



REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE
SCIENTIFIQUE

UNIVERSITE ABOU-BEKR BELKAID – TLEMCCEN



THÈSE LMD

Présentée à :

FACULTE DES SCIENCES – DEPARTEMENT DE CHIMIE
Pour l'obtention du diplôme de :

DOCTORAT

Spécialité : *Chimie des produits naturels, analyses et applications*
Par :

Mme BOUHASSANE NADIA

Sur le thème

**SYNTHESE ET CARACTERISATION DE NOUVEAUX SYSTEMES
HETEROCYCLIQUES. ETUDE CHIMIQUE ET ACTIVITES
BIOLOGIQUES DES HUILES ESSENTIELLES *DE INULA VISCOSA*
ET DAUCUS GRACILIS STEINH / DOCKING MOLECULAIRE**

Soutenue publiquement le 23 Juillet 2023 à Tlemcen devant le jury composé de :

CHOUKCHOU- BRAHAM Noureddine	Professeur	Université de Tlemcen	Président
MERAD- BOUSSALAH Nouria	Professeur	Université de Tlemcen	Directrice de thèse
KIBOU Zahira	Professeur	Université Belhadj Bouchaib	Examinatrice
CHEMOURI Hafida	Maître de conférences A	ESSA Tlemcen	Examinatrice
DIB Mohamed El Amine	Professeur	Université de Tlemcen	Examineur
BOUSSALEM Smain	Professeur	Université Belhadj Bouchaib	Examineur

*Laboratoire des substances naturelles et bioactives (LASNABIO) BP 119, 13000 Tlemcen -
Algérie*

Dédicace :

A mes très chers parents, pour leur présence, pour leur encouragement

Pour leur persévérance quand je m'ennuyais et je perdais espoir.

Avec fierté et gratitude, j'espère que vous trouverez ici le fruit de tous vos

efforts et la consolation pour tous les sacrifices et la patience.

*A mes très chers frères : Sid Ahmed et Boumediene pour leur amour
compréhension et leur patience.*

*A mon cher mari : Benmostefa Amine pour sa présence, pour son soutien
constant, et pour sa confiance en moi.*

*A mon petit trésor, mon bijou : Lydia Rawane qui a donné à ma vie un nouveau
sens et une nouvelle couleur.*

A toute ma famille

A tous mes amis

A ceux qui me sont chers ;

Pour leur présence, leur attention, et leur sympathie.

Avec toute mon affection, gratitude et reconnaissance

Je dédie ce travail.

Remerciements

Ce travail de thèse s'organise en deux parties :

La première partie a été réalisée au sein du laboratoire de synthèse organique à l'université d'Aveiro au Portugal dans le cadre d'un stage de longue durée, pour cela j'exprime ma plus profonde gratitude pour monsieur SILVA Artur Manuel Soares, professeur à l'université d'Aveiro – Portugal et directeur de laboratoire de chimie organique et produits naturels (QOPNA), pour sa sympathie, sa gentillesse et sa merveilleuse humanité l'heure de mon accueil au sein de son laboratoire durant l'année 2017-2019.

Mes sincères remerciements sont adressés à demoiselle, Joana.L. SOUSA maître de conférences à l'université d'Aveiro – Portugal au laboratoire de chimie organique et produits naturels (QOPNA), pour son aide, sa disponibilité, sa flexibilité, ses encouragements pendant le travail de palliasse durant mon stage à l'université d'Aveiro-Portugal.

Je remercie vivement monsieur, TALHI Oualid, maître de recherche B au centre de recherche en analyse physico-chimique (CRAPC) à Tipaza Alger, pour son orientation concernant la première partie du travail de synthèse réalisé au laboratoire de chimie organique et produits naturels (QOPNA), l'université d'Aveiro – Portugal.

La deuxième partie a été réalisée au sein du laboratoire des Substances Naturelles et Bioactives (LASNABIO) de l'Université Abou Bakr Belkaid, Tlemcen, Algérie, sous la direction de madame MERAD- BOUSSALAH Nouria, professeur à l'université de Tlemcen, je vous prie de trouver ici l'expression de mes sincères et profonds remerciements pour m'avoir encadrée, et supportée au long de ce travail mais aussi je la remercie pour sa présence, sa disponibilité, ses encouragements, ses précieux conseils, tout ça a fait une grande et importante différence dans toute ma vie. Ce travail n'aurait pas été le même sans votre encadrement.

Je tiens à remercier très particulièrement monsieur DIB Mohammed El Amine, professeur à l'université de Tlemcen, qui m'a fortement aidé surtout durant cette dernière période, je le remercie infiniment car il n'a pas réservé ses connaissances ni son savoir faire.

Mes vifs remerciements pour monsieur Ghalem Said, professeur à l'université de Tlemcen, et directeur du laboratoire des Substances Naturelles et Bioactives (LASNABIO), de m'avoir accordé son autorisation pour réaliser mon travail de thèse.

Je tiens à remercier également le regretté monsieur TABTI Boufeldja, professeur à l'université de Tlemcen, pour sa compréhension, sa gentillesse et ses conseils qui m'ont toujours accompagné. Et je me souviens amèrement de son décès soudain et tragique que dieu vous fasse miséricorde.

Je remercie au fond du cœur monsieur CHOUKCHOU-BRAHAM Nouredine, professeur à l'université de Tlemcen et directeur de recherche du Laboratoire de Catalyse et Synthèse en Chimie Organique (LCSCO) de l'Université Abou Bakr Belkaid, Tlemcen de m'avoir toujours accueilli à bras ouverts dans son laboratoire, et qui a eu le grand mérite de m'avoir donné l'opportunité de décrocher mon stage. Je le remercie pour son aide, pour les conseils qu'il m'a prodigués pendant cette période, et pour sa porte qui est restée toujours ouverte.

J'exprime également toute ma reconnaissance à madame MESLI Fouzia, professeur à l'université de Tlemcen, je la remercie pour sa collaboration, merci exceptionnellement pour tout le temps que vous avez donné pour faire de la collaboration un succès.

Un très grand merci à DAOUD Ismail pour sa contribution importante, et son aide dans mon modeste travail.

