxicité et son abondance relative, est le principe toxique le plus important de *L. camara*, comparativement au LB avec sa toxicité significativement plus faible et au RLA avec sa faible concentration dans les feuilles (5% du LA), qui sont donc peu susceptibles d'avoir une grande importance dans l'empoisonnement des ruminants après consommation de la plante.^{112,195}

Le lantadène C est également retrouvé dans les mélanges de LA et LB. Il a quant à lui provoqué une forte réponse hépatotoxique chez les cobayes, sous ses 2 formes polymorphiques (cristalline et amorphe).^{112,130} L'ictérogénine est également une puissante hépatotoxine et son action inhibitrice de l'excrétion biliaire chez les lapins a été rapportée.^{187,198,199}

2.3.5 Activité antifongique de *L. camara*

Différentes études se sont penchées sur le potentiel antifongique d'extraits de *L. camara* et ont relevé une activité antifongique de ceux-ci.²⁰⁰⁻²⁰² En effet, des extraits à l'acétate d'éthyle des feuilles de *L. camara* ont montré une forte activité antifongique contre neuf espèces de *Fusarium* phytopathogènes en expérience *in vitro*, avec notamment une concentration minimale d'inhibition de la croissance de *Fusarium verticillioides* de 0,16mg/mL.²⁰³

Il a également été montré qu'un extrait de *L. camara*, dont les composés actifs responsables rapportés sont les lantadènes, a inhibé de manière significative la croissance d'*Aspergillus flavus* dans son milieu de culture.²⁰¹

3 Matériel et méthode

3.1 Extraction des lantadènes

Les feuilles de *Lantana camara* ont été récoltées à Abidjan (Côte d'Ivoire) et stockées à -80°C. Les lantadènes ont été extraits selon le protocole décrit par ¹⁵¹ avec quelques modifications. 100 g de feuilles séchées et broyées de *L. camara* ont été extraits pendant 24 h dans 500 mL d'acétate d'éthyle (grade HPLC) sous agitation constante, à température ambiante. L'extrait a ensuite été filtré sous vide et décoloré avec 25 g de charbon actif (Darco®, 100 mesh) pendant 1 h. L'extrait décoloré a été filtré sous vide (filtres papiers Macherey-Nagel : MN 615, Ø 55 mm) et le solvant évaporé à 40 °C à l'évaporateur rotatif. Le résidu a été divisé (extraction liquide-liquide) entre une phase aqueuse et une phase chloroformique (50 mL/50 mL). La phase chloroformique a été récupérée et la phase aqueuse a été réextraite avec 50 mL de chloroforme (grade HPLC). Les 2 phases chloroformiques ont été rassemblées, le chloroforme a été évaporé à 40°C à l'évaporateur rotatif. Le résidu a été solubilisé dans 10 mL de méthanol (grade super gradient HPLC) en agitant vigoureusement et a été mis à recristalliser à 0-4 °C pendant 24 h. Les cristaux ont été récupérés par filtration afin d'obtenir un extrait partiellement purifié sous forme d'une poudre blanche.

3.2 Fractionnement par HPLC préparative

L'extrait partiellement purifié a été solubilisé dans le solvant d'élution utilisé pour l'HPLC préparative, un mélange méthanol/ACN/H₂O/acide formique de ratio volumique (68/20/12/0,01), à une concentration de 7 mg/mL. La solution a ensuite été fractionnée par HPLC préparative Puriflash 430(Interchim) couplée à une colonne Uptisphere Strategy C18-HQ (250mm x 30mm x 5µm ;Interchim). L'élution a été effectuée en mode isocratique avec un débit d'élution de 35 mL/min pour une durée totale de 30 minutes. Le volume d'injection était de 10 mL et la détection a été effectuée à 210 nm. Les différentes fractions obtenues ont été analysées en HPLC analytique (voir point 3.3.1) afin de déterminer leur composition. Les fractions de composition similaire ont été rassemblées et le solvant d'élution a été évaporé à l'évaporateur rotatif à 40 °C.

3.3 Analyse chimique et caractérisation des molécules

3.3.1 HPLC analytique

Les extraits ont été solubilisés dans du méthanol à une concentration de 1 mg/mL et analysés par HPLC sur un appareil Agilent 1200 Series Gradient HPLC System couplé à une colonne Agilent Eclipse XDB-C18 (5µm; 4.6x150mm ; Agilent). L'élution a été réalisée en mode isocratique et le solvant d'élution était un mélange méthanol/ACN/H₂O/acide formique de ratio volumique (68/20/12/0,01), à un débit de 1 mL/min pour une durée totale d'analyse de 20 minutes. La détection a été réalisée à 210 nm à l'aide d'un détecteur UV/visible.

3.3.2 Identification des molécules

Les molécules majoritaires isolées de l'extrait ont été analysées par résonance magnétique nucléaire, spectrométrie de masse et spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier afin de déterminer leur structure. Un standard du lantadene A (>98% de pureté, ChemFaces, numéro CAS: 467-81-2) a également été analysé par les mêmes techniques d'analyse.

3.3.2.1 Résonance magnétique nucléaire

Les échantillons ont été réalisés en solubilisant les fractions d'intérêts (± 5 mg) et le standard du LA (1,3 mg) dans 500 μ L de chloroforme deutéré. Les spectres 1H-RMN ont été acquis à 700 MHz et 298 K sur un spectromètre Bruker AVIII HD équipé d'une sonde HCN à gradient inverse sur l'axe z refroidie à l'hélium. L'acquisition a été réalisée avec une séquence de pulsation zg30, avec une largeur d'impulsion de 7,27 μ s. 16 scans ont été réalisés en utilisant une largeur spectrale de 14 kHz, avec un délai de relaxation de 1 s et un temps d'acquisition de 2,3 s.

Les paramètres d'acquisition des spectres 2D, qui ont été réalisés sur le même appareil équipé de la même sonde, sont présentés ci-dessous :

L'acquisition des spectres COSY (1H ;1H) a été réalisées à (700 MHz;700 MHz) et 298 K, avec une séquence de pulsation « cosygpmf » et avec une largeur d'impulsion de 7,25 μ s. 4 scans ont été réalisés en utilisant une largeur spectrale de (9090 Hz; 9090 Hz), avec un délai de relaxation de 1 s et un temps d'acquisition de 0,1126 s.

L'acquisition des spectres HSQC (1H ; 13C) a été réalisées à (700 MHz;176 MHz) et 298 K, avec une séquence de pulsation « hsqcedetgpsisp2.3 » et avec une largeur d'impulsion de 7,24 μ s. 4 scans ont été réalisés en utilisant une largeur spectrale de (11160.7 Hz, 29069.8 Hz), avec un délai de relaxation de 1 s et un temps d'acquisition de 0,0918 s.

L'acquisition des spectres HMBC (1H ; 13C) a été réalisées à (700 MHz;176 MHz) et 298 K, avec une séquence de pulsation « hmbcetgpl3nd » et avec une largeur d'impulsion de 7,24 μ s. 8 scans ont été réalisés en utilisant une largeur spectrale de (10504.2 Hz, 40650.4 Hz), avec un délai de relaxation de 1 s et un temps d'acquisition de 0,0975 s.

Les transformations de Fourier ont été réalisées sur le logiciel TopSpin 4.1.4.

3.3.2.2 Spectrométrie de masse

Les échantillons ont tout d'abord été solubilisés dans un mélange 50/50 (H₂O/ACN) dopé avec 0,1 % d'acide formique à une concentration allant de 2 à 3 mg/mL. Ceux-ci ont ensuite été dilués 100X avec le même solvant avant d'être analysés par spectrométrie de masse. Ces expériences ont été réalisées sur un spectromètre de masse Tims TOF Pro (Bruker). La détection MS et MS/MS a été effectuée en mode positif en utilisant le mode d'acquisition PASEF avec l'azote comme gaz de dérive TIMS. Les différents échantillons ont été directement infusés à un débit de 180 μ L/h. Le cycle d'acquisition global de 0,32 s comprenait un balayage TIMS-MS complet et 2 balayages PASEF MS/MS avec un temps de rampe de 100 ms et une plage de mobilité de 0,3 à 1,4 Vs cm⁻². La gamme de masse mesurée comprenait 100-1100 m/z. Enfin, La mobilité et la masse ont été calibrées avec le calibrant Tune Mix (Agilent).

Les données ont ensuite été traitées sur DataAnalysis 5.0 (Bruker) afin de définir la présence ou non des différentes molécules dans les différentes fractions grâce à l'analyse en masse et des spectres de fragmentation.

3.3.2.3 FTIR

Les analyses FTIR ont été réalisées avec le IRAffinity-1S (Shimadzu), quelques milligrammes de cristaux ont été analysés pour chacune des fractions isolées.

3.4 Essais biologiques

3.4.1 Activités herbicide et antigerminative

3.4.1.1 Culture des deux adventices

Les graines de *Lolium perenne* L. ont été achetées chez WeberSeeds (NL) et les graines de *Trifolium incarnatum* L. chez ECOSEM SPRL (BE). L'expérimentation a été réalisée dans des pots ronds (Ø 9 cm-H 7 cm) avec du terreau universel Bio (Horta) tamisé. Afin de réaliser cette expérimentation en tapis végétal, ±30 graines de *T. incarnatum* ont été disposées par pot de manière homogène ; chaque pot constituant une unité expérimentale. Pour *L. perenne*, il s'agissait de ± 45 graines par pot. Une période de croissance des plantules de 7 jours avec une photopériode de 24h suivie de 7 jours à une photopériode de 16 h, a été effectuée préalablement à la pulvérisation. Afin d'avoir des unités expérimentales homogènes pour *L. perenne* ainsi que de pouvoir calculer une estimation de la croissance durant l'expérimentation, les plantes ont été taillées à une hauteur de 5,3 cm la veille de la pulvérisation.

3.4.1.2 Formulations

Les formulations ont été constituées en solubilisant l'extrait obtenu dans de l'éthanol (absolu pour analyse) à une concentration de 25 mg/mL à l'aide d'un bain à ultrason à 30 °C pendant 15 minutes. Cette solution a ensuite été diluée dans de l'éthanol afin d'obtenir 2 solutions à une concentration de 12,5 mg/mL et 2,5 mg/mL. Ces solutions ont ensuite été diluées dans un mélange eau/tween 20 (0,1%) pour atteindre une concentration finale de 0,4% d'éthanol. Les concentrations finales de l'extrait dans les formulations étaient donc de 0,1 g/L, 0,05 g/L et 0,01 g/L. L'acide pélargonique a été choisi comme témoin positif à la dose recommandée par le fabricant BAYER (50 g/L) dans un mélange eau/tween 20 (0,1%). Une solution eau/tween20 (0,1%)/éthanol (0,4%) a également été constituée pour réaliser le contrôle solvant ainsi qu'une solution d'eau distillée pour réaliser le témoin négatif.

3.4.1.3 Expérimentation de l'activité herbicide

Pour chaque modalité, 10 mL de formulation ont été pulvérisés de manière homogène sur les 5 pots constituant les répétitions, pour une surface totale pulvérisée de 400 cm² pour chaque modalité. La phytotoxicité des plantes a été déterminée visuellement après 14 jours. En outre, afin d'estimer la croissance de *L. perenne*, la matière végétale au-dessus de 5,3 cm de hauteur a été coupée et pesée après 14 jours. Comme les plantes de *L. perenne* ont été coupées à une hauteur de 5,3 cm préalablement à la pulvérisation, ces pesées ont permis d'estimer la croissance de celles-ci durant l'expérimentation.

3.4.1.4 Expérimentation de l'activité antigerminative

L'expérimentation a été réalisée *in-vitro*, en boîte de pétri, en 5 répétitions. Des filtres papiers (Wathmann, Ø=90 mm) disposés dans les boîtes de pétri ont été imbibés de 2 mL de formulation. Pour chaque espèce, dix graines ont été disposées dans chaque boîte de pétri. Elles ont ensuite été scellées et laissées à température ambiante pendant 7 jours. Le ratio de graines germées ainsi que la longueur de leur radicule ont été déterminés au septième jour d'expérimentation.

$$\text{Ratio de graines germées} = \frac{\text{nombre de graines germées}}{\text{nombre total de graines}}$$

3.4.2 Activité antifongique

Afin d'assurer une répétabilité, l'expérimentation a été réalisée en trois réplicas avec pour chacun une suspension de spores différente.

3.4.2.1 Préparation des suspensions de spores

Les souches d'*Aspergillus flavus* toxigénique (ITEM 8111) et *Fusarium verticillioides* toxigénique (ITEM 10514) ont été obtenues de l'Institut des sciences de la production alimentaire (CNR-ISPA/Bari, Italie) et étaient stockées dans du glycérol à -80 °C. Les deux souches ont été décongelées et mises en culture sur milieu SNA (Spezieller Nährstoffärmer Agar) pendant 7 jours, dans l'obscurité à 23 °C.

3.4.2.2 Préparation des milieux de culture

Le milieu PDA (Potato Dextrose Agar), répondant aux besoins nutritifs des deux souches, a été sélectionné pour l'expérimentation, à une concentration de 39 g/L. Afin de constituer les solutions mères de l'extrait, les cristaux ont été solubilisés dans de l'éthanol « absolu pour analyse » à une concentration de 25 mg/mL. La solubilisation complète a été assurée grâce à un bain à ultrason à une température de 30 °C pendant 15 minutes. Cette solution a ensuite été diluée dans de l'éthanol à une concentration de 12,5 mg/mL. Ces solutions éthanoliques de l'extrait ont ensuite été ajoutées au milieu PDA autoclavé, pour atteindre une concentration finale de 0,4% d'éthanol. Le mélange a finalement été coulé en boîte de pétri (25 mL/boîte de pétri). Les concentrations finales de l'extrait dans les milieux étaient de 0,05 g/L et 0,1 g/L. Comme contrôles, des cultures ont également été réalisées en milieu PDA ainsi qu'en milieu PDA avec 0,4% d'éthanol. Pour chacune des modalités, l'expérimentation a été réalisée en 3 répétitions.

3.4.2.3 Expérimentation

Les cultures sur SNA ont été utilisées pour former les suspensions de spores, qui ont ensuite été inoculées avec 10^5 spores dans les milieux préalablement constitués. Les boîtes de pétri ont ensuite été scellées et incubées à 23 °C dans l'obscurité pendant sept jours. Le suivi du développement des champignons a été réalisé en prenant des photos toutes les 24 h sur une période totale de 7 jours. Une mesure des surfaces de développement fongique a finalement été réalisée grâce au logiciel de traitement d'images « imageJ ». Le pourcentage d'inhibition a été déterminé pour chaque modalité par rapport au développement en milieu PDA.

$$\% \text{ d'inhibition} = \left(\frac{\text{Moyenne surface PDA} - \text{Surface fongique}}{\text{Moyenne surface PDA}} \right) * 100$$

-Surface fongique= surface du développement fongique sur le milieu

-Moyenne surface PDA = moyenne de la surface de développement fongique sur milieu PDA (témoin)

3.5 Analyses statistiques

Les analyses statistiques ont été réalisées sur l'application web Minitab (<https://app.minitab.com/>; août 2022).

Pour assurer une distribution normale des populations, le test de Normalité de Ryan & Joiner a été effectué quand le nombre d'observation le permettait ($n > 10$), la normalité des populations a été supposée dans le cas contraire (nombre d'observation < 10).

Le test de LEVENE a été effectué pour assurer l'égalité des variances des populations.

Le test de la variance ANOVA à un critère de classification (AV1) a été effectué afin de déterminer l'égalité ou non des moyennes.

Si une différence significative a été démontrée, le test de complément d'analyse de la variance Dunnet a été effectué pour démontrer si un effet était significatif par rapport aux témoins.

4 Résultats et discussion

La présente section est divisée en 3 grandes parties. La première partie se focalisera sur l'extraction et la purification des lantadènes présents dans les feuilles de *L. camara* et présentera les rendements d'extraction et de fractionnement.

La seconde partie portera sur les analyses structurales des molécules majoritaires purifiées à partir de l'extrait et confirmera la présence ou non des lantadènes dans l'extrait obtenu.

La dernière partie concernera les essais biologiques réalisés lors de cette étude, en présentant les activités biologiques relevées de l'extrait.

4.1 Extraction et purification des lantadènes

4.1.1 Extraction à l'acétate d'éthyle

Le premier objectif de ce travail était d'obtenir un extrait de feuilles de *Lantana camara* enrichi en molécules aux propriétés biologiques intéressantes (herbicide, antigerminative et antifongique). Les molécules ciblées sont notamment les lantadènes. Ainsi, une première extraction à l'acétate d'éthyle a été réalisée à partir de feuilles de *Lantana camara*, ce qui a donné lieu à un rendement d'extraction brut de $3,81 \pm 0,28\text{g}$, $4 \pm 0,25\%$ m/m (moyenne \pm écart-type). Ce premier extrait a été purifié et recristallisé afin d'être enrichi en composés d'intérêt, ce qui a permis d'obtenir un rendement de $242 \pm 15\text{mg}$, $0,24 \pm 0,02\%$ m/m (moyenne \pm écart-type) d'extrait partiellement purifié.

Comparativement à l'étude de Suthar et al. (2021) sur laquelle ce protocole d'extraction s'est basé, le rendement obtenu dans la présente étude est significativement plus faible ($0,24\% < 0,45\%$).²⁰⁴ Cela peut s'expliquer par une plus faible quantité des molécules d'intérêt dans les feuilles de *L. camara* car, comme dit précédemment, ces quantités sont variables selon les plantes de *L. camara*, donnant donc lieu à un rendement d'extraction plus faible. Une autre hypothèse pouvant expliquer ce plus faible rendement est l'utilisation d'une quantité plus importante de méthanol pour la recristallisation, menant à une plus grande quantité des molécules d'intérêt encore en solution (Annexe 1) et par conséquent une quantité significativement plus faible de cristaux récupérés.

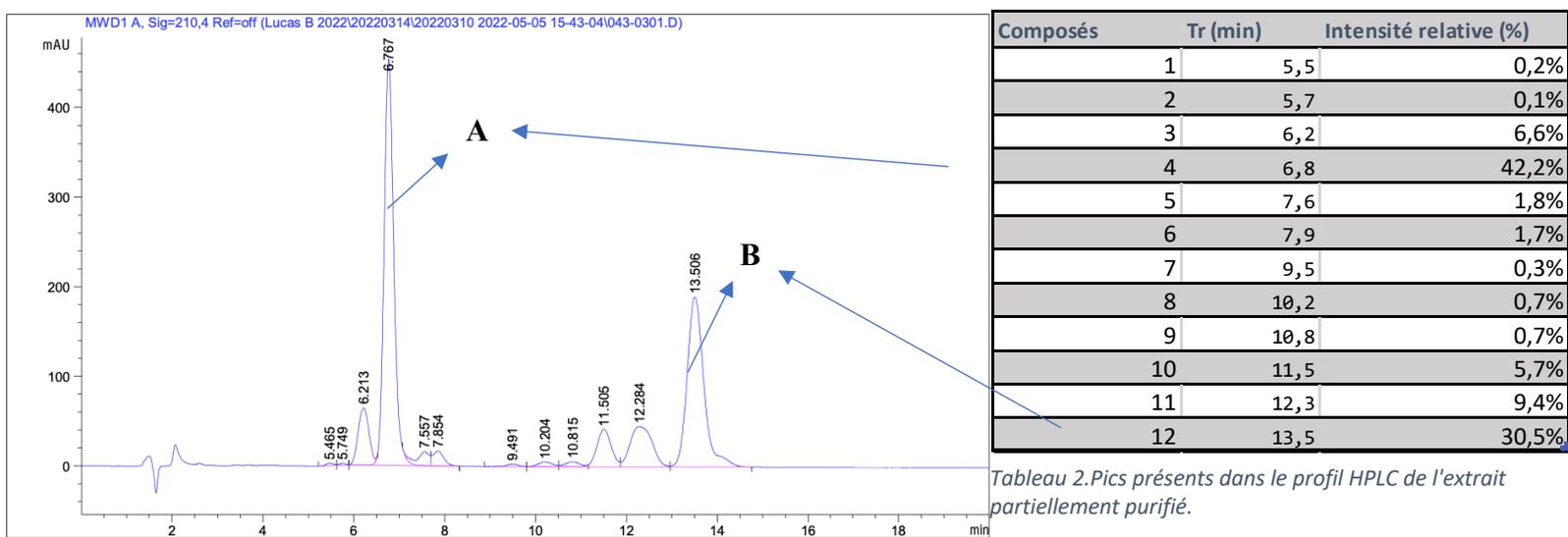


Figure 3. Profil HPLC de l'extrait partiellement purifié. Détection à 210 nm

Composés majoritaire de l'extrait : A et B

Le chromatogramme obtenu par HPLC-UV de cet extrait enrichi a permis de mettre en évidence la présence de douze pics (figure 3). Leur temps de rétention et les intensités relatives sont présentés dans le tableau 2. Deux composés sont présents majoritairement et sont identifiés par les lettres **A** et **B** sur la figure 3 ainsi que dans le reste de cette étude. Ils ont respectivement une intensité relative de 42,2% et 30,5%, ainsi qu'un temps de rétention de 6,767 min et 13,506 min.

L'hypothèse selon laquelle l'extrait enrichi en molécules d'intérêt contient effectivement des lantadènes peut être émise dès lors que ces derniers absorbent en UV à 210 nm dû à leur structure de triterpénoïde

pentacyclique.¹³⁸ Cette hypothèse sera discutée plus en détails au point 4.2 de ce travail, lorsque les deux composés majoritaires seront identifiés.

En comparaison, Suthar et al. (2021) ont démontré la présence de 8 composés dans leur extrait par chromatographie sur couche mince (CCM).²⁰⁴ Le plus grand nombre de composés observés dans l'extrait obtenu (figure 3) peut s'expliquer par une plus grande sensibilité de la méthode d'analyse en HPLC-UV en comparaison à la CCM, permettant d'observer la présence de composés de concentration plus faible. Une autre hypothèse est la présence d'un plus grand nombre de molécules de structure proche dans les feuilles extraites dans la présente étude.

Ces considérations laissent supposer qu'il est nécessaire d'optimiser l'étape de recristallisation, en faisant notamment varier la quantité de méthanol utilisé (et par conséquent la concentration initiale d'extrait brut en solution) et/ou la température de recristallisation, afin d'obtenir un extrait partiellement purifié avec un meilleur rendement massique.

4.1.2 Fractionnement par HPLC préparative

Afin de permettre la caractérisation des composés majoritaires **A** et **B**, un fractionnement par HPLC préparative a été effectué dans l'objectif d'obtenir des fractions de pureté suffisante afin de les identifier par FTIR, Q-exactive MS et RMN. Le chromatogramme du fractionnement est présenté dans la figure 4.