Un grand remerciement pour tout le personnel du laboratoire de chimie organique et produits naturels (QOPNA), l'université d'Aveiro – Portugal, sans citer les noms pour leur accueil, leur aide et leur fluidité.

Un remerciement particulier pour Dr Hilário Tavares, pour sa contribution à obtenir les spectres RMN.

Je tiens à remercier tout le personnel du laboratoire de Catalyse et Synthèse en Chimie Organique (LCSCO) de l'Université Abou Bakr Belkaid, Tlemcen, professeurs, docteurs, ingénieurs, techniciens, collègues tous, sans citer les noms pour tous que vous m'avez offert : connaissance, bonne humeur, compagnie et amitié.

Un mot de remerciement et de louange pour monsieur, MISSOUM Nouredine maître de conférences B, université Hassiba Benbouali, Chlef, faculté de technologie, pour sa présence, sa compréhension, pour être mon parrain tout au long de mon travail.

Mes remerciements s'adressent également à :

Les membres du LASNABIO, qui m'ont accompagnée durant ces années de doctorat, mon passage entre vous était riche en souvenirs : fatigue, angoisse et rires toute une vie, merci pour tous.

Les enseignants qui ont déployés tant d'efforts pour assurer ma formation.

Je tiens à exprimer encore une fois ma gratitude envers le professeur CHOUKCHOU-BRAHAM Noureddine professeur à l'université de Tlemcen d'avoir accepté de présider le jury qui évaluera ma thèse. Sa contribution en tant qu'expert est inestimable, je suis honorée de bénéficier de ses connaissances et de son expérience.

Je tiens à remercier chaleureusement professeur KIBOU Zahira professeur à l'université Belhadj Bouchaïb d'Ain T'émouchent d'avoir accepté d'expertiser mon travail de thèse. Sa participation en tant qu'experte est une opportunité précieuse pour moi, et je suis reconnaissante de pouvoir bénéficier de ses compétences et de son évaluation éclairée pour améliorer mon travail de recherche.

Je suis extrêmement reconnaissante envers madame Hafida CHEMOURI maitre de conférences A à l'Ecole Supérieur en Science Appliquées de Tlemcen d'avoir accepté d'expertiser mon travail de thèse. Sa contribution en tant qu'experte est d'une grande valeur pour moi, et je me sens privilégiée de pouvoir bénéficier de son expertise et de ses conseils pour améliorer mon travail de recherche.

Je tiens à exprimer ma gratitude au professeur BOUSSALEM Smain professeur à l'université Belhadj Bouchaïb d'Ain T'émouchent d'avoir accepté de faire partie du jury de ma thèse. Sa présence en tant que membre du jury est très appréciée, je suis honorée de bénéficier de son expertise et de ses propositions lors de l'évaluation de mon travail de recherche.

Je tiens à exprimer une fois de plus ma sincère gratitude au professeur DIB Mohamed El Amine pour avoir accepté de faire partie du jury de ma thèse, je suis honorée d'avoir bénéficier de ses précieux conseils lors de l'évaluation de mon travail de recherche.

Je tiens à remercier mademoiselle NOUALI Fatiha, de m'avoir accompagné tout au long de mon stage, tant de partage, tant d'affection, toute une expérience.

Un remerciement spécial et du fond de mon âme pour mademoiselle ACHIRIE Rajae d'abord pour son soutien moral et son soutien pour la finition et la perfection de ce travail.

Enfin, mes remerciements de tout mon cœur vont droit à mes très chers parents que dieu protège pour m'avoir donné : existence, confiance, soutien et tous ce qui j'avais besoin pour être qui je suis maintenant et en arriver là. Que cette thèse sera le résultat de toutes les années d'effort qu'on a fournit ensemble, je vous serais à jamais reconnaissante.

SOMMAIRE

LISTE DES ABREVIATIONS	I
LISTE DES TABLEAUX	II
LISTE DES FIGURES	IV
LISTE DES SCHEMAS	VII
INTRODUCTION	1
CHAPITRE I : SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE	
I. LES HETEROCYCLES ET MOLECULES COMPLEXES (HYBRID DRUGS)	5
II. LES PLANTES AROMATIQUES ET MEDICINALES	28
III. LES HUILES ESSENTIELLES	29
IV. INTERET DE LA MODELISATION MOLECULAIRE	34
CHAPITRE II : MATERIELS ET METHODES	
I. SYNTHESE DES HYBRIDES A BASE DE 1-CINNAMOYL-1A,7A-DIHYDROCYCLOPROPA [B]CHROMEN-7 (1H)- ONE.	38
II. EXTRACTION, IDENTIFICATION ET PURIFICATION	46
III. ETUDE STATISTIQUE	49
IV. ETUDE <i>IN SILICO</i> DE L'ACTIVITE INHIBITRICE DES RECEPTEURS DU FACTEUR DE CROISSANCE VASCULAIRE ENDOTHELIALE :	51
IV.1. ETUDE DE MOLECULES SYNTHETISEES	51
IV.2. ETUDE DE H.E DE <i>INULA VISCOSA</i> DE TLEMCEN	54
V. ETUDE DE L'ACTIVITE ANTIMICROBIENNE DE H.E DE <i>DAUCUS GRACILIS STEINH</i>	50
VI. ETUDE DE L'ACTIVITE ANTI INFLAMMATOIRE <i>DAUCUS GRACILIS STEINH</i>	60
VII. ETUDE DE L'ACTIVITE INSECTICIDE DE <i>DAUCUS GRACILIS STEINH</i>	61
CHAPITRE III : RESULTATS ET DISCUSSIONS : PARTIE CHIMIQUE	
I.SYNTHESE DES HYBRIDES A BASE DE 1-CINNAMOYL-1A,7A-DIHYDROCYCLOPROPA [B]CHROMEN-7 (1H)- ONE.	63
II.ETUDE DE LA COMPOSITION CHIMIQUE ET BIOLOGIQUE DES HUILES ESSENTIELLES DE <i>INULA VISCOSA</i> ET <i>D. GRACILIS STEINH</i>	84
II.<i>INULA VISCOSA</i>	85
V. <i>DAUCUS GRACILIS STEINH</i>	92
CHAPITRE III : RESULTATS ET DISCUSSIONS : PARTIE BIOLOGIQUE	
I. ETUDE <i>IN SILICO</i> DE L'ACTIVITE INHIBITRICE DES RECEPTEURS DU FACTEUR DE CROISSANCE VASCULAIRE ENDOTHELIALE.	98
I.1. INTERACTION : ENZYME –COMPOSES (LIGANDS SYNTHETISES)	99
I.2. INTERACTION : ENZYME –COMPOSES (LIGANDS EXTRAIT DE H.E D'<i>INULA VISCOSA</i>)	105
II. ACTIVITE ANTI MICROBIENNE DE <i>DAUCUS GRACILIS STEINH</i>	125
III. ACTIVITE ANTI INFLAMMATOIRE DE <i>DAUCUS GRACILIS STEINH</i>	127
IV. ACTIVITE INSECTICIDE <i>DAUCUS</i> DE <i>GRACILIS STEINH</i>	128
CONCLUSION GENERALE ET PERSPECTIVES	130
REFERENCES	135