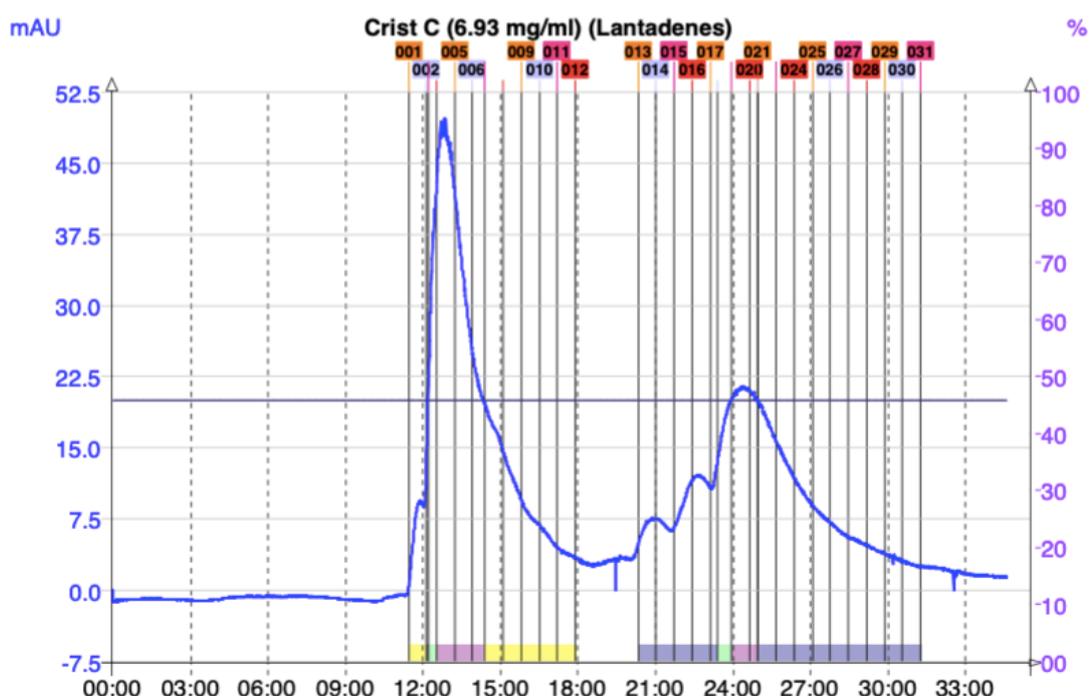


Figure 4. Chromatogramme du fractionnement de l'extrait partiellement purifié par HPLC préparative
Mode isocratique; solvant d'élution : MeOH/ACN/H₂O/HFo de ratio volumique (68/20/12/0,01)

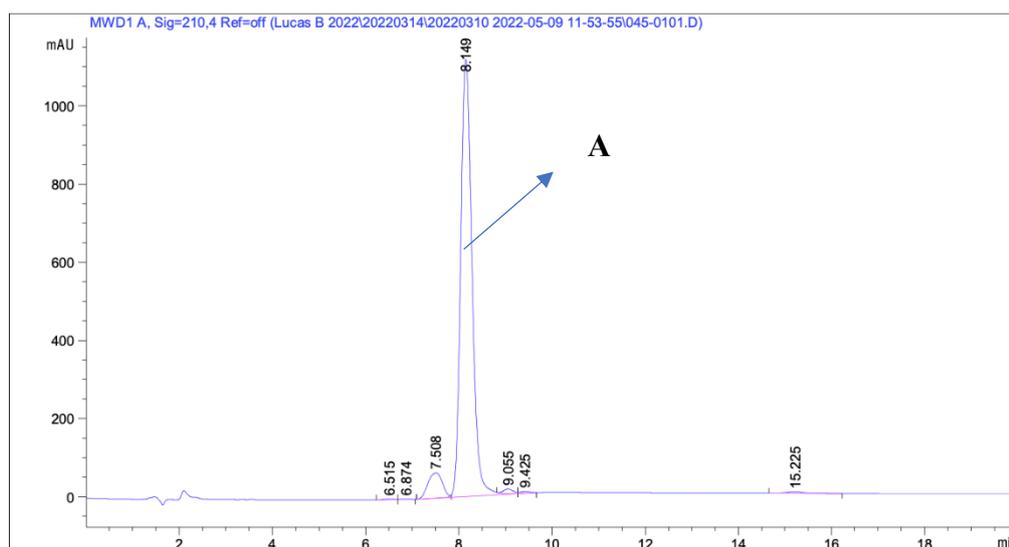


Figure 5. Chromatogramme fraction 4+5+6. HPLC analytique ; Détection à 210nm.
Solvant d'éluion MeOH/ACN/H₂O/HFo de ratio volumique (68/20/12/0,01)
A : pic au Tr=8,1 min

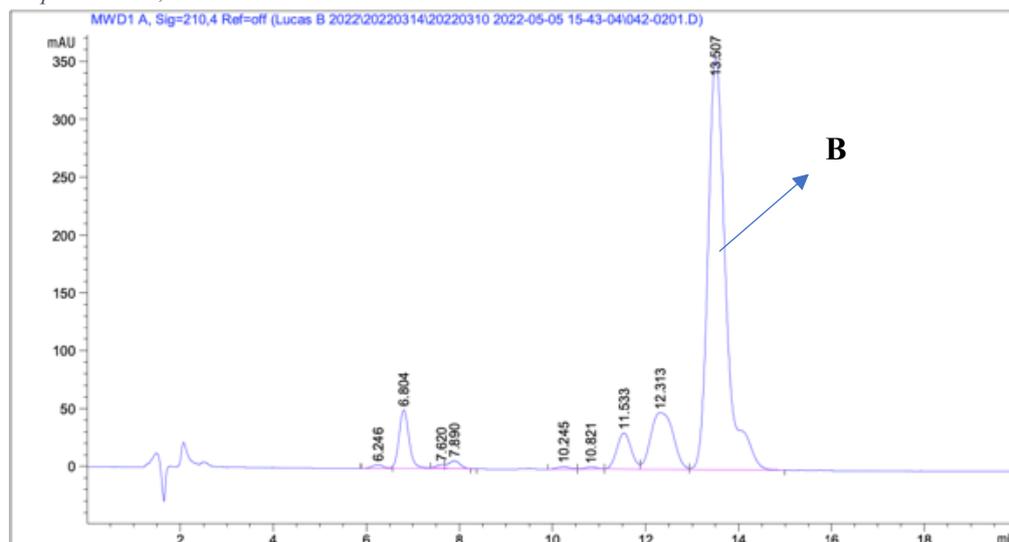


Figure 6. Chromatogramme fraction 20-27. HPLC analytique ; Détection à 210nm.
Solvant d'éluion MeOH/ACN/H₂O/HFo de ratio volumique (68/20/12/0,01)
B : pic au Tr=13,5 min

Composés	Intensité relative	Rendement de fractionnement
A	91,3%	28,4%
B	73,7%	27,7%

Tableau 3. Rendement de fractionnement des molécules majoritaire de l'extrait: A et B

Le fractionnement de l'extrait partiellement purifié a permis d'obtenir 30 fractions de différentes compositions, elles ont ensuite été analysées par HPLC analytique et les fractions de composition similaire ont été combinées afin d'obtenir des quantités suffisantes pour les analyses. Les fractions 4, 5 et 6 ont été combinées afin d'obtenir une fraction de 19,9 mg du composé **A**, avec une intensité relative (en HPLC analytique) de 91,3% (figure 5). Les fractions 20 à 27 ont été combinées en une fraction de 19,4 mg du composé **B** à une intensité relative (en HPLC analytique) de 73,7% (figure 6). Les rendements de fractionnements sont présentés dans le tableau 3.

Les résultats montrent que le fractionnement par HPLC préparative peut être une solution efficace pour l'isolement des composés majoritaires de l'extrait. En effet, les quantités et puretés des fractions obtenues ont été évaluées suffisantes pour être analysées par FTIR, Q-exactive MS et RMN afin de déterminer leur structure. Néanmoins, au vu de la résolution du chromatogramme de l'HPLC préparative, il est nécessaire d'optimiser cette étape dans le but d'obtenir des fractions de plus haute pureté. Une optimisation possible

serait de modifier le mode d'éluion en gradient, en faisant varier les ratios des différents solvants durant l'éluion.

Comparativement, la purification par cristallisations successives permet d'obtenir des composés de plus haute pureté mais nécessite un certain nombre d'étapes supplémentaires et par conséquent beaucoup plus de temps (la période de recristallisation étant relativement longue).²⁰⁴ Néanmoins, le fractionnement par HPLC préparative consomme de grande quantité de solvant, le rendant difficilement applicable à grande échelle.

4.2 Identification des composés

4.2.1 Analyse du standard du lantadène A

Un standard de lantadène A a été acheté afin de l'analyser par RMN et MS, dans l'objectif de permettre une comparaison avec résultats expérimentaux et de confirmer ou non la présence de lantadène A dans l'extrait de la présente étude.

Une première analyse du standard en HPLC analytique montre que le composé n'est pas retenu dans la colonne, avec un temps de rétention très court de 3,1s (voir annexe 2). Cette observation ne correspond pas avec ce que l'on peut trouver dans la littérature, où le LA est détecté à un Tr relativement important dans les analyses HPLC, selon les mêmes modalités. De plus, aucun pic n'est observé à ce temps de rétention dans notre extrait. Plusieurs hypothèses peuvent expliquer ces observations.

Une première hypothèse est qu'il n'y a pas de lantadène A présent dans notre extrait, cela peut s'expliquer par une absence ou une présence en très faible concentration de Lantadène A dans les feuilles extraites ou un protocole non adapté pour l'extraction de ce composé. Une seconde hypothèse est qu'une erreur s'est produite auprès du fournisseur et que le standard ne correspond pas au lantadène A.

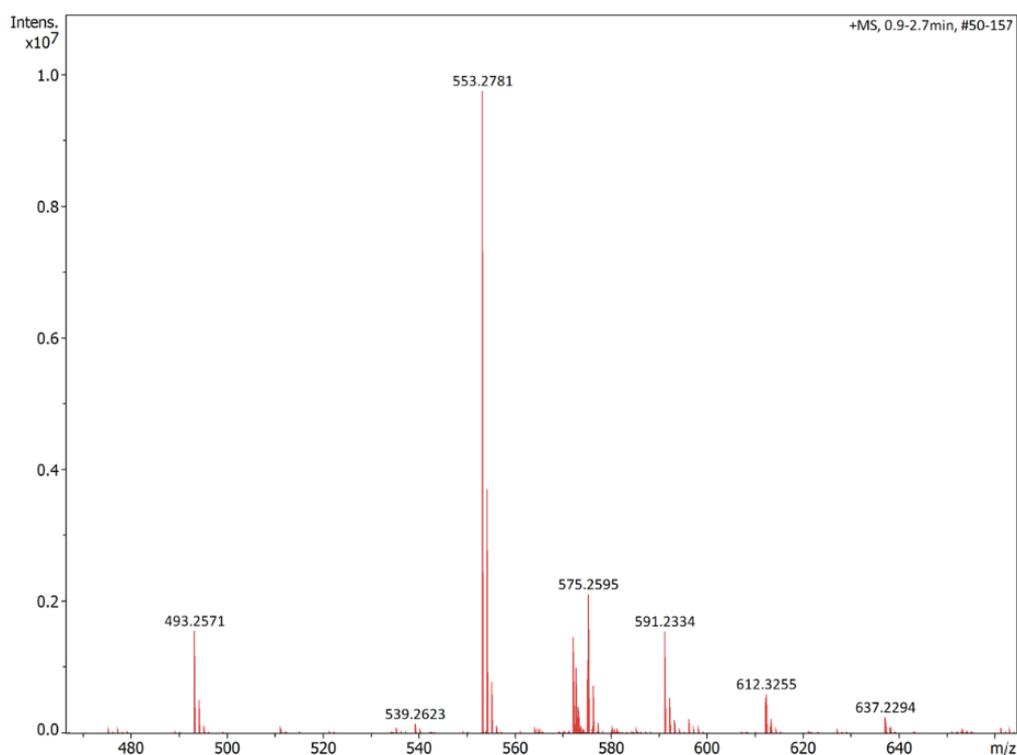


Figure 7. Spectromètre de masse du standard du lantadène A
Q-Exactive MS

Le spectromètre de masse (Q-exactive MS) est présenté dans la figure 7. On observe un pic important à 553,28 m/z, correspondant probablement $[M+H]^+$, renseignant sur une masse moléculaire de 552,27 m/z. Cette masse ne correspond pas avec la masse que l'on devrait observée pour le lantadène A (552,38 m/z), laissant supposer que le standard ne correspond pas au composé attendu.

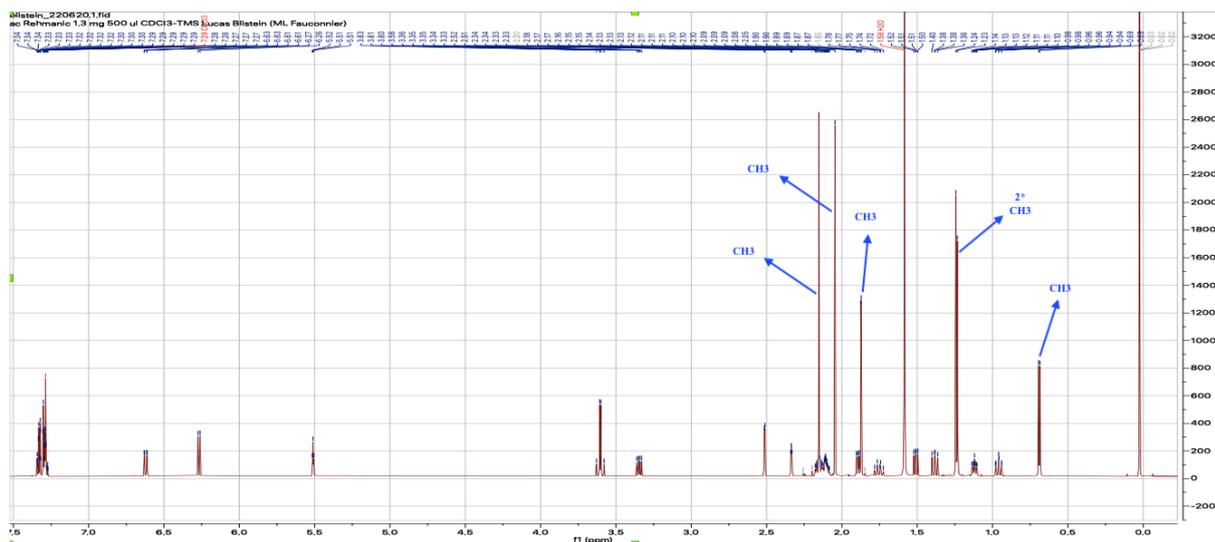


Figure 8. Spectre 1H-RMN du standard du lantadène

Le spectre 1H-RMN (figure 8) montre la présence de 6 groupements CH₃, ce qui est en inadéquation avec la structure du lantadène A qui contient 9 groupements CH₃.

Ces différentes observations montrent que le standard n'est probablement pas du Lantadène A, ce qui pourrait être dû à une erreur du fournisseur. Du fait de cette erreur, il n'a pas été possible de comparer les résultats des deux composés analysés (**A** et **B**) aux résultats expérimentaux du Lantadène A. La solution qui a été choisie était d'utiliser des algorithmes pour prédire les spectres de masse (CFM-ID, <https://cfmid.wishartlab.com/>, août 2022) et RMN (<https://www.nmrdb.org/>, août 2022) à partir de la structure du lantadène A. Les résultats expérimentaux ont donc été comparés à ceux prédits par les algorithmes ainsi qu'aux résultats trouvés dans la littérature.

4.2.2 Identification des composés A et B

4.2.2.1 FTIR

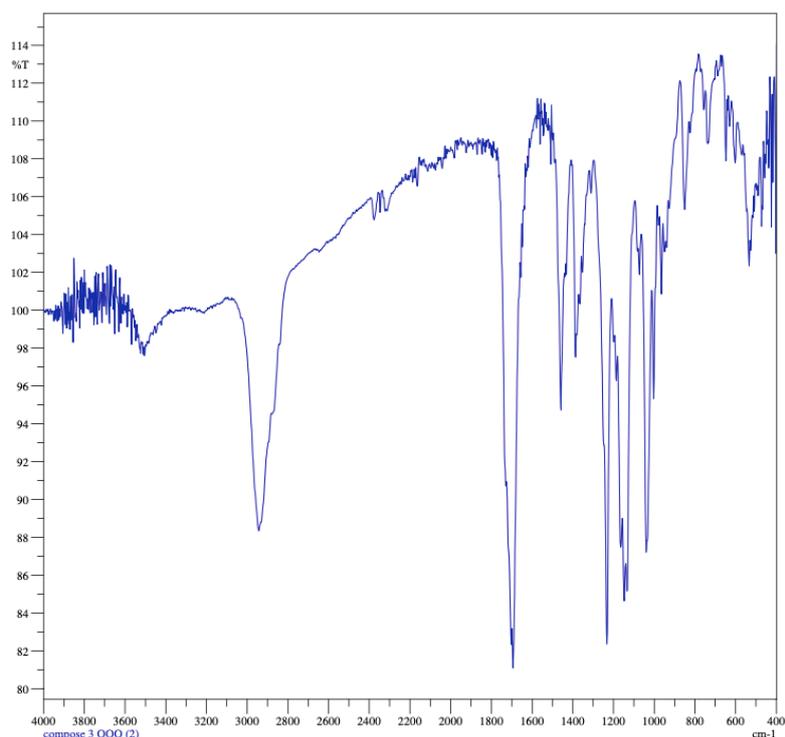


Figure 9. Spectre FTIR de la fraction enrichie en composé A

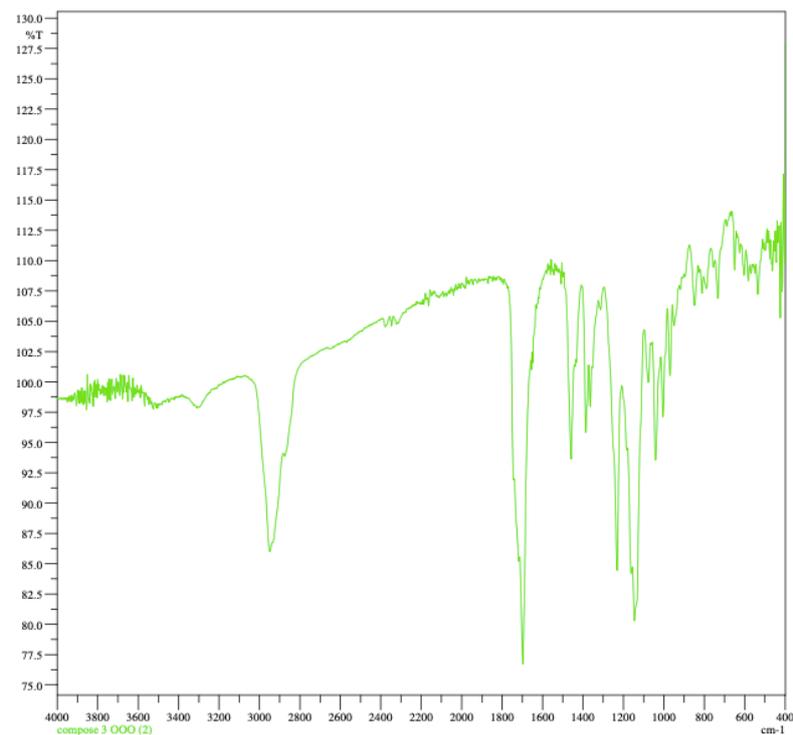


Figure 10. Spectre FTIR de la fraction enrichie en composé B

Les spectres FTIR des deux molécules (**A** : figure 9 ; **B** : figure 10) sont assez similaires, confirmant que leurs structures sont très proches. On observe néanmoins des empreintes spectrales différentes dans les nombres d'ondes inférieurs à 1000 cm^{-1} .

On observe une faible et assez large bande proche de 3500 cm^{-1} (3504 pour la molécule A et 3309 pour la molécule B) pouvant renseigner sur la présence de liaison O-H dans les molécules. On observe également une bande importante dans la zone $2800\text{-}3000\text{ cm}^{-1}$ caractéristique de liaisons C-H, confirmant la présence de ce type de liaison dans nos molécules.

Une bande très intense est observée proche de 1700 cm^{-1} caractéristique de liaisons C=O.

Deux bandes caractéristiques de vibrations des liaisons d'un groupe diméthyle géminale sont observées à 1458 cm^{-1} et 1387 cm^{-1} pour le composé A et B.

Une bande intense est observée à 1233 cm^{-1} dans les spectres des deux composés, renseignant sur la présence de liaison C-O (ester) dans les molécules.

Une bande est observée à 1148 cm^{-1} et 1146 cm^{-1} , respectivement pour le composé A et le composé B, caractéristiques des liaisons C-O (carboxylate).

Ces différentes observations, qui seront confirmées par les valeurs des déplacements chimiques des carbones en RMN (voir section 4.2.2.3), sont en adéquation avec la structure d'un triterpénoïde pentacyclique tel que le lantadène A.

4.2.2.2 MS

4.2.2.2.1 Composé A

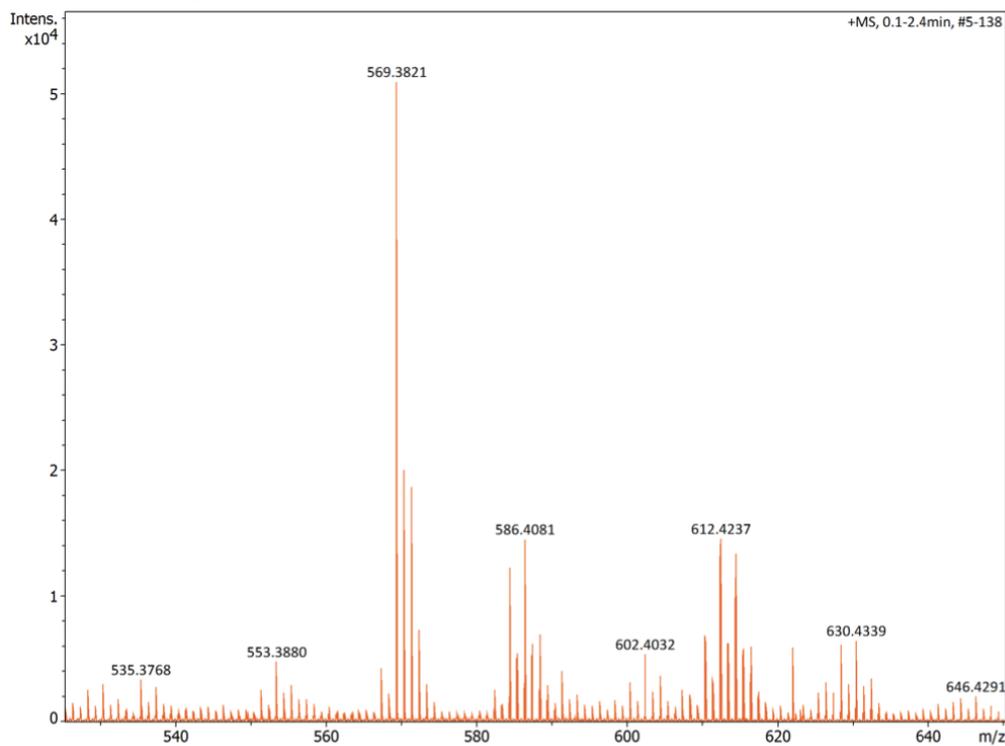


Figure 11. Spectromètre de masse de la fraction enrichie en composé A

Le spectre de masse de la fraction enrichie en composé A est présenté dans la figure 11 .

Un pic important est observé à 569,38 m/z, pouvant correspondre à la masse $[M+H]^+$ et renseignant donc sur une masse moléculaire de 568,38 m/z. Un pic important est également présent à 570,38 m/z, correspondant à un isotope de cette molécule.

En comparant cette masse avec les composés identifiés chez *L. camara* dans la littérature, trois composés peuvent correspondre à cette masse : l'ictérogénine, l'acide camarique et l'acide lantanilique, tous de formule moléculaire brut $C_{35}H_{52}O_6$. Une fragmentation du pic 569,38 m/z a été réalisée et le spectre MS-MS correspondant est présenté dans l'annexe 3.

4.2.2.2 Composé B

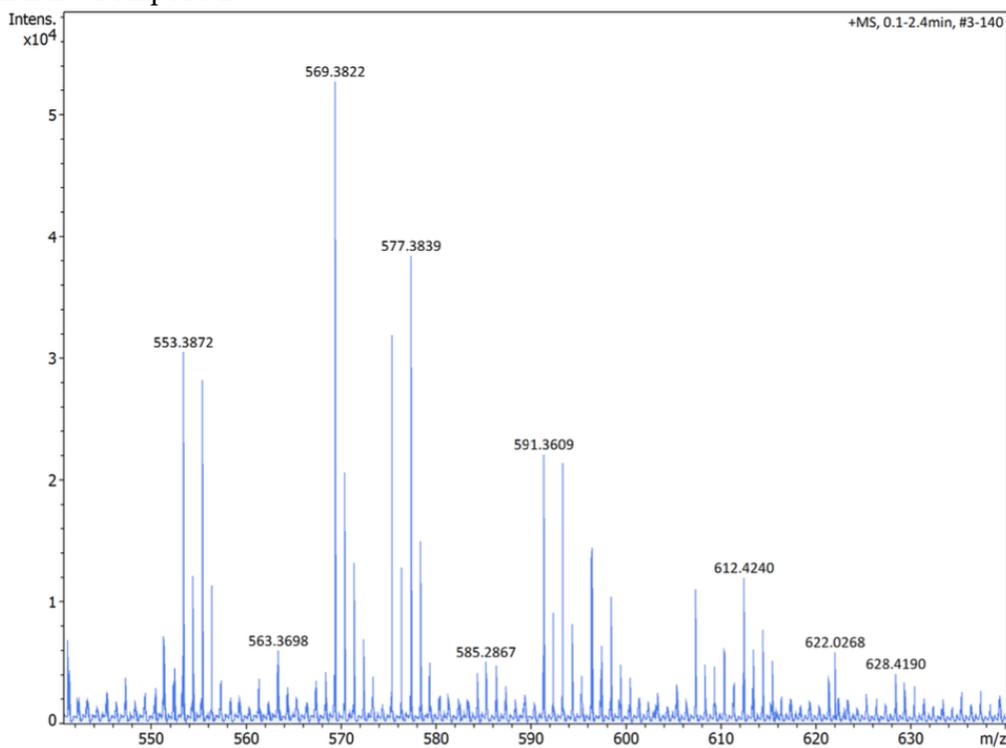


Figure 12. Spectromètre de masse de la fraction enrichie en composé B

Le spectre de masse de la fraction enrichie en composé **B** est présenté dans la figure 12 .

Un pic important est observé à 553,39 m/z pouvant correspondre à la masse $[M+H]^+$ et renseignant donc sur une masse moléculaire de 552,38 m/z. Le spectromètre MS-MS du fractionnement de ce pic est présenté dans l'annexe 5. Un pic est également présent à 554,39 m/z, correspondant à un isotope de cette molécule. Des pics sont aussi observés à 575,37 m/z et 591,34 m/z pouvant correspondre respectivement à l'adduit $[M+Na]^+$ et $[M+K]^+$ de cette même molécule.

Cette masse peut correspondre au lantadène A ou B, les deux ayant la formule moléculaire brute $C_{35}H_{52}O_5$.

Le même pic que dans la fraction enrichie en composé **A** est observé à 569,38 m/z et le fractionnement de ce pic (Annexe 4) est similaire à celui observé pour le composé A (Annexe 3), laissant supposer qu'il s'agit de la même molécule. En effet, le chromatogramme de cette fraction montre la présence du composé **A** dans cette fraction. (figure 5).

Un pic important est également observé à 555,4 m/z pouvant correspondre à la masse $[M+H]^+$ et renseignant donc sur une masse moléculaire de 554,39 m/z. De plus, un pic correspondant à un isotope de la molécule est observé à 556,4 m/z. Un pic est aussi observé à 577,38 m/z pouvant correspondre à l'adduit $[M+Na]^+$ de cette même molécule.

Une hypothèse est que cette masse correspond au lantadène C de masse très proche (554,40 m/z), néanmoins cette hypothèse ne pourra pas être confirmée lors de cette étude.

Les spectre 1H-RMN (figure 13) et HSQC (figure 14) de la fraction enrichie en composé **A** montrent la présence de 8 groupements CH₃ et 10 groupements CH₂, ce qui correspond à la structure de l'ictérogénine.

Dû à la superposition des pics dans les spectres 1H-RMN, il est difficile de déterminer le nombre précis de CH à priori, néanmoins ce nombre se trouve entre 6 et 8. Dû à la correspondance du nombre de CH₃ et CH₂ avec la structure de l'ictérogénine, l'hypothèse que le nombre de groupement CH est au nombre de 6 est posé à priori (pour correspondre à cette structure) et a été vérifiée avec les interactions observées dans les spectres 2D.

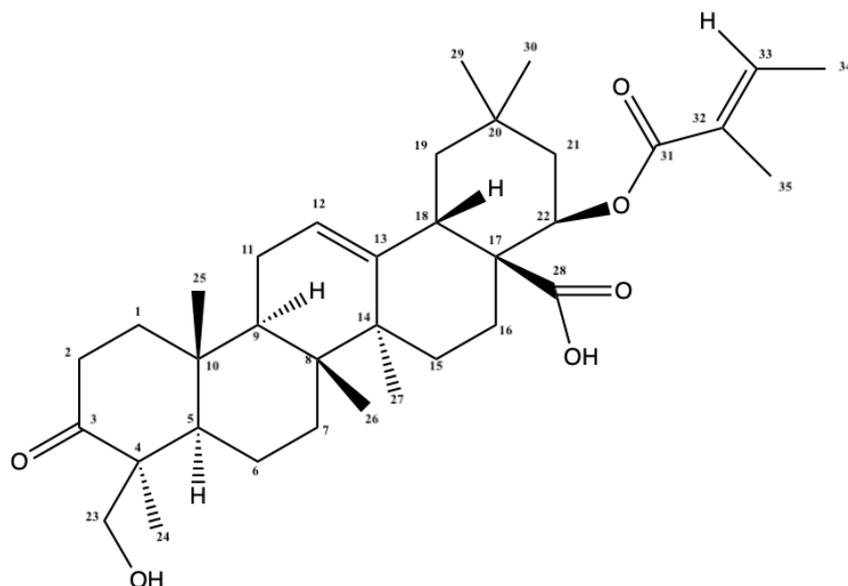


Figure 15. Structure de l'ictérogénine numérotée

La structure de l'ictérogénine avec sa numérotation des carbones est présentée dans la figure 15.

Tableau 4. Données de RMN 1H (700 MHz dans CDCl₃), 13C (176 MHz dans CDCl₃) du composé **A** et données de RMN 1H (800 MHz dans CDCl₃), 13C (200 MHz dans CDCl₃) prédits pour la structure de l'ictérogénine.

C	δ_C (ppm)	δ_H (ppm)	Groupement	HMBC	δ_C (ppm) prédit	δ_H (ppm) prédit
1	38,4	1,91 / 1,56	CH ₂	[2,43 / 2,58] (H2) ; 1,63 (H5) ; 1,2 (H25)	38,5	1,6 / 2,0
2	34,2	2,43 / 2,58	CH ₂	[1,91 / 1,56] (H1)	34,7	2,37 / 2,38
3	221,4		C	[1,91 / 1,56] (H1) ; [2,58 / 2,43] (H2) ; [4,03 / 3,44] (H23) ; 1,3 (H24)	214,6	
4	50,27		C	3,44 (H23) ; 2,43 (H2) ; 1,63 (H5) ; 1,3 (H24)	55,2	
5	55,32	1,63	CH	3, 44 (H23) ; 1,91 (H1) ; [1,52 / 1,35] (H6) ; 1,7 (H9)	49,5	1,64
6	19,12	1,52 / 1,35	CH ₂	1,63 (H5) ; [1,48 / 1,34] (H7)	18,6	1,55 / 1,84
7	32	1,48 / 1,34	CH ₂	1,63 (H5) ; [1,52 / 1,35] (H6) ; 0,96 (H26) ; 0,85 (H27)	33,9	1,79 / 1,48
8	39		C	1,96 (H11) ; 1,7 (H9) ; 1,54 (H15) ; 1,52 (H6) ; [1,48 / 1,34] (H7) ; 0,96 (H26) ; 0,85 (H27)	39,4	
9	46,38	1,7	CH	5,42 (H12) ; [2,02 / 1,96] (H11) ; 0,96 (H26) ; 0,85 (H27) ; 1,34 (H7) ; 1,63 (H5) ; 1,56 (H1)	47,2	1,47
10	36,4		C	[2,43 / 2,58] (H2) ; 2,02 (H11) ; [1,91 / 1,56] (H1) ; 1,7 (H9) ; 1,63 (H5) ; 1,35 (H6) ; 1,2 (H25)	37,5	
11	23,66	2,02 / 1,96	CH ₂	5,42 (H12) ; 1,7 (H9)	24	2,33 / 2,19
12	122,1	5,42	CH	3,09 (H18) ; [2,02 / 1,96] (H11)	123,8	5,19
13	143,3		C	3,09 (H18) ; [2,02 / 1,96] (H11) ; 1,73 (H19) ; 1,18 (H15)	143,6	
14	42		C	5,42 (H12) ; 3,09 (H18) ; 1,7 (H9) ; 1,92 (H16) ; [1,54 / 1,18] (H15) ; 0,96 (H26) ; 0,85 (H27)	42,2	
15	27,67	1,54 / 1,18	CH ₂	[1,92 / 1,82] (H16)	27,8	1,87 / 1,83
16	24	1,92 / 1,82	CH ₂	5,1 (H22) ; 3,09 (H18) ; 1,54 (H15)	35,08	1,81 / 1,71
17	50,48		C	5,1 (H22) ; 3,09 (H18) ; 1,78 (H21) ; 1,29 (H19)	40,6	
18	38,58	3,09	CH	5,42 (H12) ; 5,1 (H22) ; [1,73 / 1,29] (H19)	44,9	2,49
19	46	1,73 / 1,29	CH ₂	3,09 (H18) ; 1,78 (H21) ; 1,03 (H30) ; 0,92 (H29)	45,8	1,68 / 1,36
20	30,1		C	5,1 (H22) ; [1,73 / 1,29] (H19) ; 1,53 (H21) ; 1,03 (H30) ; 0,92 (H29)	32,23	
21	37,78	1,78 / 1,53	CH ₂	5,1 (H22) ; [1,73 / 1,29] (H19) ; 1,03 (H30) ; 0,92 (H29)	44,1	2,07 / 1,68
22	75,8	5,1	CH	1,78 (H21)	72,5	5,41
23	65,6	4,04 / 3,44	CH ₂	1,63 (H5) ; 1,3 (H24)	66,4	4,03
24	22,2	1,3	CH ₃	[4,04 / 3,44] (H23) ; 1,63 (H5)	20,8	1,27
25	25,66	1,2	CH ₃	1,56 (H1)	16,1	0,92
26	16,64	0,85	CH ₃	1,7 (H9) ; 1,48 (H7)	16,8	1,05
27	16,14	0,96	CH ₃	1,92 (H16) ; 1,7 (H9) ; 1,54 (H15)	24,7	1,3
28	177,4		C	1,92 (H16) ; 3,09 (H18)	182,5	
29	33,7	0,92	CH ₃	[1,73 / 1,29] (H19) ; 1,53 (H21) ; 1,03 (H30)	28,2	0,939
30	26,1	1,03	CH ₃	1,73 (H19) ; 1,53 (H21) ; 0,92 (H29)	28,2	0,938
31	166,5		C	6,03 (H33) ; 5,11 (H22) ; 2 (H35) ; 1,81 (H34)	168,4	
32	127,7		C	2 (H35) ; 1,81 (H34)	128,3	
33	138,7	6,03	CH	2 (H35) ; 1,81 (H34)	137,7	6,87
34	20,58	1,81	CH ₃	6,03 (H33) ; 2 (H35)	14,2	1,94
35	15,6	2	CH ₃	6,03 (H33)	12,6	1,83

4.2.2.3.2 Molécule B

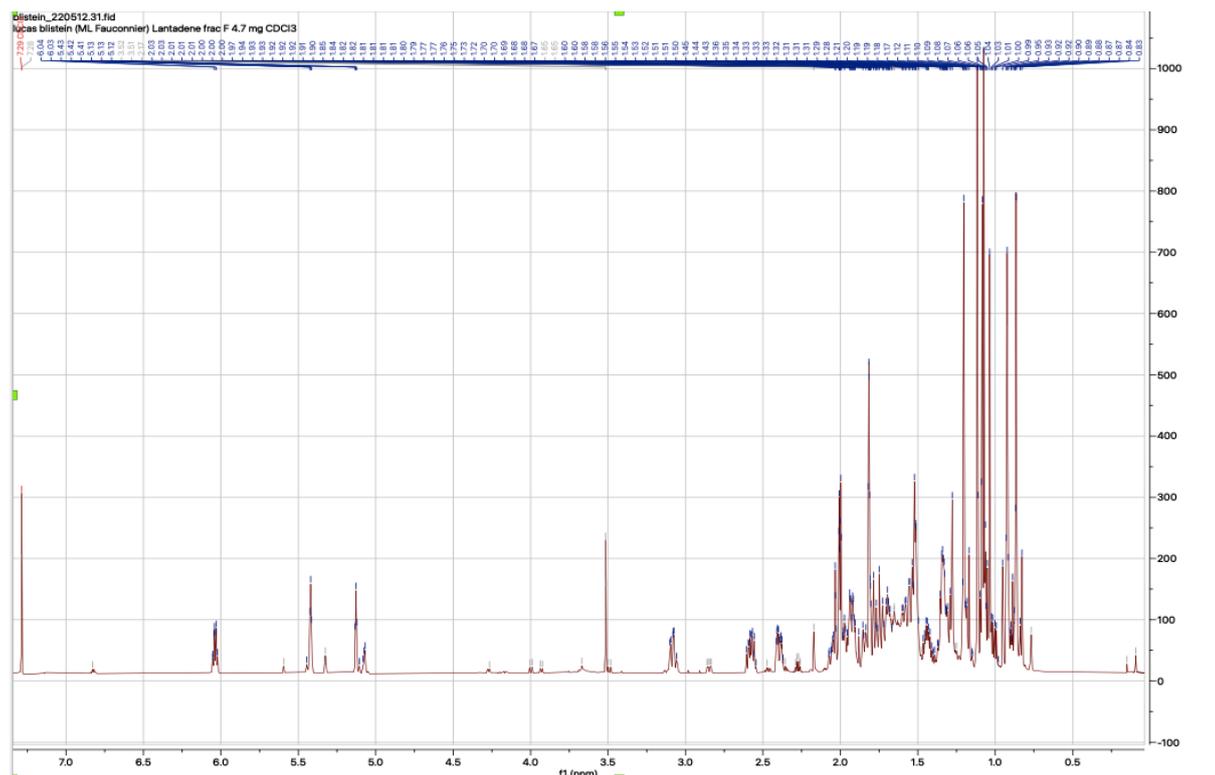


Figure 17. Spectre 1H-RMN du composé B

Le spectre 1H-RMN de la molécule B est présenté dans la figure 17.

Les spectres RMN (Annexe 7) sont quasiment identiques que ceux de la molécule B, ce qui confirme que les molécules ont des structures similaires. Néanmoins, des différences sont observées entre leurs spectres et seront utilisées afin de déterminer la structure de la molécule B :

La valeur de déplacement chimique du carbone δC 65,6 ppm (C_{23}) correspondant à un C-OH ainsi que les valeurs du déplacement chimique du proton δH 4,04 ppm et δH 3,44 ppm, qui correspondent aux deux hydrogènes de ce groupement CH_2 ne sont pas présent.

De plus, 9 groupements CH_3 sont observé sur le spectre 1H-RMN (figure 17). La valeur du déplacement chimique du proton δH 1,3 ppm (H_{24}) correspondant au groupement CH_3 n'est pas présent dans le spectre, mais un doublet au déplacement chimique du proton δH 1,08 ppm, correspondant à 2 groupement CH_3 est présent dans celui-ci. Ces observations, correspondant concrètement aux différences de structure entre l'ictérogénine et le lantadène A (voir figure 18), semble confirmer que le composé B est le lantadène A.

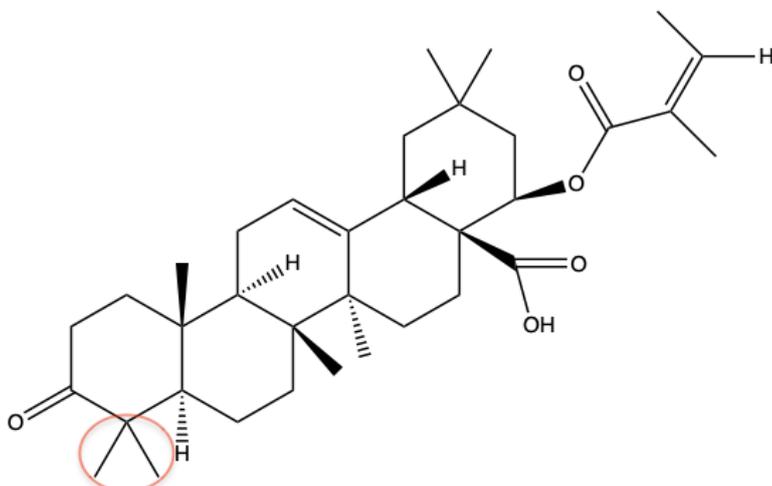


Figure 18. Structure du lantadène A avec différence de structure par rapport à l'ictérogénine entouré

4.3 Essais Biologiques

4.3.1 Activité herbicide

Afin d'évaluer le potentiel allélopathique de l'extrait des feuilles *L. camara*, une première expérimentation visant à évaluer l'activité herbicide de celui-ci envers *L. perenne* et *T. incarnatum* a été effectuée. Elle s'est réalisée par pulvérisation de l'extrait aux concentrations de 0,01 g/L, 0,05 g/L et 0,1 g/L sur les plantules.

Premièrement, les contrôles négatifs n'ont montré aucun signe de phytotoxicité sur les deux espèces et les contrôles positifs à l'acide pélargonique ont montré une phytotoxicité de 100%, ayant finalement entraînés la mort des plantes.

Les résultats des tests herbicides n'ont finalement montré aucune phytotoxicité de l'extrait aux concentrations testées sur les deux espèces d'adventices. En effet, aucun signe de phytotoxicité n'a été observé sur les plantules traitées par pulvérisation de l'extrait aux concentrations de 0,01 g/L, 0,05 g/L et 0,1 g/L.

Ces observations concordent avec la littérature scientifique, où une activité phytotoxique d'extrait de feuilles de *L. camara* n'a été démontré qu'une seule fois, sur *Eichhornia crassipes*. En effet, les activités rapportées pour ce type d'extrait se limite à une inhibition de croissance.¹⁵⁸⁻¹⁶⁸

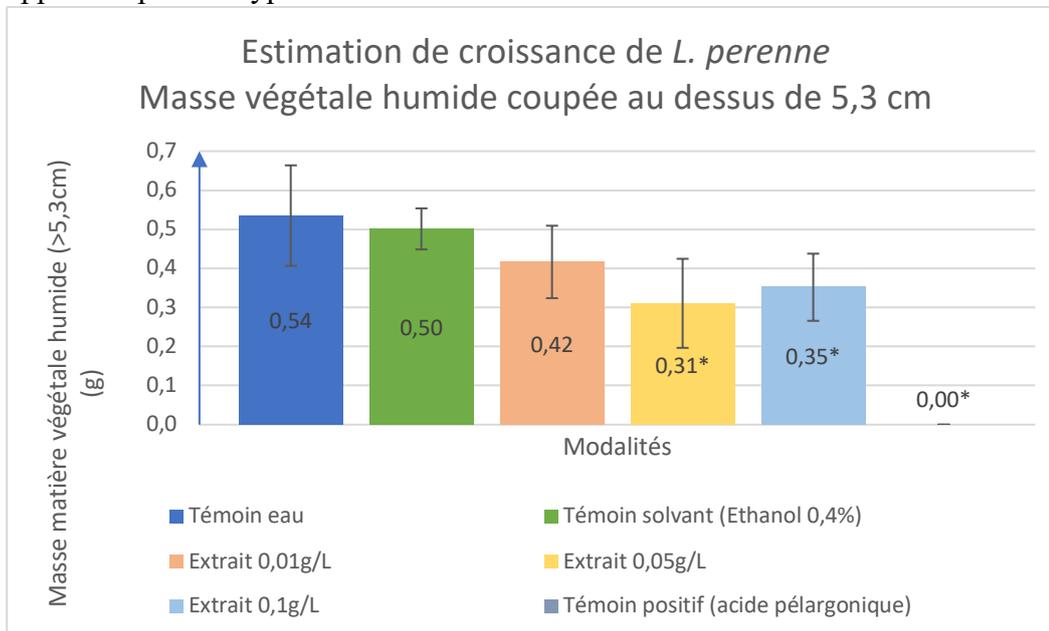


Figure 19. Estimation de la croissance de *L. perenne*

* : significativement différents de la moyenne du témoin eau

Les résultats de l'estimation de croissance de *L. perenne* (présentés dans la figure 19) montrent une inhibition significative de la croissance induite par l'extrait aux concentrations de 0,05 g/L et 0,1 g/L (P-valeur= 0,008) (Annexe 8 : test de Dunnett). Ces considérations laissent supposer qu'un effet inhibiteur de la croissance de *L. perenne* de l'extrait est présent aux concentrations de 0,05 et 0,1 g/L. Cette hypothèse est soutenue par l'étude de Achhireddy et al. (1985) dans laquelle ils ont démontré une activité inhibitrice de croissance d'un extrait méthanolique des feuilles de *L. camara* sur *Lolium multiflorum* Lam., à des concentrations plus élevées (20 mg/mL et 100 mg/mL).¹⁶⁹

Néanmoins, il s'agit ici d'une estimation de la croissance, basée sur la masse de matière fraîche récoltée au-dessus de 5,3 cm (la hauteur où ont été coupées les plantules en début d'expérimentation), et ces résultats doivent donc être pris avec un certain recul).