Liste des abréviations

RMN : Résonance Magnétique Nucléaire.

Cdc : calculated

HSQC : Heteronuclear Single Quantum Coherence.

HMBC : Heteronuclear Multiple Bond Correlation.

COSY : Correlated spectroscopy

NOESY : relaxation croisée homonucléaire.

Rdt : Rendement.

HE : huile essentielle

I viscosa : *Inula viscosa*.

D. gracilis : *Daucus gracilis steinh.*

DCM : dichlorométhane

AcOET : acétate d'éthyle

THF : tétrahydrofurane

DBU : 1,8-Diazabicyclo[5.4.0]undéc-7-ène.

ACP : analyse en composants principales

CAH : Classification Ascendante Hiérarchique

IC₅₀ : concentration inhibitrice à 50%.

VDW : van der waals

Ident : identification

Liste des Tableaux

Tableau 1 : Optimisation de la réaction de cyclopropane I avec l'hydrate d'hydrazine.

Tableau 2 : Optimisation de la réaction cyclopropane I avec phényle hydrazine.

Tableau 3 : Les additions de nitrométhane.

Tableau 4 : Données relatives aux lieux de récolte de *I viscosa* d'Algérie.

Tableau 5: Quelques informations des enzymes étudiés : VEGF (PDB ID: 5T89), VEGFR-1 (PDB ID: 3HNG) et VEGFR-2 (PDB ID: 2XIR).

Tableau 6 : Structure chimique des composés des ligands étudiés.

Tableau 7 : Divers médicaments utilisés dans les études d'amarrage *in silico*

Tableau 8 : minimisation des énergies des molécules naturelles pour les médicaments anti-angiogénique (Kcal/mol).

Tableau 9 : Composition chimique des huiles essentielles d'*I viscosa*.

Tableau 10: différence dans la composition chimique des huiles essentielles d'*I. viscosa* de différentes régions.

Tableau 11 : activités biologiques correspondantes à l'oxyde de caryophyllène.

Tableau 12 : analyse des constituants de l'huile essentielle de *D. gracilis steinh*

Tableau 13: Résultats de docking moléculaire des composés L1-L9 avec les trois cibles: VEGF (PDB ID: 5T89), VEGFR-1 (PDB ID: 3HNG) et VEGFR-2 (PDB ID: 2XIR).

Tableau 14 : bilan énergétique des complexes (enzyme-ligand) de H.E d'*Inula viscosa* Kcal/mol.

Tableau 15 : résultats des liaisons entre les ligands et les résidus du site actif sans les molécules d'eau.

Tableau 16 : les énergies des inhibiteurs du VEGF et récepteurs via Docking moléculaire

Tableau 17 : Propriétés thermodynamiques calculées en unités réelles. Pression $P^1/4P^e/r^3$, énergie de configuration $U^1/4U^Ne$, énergie cinétique de translation $EKT^1/4EKT^Ne$ et enthalpie $H^1/4H^Ne$.

Tableau 18 : Propriétés ADME des ligands de meilleur score en premier ordre.

Tableau 19 : Propriétés pharmacocinétiques de la chimie médicinale pour la notation des molécules principales

Tableau 20 : La balance énergétique des complexes formés avec VEGF de nos résultats et des travaux antérieurs.

Tableau 21: Zones d'inhibition de l'huile essentielle de *Daucus. gracilis steinh.*

Tableau 22 : La concentration minimale inhibitrice de l'huile essentielle des fleurs de *Daucus.gracilis steinh.*

Tableau 23 : pourcentage d'inhibition de la dénaturation de protéines par l'huile essentielle de *Daucus.gracilis steinh*

Liste des figures

Figure 1 : Médicaments commercialisés dérivés de pyrazole.

Figure 2 : La structure des dérivés pyrazoliques synthétisés.

Figure 3 : Structures des ligands pyrazoliques (L1-L7).

Figure 4 : Squelettes des chromones, chromanones.

Figure 5 : Structures de noyau pyrone / enamino.

Figure 6 : Exemples de bis chromones.

Figure 7 : Exemples de produits naturels et pharmaceutiques contenant le cyclopropane.

Figure 8 : Cyclopropanes insecticides.

Figure 9 : Site active des trois enzymes étudiés, (a) : VEGF (PDB ID: 5T89), (b) : VEGFR-1 (PDB ID: 3HNG) et (c) : VEGFR-2 (PDB ID: 2XIR).

Figure 10 : Modèle simplifié d'enzymes et de site actif isolé.

Figure 11 : Structure des : acide trans chrysanthemique et (+)- carène.

Figure 12 : RMN C13 de 1-(5-Phényle-*1H*-pyrazol-3-yl)-1a, 7a dihydrocyclopropa [b]chromèn-7(1H)-one.

Figure 13 : RMN- H de 3-[(5-Phényle-*1H*-pyrazol-3-yl) méthyl] chroman-4-one.

Figure 14 : RMN C13 de 3-[(5-Phényle-*1H*-pyrazol-3-yl) méthyl] chroman-4-one.

Figure 15: RMN- H de 1-(1, 5-Diphényle-*1H*-pyrazol-3-yl)-1a,7a- dihydrocyclopropa [b]chromèn-7(1H)-one.