Afin de répondre à cette hypothèse, une nouvelle expérimentation orientée sur l'inhibition de croissance doit être menée. En outre, dans l'objectif de déterminer si l'inhibition de croissance est dépendante de la concentration de l'extrait dans la solution pulvérisée, il est nécessaire de tester une plus grande gamme de concentration, notamment des concentrations plus élevées. Il est donc primordial de développer une nouvelle formulation, avec un solvant non phytotoxique à de plus hautes concentrations, permettant d'atteindre des concentrations plus importantes de l'extrait dans celle-ci.

4.3.2 Activité antigerminative

Tableau 5. Résultats des essais sur l'activité antigerminative de l'extrait sur *T. incarnatum*.

* : significativement différents du témoin eau

<i>Trifolium incarnatum</i>				
Modalités	Moyenne longueur radicule	STDEV	Moyenne nombre de graines germées (n=5)	STDEV2
Témoin eau	4,8		1,1	0,9
Témoin solvant (éthanol 0,4%)	2,4 *		0,8	0,5
Extrait 0,01g/L	2,4 *		0,8	0,5
Extrait 0,05g/L	2,7 *		1,1	0,0
Extrait 0,1g/L	2,5 *		0,8	0,5
Acide pélagronique (50g/L)	0,0 *		0,0	0,0

Tableau 6. Résultats des essais sur l'activité antigerminative de l'extrait sur *L. perenne*.

* : significativement différents du témoin eau

<i>Lolium perenne</i>				
Modalités	Moyenne longueur radicule	STDEV	Moyenne nombre de graines germées (n=5)	STDEV2
Témoin eau	4,9		1,0	0,5
Témoin solvant (éthanol 0,4%)	3,5 *		0,9	1,2
Extrait 0,01g/L	3,4 *		1,2	1,1
Extrait 0,05g/L	3,7 *		1,3	0,5
Extrait 0,1g/L	3,8 *		1,4	0,8
Acide pélagronique (50g/L)	0,0 *		0,0	0,0

Dans la continuité de l'évaluation du potentiel allélopathique de l'extrait, une expérimentation visant à évaluer l'activité antigerminative de celui-ci sur les graines des deux espèces d'adventices, *L. perenne* et *T. incarnatum*, a été réalisée en boîte de pétri. Les résultats sont présentés dans les tableaux 5 et 6, respectivement pour *T. incarnatum* et *L. perenne*.

En premier lieu, hormis pour les témoins positifs à l'acide pélagronique (à la dose recommandée par le fabricant BAYER ; 50 g/L) pour lesquels aucune germination de graines n'a été observée, les résultats n'ont montré aucune différence significative du nombre de graines germées entre les différentes modalités.

La mesure des longueurs des radicules (tableaux 5 et 6) a montré des différences significatives entre les témoins à l'eau et les autres modalités (témoins à 0,4% d'éthanol, extrait aux concentrations de 0,01 g/L, 0,05 g/L et 0,1 g/L) (P-valeur=0) (Annexe 8 : test de Dunnett). Néanmoins, aucune différence significative n'est observée entre ces quatre modalités (P-valeur =0,318). Ces résultats montrent que la germination a été retardée de manière significative et similaire pour les différentes modalités en comparaison avec les témoins négatifs avec de l'eau. Ces considérations laissent supposer que la germination a été différée en présence de la formulation utilisée (éthanol à 0,4% et tween 20 à 0,1%) et que l'extrait n'a pas d'activité antigerminative significative sur les deux espèces d'adventices aux concentrations testées.

Ces résultats concordent avec l'étude de Achhireddy et al. (1985) dans laquelle ils démontrent que ce sont les phytotoxines hydrosolubles présentes dans l'extrait méthanolique des feuilles de *L. camara* qui ont une activité antigerminative sur les graines de *Lolium multiflorum* Lam. En effet, cette fraction hydrosoluble a été retirée de l'extrait de la présente étude lors de la purification (fractionnement entre phase aqueuse et chloroformique). Néanmoins, les concentrations testées lors de cette expérimentation étant relativement faibles, une expérimentation avec de plus hautes concentrations pourrait potentiellement révéler une activité antigerminative.

Ces observations révèlent qu'il est nécessaire de développer une nouvelle formulation pour ces tests antigerminatifs, afin de non seulement faire disparaître tout effet de celle-ci sur la germination des graines, notamment sur le temps de latence de germination, mais également de permettre de tester des concentrations plus élevées de l'extrait. En effet, dû au fait que la solubilité maximum de notre extrait dans l'éthanol a été atteinte (25 g/L), une formulation à 0,4% d'éthanol ne permet pas d'atteindre des concentrations plus élevées que 0,1 g/L.

4.3.3 Activité antifongique

Afin d'évaluer l'activité antifongique des composés présents dans l'extrait de cette étude, une expérimentation sur deux espèces de champignons phytopathogène, *Aspergillus flavus* et *Fusarium verticillioides*, a été menée. Cette expérimentation a évalué l'inhibition de la croissance des deux souches induite par la présence de l'extrait dans le milieu de culture aux concentrations de 0,05 mg/mL et 0,1 mg/mL. Trois expérimentations successives ont été menées à partir de trois suspensions de spores différentes.

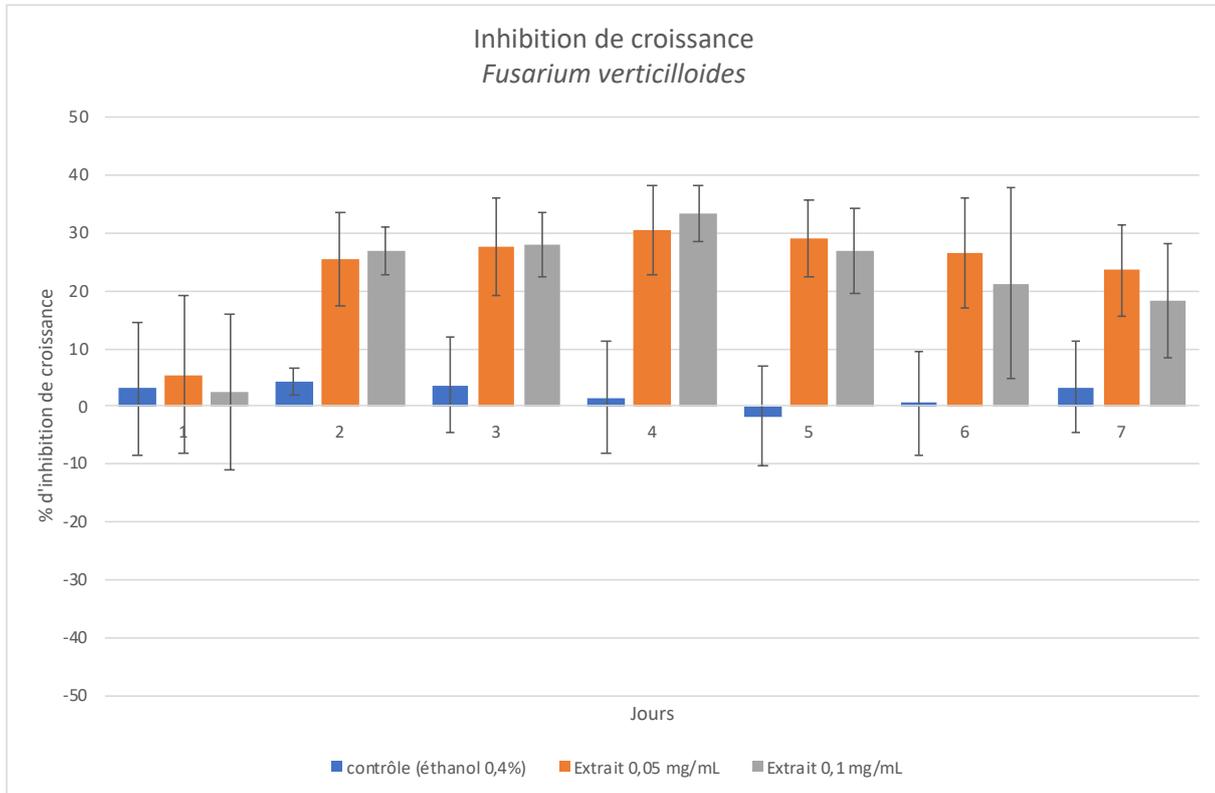


Figure 21. Inhibition de croissance de *F. verticillioides*: Moyenne des 3 expérimentations

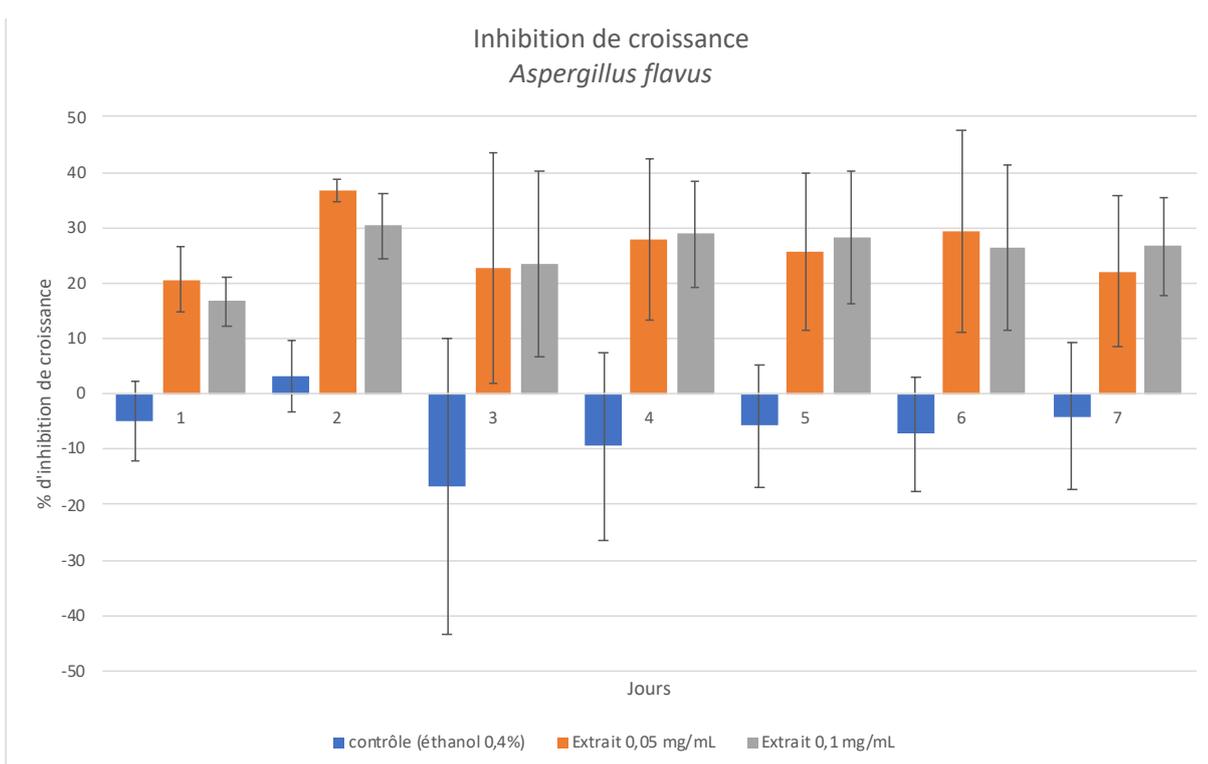


Figure 20. . Inhibition de croissance de *A. flavus*: Moyenne des 3 expérimentations

Les résultats des trois expérimentations ont tous montré une inhibition significative de la croissance des deux souches en présence de l'extrait dans le milieu de culture. Cependant, aucune différence significative n'a été observée entre les deux concentrations testées (0,05 mg/mL et 0,1 mg/mL). Ces résultats laissent supposer que la concentration d'inhibition maximum a été atteinte à 0,05 mg/mL. Il est donc cohérent de tester de plus haute concentration afin de confirmer cette hypothèse ainsi que de plus faible concentration afin de définir les concentrations minimales d'inhibition pour les deux souches.

Les contrôles à 0,4% éthanol n'ont pas montré d'effet d'inhibition significative par rapport aux témoins en milieu PDA, démontrant que cette inhibition est bien le résultat des molécules présentes dans l'extrait. Les résultats moyens des trois expérimentations (figures 20 et 21) montrent donc bien l'action antifongique des molécules présentes dans l'extrait, néanmoins ils présentent des écart-types importants.

Afin de discuter des résultats en détails pour chacune des deux souches, les résultats d'une expérience aux écart-types relativement faibles (2^{ème} expérimentation) seront uniquement pris en compte pour les analyses statistiques (Annexe 8 : test de Dunnett) et le reste de la discussion. Il est donc nécessaire de garder à l'esprit que les résultats discutés ci-dessous doivent être pris avec un certain recul et qu'il est nécessaire de réaliser de nouveaux réplicas de cette expérimentation. Ils sont donc présentés comme des tendances qui devront être confirmées ultérieurement.

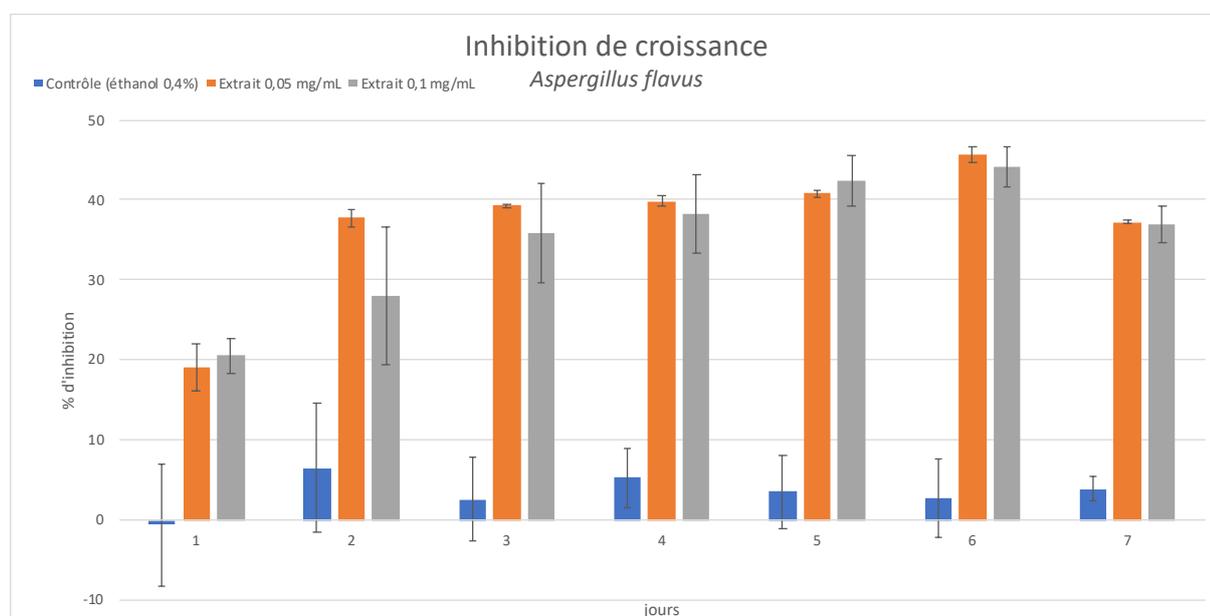


Figure 22. Inhibition de croissance de *A. flavus*: 2^{ème} expérimentation

Pour *Aspergillus flavus* (figure 22), une inhibition de croissance proche de 20% est observée après 24h de culture pour les concentrations de 0,05 mg/mL et 0,1 mg/mL (respectivement de 19% et 20,5%). Cette inhibition va augmenter progressivement jusqu'à atteindre un maximum d'inhibition au 6^{ème} jour, avec une inhibition de 45,6% pour 0,05 mg/mL et 44% pour 0,1 mg/mL. Cette inhibition diminue au 7^{ème} jour dû au fait que le développement fongique des témoins a atteint les limites des boîtes de pétri. Aucune différence significative n'a donc été observée entre les deux concentrations testées, ce que laisse supposer à un effet de seuil à la concentration de 0,05 mg/mL.

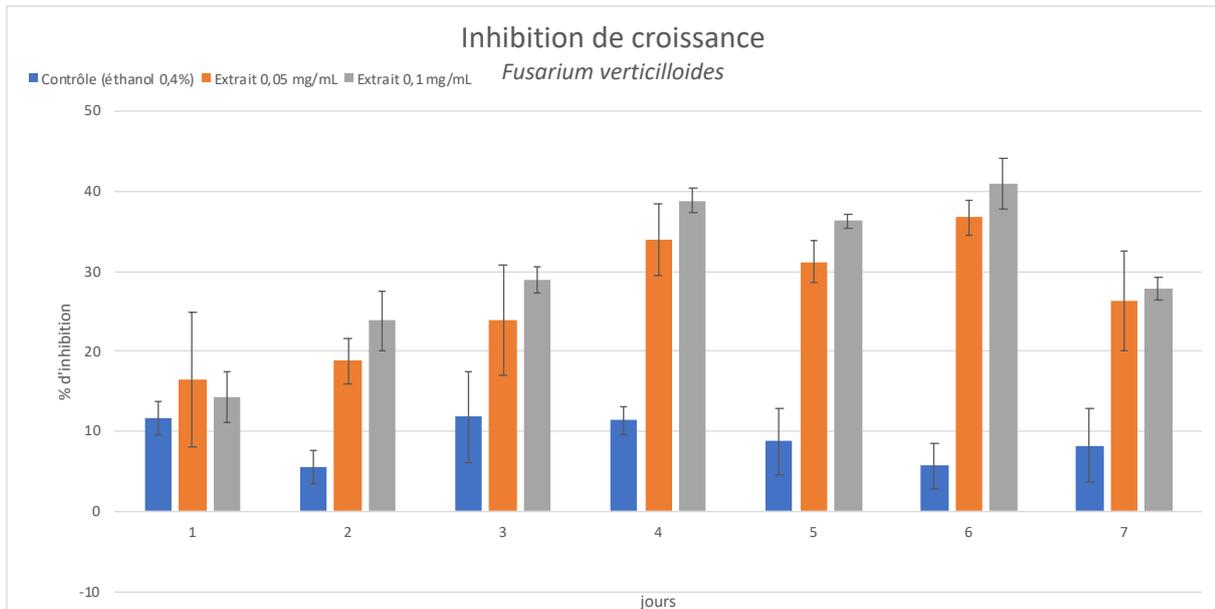


Figure 23. Inhibition de croissance de *F. verticillioides*: 2ème expérimentation

Pour *Fusarium verticillioides* (figure 23), une inhibition significative du contrôle solvant est observée au jour 1 et au jour 4 (P-valeurs de 0,001 pour ces deux jours). Néanmoins, même si aucune inhibition significative de l'extrait par rapport au contrôle n'est observée au jour 1 (P-valeur=0,57), celle-ci est bien significative pour le 4ème jour (P-valeur=0).

Comme pour *A. flavus*, aucune différence significative n'est observée entre les deux concentrations testées de l'extrait, laissant supposer à un effet de seuil ou à une trop faible différence entre ces concentrations. En effet, une tendance d'inhibition plus importante à la concentration de 0,1 mg/mL est néanmoins observée, mais non significative.

Après 48h, une inhibition 18,9% et 23,9% est observée, respectivement à la concentration de 0,05 mg/mL et 0,1 mg/mL. Cette inhibition augmente jusqu'au 4ème jour où elle atteint 34% pour 0,05 mg/mL et 38,9% pour 0,1 mg/mL. Elle reste relativement stable jusqu'au 6ème jour où elle atteint un maximum à 36,8% et 41%, pour 0,05 mg/mL et 0,1 mg/mL respectivement. Elle diminue ensuite dû au développement fongique des témoins qui a atteint les limites des boîtes de pétri.

Les P-valeurs des analyses de la variance (ANOVA) de la 2ème expérimentation sont présentés dans le tableau 7.

Tableau 7. P-valeurs d'analyse de la variance des développements fongiques pour la 2ème expérimentation

Souche/jours	Jour 1	Jour 2	Jour 3	Jour 4	Jour 5	Jour 6	Jour 7
<i>Aspergillus flavus</i>	0,02	0,01	0	0	0	0	0
<i>Fusarium verticillioides</i>	0,01	0	0	0	0	0	0

Tableau 8. inhibitions de croissance observées au 6ème jour de la 2ème expérimentation

Concentration extrait	Inhibition de croissance <i>Aspergillus flavus</i> (%)	Inhibition de croissance <i>Fusarium verticillioides</i> (%)
Ethanol (0,4%)	2,8 ± 4,9	n.s. 5,71 ± 2,78
0,05 mg/mL	45,6 ± 1	a 36,8 ± 2,2
0,1 mg/mL	44,1 ± 2,5	a 41 ± 3,2

Les valeurs d'inhibition de croissance atteinte au 6ème jour d'expérimentation sont présentées dans le tableau 8.

Pour *F. verticillioides*, l'extrait de la présente étude semble avoir une concentration minimale d'inhibition (MIC≤0,05 mg/mL) inférieure à ce qu'on trouve dans la littérature (0,16 mg/mL).²⁰³

Différentes hypothèses peuvent expliquer cette considération. Une plus grande concentration de nos feuilles en molécules ayant une activité antifongique est une possibilité. En effet, comme il a été dit précédemment, la composition en triterpénoïdes est variable dans les plantes de *L. camara* en fonction de différents facteurs : le taxon de *L. camara* considéré, la zone géographique ou la période de récolte. Une autre hypothèse est que l'extraction et les étapes de purification ont permis d'obtenir un extrait plus concentré en molécules aux activités antifongiques.