Figure 16: RMN-H de 1-(1-Méthyl-5-phényle-*1H*-pyrazol-3-yl)-1a,7a- dihydrocyclopropa [b]chromèn-7(1H)-one

Figure 17: RMN-H de 1-(1-méthyl-5-phényl-4,5-dihydro-*1H*-pyrazol-3-yl)-1a,7a- dihydrocyclopropa[b]chromèn-7(1H)-one.

Figure 18: RMN C¹³ de 1-(1-méthyl-5-phényle-4,5-dihydro-*1H*-pyrazol-3-yl)-1a,7a- dihydrocyclopropa[b]chromèn-7(1H)-one.

Figure 19: RMN dept de 1-(1-méthyl-5-phényle-4,5-dihydro-*1H*-pyrazol-3-yl)-1a,7a- dihydrocyclopropa[b]chromèn-7(1H)-one.

Figure 20: RMN-H de 1-(4-Nitro-3-phénylebutanoyl)-1a,7a-dihydrocyclopropa[b]chromèn-7(1H)-one.

Figure 21: RMN C¹³ de 1-(4-Nitro-3-phénylebutanoyl)-1a,7a-dihydrocyclopropa[b]chromèn-7(1H)-one.

Figure 22: RMN 2D dept de 1-(4-Nitro-3-phénylebutanoyl)-1a,7a- dihydrocyclopropa [b]chromèn-7(1H)-one.

Figure 23: RMN- H du 1-(4,4-Diciano-3-phénylebutanoyl)- 1a,7adihydrocyclopropa [b]chromèn-7(1H)-one

Figure 24: RMN C¹³ 1-(4,4-Diciano-3-phénylebutanoyl)-1a,7a- dihydrocyclopropa [b]chromèn-7(1H)-one

Figure 25: RMN DEPT 1-(4,4-Diciano-3-phénylebutanoyl)- 1a,7adihydrocyclopropa [b]chromèn-7(1H)-one

Figure 26 : Illustration d'*I.viscosa*

Figure 27 : L'analyse typologique (AC) des compositions chimiques de l'huile essentielle d'*I. viscosa* du Nord- Ouest d'Algérie.

Figure 28 : l'analyse des composantes principales et répartition des variables de la composition chimique des huiles essentielles d'*I. viscosa*.

Figure 29 : Répartition géographique du *Daucus Gracilis* de l'ouest algérien.

Figure 30 : Diagramme 2D des interactions entre les composés L1, L7, L8 et NAG et le site actif de VEGF (PDB ID: 5T89).

Figure 31 : Diagramme 2D des interactions entre les composés L2, L8, L9 et 8ST et le site actif de VEGFR-1 (PDB ID: 3HNG).

Figure 32 : Diagramme 2D des interactions entre les composés L1, L2, L4 et 00J et le site actif de VEGFR-1 (PDB ID: 2XIR).**5T89-NAG**

Figure 33 : (a) le composé le mieux noté, (b) L-19 : est montré dans le site actif.

Figure 34 : (c) le composé de score le plus élevé, (d) L-4 : est montré dans le site actif.

Figure 35 : (e) le composé au meilleur score, (f) un nouveau inhibiteur L-19 est montré dans le site actif.

Figure 36 : (g) Le composé au meilleur score, (h) L-4 inhibiteur dans le site actif.

Figure 37 : (i) le composé au meilleur score, (j) L-19 est montré dans le site actif.

Figure 38 : (k) le composé de meilleur score, (l) L-4 est montré dans le site actif.

Figure 39 : structure du complexe VEGF/VEGFR1-d2 déterminée par rayons X. Le dimère VEGF est représenté en rouge et bleu et les deux VEGFR1-domaines d2 en vert.

Figure 40: Le composé - 19 Farnesylacetone est amarré dans le site de liaison du VEGF.

Figure 41 : Le composé - 19 Farnesylacetone est amarré dans le site de liaison de VEGFR-1.

Figure42: Le composé - 19 Farnesylacetone est amarré dans le site de liaison de VEGFR-2

Figure 43 : Activité insecticide de l'huile essentielle de *Daucus gracilis* après 24h d'exposition.

Liste des schémas

Schéma 1 : Voie de synthèse des dérivés de pyrazole (5a – r).

Schéma 2 : Voie synthétique des pyrazoles anti inflammatoires, anti microbiens.

Schéma 3 : Réaction d'oxydation du catéchol en ortho-quinone.

Schéma 4 : Synthèse de chalcone, pyrazole, isoxazole et thiopyrimidine.

Schéma 5: Illustration de synthèse d'agents anti cancéreux dérivés de pyrazoles.

Schéma 6 : Synthèse des chromones-3-carboxamides.

Schéma 7 : Procédé générale de synthèse des composés 3a-3r.

Schéma 8: Modèle de réaction de Simmons-Smith.

Schéma 9 : Alternative asymétrique de la synthèse totale de (+)- niranthin.

Schéma 10 : Description de synthèse de cyclopropane[b]chromones.

Schéma 11 : Synthèse de cyclopropa[b] chromanone.

Schéma 12 : Synthèse de 3-bromo-4H-chromèn-4-one.

Schéma 13: Réaction de cyclopropane I en présence l'hydrate d'hydrazine.

Schéma 14: Réaction de cyclopropane I en présence phényle hydrazine.

Schéma 15 : Réaction de cyclopropane I en présence de méthyle hydrazine.

Schéma 16 : L'addition du nitro-méthane sur le cyclopropane I.

Schéma 17 : Réaction du cyclopropane I en présence de malononitrile.

Schéma 18 : Stratégie de synthèse des hybrides à base de cyclopropa [b] chromanones.

Schéma 19 : Mécanismes proposés de la synthèse des hybrides à base de cyclopropa [b] chromanones.

Schéma 20 : Mécanismes proposés de la synthèse des hybrides à base de cyclopropa [b] chromanones.

Schéma 21 : Mécanisme de l'addition de nitrométhane à notre précurseur de base accepteur de Michael.

INTRODUCTION GENERALE

L'abondante diversité de la nature abrite une multitude de composés organiques qui ont des impacts biologiques significatifs. Ces molécules bioactives, présentes dans les plantes, les animaux et les microorganismes, jouent un rôle essentiel dans les processus biologiques et métaboliques de notre corps. Leur étude et leur utilisation potentielles offrent des opportunités passionnantes dans le domaine de la santé et de la médecine.