Comparativement à l'inhibition de croissance induite par des huiles essentielles, l'extrait de la présente étude semble montrer une inhibition similaire que celle induite par l'huile de cannelle à une concentration de 35 µL/L (34,8%, 42,54% et 46,32 % d'inhibition selon les souches).²⁰⁶

Il semble également montrer une inhibition supérieure (36,8% et 41%, respectivement pour 0,05 mg/mL et 0,1 mg/mL) que l'inhibition induite par l'huile essentielle de romarin à une concentration de 0,3 mg/mL (29,7 ± 7 % d'inhibition) mais inférieure que celle induite à une concentration de 0,6 mg/mL (67,0 ± 7.0% d'inhibition).²⁰⁷

Pour *A. flavus*, l'extrait de la présente étude semble également avoir une concentration minimale d'inhibition relativement faible (MIC ≤ 0,05 mg/mL). Il a induit une inhibition de 45,6% et 44,1%, respectivement à une concentration de 0,05 mg/mL et 0,1 mg/mL, aucune différence significative n'a été observée entre les deux concentrations. Comparativement, Sánchez et al.(2005) ont démontré qu'un extrait de *Agave asperrima* a induit une inhibition de 11% de la croissance de *A. flavus* (SRRC 1273) à une concentration comparable dans le milieu de culture (0,125 mg/mL). Néanmoins, cette inhibition a augmenté avec la concentration de l'extrait dans le milieu et a atteint une inhibition similaire (42%) à une concentration de 0,25 mg/mL, ainsi qu'une inhibition supérieure (70%) à une concentration de 0,325 mg/mL. D'autre part, ce même extrait a induit une inhibition de 13% et de 58% de la croissance de *A. flavus* (SRRC 1299), aux concentrations de 0,5 mg/mL et 0,75 mg/mL respectivement. En outre, l'extrait d'une autre espèce d'agave, *A. striata*, n'a quant-à-lui induit aucune inhibition significative de la croissance de *A. flavus* (SRRC 1273) à une concentration de 0,375 mg/mL et induit une inhibition de 30% et 69%, à la concentration de 0,75 mg/mL et 1,125 mg/mL, respectivement. Ce même extrait a induit une inhibition de la croissance de *A. flavus* (SRRC 1299) similaire à l'extrait de la présente étude (41%) à une concentration significativement plus élevée (1,5 mg/mL).²⁰⁸

Notre extrait semble donc présenter des inhibitions plus importantes que ces extraits d'agaves, à des concentrations sensiblement plus faibles. Cela démontre une potentielle activité fongistatique importante de celui-ci. Néanmoins, comme il ne s'agit pas des mêmes souches de *A. flavus*, ces comparaisons sont à considérer avec des précautions et avec un certain recul.

Afin de déterminer le potentiel usage de l'extrait comme antifongique, l'activité de l'extrait a été comparée avec des produits commerciaux. FORMENTI et al.(2012) ont démontré que les fongicides commerciaux, Folicur SE® (substance active : tébuconazole à 43,1 g/L) et Proline® (substance active : prothioconazole à 250 g/L) à une concentration de 5 mg/kg dans le milieu de culture, ont montré une inhibition de la croissance de 79, 47 et 61%, respectivement pour *F. verticillioides* (MPVP 294 et MPVP 289) et *A. flavus* (MPVP A 2092). Leurs dosages ont également influencé de manière significative l'inhibition de croissance des trois souches.²⁰⁹

Comparativement, l'extrait de *L. camara* présente des inhibitions inférieures à des concentrations plus élevées, démontrant des limites de sa potentielle utilisation comme antifongique commercial contre ces deux espèces.

5 Conclusion et perspective

Ce travail de fin d'étude a permis d'extraire et d'isoler des feuilles de *L. camara* un extrait de triterpénoïdes pentacycliques bioactifs. L'identification des molécules majoritaires de l'extrait semble confirmer la présence d'ictérogénine et de lantadène A dans cet extrait. Néanmoins, au vu de la difficulté d'interprétation des spectres RMN des deux fractions isolées par HPLC préparative, il est évident qu'il est nécessaire d'optimiser cette étape de purification dans l'objectif d'obtenir des fractions de plus haute pureté. Une piste d'optimisation est de travailler en mode gradient au lieu d'en mode isocratique.

Cet extrait a démontré un potentiel allélopathique limité envers *L. perenne* et *T. incarnatum*. En effet, les essais biologiques n'ont démontré aucune activité herbicide et antigerminative envers les deux espèces aux concentrations testées. L'extrait semble cependant montré un effet inhibiteur de croissance de *L. perenne* lorsqu'il est pulvérisé aux concentrations de 0,05 g/L et 0,1 g/L.

Afin de répondre à ces hypothèses, il est primordial de réaliser de nouveaux essais biologiques en utilisant des concentrations plus importantes de l'extrait. A cette fin, il est nécessaire d'optimiser la formulation, notamment en utilisant un solvant non phytotoxique à de plus haute concentration et permettant de solubiliser une plus grande quantité de l'extrait, afin de disposer d'une formulation permettant d'atteindre de plus haute concentration de l'extrait.

Les essais biologiques *in vitro* visant à évaluer l'activité antifongique de l'extrait envers *A. flavus* et *F. verticillioides* ont démontré une activité antifongique de celui-ci. En effet, une inhibition de croissance des deux souches a été observée en présence de l'extrait dans le milieu de culture, et cela dès une concentration de 0,05 g/L. En outre, aucune différence significative d'inhibition de croissance n'a été observée entre les concentrations de 0,05 g/L et 0,1 g/L, laissant présumer que la concentration maximum d'inhibition a été atteinte à 0,5 g/L et qu'un effet de seuil est présent.

Dans l'objectif de répondre à cette hypothèse et de déterminer les concentrations minimales d'inhibition, il est crucial de réaliser de nouveaux essais biologiques en utilisant une plus large gamme de concentrations de l'extrait. Il est donc également nécessaire de développer une nouvelle formulation permettant d'atteindre de plus haute concentration de l'extrait dans le milieu de culture.

De surcroit, afin de confirmer avec plus de précision les valeurs d'inhibition présentées (de la 2^{ème} expérimentation aux écart-types relativement faible), de nouvelles expérimentations identiques doivent être de nouveau réalisées.

Une autre piste serait d'également étudier l'impact de l'extrait sur la production de mycotoxines des deux souches, respectivement les aflatoxines pour *A. flavus* et les fumonisines pour *F. verticillioides*.

6 Bibliographie :

- (1) Nea, F. Etude phytochimique et biologique de deux plantes médicinales de Côte d'Ivoire : *Lantana camara* et *Lantana rhodesiensis* (Verbenaceae). **2021**.
- (2) Abbas, T.; Ahmad, A.; Kamal, A.; Nawaz, M. Y.; Jamil, M. A.; Saeed, T.; Abid, M. A.; Ali, H. H.; Ateeq, M. Ways to Use Allelopathic Potential for Weed Management: A Review. *IJFSA* **2021**, *5* (3), 492–498. <https://doi.org/10.26855/ijfsa.2021.09.020>.
- (3) Oerke, E.-C.; Dehne, H.-W. Safeguarding Production—Losses in Major Crops and the Role of Crop Protection. *Crop protection* **2004**, *23* (4), 275–285.
- (4) Oren, L.; Ezrati, S.; Cohen, D.; Sharon, A. Early Events in the *Fusarium Verticillioides*-Maize Interaction Characterized by Using a Green Fluorescent Protein-Expressing Transgenic Isolate. *Applied and environmental microbiology* **2003**, *69* (3), 1695–1701.
- (5) Marin, S.; Ramos, A. J.; Cano-Sancho, G.; Sanchis, V. Mycotoxins: Occurrence, Toxicology, and Exposure Assessment. *Food and Chemical Toxicology* **2013**, *60*, 218–237. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2013.07.047>.
- (6) Bergin, D. Weed Control Options for Coastal Sand Dunes: A Review. *New Zealand Forest Research Institute LTD* **2011**, 5–13.
- (7) Chauvel, B.; Guillemin, J.-P.; Gasquez, J.; Gauvrit, C. History of Chemical Weeding from 1944 to 2011 in France: Changes and Evolution of Herbicide Molecules. *Crop Protection* **2012**, *42*, 320–326.
- (8) Griepentrog, H. W.; Dedousis, A. P. Mechanical Weed Control. In *Soil Engineering*; Dedousis, A. P., Bartzanas, T., Eds.; Soil Biology; Springer: Berlin, Heidelberg, 2010; pp 171–179. https://doi.org/10.1007/978-3-642-03681-1_11.
- (9) Rueda-Ayala, V. P.; Rasmussen, J.; Gerhards, R.; Fournaise, N. E. The Influence of Post-emergence Weed Harrowing on Selectivity, Crop Recovery and Crop Yield in Different Growth Stages of Winter Wheat. *Weed Research* **2011**, *51* (5), 478–488.
- (10) Bond, W.; Grundy, A. C. Non-chemical Weed Management in Organic Farming Systems. *Weed research* **2001**, *41* (5), 383–405.
- (11) Smith, R. G.; Ryan, M. R.; Menalled, F. D. Direct and Indirect Impacts of Weed Management Practices on Soil Quality. *Soil management: Building a stable base for agriculture* **2011**, 275–286.
- (12) Chaïb, S.; Pistevos, J. C. A.; Bertrand, C.; Bonnard, I. Allelopathy and Allelochemicals from Microalgae: An Innovative Source for Bio-Herbicidal Compounds and Biocontrol Research. *Algal Research* **2021**, *54*, 102213. <https://doi.org/10.1016/j.algal.2021.102213>.
- (13) Annett, R.; Habibi, H. R.; Hontela, A. Impact of Glyphosate and Glyphosate-based Herbicides on the Freshwater Environment. *Journal of Applied Toxicology* **2014**, *34* (5), 458–479.
- (14) Guyton, K. Z.; Loomis, D.; Grosse, Y.; Ghissassi, F. E.; Benbrahim-Tallaa, L.; Guha, N.; Scoccianti, C.; Mattock, H.; Straif, K. Carcinogenicity of Tetrachlorvinphos, Parathion, Malathion, Diazinon, and Glyphosate. *The Lancet Oncology* **2015**, *16* (5), 490–491. [https://doi.org/10.1016/S1470-2045\(15\)70134-8](https://doi.org/10.1016/S1470-2045(15)70134-8).
- (15) Lee, H.-L.; Chen, K.-W.; Chi, C.-H.; Huang, J.-J.; Tsai, L.-M. Clinical Presentations and Prognostic Factors of a Glyphosate — Surfactant Herbicide Intoxication A Review of 131 Cases. *Acad Emergency Med* **2000**, *7* (8), 906–910. <https://doi.org/10.1111/j.1553-2712.2000.tb02069.x>.
- (16) Hoppin, J. A. *Pesticides and Respiratory Health: Where Do We Go from Here?*; BMJ Publishing Group Ltd, 2014; Vol. 71, pp 80–80.
- (17) Horrigan, L.; Lawrence, R. S.; Walker, P. How Sustainable Agriculture Can Address the Environmental and Human Health Harms of Industrial Agriculture. *Environ Health Perspect* **2002**, *110* (5), 445–456. <https://doi.org/10.1289/ehp.02110445>.
- (18) Powles, S. B.; Preston, C.; Bryan, I. B.; Jutsum, A. R. Herbicide Resistance: Impact and Management. *Advances in agronomy* **1996**, *58*, 57–93.
- (19) Commission of the European Communities, Towards a Future Maritime Policy for the Union and the Indications Set Forth by the EU-US Task Force on Biotechnology Research, 2006.

- (20) European Commission, DG for Environment, La Directive-Cadre Européenne Sur l'eau, EUR-OP, Luxembourg, 2014.
- (21) Ministère de l'agriculture et de l'alimentation, Plan EcoPhyto 2+, 2018.
- (22) Dayan, F. E.; Cantrell, C. L.; Duke, S. O. Natural Products in Crop Protection. *Bioorganic & Medicinal Chemistry* **2009**, *17* (12), 4022–4034. <https://doi.org/10.1016/j.bmc.2009.01.046>.
- (23) Duke, S. O.; Dayan, F. E.; Rimando, A. M.; Schrader, K. K.; Aliotta, G.; Oliva, A.; Romagni, J. G. Invited Paper: Chemicals from Nature for Weed Management. *Weed Science* **2002**, *50* (2), 138–151. [https://doi.org/10.1614/0043-1745\(2002\)050\[0138:IPCFNF\]2.0.CO;2](https://doi.org/10.1614/0043-1745(2002)050[0138:IPCFNF]2.0.CO;2).
- (24) Lindell, S. D.; Pattenden, L. C.; Shannon, J. Combinatorial Chemistry in the Agrosociences. *Bioorganic & Medicinal Chemistry* **2009**, *17* (12), 4035–4046. <https://doi.org/10.1016/j.bmc.2009.03.027>.
- (25) Bailey, K. L. Chapter 13 - The Bioherbicide Approach to Weed Control Using Plant Pathogens. In *Integrated Pest Management*; Abrol, D. P., Ed.; Academic Press: San Diego, 2014; pp 245–266. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-398529-3.00014-2>.
- (26) Jabran, K.; Farooq, M. Implications of Potential Allelopathic Crops in Agricultural Systems. In *Allelopathy*; Springer, 2013; pp 349–385.
- (27) Smith, I. M.; British Crop Protection Council, L. Fungicides for Crop Protection: 100 Years of Progress. *Proceedings*. **1985**.
- (28) Kamle, M.; Mahato, D. K.; Devi, S.; Lee, K. E.; Kang, S. G.; Kumar, P. Fumonisin: Impact on Agriculture, Food, and Human Health and Their Management Strategies. *Toxins* **2019**, *11* (6), 328. <https://doi.org/10.3390/toxins11060328>.
- (29) Gelderblom, W. C.; Jaskiewicz, K.; Marasas, W. F.; Thiel, P. G.; Horak, R. M.; Vleggaar, R.; Kriek, N. Fumonisin--Novel Mycotoxins with Cancer-Promoting Activity Produced by Fusarium Moniliforme. *Applied and environmental microbiology* **1988**, *54* (7), 1806–1811.
- (30) Marasas, W. F. Fumonisin: Their Implications for Human and Animal Health. *Natural toxins* **1995**, *3* (4), 193–198.
- (31) Shephard, G. S.; Thiel, P. G.; Stockenström, S.; Sydenham, E. W. Worldwide Survey of Fumonisin Contamination of Corn and Corn-Based Products. *Journal of AOAC International* **1996**, *79* (3), 671–687.
- (32) Fandohan, P.; Gnonlonfin, B.; Hell, K.; Marasas, W. F. O.; Wingfield, M. J. Natural Occurrence of Fusarium and Subsequent Fumonisin Contamination in Preharvest and Stored Maize in Benin, West Africa. *International Journal of Food Microbiology* **2005**, *99* (2), 173–183.
- (33) Omidpanah, S.; Haseli, A.; Manayi, A. Evaluation of Antifungal Properties of Some Medicinal Plants against *Aspergillus Flavus* Isolated from Contaminated Corn in Vitro. *Mediterranean Journal of Chemistry* **2015**, *3* (6), 1093–1099.
- (34) Feijó Corrêa, J. A.; Orso, P. B.; Bordin, K.; Hara, R. V.; Luciano, F. B. Toxicological Effects of Fumonisin B1 in Combination with Other Fusarium Toxins. *Food and Chemical Toxicology* **2018**, *121*, 483–494. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2018.09.043>.
- (35) Gelderblom, W. C.; Jaskiewicz, K.; Marasas, W. F.; Thiel, P. G.; Horak, R. M.; Vleggaar, R.; Kriek, N. P. Fumonisin--Novel Mycotoxins with Cancer-Promoting Activity Produced by Fusarium Moniliforme. *Appl Environ Microbiol* **1988**, *54* (7), 1806–1811. <https://doi.org/10.1128/aem.54.7.1806-1811.1988>.
- (36) Amaike, S.; Keller, N. P. *Aspergillus Flavus*. *Annu. Rev. Phytopathol.* **2011**, *49* (1), 107–133. <https://doi.org/10.1146/annurev-phyto-072910-095221>.
- (37) Yu, J.; Cleveland, T. E.; Nierman, W. C.; Bennett, J. W. *Aspergillus Flavus* Genomics: Gateway to Human and Animal Health, Food Safety, and Crop Resistance to Diseases. *Revista iberoamericana de micología* **2005**, *22* (4), 194–202.
- (38) Klich, M. A. *Aspergillus Flavus*: The Major Producer of Aflatoxin. *Molecular plant pathology* **2007**, *8* (6), 713–722.
- (39) Michailides, T.; Thomidis, T. First Report of *Aspergillus Flavus* Causing Fruit Rots of Peaches in Greece. *Plant pathology* **2007**, *56* (2).
- (40) Horn, B. W.; Pitt, J. I. Yellow Mold and Aflatoxin. *Compendium of Peanut diseases* **1997**, *2*, 40–42.

- (41) Hedayati, M. T.; Pasqualotto, A. C.; Warn, P. A.; Bowyer, P.; Denning, D. W. *Aspergillus Flavus*: Human Pathogen, Allergen and Mycotoxin Producer. *Microbiology* **2007**, *153* (6), 1677–1692.
- (42) Lewis, L.; Onsongo, M.; Njapau, H.; Schurz-Rogers, H.; Lubber, G.; Kieszak, S.; Nyamongo, J.; Backer, L.; Dahiye, A. M.; Misore, A. Aflatoxin Contamination of Commercial Maize Products during an Outbreak of Acute Aflatoxicosis in Eastern and Central Kenya. *Environmental health perspectives* **2005**, *113* (12), 1763–1767.
- (43) Yu, J.; Payne, G. A.; Nierman, W. C.; Machida, M.; Bennett, J. W.; Campbell, B. C.; Robens, J. F.; Bhatnagar, D.; Dean, R. A.; Cleveland, T. E. *Aspergillus Flavus* Genomics as a Tool for Studying the Mechanism of Aflatoxin Formation. *Food Additives and Contaminants* **2008**, *25* (9), 1152–1157.
- (44) Baddi, M.; Nassik, S.; Alali, S.; Hraiki, A. E. L’impact économique et sanitaire des mycotoxines entre aujourd’hui et demain. *Revue Marocaine des Sciences Agronomiques et Vétérinaires* **2021**, *9* (3).
- (45) Abbas, H. K. The Costs of Mycotoxin Management in the United States. In *Aflatoxin and food safety*; CRC Press, 2005; pp 26–37.
- (46) Lalitha, V.; Raveesha, K. A.; Kiran, B. Antimicrobial Activity of *Solanum Torvum* Swart. against Important Seed Borne Pathogens of Paddy. *Iranica J Energy Environ* **2010**, *1* (2), 160–164.
- (47) Thippeswamy, S.; Praveen, P.; Mohana, D. C.; Manjunath, K. Antimicrobial Evaluation and Phytochemical Analysis of Known Medicinal Plant *Samanea Saman* (Jacq.) Merr. against Some Human and Plant Pathogenic Bacteria and Fungi. *Int. J. Pharma Bio Sci* **2011**, *2* (2), 443–452.
- (48) Adepoju, A. O.; Ogunkunle, A. T. J.; Femi-Adepoju, A. G. Antifungal Activities of Seed Oil of Neem (*Azadirachta Indica* A. Juss). *Glob. J. Biol. Agric. Health Sci* **2014**, *3*, 106–109.
- (49) Silva, J. L.; Souza, P. E.; Monteiro, F. P.; Freitas, M. L. O.; Júnior, S.; Belan, L. L. Antifungal Activity Using Medicinal Plant Extracts against Pathogens of Coffee Tree. *Revista brasileira de plantas medicinais* **2014**, *16*, 539–544.
- (50) Molisch, H. The Influence of One Plant on Another: Allelopathy. *The influence of one plant on another: allelopathy*. **2001**.
- (51) Willis, R. J. The Historical Bases of the Concept of Allelopathy. *Journal of the History of Biology* **1985**, *18* (1), 71–102. <https://doi.org/10.1007/BF00127958>.
- (52) Kamal, J. ALLELOPATHY; A BRIEF REVIEW. *Jordan Journal of Applied Science* **2020**, 2020–2029.
- (53) Pagare, S.; Bhatia, M.; Tripathi, N.; Pagare, S.; Bansal, Y. Secondary Metabolites of Plants and Their Role: Overview. *Current Trends in Biotechnology and Pharmacy* **2015**, *9* (3), 293–304.
- (54) An, M.; Pratley, J.; Haig, T. Allelopathy: From Concept to Reality; Australian Agronomy Society: Wagga Wagga, Australia, 1998; pp 563–566.
- (55) Mushtaq, W.; Siddiqui, M. B.; Hakeem, K. R. *Allelopathy: Potential for Green Agriculture*; SpringerBriefs in Agriculture; Springer International Publishing: Cham, 2020. <https://doi.org/10.1007/978-3-030-40807-7>.
- (56) Salih Hussein, W. ALLELOPATHY : ALLELOCHEMICALS A BRIEF REVIEW. *Plant Archives* **2020**, 5556–5560.
- (57) Bertin, C.; Yang, X.; Weston, L. A. The Role of Root Exudates and Allelochemicals in the Rhizosphere. *Plant and Soil* **2003**, *256* (1), 67–83. <https://doi.org/10.1023/A:1026290508166>.
- (58) Kohli, R. K.; Singh, H. P.; Batish, D. R. *Allelopathy in Agroecosystems*; CRC Press, 2001; Vol. 4.
- (59) Barnes, J. P.; Putnam, A. R. Evidence for Allelopathy by Residues and Aqueous Extracts of Rye (*Secale Cereale*). *Weed science* **1986**, *34* (3), 384–390.
- (60) Jensen, L. B.; Courtois, B.; Shen, L.; Li, Z.; Olofsson, M.; Mauleon, R. P. Locating Genes Controlling Allelopathic Effects against Barnyardgrass in Upland Rice. *Agronomy Journal* **2001**, *93* (1), 21–26.
- (61) Khalid, S.; Ahmad, T.; Shad, R. Use of Allelopathy in Agriculture. *Asian Journal of Plant Sciences* **2002**, *1* (3), 292–297.
- (62) Rice, E. L. *Allelopathy*; Academic Press, 2012.
- (63) Rice, E. L. Allelopathy — An Overview. In *Chemically Mediated Interactions between Plants and Other Organisms*; Cooper-Driver, G. A., Swain, T., Conn, E. E., Eds.; Recent Advances in

Phytochemistry; Springer US: Boston, MA, 1985; pp 81–105. https://doi.org/10.1007/978-1-4757-9658-2_4.