Les plantes, en particulier, ont développé des mécanismes de défense complexes pour faire face aux menaces environnementales. Elles synthétisent une variété de composés organiques, tels que les alcaloïdes, les polyphénols et les tannins, qui servent de boucliers naturels contre les agresseurs potentiels. Les alcaloïdes sont souvent des substances toxiques qui dissuadent les herbivores de consommer les plantes, tandis que les polyphénols et les tannins agissent comme des antioxydants, protégeant ainsi les plantes des dommages causés par les rayons UV du soleil et les attaques de microorganismes.

Les molécules bioactives présentes dans la nature regorgent une grande diversité structurelle, incluant souvent des systèmes hétérocycliques ou polyhétérocycliques. Ces motifs structuraux, formés par l'incorporation d'atomes autres que le carbone dans le cycle carboné, confèrent aux composés bioactifs des propriétés spécifiques et la capacité d'interagir de manière sélective avec des cibles biologiques particulières. Les familles de composés bioactifs se distinguent par leurs caractéristiques physico-chimiques distinctes et peuvent exhiber des activités biologiques spécifiques ou multiples. Cette diversité structurelle offre un potentiel d'applications variées dans le domaine de la santé et de la médecine.

La recherche et la compréhension des molécules bioactives, qu'elles soient d'origine naturelle ou synthétique, sont cruciales pour le développement de médicaments et de remèdes. Les chercheurs explorent ces composés afin de découvrir de nouvelles substances actives et de comprendre comment elles interagissent avec les processus biologiques de notre corps. Ils étudient leurs propriétés pharmacologiques, leurs mécanismes d'action et leur potentiel thérapeutique, en examinant leurs interactions avec les protéines, les enzymes et les récepteurs cellulaires. Ces recherches contribuent à l'identification de nouvelles options thérapeutiques et à une meilleure compréhension des voies métaboliques et des processus biologiques impliqués.

Effectivement, la création de molécules hybrides ou complexes, qui combinent différentes activités biologiques au sein d'une seule entité, présente des avantages importants

INTRODUCTION GENERALE

dans le développement de nouveaux médicaments. Ces molécules hybrides ont la capacité de cibler simultanément plusieurs voies biologiques, ce qui peut conduire à une efficacité thérapeutique accrue ou à des profils d'effets secondaires plus favorables.

Il est essentiel de reconnaître que tant les médicaments de synthèse organique que les produits naturels jouent un rôle important dans le domaine médical. Les médicaments de synthèse sont souvent développés pour une action rapide et ciblée, tandis que les produits naturels peuvent présenter des avantages tels qu'une composition chimique complexe et des effets secondaires potentiellement réduits. Le choix entre les deux dépend de plusieurs facteurs, notamment la maladie traitée, les risques associés et les préférences individuelles.

En résumé, la recherche sur les molécules bioactives, qu'elles soient d'origine naturelle ou synthétique, revêt une grande importance dans le développement de médicaments et de remèdes visant à préserver et à améliorer notre santé. Les approches naturelles et synthétiques ont toutes deux des avantages et une utilité dans différents contextes médicaux. Il est essentiel d'explorer et de comprendre les deux sources de composés bioactifs afin de bénéficier de leurs potentiels thérapeutiques et de répondre aux besoins de santé de manière diversifiée.

Dans le but de maximiser la valorisation des molécules destinées à des applications médicinales, notre attention s'est portée sur deux axes de recherche : la synthèse de molécules hybrides et l'étude des huiles essentielles de deux espèces végétales, à savoir *Inula viscosa* de la famille des *Astéracées* et *Daucus gracilis steinh* de la famille des *Apiacées*. La synthèse de molécules hybrides offre des opportunités intéressantes pour développer de nouveaux composés thérapeutiques en combinant différentes structures et propriétés pharmacologiques. Parallèlement, l'exploration des huiles essentielles de ces espèces végétales offre un potentiel prometteur en tant que sources naturelles de composés bioactifs ayant des propriétés médicinales. Cette approche multidisciplinaire vise à exploiter pleinement le potentiel de ces molécules et à contribuer au développement de nouvelles solutions thérapeutiques pour améliorer la santé et le bien-être.

Les objectifs majeurs envisagés dans ce travail de thèse sont:

Dans un premier temps :

1. La synthèse des composés hybrides à base de cyclopropane [b] chromones faisant suite aux travaux de Joana.L.Sousa [1], ainsi que la mise en œuvre de la RMN Carbone-13 et Proton pour leur caractérisation.

INTRODUCTION GENERALE

2. L'extraction des volatils des deux plantes et leur caractérisation par les techniques de la chromatographie en phase gazeuse (CPG) et la chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (CPG/SM).

Dans un deuxième temps, le volet biologique complémentaire nous permettra :

- La mise en évidence des activités anti-inflammatoire, insecticide, et antimicrobienne de l'huile essentielle de *Daucus gracilis steinh* ainsi l'évaluation de l'activité inhibitrice des facteurs de croissance vasculaire endothéliale par le biais du Docking Moléculaire [2-3], à la fois pour les molécules hybrides synthétisées et pour l'huile essentielle de *Inula viscosa*.

En vue de rendre compte de la démarche scientifique adoptée, ce manuscrit comportera trois chapitres.

Le premier chapitre est consacré à un recueil bibliographique :

- Partie synthèse : sur les hétérocycles en générale pyrazole, chromones et cyclopropane et leurs intérêts biologiques.
- Une généralité sur les substances naturelles, les huiles essentielles ainsi qu'une description botanique des deux espèces : *Inula viscosa* et *Daucus gracilis steinh*.
- Les activités biologiques des huiles essentielles : anti-inflammatoire, antibactérienne et insecticide.
- les principales techniques chromatographiques d'analyse et de caractérisation des molécules hybrides synthétisés et des huiles essentielles.
- L'intérêt et le principe de la modélisation moléculaire ainsi que les domaines d'application.