- (64) Li, Z. R.; Amist, N.; Bai, L. Y. Allelopathy in Sustainable Weeds Management. *Allelopathy Journal* **2019**, *48* (2), 109–138.
- (65) Li, Z.-H.; Wang, Q.; Ruan, X.; Pan, C.-D.; Jiang, D.-A. Phenolics and Plant Allelopathy. *Molecules* **2010**, *15* (12), 8933–8952.
- (66) Putnam, A.; Tang, C. The Science of Allelopathy Wiley New York. NY **1986**, *1*, 19.
- (67) Al-Jobori, K. M.; Ali, S. A. Effect of *Dodonaea Viscosa* Jacq. Residues on Growth and Yield of Mungbean (*Vigna Mungo* L. Hepper). *African Journal of Biotechnology* **2014**, *13* (24), 2407–2413.
- (68) Ali, S. Effect of *Dodonaea Viscosa* Jacq. Residues on Growth and Yield of Mungbean (*Vigna Mungo* L. Hepper), Maize (*Zea Mays* L.) and Their Associated Grassy Weeds. **2008**.
- (69) Li, L.-L.; Zhao, H.-H.; Kong, C.-H. (–)-Loliolide, the Most Ubiquitous Lactone, Is Involved in Barnyardgrass-Induced Rice Allelopathy. *Journal of Experimental Botany* **2020**, *71* (4), 1540–1550.
- (70) Zhao, H.; Li, H. B.; Kong, C. H.; Xu, X. H.; Liang, W. J. Chemical Response of Allelopathic Rice Seedlings under Varying Environmental Conditions. *Allelopathy J* **2005**, *15* (1), 105–110.
- (71) Cheng, H. A Conceptual Framework for Assessing Allelochemicals in the Soil Environment. In *Allelopathy*; Springer, 1992; pp 21–29.
- (72) Rizvi, S. Allelopathy: Basic and Applied Aspects (p. 23). **2012**.
- (73) Weston, L. A. History and Current Trends in the Use of Allelopathy for Weed Management. *HortTechnology* **2005**, *15* (3), 529–534.
- (74) Gulzar, A.; Siddiqui, M.; Bi, S. Phenolic Acid Allelochemicals Induced Morphological, Ultrastructural, and Cytological Modification on *Cassia Sophera* L. and *Allium Cepa* L. *Protoplasma* **2016**, *253* (5), 1211–1221.
- (75) Ishak, M. S.; Sahid, I. Allelopathic Effects of the Aqueous Extract of the Leaf and Seed of *Leucaena Leucocephala* on Three Selected Weed Species; American Institute of Physics, 2014; Vol. 1614, pp 659–664.
- (76) Mushtaq, W.; Ain, Q.; Siddiqui, M.; Hakeem, K. R. Cytotoxic Allelochemicals Induce Ultrastructural Modifications in *Cassia Tora* L. and Mitotic Changes in *Allium Cepa* L.: A Weed versus Weed Allelopathy Approach. *Protoplasma* **2019**, *256* (3), 857–871.
- (77) Mushtaq, W.; Ain, Q.; Siddiqui, M. B. Screening of Allelopathic Activity of the Leaves of *Nicotiana Plumbaginifolia* Viv. on Some Selected Crops in Aligarh, Uttar Pradesh, India. *International Journal of Photochemistry and Photobiology* **2018**, *2* (1), 1–4.
- (78) Singh, B.; Uniyal, A.; Todaria, N. Phytotoxic Effects of Three *Ficus* Species on Field Crops. *Range management and agroforestry* **2008**, *29* (2), 104–108.
- (79) Blum, U. Soil Solution Concentrations of Phenolic Acids as Influenced by Evapotranspiration; 2002; Vol. 56.
- (80) Baar, J.; Ozinga, W.; Sweers, I.; Kuyper, T. W. Stimulatory and Inhibitory Effects of Needle Litter and Grass Extracts on the Growth of Some Ectomycorrhizal Fungi. *Soil Biology and Biochemistry* **1994**, *26* (8), 1073–1079.
- (81) Akemo, M. C.; Regnier, E. E.; Bennett, M. A. Weed Suppression in Spring-Sown Rye (*Secale Cereale*)–Pea (*Pisum Sativum*) Cover Crop Mixes. *Weed technology* **2000**, *14* (3), 545–549.
- (82) Aşkin Çelik, T.; Aslantürk, Ö. S. Evaluation of Cytotoxicity and Genotoxicity of *Inula Viscosa* Leaf Extracts with *Allium Test*. *Journal of biomedicine and biotechnology* **2010**, *2010*.
- (83) Mohamadi, N.; Rajaie, P. Effects of Aqueous *Eucalyptus* (*E. Camadulensis* Labill) Extracts on Seed Germination, Seedling Growth and Physiological Responses of *Phaseolus Vulgaris* and *Sorghum Bicolor*. *Research Journal of Biological Sciences* **2009**, *4* (12), 1292–1296.
- (84) Teerarak, M.; Laosinwattana, C.; Charoenying, P. Evaluation of Allelopathic, Decomposition and Cytogenetic Activities of *Jasminum Officinale* L. f. Var. *Grandiflorum* (L.) Kob. on Bioassay Plants. *Bioresource Technology* **2010**, *101* (14), 5677–5684.
- (85) Chou, C.-H. Allelopathic Researches in the Subtropical Vegetation in Taiwan. *Comparative Physiology and Ecology* **1980**.

- (86) Bogatek, R.; Oracz, K.; Gniazdowska, A. Ethylene and ABA Production in Germinating Seeds during Allelopathy Stress; 2005.
- (87) Galindo, J. C.; Hernández, A.; Dayan, F. E.; Tellez, M. R.; Macías, F. A.; Paul, R. N.; Duke, S. O. Dehydrozalanin C, a Natural Sesquiterpenolide, Causes Rapid Plasma Membrane Leakage. *Phytochemistry* **1999**, *52* (5), 805–813.
- (88) Baziramakenga, R.; Leroux, G. D.; Simard, R. R.; Nadeau, P. Allelopathic Effects of Phenolic Acids on Nucleic Acid and Protein Levels in Soybean Seedlings. *Canadian Journal of Botany* **1997**, *75* (3), 445–450.
- (89) Batish, D. R.; Singh, H.; Kaur, S. Crop Allelopathy and Its Role in Ecological Agriculture. *Journal of Crop Production* **2001**, *4* (2), 121–161.
- (90) Bertin, C.; Weston, L. A.; Huang, T.; Jander, G.; Owens, T.; Meinwald, J.; Schroeder, F. C. Grass Roots Chemistry: Meta-Tyrosine, an Herbicidal Nonprotein Amino Acid. *Proceedings of the National Academy of Sciences* **2007**, *104* (43), 16964–16969.
- (91) Muscolo, A.; Panuccio, M.; Sidari, M. The Effect of Phenols on Respiratory Enzymes in Seed Germination. *Plant Growth Regulation* **2001**, *35* (1), 31–35.
- (92) Singh, A.; Singh, D.; Singh, N. Allelopathic Activity of *Nicotiana Plumbaginifolia* at Various Phenological Stages on Sunflower. *Allelopathy Journal* **2015**, *36* (2).
- (93) Hayat, S.; Hayat, Q.; Alyemeni, M. N.; Wani, A. S.; Pichtel, J.; Ahmad, A. Role of Proline under Changing Environments: A Review. *Plant signaling & behavior* **2012**, *7* (11), 1456–1466.
- (94) Gniazdowska, A.; Bogatek, R. Allelopathic Interactions between Plants. Multi Site Action of Allelochemicals. *Acta Physiologiae Plantarum* **2005**, *27* (3), 395–407.
- (95) Sheteawi, S.; Tawfik, K. Interaction Effect of Some Biofertilizers and Irrigation Water Regime on Mungbean (*Vigna Radiate*) Growth and Yield. *Journal of Applied Sciences Research* **2007**, *3* (3), 251–262.
- (96) Wu, H.; Pratley, J.; Lemerle, D.; Haig, T.; Verbeek, B. Wheat Allelopathic Potential against a Herbicide-Resistant Biotype of Annual Ryegrass; 2001.
- (97) Duke, S. O.; Dayan, F. E.; Rimando, A. M.; Schrader, K. K.; Aliotta, G.; Oliva, A.; Romagni, J. G. Chemicals from Nature for Weed Management. *Weed science* **2002**, *50* (2), 138–151.
- (98) *Lantana (Lantana camara), un arc-en-ciel de couleurs : fleur, plantation, bouturage, entretien.* <https://jardinage.lemonde.fr/dossier-555-lantana-camara-arc-ciel-couleurs.html> (accessed 2022-07-22).
- (99) Kato-Noguchi, H.; Kurniadie, D. Allelopathy of *Lantana Camara* as an Invasive Plant. *Plants* **2021**, *10* (5), 1028. <https://doi.org/10.3390/plants10051028>.
- (100) Walton, C. Global Invasive Species Database (2022) Species Profile: *Lantana Camara*., 2006.
- (101) Sabia Imran; Lokesh Ravi. Phytochemical Composition and Pharmaceutical Potential of *Lantana* Sp: A Review. *AJP* **14** (2).
- (102) Rose, I. Medicinal Plants of the World: Chemical Constituents, Traditional and Modern Medical Uses. **1999**.
- (103) Ganjewala, D.; Sam, S.; Khan, K. H. Biochemical Compositions and Antibacterial Activities of *Lantana Camara* Plants with Yellow, Lavender, Red and White Flowers. *EurAsian Journal of BioSciences* **2009**, *3* (1), 69–77.
- (104) Begum, S.; Wahab, A.; Siddiqui, B. S. Pentacyclic Triterpenoids from the Aerial Parts of *Lantana Camara*. *Chemical and pharmaceutical bulletin* **2003**, *51* (2), 134–137.
- (105) Sastri, B. The Wealth of India. *Council of Scientific and Industrial Research, New Delhi* **1962**, 425.
- (106) Kirtikar, K.; Basu, B. Indian Medicinal Plants. *Indian Medicinal Plants*. **1935**.
- (107) Binggeli, P. *Lantana Camara, Fankatavinakoho, Fotatra, Lantana, Mandadrieko, Rajejeka, Radredreka, Ramity.*; 2003.
- (108) Sharma, G. P.; Raghubanshi, A. S.; Singh, J. S. *Lantana* Invasion: An Overview. *Weed Biology and Management* **2005**, *5* (4), 157–165. <https://doi.org/10.1111/j.1445-6664.2005.00178.x>.
- (109) Everist, S. L. *Poisonous Plants of Australia*; Sydney (Australia) Angus and Robertson, 1974.
- (110) Peng, Z.; Bhattarai, K.; Parajuli, S.; Cao, Z.; Deng, Z. Transcriptome Analysis of Young Ovaries Reveals Candidate Genes Involved in Gamete Formation in *Lantana Camara*. *Plants* **2019**, *8* (8), 263. <https://doi.org/10.3390/plants8080263>.

- (111) Swarbrick, J. T.; Willson, B. W.; Hannan-Jones, M. A. The Biology of Australian Weeds 25. *Lantana Camara* L. 14.
- (112) Sharma, O. P.; Sharma, S.; Pattabhi, V.; Mahato, S. B.; Sharma, P. D. A Review of the Hepatotoxic Plant *Lantana Camara*. *Critical Reviews in Toxicology* **2007**, *37* (4), 313–352. <https://doi.org/10.1080/10408440601177863>.
- (113) Achhireddy, N. R.; Singh, M. Allelopathic Effects of *Lantana* (*Lantana Camara*) on Milkweedvine (*Morrenia Odorata*). *Weed Science* **1984**, *32* (6), 757–761.
- (114) Putnam, A. R.; Duke, W. B. Allelopathy in Agroecosystems. *Annual review of phytopathology* **1978**, *16* (1), 431–451.
- (115) Ferguson, J. J.; Rathinasabapathi, B.; Chase, C. A. Allelopathy: How Plants Suppress Other Plants: HS944/HS186, 3/2013. *Edis* **2013**, *2013* (3).
- (116) Kartika, K. M.; Suryati, S.; Efdi, M. A Triterpenoid Compound From The Leaves of *Lantana Camara* Linn. *IJFAC (Indonesian Journal of Fundamental and Applied Chemistry)* **2018**, *3* (1), 18–22.
- (117) Caesar, P. A. J. Kumar, " Studies on Phytochemical Screening of Leaf Fraction of *Lantana Camara* Linn.", *Journal of Pharmacy Research* **2016**, *10*, 304–307.
- (118) Swamy, M. K.; Sinniah, U. R.; Akhtar, M. S. In Vitro Pharmacological Activities and GC-MS Analysis of Different Solvent Extracts of *Lantana Camara* Leaves Collected from Tropical Region of Malaysia. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine* **2015**, *2015*, e506413. <https://doi.org/10.1155/2015/506413>.
- (119) Singh, M.; Tamma, R. V.; Nigg, H. N. HPLC Identification of Allelopathic Compounds From *Lantana Camara*. *J Chem Ecol* **1989**, *15* (1), 81–89. <https://doi.org/10.1007/BF02027775>.
- (120) Jain, R.; Singh, M.; Dezman, D. J. Qualitative and Quantitative Characterization of Phenolic Compounds from *Lantana* (*Lantana Camara*) Leaves. *Weed Science* **1989**, *37* (3), 302–307. <https://doi.org/10.1017/S0043174500071964>.
- (121) Sharma, S. H.; Rajamanickam, V.; Nagarajan, S. Antiproliferative Effect of P-Coumaric Acid Targets UPR Activation by Downregulating Grp78 in Colon Cancer. *Chemico-Biological Interactions* **2018**, *291*, 16–28.
- (122) Yamaguchi, M.; Baile, C. A.; Zhu, S.; Shoji, M. Bioactive Flavonoid P-Hydroxycinnamic Acid Stimulates Osteoblastogenesis and Suppresses Adipogenesis in Bone Marrow Culture. *Cell and tissue research* **2013**, *354* (3), 743–750.
- (123) Kong, C. H.; Wang, P.; Zhang, C. X.; Zhang, M. X.; Hu, F. Herbicidal Potential of Allelochemicals from *Lantana Camara* against *Eichhornia Crassipes* and the Alga *Microcystis Aeruginosa*. *Weed Research* **2006**, *46* (4), 290–295. <https://doi.org/10.1111/j.1365-3180.2006.00509.x>.
- (124) Sharma, O. P.; Sharma, S.; Dawra, R. K. Reversed-Phase High-Performance Liquid Chromatographic Separation and Quantification of Lantadenes Using Isocratic Systems. *Journal of Chromatography A* **1997**, *786* (1), 181–184.
- (125) Sharma, O. P.; Vaid, J.; Sharma, P. D. Comparison of Lantadenes Content and Toxicity of Different Taxa of the *Lantana* Plant. *Journal of chemical ecology* **1991**, *17* (11), 2283–2291.
- (126) PRITAM SHARMA, O. Natural Products of the *Lantana* Plant: The Present and Prospects. *Journal of scientific & industrial research* **1989**, *48* (10), 471–478.
- (127) Sharma, M.; Sharma, P. D.; Bansal, M. P.; Singh, J. Synthesis, Cytotoxicity, and Antitumor Activity of Lantadene-A Congeners. *Chemistry & Biodiversity* **2007**, *4* (5), 932–939.
- (128) Sharma, M.; Sharma, P.; Bansal, M. Lantadenes and Their Esters as Potential Antitumor Agents. *Journal of natural products* **2008**, *71* (7), 1222–1227.
- (129) Sharma, O. P.; Dawra, R. K.; Ramesh, D. A Triterpenoid Acid, Lantadene D from *Lantana Camara* Var. *Aculeata*. *Phytochemistry* **1990**, *29* (12), 3961–3962.
- (130) Sharma, O. P.; Vaid, J.; Pattabhi, V.; Bhutani, K. K. Biological Action of Lantadene C, a New Hepatotoxicant from *Lantana Camara* Var. *Aculeata*. *Journal of Biochemical Toxicology* **1992**, *7* (2), 73–79.
- (131) Sharma, O. P.; Dawra, R. K.; Pattabhi, V. Molecular Structure, Polymorphism, and Toxicity of Lantadene A, the Pentacyclic Triterpenoid from the Hepatotoxic Plant *Lantana Camara*. *Journal of biochemical toxicology* **1991**, *6* (1), 57–63.

- (132) Juang, F.-C.; Chen, Y.-F.; Lin, F.-M.; Huang, K.-F. Constituents from the Leaves of *Lantana Camara* (IV). *J Chin Med* **2005**, *16* (2–3), 149–155.
- (133) Yadav, S. B.; Tripathi, V. A New Triterpenoid from *Lantana Camara*. *Fitoterapia* **2003**, *74* (3), 320–321. [https://doi.org/10.1016/S0367-326X\(03\)00034-0](https://doi.org/10.1016/S0367-326X(03)00034-0).
- (134) Vyas, N.; Argal, A. Isolation and Characterization of Oleanolic Acid from Roots of *Lantana Camara*. *Asian J. Pharm. Clin. Res* **2014**, *7* (2), 189–191.
- (135) Mariajancyrani, J.; Chandramohan, G.; Brindha, P.; Saravanan, P. GC-MS Analysis of Terpenes from Hexane Extract of *Lantana Camara* Leaves. *International Journal of Advances in Pharmacy, Biology and Chemistry* **2014**, *3* (1), 2277–4688.
- (136) Mariajancyrani, J.; Chandramohan, G.; Ravikumar, S. Terpenes and Antimicrobial Activity from *Lantana Camara* Leaves. *Research Journal of Recent Sciences* **2014**, *3* (9), 52–55.
- (137) Johns, S. R.; Lamberton, J. A.; Morton, T. C.; Soares, H.; Willing, R. I. 22b-[(S)-2-Methylbutanoyloxy]-3-Oxoolean-12-En-28-Oic Acid, a New Constituent of *Lantana Camara*. *Aust. J. Chem.* **1983**, *36* (9), 1895–1902. <https://doi.org/10.1071/ch9831895>.
- (138) Siddiqui, B. S.; Raza, S. M.; Begum, S.; Siddiqui, S.; Firdous, S. Pentacyclic Triterpenoids from *Lantana Camara*. *Phytochemistry* **1995**, *38* (3), 681–685. [https://doi.org/10.1016/0031-9422\(94\)00691-L](https://doi.org/10.1016/0031-9422(94)00691-L).
- (139) Barua, A. K.; Chakrabarti, P.; Chowdhury, M. K.; Basak, A.; Basu, K. The Structure and Stereochemistry of Lantanilic Acid, the β,β -Dimethylacryloyl Ester of Lantanilic Acid, Isolated from *Lantana Camara*. *Phytochemistry* **1976**, *15* (6), 987–989. [https://doi.org/10.1016/S0031-9422\(00\)84386-1](https://doi.org/10.1016/S0031-9422(00)84386-1).
- (140) Barua, A. K.; Chakrabarti, P.; Dutta, S. P.; Mukherjee, D. K.; Das, B. C. Triterpenoids—XXXVII: The Structure and Stereochemistry of Lantanolic Acid—a New Triterpenoid from *Lantana Camara*. *Tetrahedron* **1971**, *27* (6), 1141–1147. [https://doi.org/10.1016/S0040-4020\(01\)90861-0](https://doi.org/10.1016/S0040-4020(01)90861-0).
- (141) Begum, S.; Zehra, S. Q.; Wahab, A.; Siddiqui, B. S. Triterpenoidal Secondary Metabolites from *Lantana Camara* Linn. *Helvetica Chimica Acta* **2006**, *89* (9), 1932–1941. <https://doi.org/10.1002/hlca.200690184>.
- (142) Sharma, O. P.; Makkar, H. P. S.; Dawra, R. K. A Review of the Noxious Plant *Lantana Camara*. *Toxicon* **1988**, *26* (11), 975–987. [https://doi.org/10.1016/0041-0101\(88\)90196-1](https://doi.org/10.1016/0041-0101(88)90196-1).
- (143) Sharma, O.; Dawra, R.; Makkar, H. Toxicity of Isolated *Lantana* (*Lantana Camara* L) Constituents to Male and Female Guinea Pigs. *Veterinary and Human Toxicology* **1989**, *31* (1), 10–13.
- (144) Sharma, O. P.; Dawra, R. K.; Ramesh, D. A Triterpenoid Acid, Lantadene D from *Lantana Camara* Var. *Aculeata*. *Phytochemistry* **1990**, *29* (12), 3961–3962. [https://doi.org/10.1016/0031-9422\(90\)85377-R](https://doi.org/10.1016/0031-9422(90)85377-R).
- (145) Sharma, O. P.; Vaid, J.; Sharma, P. D. Comparison of Lantadenes Content and Toxicity of Different Taxa of the *Lantana* Plant. *Journal of chemical ecology* **1991**, *17* (11), 2283–2291.
- (146) Hart, N.; Lamberton, J.; Sioumis, A.; Soares, H. New Triterpenes of *Lantana Camara*. A Comparative Study of the Constituents of Several Taxa. *Aust. J. Chem.* **1976**, *29* (3), 655–671. <https://doi.org/10.1071/ch9760655>.
- (147) Sharma, M.; Rakhi, A.; Dalal, N.; Sharma, N. Design, Synthesis and Evaluation of Lantadene A Congener with Hydroxyl Functionality in Ring A as an Antitumour Agent. *Natural product research* **2011**, *25* (4), 387–396.
- (148) Sharma, M.; Sharma, P.; Bansal, M.; Singh, J. Lantadene A-Induced Apoptosis in Human Leukemia HL-60 Cells. *Indian Journal of Pharmacology* **2007**, *39* (3), 140.
- (149) Inada, A.; Nakanishi, T.; Tokuda, H.; Nishino, H.; Iwashima, A.; Sharma, O. P. Inhibitory Effects of Lantadenes and Related Triterpenoids on Epstein-Barr Virus Activation. *Planta medica* **1995**, *61* (06), 558–559.
- (150) Inada, A.; Nakanishi, T.; Tokuda, H.; Nishino, H.; Sharma, O. P. Anti-Tumor Promoting Activities of Lantadenes on Mouse Skin Tumors and Mouse Hepatic Tumors. *Planta medica* **1997**, *63* (03), 272–274.
- (151) Suthar, S. K.; Hooda, A.; Sharma, A.; Bansal, S.; Monga, J.; Chauhan, M.; Sharma, M. Isolation Optimisation, Synthesis, Molecular Docking and in Silico ADMET Studies of Lantadene a and Its Derivatives. *Natural product research* **2021**, *35* (21), 3939–3944.