Dans le **second chapitre** de cette thèse, l'accent est mis sur l'aspect expérimental. Il détaille la démarche expérimentale adoptée ainsi que les techniques utilisées pour la synthèse des molécules hybrides. De plus, il présente l'évaluation de l'activité inhibitrice des facteurs de croissance vasculaire endothéliale, à la fois pour les molécules hybrides synthétisées et pour l'huile essentielle de *Inula viscosa*, en utilisant une approche de Docking Moléculaire. En outre, ce chapitre englobe les étapes liées aux extractions réalisées et à l'évaluation du potentiel biologique de l'huile essentielle de *Daucus gracilis steinh*.

Le **chapitre III** de cette thèse est consacré à la partie chimique et biologique de notre travail de recherche. Dans un premier temps, on décrit la synthèse d'une diversité de molécules hybrides en faisant réagir des dérivés de cyclopropane [b] chromones avec des systèmes

INTRODUCTION GENERALE

nucléophiles. On étudie également la composition chimique et la variabilité chimique des huiles essentielles issues de la partie aérienne d'*Inula viscosa*, ainsi que des fleurs de *Daucus gracilis steinh.*

Dans un deuxième temps, on se concentre sur l'évaluation de l'activité inhibitrice des facteurs de croissance vasculaire endothéliale par le biais du Docking Moléculaire, à la fois pour les molécules hybrides synthétisées et pour l'huile essentielle de *Inula viscosa*. De plus, on examine le pouvoir anti-inflammatoire, antimicrobien et insecticide de l'huile essentielle des fleurs de *Daucus gracilis steinh* [4].

CHAPITRE 1: SYNTHÈSE BIBLIOGRAPHIQUE

CHAPITRE I : SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE

I.1. Les Hétérocycles et molécules complexes (HybridDrugs)

La chimie des hétérocycles joue un rôle essentiel au sein de la chimie organique. Les hétérocycles sont des composés cycliques qui contiennent au moins un atome non carboné, tel que l'oxygène, l'azote, le soufre ou le phosphore, intégré dans le cycle.

Les hétérocycles aromatiques sont particulièrement intéressants car ils présentent des propriétés chimiques et biologiques uniques. Ils peuvent être synthétisés de différentes manières, notamment par des réactions de cyclisation et de condensation, et ils sont largement étudiés en raison de leurs nombreuses applications.

Les composés hétérocycliques sont présents dans de nombreux produits naturels et médicaments. Ils sont souvent utilisés comme motifs structurels clés dans la conception de molécules ayant des activités pharmacologiques spécifiques [5].

La présence d'un système aromatique dans les hétérocycles offre une stabilité accrue et facilite leur interaction avec les récepteurs biologiques. En ce qui concerne la stabilité des cycles aromatiques, la DFT (Density Functional Theory) est souvent utilisée pour étudier ces systèmes. Les cycles aromatiques sont des cycles de carbone conjugués avec un système d'électrons π délocalisés qui confèrent une stabilité particulière à ces structures. Cette stabilité est la raison pour laquelle les composés aromatiques, tels que le benzène, sont si courants et importants en chimie organique.

La DFT peut être utilisée pour évaluer l'énergie des cycles aromatiques et comparer leur stabilité relative. En effet, la présence d'électrons π délocalisés dans les cycles aromatiques conduit à une énergie plus basse que celle attendue pour des cycles non conjugués. Cette énergie de stabilisation est souvent appelée "énergie de résonance" ou "énergie d'aromaticité".

En utilisant la DFT, il est possible de comparer les énergies de différents cycles aromatiques et de déterminer ainsi lequel est le plus stable. Cela permet de prédire la réactivité chimique des composés aromatiques dans le but de comprendre leur comportement dans les réactions chimiques [5].

En raison de leurs propriétés biologiques intéressantes, les hétérocycles sont également utilisés dans le développement de pesticides, d'herbicides et d'insecticides. Leurs structures chimiques diverses permettent d'obtenir des composés ayant des cibles spécifiques dans les organismes nuisibles, ce qui en fait des outils efficaces dans la lutte contre les ravageurs agricoles. Ces composés ont également des activités pharmacologiques prometteuses : tels que l'antipaludisme, les analgésiques, les anticancéreux et les antifongiques [6].

CHAPITRE I : SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE

Le développement de nouvelles méthodes permettant d'accéder aux différents hétérocycles, est un domaine de recherche important. Ces hétérocycles sont largement présents dans les molécules bioactives, les médicaments de synthèse et les produits naturels, et ils présentent un intérêt immense dans de nombreux domaines. L'accès facile à ces hétérocycles revêt une grande importance dans le cadre de la chimie verte. Cela permet d'obtenir des molécules complexes et diversifiées avec un rendement élevé et à faible coût, tout en évitant le gaspillage de produits et de solvants organiques.

L'utilisation de méthodes en une seule étape, souvent appelées "one pot", pour accéder à ces systèmes hétérocycliques présente de nombreux avantages. Elle permet une simplicité opérationnelle en réduisant le nombre d'étapes et de manipulations nécessaires. De plus, elle offre une efficacité synthétique en évitant les étapes de purification et d'isolation intermédiaires, ce qui permet d'économiser du temps et des ressources [6].

Les chercheurs s'efforcent de développer de nouvelles méthodes de synthèse pour accéder à une large gamme de composés hétérocycliques. La disponibilité d'une grande variété de composés hétérocycliques permet d'explorer davantage les relations structure-activité et d'identifier des candidats prometteurs pour des applications spécifiques [7]

Ces méthodes permettent de préparer rapidement et efficacement des bibliothèques de composés, qui peuvent ensuite être criblées pour évaluer leurs propriétés physico-chimiques et biologiques. Ces études approfondies aident à comprendre la structure et les interactions des hétérocycles, ce qui facilite la conception rationnelle de composés ayant des activités spécifiques recherchées [8]. Ces approches contribuent à la découverte de nouvelles molécules aux propriétés intéressantes, dans le but ultime de développer de nouveaux médicaments, produits chimiques et matériaux plus durables et respectueux de l'environnement [8,9]

Les hétérocycles azotés à cinq chaînons sont des composés importants en chimie organique, ils sont rencontrés dans une grande variété de produits naturels ou d'origine synthétique. Depuis des années les pyrazoles et dérivés, ces aromatiques simples de la série des diazoles, ont pris une place prestigieuse dans la chimie des hétérocycles. Leur présence dans différents squelettes de molécules montre un intérêt pharmaco biologique très intéressant. Connus pour leurs activités : anti tumorale, anti microbienne, stimulant sexuel, anti oxydants, anti prolifératifs, anti-inflammatoires et neuraux-protectives. Parmi les dérivés du pyrazole il existe des médicaments très réputés pour leurs pouvoirs analgésiques, et antipyrétiques. La phénylbutazone et la Celecoxib bien connues comme médicaments anti-inflammatoires [8].

CHAPITRE I : SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE

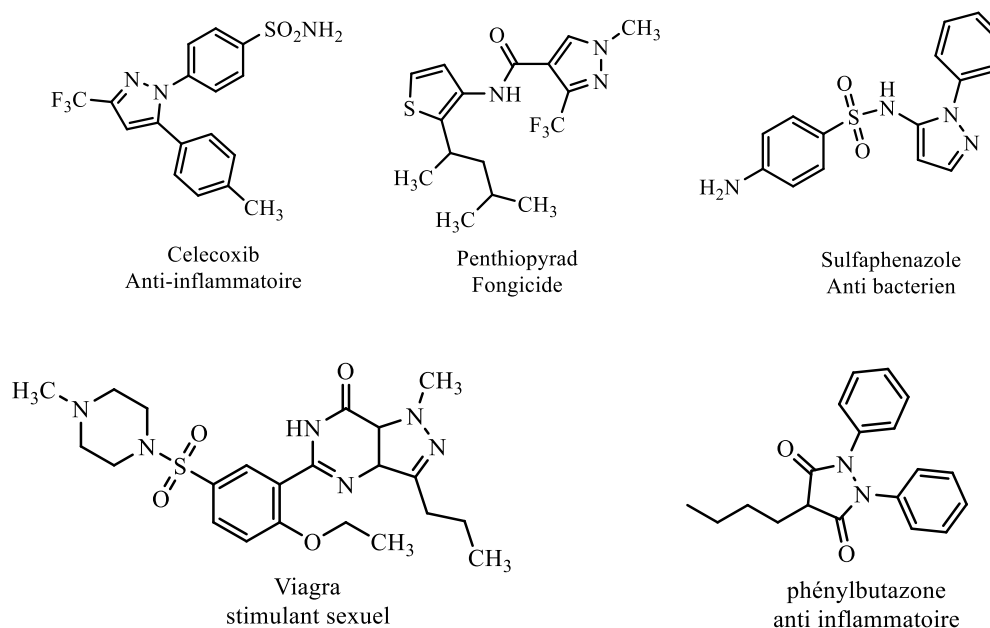


Figure 1 : Médicaments commercialisés dérivés de pyrazole.

Les composés basés sur les hétérocycles azotés saturés ont été mis en évidence, en raison de leur cytotoxicité sélective contre les lignées cellulaires HELA, MCF-7, A-549, MGC-803. Il est à noter que les composés azotés sont très fluorescents ce qui les rendent très intéressants comme marqueurs biologiques [10].

Ces composés possèdent une sélectivité élevée et sont largement utilisés dans la synthèse asymétrique pour produire des hétérocycles azotés chiraux, qui peuvent également exhiber des propriétés biologiques remarquables, telles que des activités anticancéreuses, anti-inflammatoires, etc.

Les découvertes et avancées dans le domaine des hétérocycles azotés chiraux démontrent leur importance en tant que candidats potentiels pour le développement de nouveaux médicaments et composés biologiques actifs. Leur capacité à introduire une activité biologique spécifique tout en présentant une chiralité contrôlée en fait des outils précieux dans la recherche chimique et pharmaceutique [11].

La recherche et le développement de méthodologies synthétiques novatrices visant à préparer des hétérocycles azotés chiraux et à exploiter leur potentiel en tant que candidats médicaments ou composés biologiquement actifs revêtent une importance cruciale pour la découverte de nouveaux traitements et pour la compréhension des mécanismes biologiques [11].

CHAPITRE I : SYNTHÈSE BIBLIOGRAPHIQUE

Les molécules hybrides sont des composés chimiques qui intègrent différents domaines structuraux possédant des fonctions biologiques distinctes. Cette caractéristique leur confère une action pharmacologique double ou triple, car elles agissent simultanément sur plusieurs cibles biologiques grâce à la présence de plusieurs pharmacophores distincts.

En effet, la conception de nouveaux médicaments avec une meilleure efficacité et moins d'effets secondaires est un défi majeur pour les industries pharmaceutiques. Pour relever ce défi, la communauté scientifique explore le développement de pharmacophores hybrides, qui sont des molécules combinant plusieurs entités structurales et ayant des modes d'action polyvalents. L'objectif est de créer des composés qui peuvent cibler plusieurs voies biologiques ou avoir des propriétés multiples, ce qui peut améliorer l'efficacité thérapeutique [12].

Les pyrazoles sont des hétérocycles qui ont démontré différentes activités et propriétés intéressantes, ce qui en fait des candidats attrayants pour la conception de nouveaux médicaments. Leur potentiel polyvalent peut être exploité en les combinant avec d'autres entités moléculaires, telles que les chromones et les chromanones.

Les chromones sont des composés oxygénés qui jouent un rôle important dans la chimie des hétérocycles. Ils sont présents dans de nombreuses sources naturelles et peuvent également être synthétisés. Les chromones sont reconnues comme des produits biologiques d'excellence, offrant diverses vertus thérapeutiques. En tant qu'unités de base dans de nombreux composés chimiques, ils permettent un accès rapide et facile à d'autres entités moléculaires [13].

La combinaison des pyrazoles avec les chromones et les chromanones permet de créer de nouveaux pharmacophores hybrides avec des propriétés combinées. Cette approche offre la possibilité de développer des composés qui peuvent cibler plusieurs cibles biologiques ou présenter des activités multiples, ce qui peut potentiellement conduire à des médicaments plus efficaces et à spectre plus large.