- (152) Makboul, M. A.; Attia, A. A.; Farag, S. F.; Mohamed, N. M.; Ross, S. A.; Takaya, Y.; Niwa, M. A. New Pentacyclic Triterpenoid from the Leaves of *Lantana Montevidensis* (Spreng.) Briq. *Natural Product Research* **2013**, *27* (21), 2046–2052. <https://doi.org/10.1080/14786419.2013.824443>.
- (153) Suthar, S. K.; Boon, H. L.; Sharma, M. Novel Lung Adenocarcinoma and Nuclear Factor-Kappa B (NF-KB) Inhibitors: Synthesis and Evaluation of Lantadene Congeners. *European Journal of Medicinal Chemistry* **2014**, *74*, 135–144. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2013.12.052>.
- (154) Suthar, S. K.; Lee, H. B.; Sharma, M. The Synthesis of Non-Steroidal Anti-Inflammatory Drug (NSAID)–Lantadene Prodrugs as Novel Lung Adenocarcinoma Inhibitors via the Inhibition of Cyclooxygenase-2 (COX-2), Cyclin D1 and TNF- α -Induced NF-KB Activation. *RSC Adv.* **2014**, *4* (37), 19283–19293. <https://doi.org/10.1039/C4RA00280F>.
- (155) Kumar Suthar, S.; Sharma, N.; Boon Lee, H.; Nongalleima, K.; Sharma, M. Novel Dual Inhibitors of Nuclear Factor-Kappa B (NF- κ B) and Cyclooxygenase-2 (COX-2): Synthesis, in Vitro Anticancer Activity and Stability Studies of Lantadene–Non Steroidal Anti-Inflammatory Drug (NSAID) Conjugates. *Current Topics in Medicinal Chemistry* **2014**, *14* (8), 991–1004.
- (156) Kumar, S. S.; Tailor, N.; Lee, H. B.; Sharma, M. Reduced Lantadenes A and B: Semi-Synthetic Synthesis, Selective Cytotoxicity, Apoptosis Induction and Inhibition of NO, TNF- α Production in HL-60 Cells. *Medicinal Chemistry Research* **2013**, *22* (7), 3379–3388.
- (157) Sharma, A.; Suthar, S. K.; Aggarwal, V.; Lee, H. B.; Sharma, M. Synthesis of Lantadene Analogs with Marked in Vitro Inhibition of Lung Adenocarcinoma and TNF- α Induced Nuclear Factor-Kappa B (NF-KB) Activation. *Bioorganic & medicinal chemistry letters* **2014**, *24* (16), 3814–3818.
- (158) Abha, S.; Satsangi, G. P.; Srivastava, J. N. Allelopathic Aspects of *Lantana Camara* on Germination and Seedling Growth of *Lens Esculanta*. *Vegetos* **2012**, *25* (1), 233–235.
- (159) Julio, A.; Tandoc, W. C.; Tipace, H. D.; Vendivil, Y. F.; Yanesa, Z.; Tare, M. V. R.; Lactaen, E. J.; Clemente, K. J. Allelopathic Effect of *Lantana Camara* and *Chromolaena Odorata* Leaf Extracts on Plant Germination. 7.
- (160) Rusdy, M.; Ako, A. Allelopathic Effect of *Lantana Camara* and *Chromolaena Odorata* on Germination and Seedling Growth of *Centroma Pubescens*. *International Journal of Applied Environmental Sciences* **2017**, *12* (10), 1769–1776.
- (161) Oudhia, P. Allelopathic Effects of *Lantana Camara* L. on Chickpea. *ECOLOGY ENVIRONMENT AND CONSERVATION* **2000**, *6*, 223–225.
- (162) Vijay, B.; Jain, B. K. Allelopathic Effects of *Lantana Camara* L. on in Vitro Seed Germination of *Phaseolus Mungo*. *International Journal of Plant Sciences* **2010**, *5* (1), 43–45.
- (163) Choyal, R.; Sharma, S. K. Allelopathic Effects of *Lantana Camara* (Linn) on Regeneration in *Funaria Hygrometrica*. *Ind J Fund Appl Life Sci* **2011**, *1*, 177–182.
- (164) Ahmed, R.; Uddin, M. B.; Khan, M. A. S. A.; Mukul, S. A.; Hossain, M. K. Allelopathic Effects of *Lantana Camara* on Germination and Growth Behavior of Some Agricultural Crops in Bangladesh. *J. For. Res.* **2007**, *18* (4), 301–304. <https://doi.org/10.1007/s11676-007-0060-6>.
- (165) Zhang, Q.; Peng, S.; Zhang, Y. Allelopathic Potential of Reproductive Organs of Exotic Weed *Lantana Camara*. *Allelopathy Journal* **2009**, *23* (1).
- (166) Zheng, H. Q.; Ning, W.; Wang, L.-F.; He, P. Effects of *Lantana Camara* Leaf Extract on the Activity of Superoxide Dismutase and Accumulation of H₂O₂ in Water Hyacinth Leaf. *Zhi wu sheng li yu fen zi sheng wu xue xue bao = Journal of plant physiology and molecular biology* **2006**, *32*, 189–194.
- (167) Labruzzo, A.; Carrubba, A.; Marco, G. di; Ebadi, M. T. Herbicidal Potential of Aqueous Extracts from *Melia Azedarach* L., *Artemisia Arborescens* L., *Rhus Coriaria* L. and *Lantana Camara* L. *Allelopathy Journal* **2017**, *41* (1), 81–92.
- (168) Gindri, D. M.; Coelho, C. M. M.; Uarrota, V. G. Physiological and Biochemical Effects of *Lantana Camara* L. Allelochemicals on the Seed Germination of *Avena Sativa* L. *Pesqui. Agropecu. Trop.* **2020**, *50*.
- (169) Achhireddy, N. R.; Singh, M.; Achhireddy, L. L.; Nigg, H. N.; Nagy, S. Isolation and Partial Characterization of Phytotoxic Compounds from *Lantana* (*Lantana Camara* L.). *J Chem Ecol* **1985**, *11* (8), 979–988. <https://doi.org/10.1007/BF01020668>.

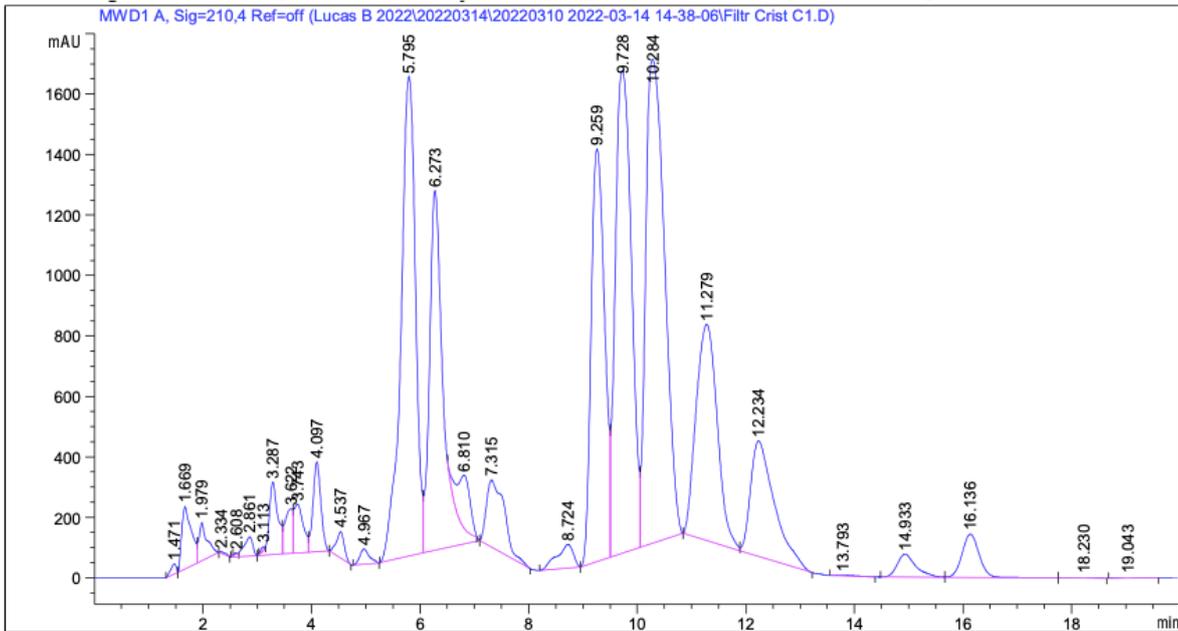
- (170) Maiti, P. P.; Bhakat, R. K.; Bhattacharjee, A. Allelopathic Effects of Lantana Camara on Physiobiochemical Parameters of Mimosa Pudica Seeds. *Allelopathy Journal* **2008**, 22 (1), 59–67.
- (171) Oudhia, P. Allelopathic Effects of Root Leachates of Some Obnoxious Weeds on Germination and Seedling Vigour of Wheat. *ECOLOGY ENVIRONMENT AND CONSERVATION* **2001**, 7, 111–113.
- (172) Hussain, F.; Ghulam, S.; Sher, Z.; Ahmad, B. Allelopathy by Lantana Camara. *Pak. J. Bot* **2011**, 43 (5), 2373–2378.
- (173) Maiti, P. Biometric Evaluation of Allelopathic Potential of Lantana Camara L. on Mimosa Seeds. *J. Crit. Rev* **2020**, 7, 837–847.
- (174) Romero-Romero, T.; Anaya, A. L.; Cruz-Ortega, R. Screening for Effects of Phytochemical Variability on Cytoplasmic Protein Synthesis Pattern of Crop Plants. *J Chem Ecol* **2002**, 28 (3), 617–629. <https://doi.org/10.1023/A:1014504531418>.
- (175) MOTWANI, G.; GOLANI, N.; SOLANKI, H. 12. ALLELOPATHIC EFFECTS OF AQUEOUS LEAF LEACHATES OF LANTANA CAMARA ON EICHHORNIA CRASSIPES By GUNJAN MOTWANI_ NEHA GOLANI AND HITESH SOLANKI. *Life Sciences Leaflets* **2013**, 35, 83 to 90–83 90.
- (176) Saxena, M. K. Aqueous Leachate of Lantana Camara Kills Water Hyacinth. *J Chem Ecol* **2000**, 26 (10), 2435–2447. <https://doi.org/10.1023/A:1005539230307>.
- (177) Mersie, W.; Singh, M. Allelopathic Effect of Lantana on Some Agronomic Crops and Weeds. *Plant Soil* **1987**, 98 (1), 25–30. <https://doi.org/10.1007/BF02381724>.
- (178) Achhireddy, N. R.; Singh, M. Allelopathic Effects of Lantana (Lantana Camara) on Milkweedvine (Morrenia Odorata). *Weed Science* **1984**, 32 (6), 757–761. <https://doi.org/10.1017/S0043174500059944>.
- (179) Wang, R.; Kang, X.; Quan, G.; Zhang, J. Influence of Lantana Camara on Soil II. Effects of Lantana Camara Leaf Litter on Plants and Soil Properties. *Allelopathy J* **2015**, 35 (2), 207–216.
- (180) Hayyat, M. S.; Safdar, M. E.; Asif, M.; Tanveer, A.; Ali, L.; Qamar, R.; H. Ali, H.; Farooq, N.; M.A. Javeed, H.; H. Tarar, Z. Allelopathic Effect of Waste-Land Weeds on Germination and Growth of Winter Crops. *Planta daninha* **2020**, 38, e020173626. <https://doi.org/10.1590/s0100-83582020380100076>.
- (181) Singh, H. P.; Batish, D. R.; Dogra, K. S.; Kaur, S.; Kohli, R. K.; Negi, A. Negative Effect of Litter of Invasive Weed Lantana Camara on Structure and Composition of Vegetation in the Lower Siwalik Hills, Northern India. *Environ Monit Assess* **2014**, 186 (6), 3379–3389. <https://doi.org/10.1007/s10661-014-3624-x>.
- (182) Hart, N.; Lamberton, J.; Sioumis, A.; Soares, H.; Seawright, A. Triterpenes of Toxic and Non-Toxic Taxa Of Lantana Camara. *Experientia* **1976**, 32 (4), 412–413.
- (183) Louw, P. Lantanin, the Active Principle of Lantana Camara L. Part 1. Isolation and Preliminary Results on the Determination of Its Constitution. **1943**.
- (184) Louw, P. Lantadene A, the Active Principle of Lantana Camara L. Part II. Isolation of Lantadene B, and the Oxygen Functions of Lantadene A and Lantadene B. **1948**.
- (185) Louw, P. G. J. Lantadene A, the Active Principle of Lantana Camara L.; Isolation of Lantadene B, and the Oxygen Functions of Lantadene A and Lantadene B. *Onderstepoort J Vet Sci Anim Ind* **1948**, 23 (1–2), 233–238.
- (186) Louw, P. G. J. Lantadene A, the Active Principle of Lantana Camara L. Part II. Isolation of Lantadene B, and the Oxygen Functions of Lantadene A and Lantadene B. **1948**.
- (187) Heikel, T.; Knight, B. C.; Rimington, C.; Ritchie, H.; Williams, E. J. Studies on Biliary Excretion in the Rabbit-I. The Effect of Icterogenin and Rehmannic Acid on Bile Flow and the Excretion of Bilirubin, Phylloerythrin, Coproporphyrin, Alkaline Phosphatase and Bromsulphalein. *Proceedings of the Royal Society of London. Series B. Biological Sciences* **1960**, 153 (950), 47–79.
- (188) Seawright, A. Toxicity for the Guinea Pig of an Extract of Lantana Camara. *Journal of Comparative Pathology* **1965**, 75 (2), 215–221.
- (189) Hart, N.; Lamberton, J.; Sioumis, A.; Soares, H.; Seawright, A. Triterpenes of Toxic and Non-Toxic Taxa Of Lantana Camara. *Experientia* **1976**, 32 (4), 412–413.

- (190) Bernstein, J. Polymorphism in Drug Design and Delivery. *Progress in clinical and biological research* **1989**, 289, 203–215.
- (191) Hilfiker, R.; Blatter, F.; Raumer, M. von. Relevance of Solid-state Properties for Pharmaceutical Products. *Polymorphism: in the pharmaceutical industry* **2006**, 1–19.
- (192) Vishweshwar, P.; McMahon, J. A.; Peterson, M. L.; Hickey, M. B.; Shattock, T. R.; Zaworotko, M. J. Crystal Engineering of Pharmaceutical Co-Crystals from Polymorphic Active Pharmaceutical Ingredients. *Chemical communications* **2005**, No. 36, 4601–4603.
- (193) Vishweshwar, P.; McMahon, J. A.; Bis, J. A.; Zaworotko, M. J. Pharmaceutical Co-Crystals. *Journal of pharmaceutical sciences* **2006**, 95 (3), 499–516.
- (194) Sharma, O. P.; Dawra, R. K.; Pattabhi, V. Molecular Structure, Polymorphism, and Toxicity of Lantadene a, the Pentacyclic Triterpenoid from the Hepatotoxic Plant Lantana Camara. *Journal of Biochemical Toxicology* **1991**, 6 (1), 57–63. <https://doi.org/10.1002/jbt.2570060108>.
- (195) Seawright, A.; HRDLICKA, J. The Oral Toxicity for Sheep of Triterpene Acids Isolated from Lantana Camara. *Australian Veterinary Journal* **1977**, 53 (5), 230–235.
- (196) McSweeney, C. Poisoning of Livestock by Lantana Camara: Pathogenesis and Treatment. **1988**.
- (197) Pass, M.; Findlay, L.; Pugh, M.; Seawright, A. Toxicity of Reduced Lantadene A (22 β -Angeloyloxyoleanolic Acid) in the Rat. *Toxicology and applied pharmacology* **1979**, 51 (3), 515–521.
- (198) Brown, J. The Chemical Pathology of Ovine Icteric States. 3. Icterogenin Induced Cholestasis. *Journal of the South African Veterinary Association* **1968**, 39 (3), 35–48.
- (199) Anderson, L., de Kock, WT** & Enslin, PR***. The Constitution of Two New Physiologically-Active Triterpenoids from Lippia Rehmanni. *South African Journal of Chemistry* **1931**, 14 (2), 58–63.
- (200) Seepe, H. A. Isolation and Characterisation of Antifungal Compounds from Medicinal Plants That Are Active against Selected Fusarium Species. Thesis, 2021.
- (201) Tijjani, A., Adebitan, S. A., Gurama, A. U., Aliyu, M., Harunam, S. G., & Mohammad, G. U. Invitro and Invivo Efficacy of Some Plant Extracts for the Control of Tomato Fruit Rot Caused by Aspergillus Flavus.
- (202) Goswami-Giri, A.; Ingawale, G. INTERNATIONAL JOURNAL OF CURRENT RESEARCH IN CHEMISTRY AND PHARMACEUTICAL SCIENCES ANTIFUNGAL ACTIVITY OF LANTADENEWHICH DEVELOPED ON EMBICA OFFICINALIS. *INTERNATIONAL JOURNAL OF CURRENT RESEARCH IN CHEMISTRY AND PHARMACEUTICAL SCIENCES* **2015**, 24.27, 26–31.
- (203) Antifungal Activity of Medicinal Plant Extracts for Potential Management of Fusarium Pathogens. *Res. on Crops* **2019**, 20 (2). <https://doi.org/10.31830/2348-7542.2019.058>.
- (204) Suthar, S. K.; Hooda, A.; Sharma, A.; Bansal, S.; Monga, J.; Chauhan, M.; Sharma, M. Isolation Optimisation, Synthesis, Molecular Docking and in Silico ADMET Studies of Lantadene a and Its Derivatives. *Natural Product Research* **2021**, 35 (21), 3939–3944. <https://doi.org/10.1080/14786419.2020.1752204>.
- (205) Kartika, K. M.; Suryati, S.; Efdi, M. A Triterpenoid Compound From The Leaves of Lantana CamaraLinn. *IJFAC (Indonesian Journal of Fundamental and Applied Chemistry)* **2018**, 3 (1), 18–22. <https://doi.org/10.24845/ijfac.v3.i1.18>.
- (206) Xing, F.; Hua, H.; Selvaraj, J. N.; Zhao, Y.; Zhou, L.; Liu, X.; Liu, Y. Growth Inhibition and Morphological Alterations of Fusarium Verticillioides by Cinnamon Oil and Cinnamaldehyde. *Food Control* **2014**, 46, 343–350. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2014.04.037>.
- (207) da Silva Bomfim, N.; Nakassugi, L. P.; Oliveira, J. F. P.; Kohiyama, C. Y.; Mossini, S. A. G.; Grespan, R.; Nerilo, S. B.; Mallmann, C. A.; Abreu Filho, B. A.; Machinski Jr, M. Antifungal Activity and Inhibition of Fumonisin Production by Rosmarinus Officinalis L. Essential Oil in Fusarium Verticillioides (Sacc.) Nirenberg. *Food chemistry* **2015**, 166, 330–336.
- (208) Sánchez, E.; Heredia, N.; García, S. Inhibition of Growth and Mycotoxin Production of Aspergillus Flavus and Aspergillus Parasiticus by Extracts of Agave Species. *International Journal of Food Microbiology* **2005**, 98 (3), 271–279. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2004.07.009>.

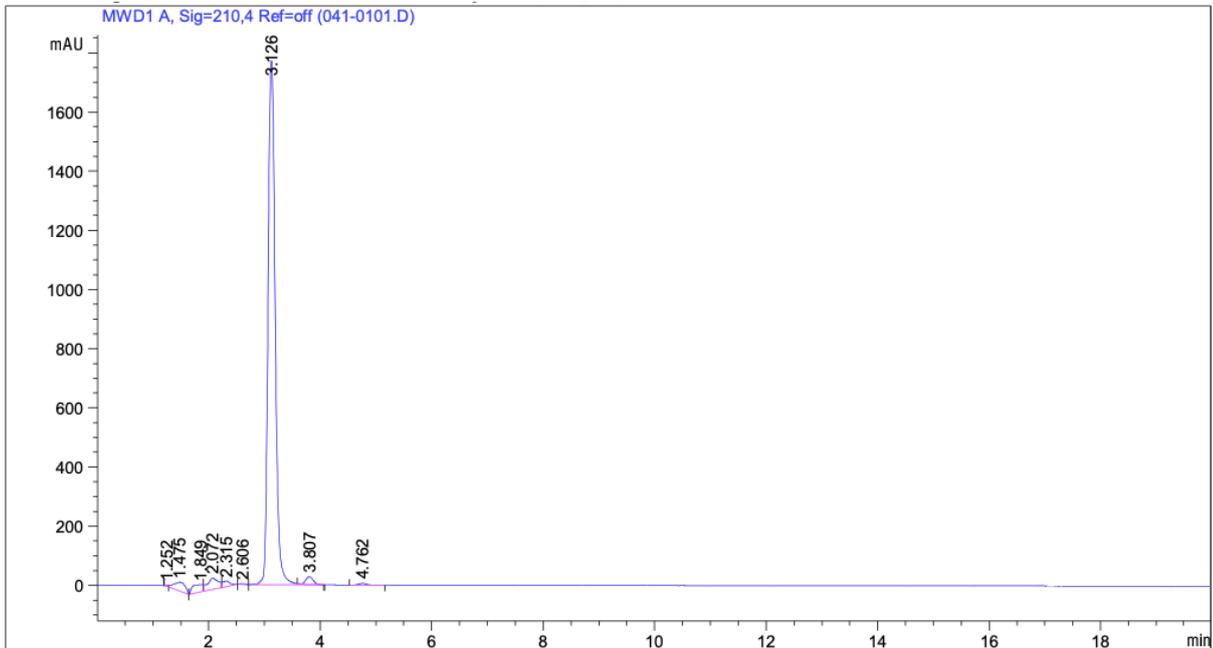
(209) FORMENTI, S.; MAGAN, N.; PIETRI, A.; BATTILANI, P. In Vitro Impact on Growth, Fumonisin and Aflatoxins Production by *Fusarium Verticillioides* and *Aspergillus Flavus* Using Anti-Fungal Compounds and a Biological Control Agent. *Phytopathologia Mediterranea* **2012**, 51 (1), 247–256.

7 Annexes

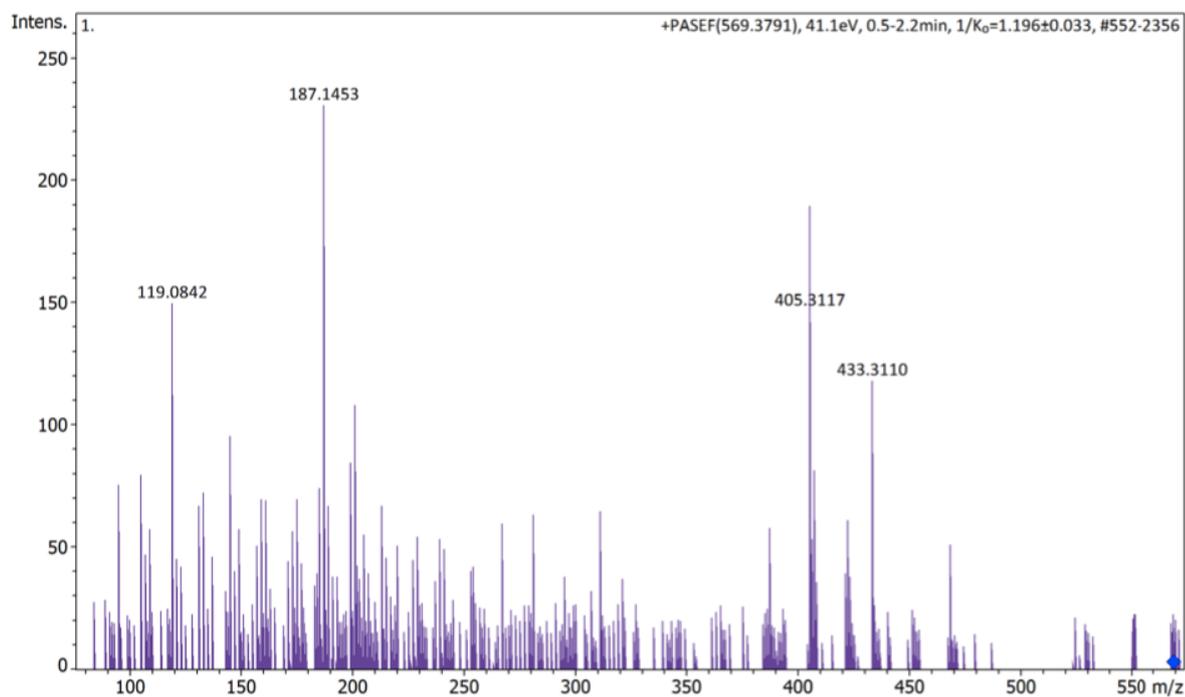
Annexe 1 : chromatogramme (HPLC analytique) du filtrat (méthanol) après recristallisation



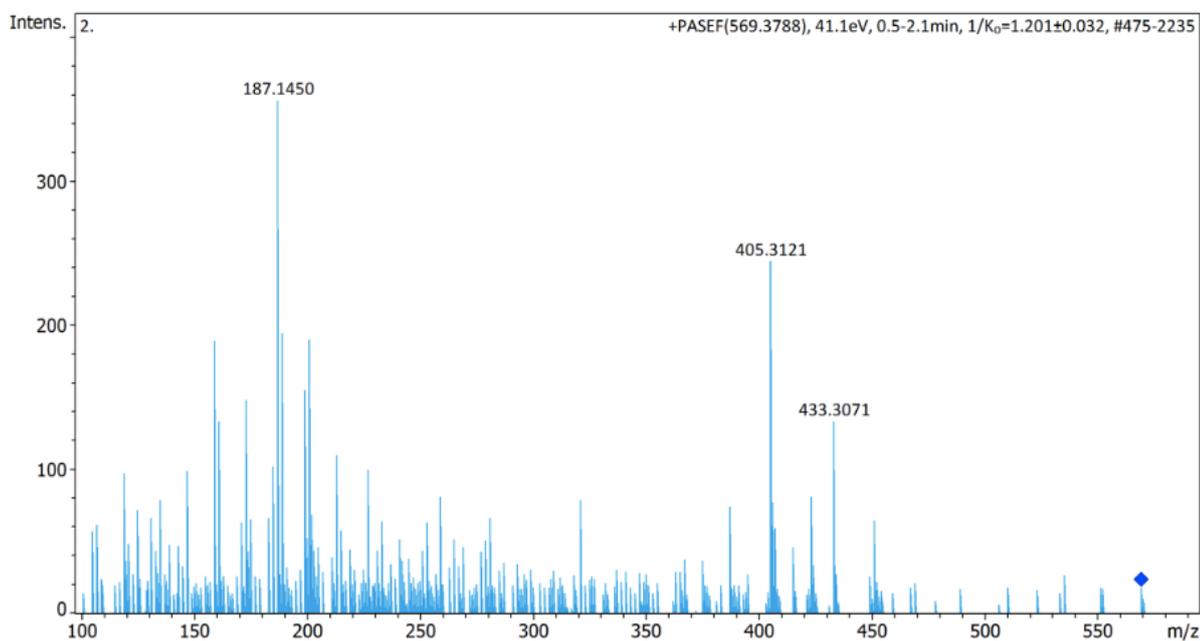
Annexe 2 : chromatogramme (HPLC analytique) du standard du lantadène A



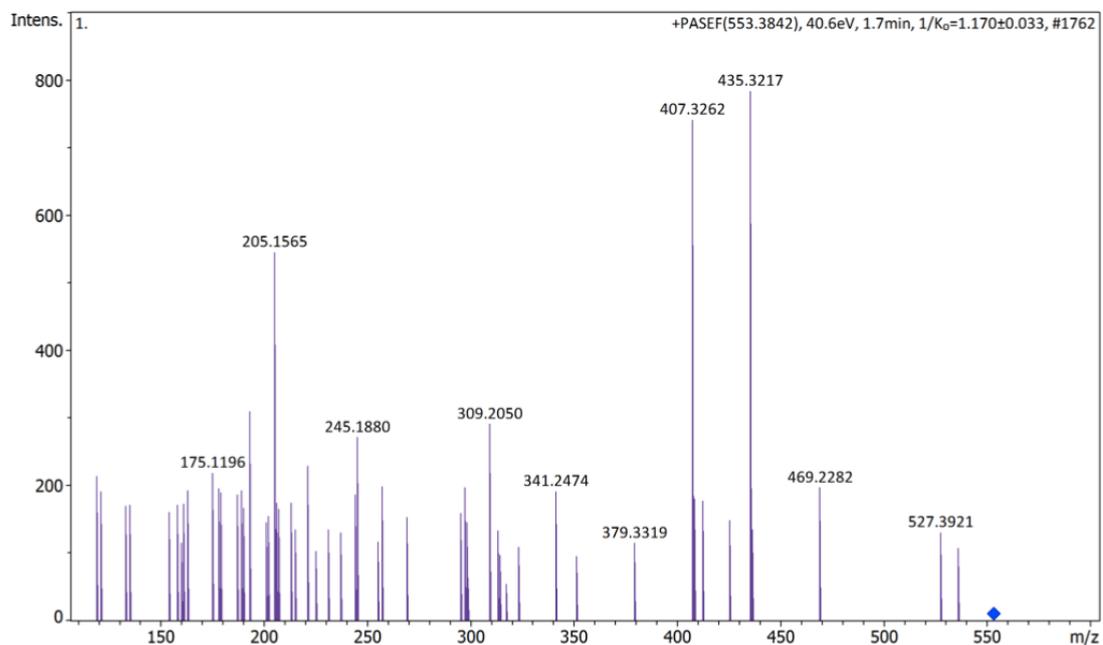
Annexe 3 : Spectromètre de masse MS-MS du pic à 569,38 m/z présent dans la fraction enrichie en molécule A



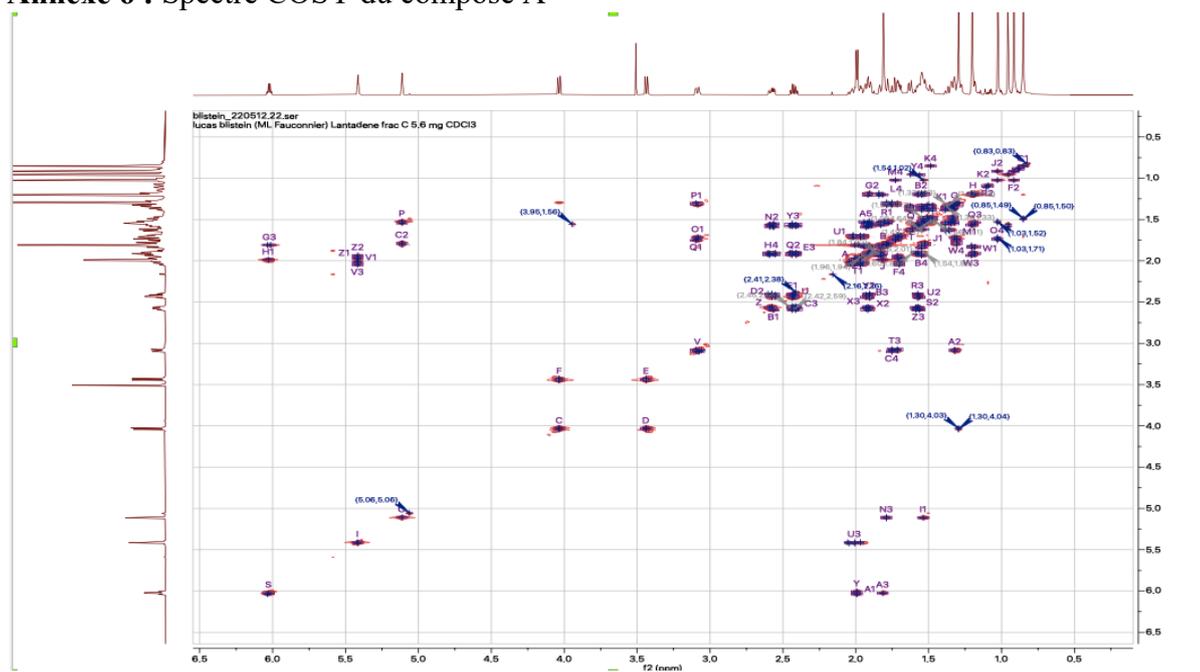
Annexe 4 : Spectromètre de masse MS-MS du pic à 569,38 m/z présent dans la fraction enrichie en molécule B



Annexe 5 : Spectromètre de masse MS-MS du pic à 553,38 m/z présent dans la fraction enrichie en molécule B

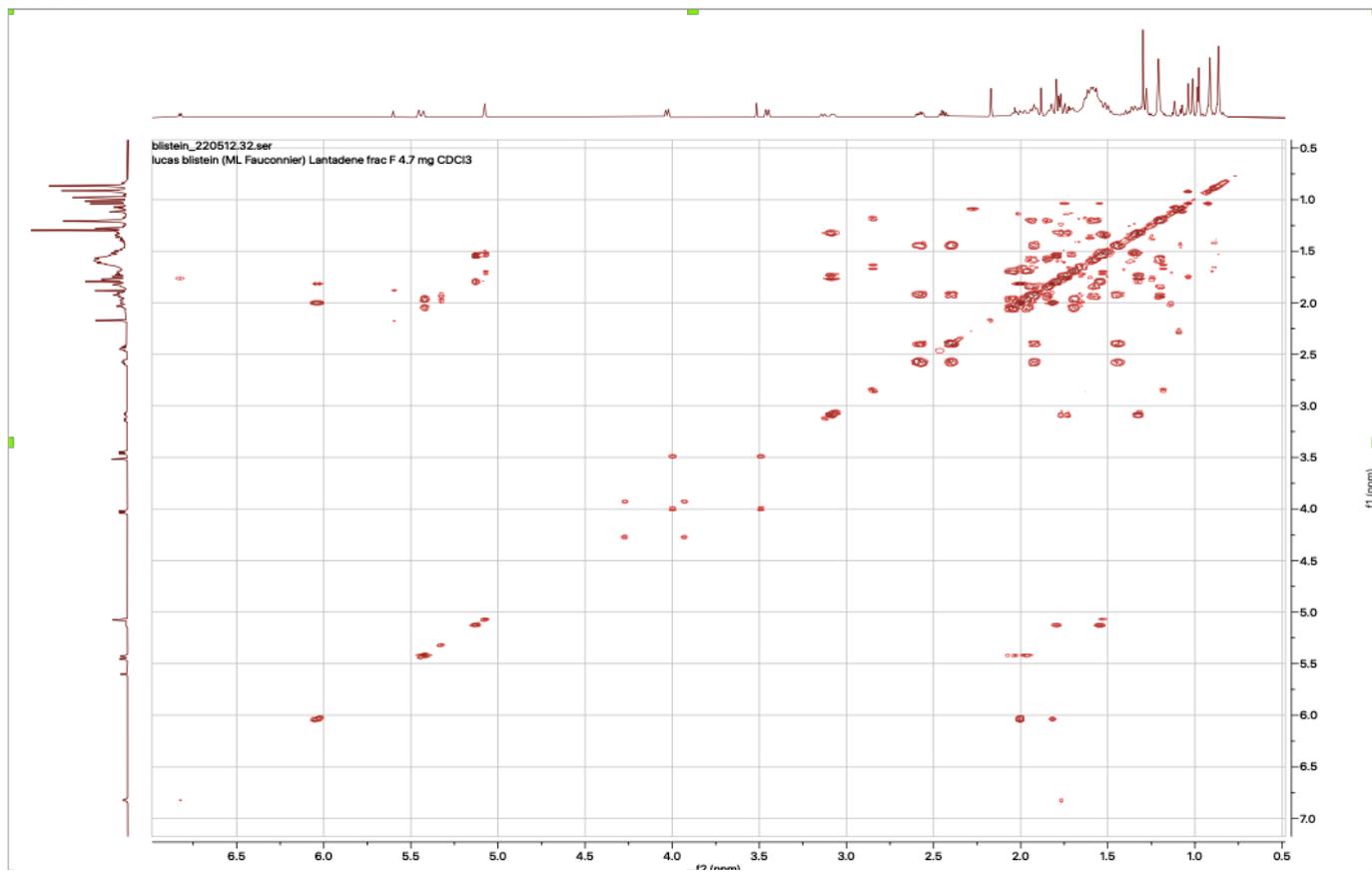


Annexe 6 : Spectre COSY du composé A

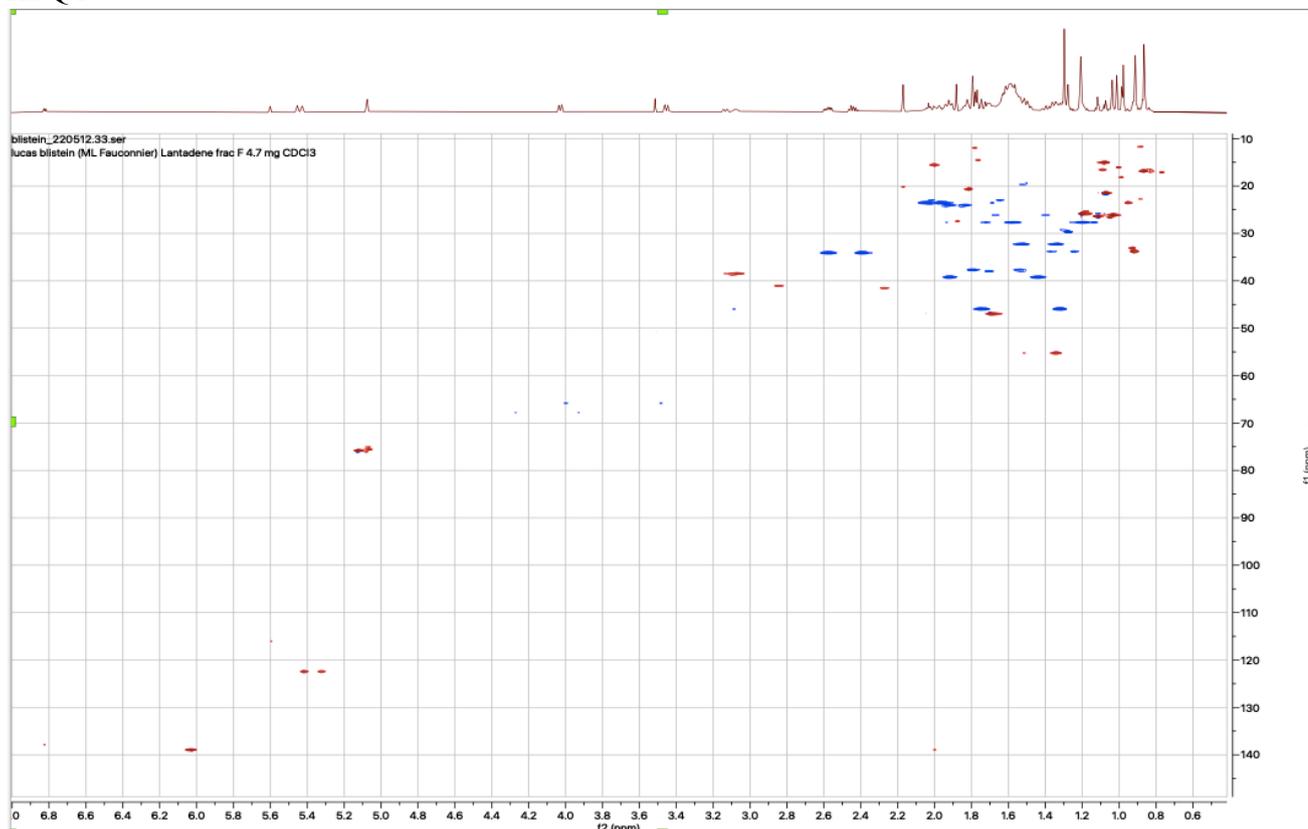


Annexe 6 : Spectres RMN 2D de la molécule B

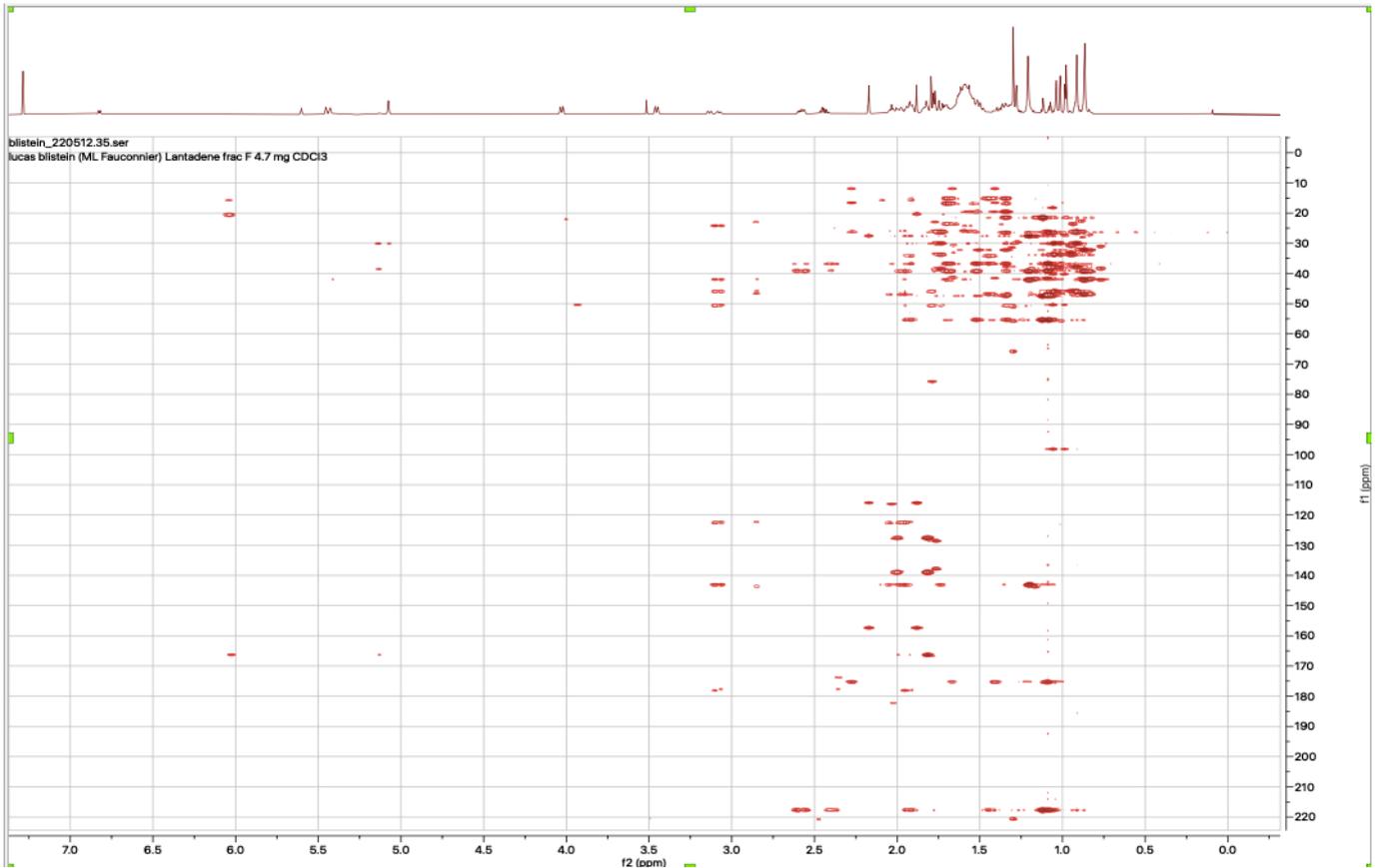
COSY



HSQC



HMBC



Annexe 8 : Test statistiques (Dunnnett) des essais biologique

Test antifongique (2^{ème} expérimentation) : *Aspergillus flavus*

Informations de groupement avec la méthode de Dunnnett et un niveau de confiance de 95 %

Modalité	N	Moyenne	Groupement
PDA (contrôle)	3	2707,7	A
ET	3	2632,7	A
L-0,1	3	1514,3	
L-0,05	3	1471,7	

Les moyennes non étiquetées avec la lettre A sont significativement différentes de la moyenne du niveau de contrôle.

Test antifongique (2^{ème} expérimentation) : *Fusarium verticillioides*

Informations de groupement avec la méthode de Dunnnett et un niveau de confiance de 95 %

Modalité	N	Moyenne	Groupement
PDA (contrôle)	3	3152,3	A
ET	3	2972,3	A
L-0,05	3	1992,3	
L-0,1	3	1861,3	

Les moyennes non étiquetées avec la lettre A sont significativement différentes de la moyenne du niveau de contrôle.

Test antigerminatif (longueur des radicules) : *Lolium perenne*

Informations de groupement avec la méthode de Dunnnett et un niveau de confiance de 95 %

Indices	N	Moyenne	Groupement
Témoin eau 1 (contrôle)	48	4,908	A
cristaux 0,1g/L 1	46	3,780	
cristaux 0,05g/L 1	48	3,690	
Témoin solvant (Ethanol 0,4%) 1	45	3,453	
cristaux 0,01g/L 1	43	3,365	

Les moyennes non étiquetées avec la lettre A sont significativement différentes de la moyenne du niveau de contrôle.

Test antigerminatif (longueur des radicules) : *Trifolium incarnatum*

Informations de groupement avec la méthode de Dunnett et un niveau de confiance de 95 %

Indices	N	Moyenne	Groupement
Témoin eau (contrôle)	47	4,783	A
cristaux 0,05g/L	50	2,714	
cristaux 0,1g/L	48	2,542	
cristaux 0,01g/L	47	2,438	
Témoin solvant (Ethanol 0,4%)	48	2,417	

Les moyennes non étiquetées avec la lettre A sont significativement différentes de la moyenne du niveau de contrôle.

Test inhibition de croissance (masse matière végétale humide >5,3cm) : *Lolium perenne*

Informations de groupement avec la méthode de Dunnett et un niveau de confiance de 95 %

modalité	N	Moyenne	Groupement
Témoin eau (contrôle)	5	0,5351	A
Témoin solvant (Ethanol 0)	5	0,5011	A
Extrait 0,01 g/L	5	0,4165	A
Extrait 0,1 g/L	5	0,3517	
Extrait 0,05 g/L	5	0,3106	

Les moyennes non étiquetées avec la lettre A sont significativement différentes de la moyenne du niveau de contrôle.