En résumé, l'intérêt de combiner les pyrazoles avec d'autres entités moléculaires, comme les chromones et les chromanones, réside dans la possibilité de créer de nouveaux composés avec des propriétés structurales et un mode d'action polyvalent. Cette approche permet d'explorer de nouvelles voies pour le développement de médicaments plus efficaces et offre de nouvelles opportunités dans le domaine de la recherche pharmaceutique.

I.1.1. Les hétérocycles azotés (Pyrazole) : Travaux antérieurs.

Une étude menée par Nagabhushana Nayak et coll. [14] a mis en évidence l'activité antituberculeuse des dérivés de pyrazole. Il est encourageant de constater que les composés

CHAPITRE I : SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE

hétérocycliques présentent une activité significative contre la tuberculose, une maladie infectieuse majeure à l'échelle mondiale. La découverte de nouveaux agents antituberculeux efficaces revêt une importance cruciale pour lutter contre la résistance aux médicaments et améliorer les traitements existants.

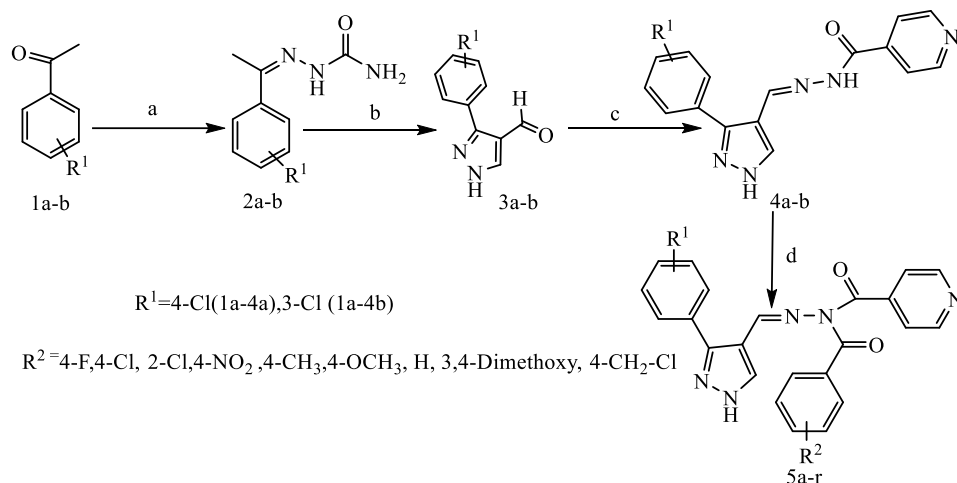


Schéma 1 : Voie de synthèse des dérivés de pyrazole (5a – r).

Les résultats obtenus révèlent que les composés 5j, 5k, 5l et 4b ont démontré une efficacité remarquable en tant qu'agents anti-tuberculeux, avec une concentration minimale inhibitrice (CMI) inférieure ou égale à 4,9 μM . Ces composés ont présenté une activité supérieure à celle de l'éthambutol, utilisé comme contrôle positif dans cette étude.

Le composé 5I s'est révélé être le plus actif avec une concentration minimale inhibitrice (CMI) de 1,7 μM , ce qui est comparable à celle de l'isoniazide, un médicament puissant largement utilisé dans le traitement de la tuberculose. Cette observation suggère que le composé 5I pourrait avoir le potentiel d'être développé comme un agent thérapeutique prometteur pour le traitement de la tuberculose.

Dans une étude menée par R. Surendra Kumar coll. [15], une nouvelle série de composés (1-6) a été synthétisée et caractérisée en utilisant la technique de condensation sous irradiation ultrasonore. Les molécules synthétisées ont été évaluées pour leurs activités anti-inflammatoire et antimicrobienne. Les composés ont été obtenus avec de bons rendements allant de 72% à 87%.

CHAPITRE I : SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE

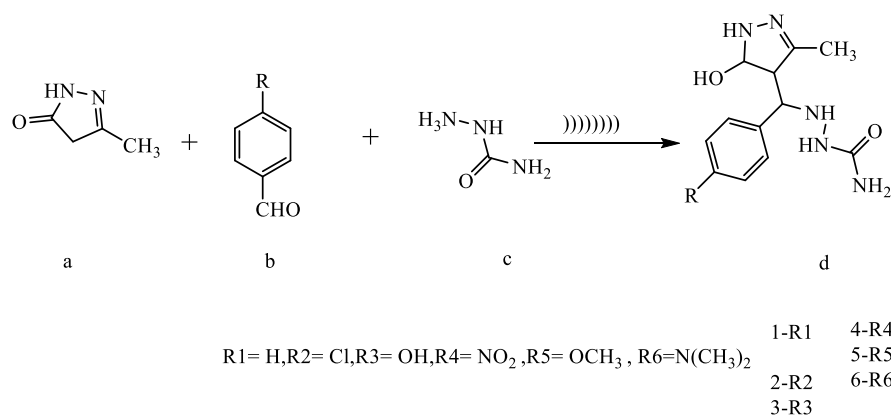


Schéma 2 : Voie synthétique des nouveaux pyrazoles : comme agents anti-inflammatoires, antimicrobiens.

Les résultats obtenus pour cette série de composés révèlent des activités pharmacologiques intéressantes dans différents domaines. Le composé 3 a montré une activité particulièrement efficace contre la bactérie gram-négative *Escherichia coli*, avec une concentration minimale inhibitrice (CMI) de 0,25 µg/mL, dépassant celle de ses analogues. D'autre part, le composé 4 a démontré une forte résistance contre la bactérie gram-positive *Streptococcus epidermidis*, avec une CMI de 0,2525 µg/mL, comparée au standard Ciprofloxacine. Le composé 2 a également présenté une activité antifongique contre *Aspergillus niger*, avec une CMI de 1 µg/mL. En outre, le composé 4 a affiché une remarquable activité anti-inflammatoire par rapport au standard Diclofénac sodique.

Ces résultats mettent en évidence le potentiel pharmacologique et biologique de ces composés, suggérant qu'ils pourraient servir de précurseurs pour la synthèse et le développement de nouveaux agents bis-actifs ayant à la fois des propriétés antibactériennes et anti-inflammatoires. La recherche dans le domaine de la conception de nouveaux médicaments revêt une importance cruciale pour les chercheurs et l'industrie pharmaceutique, car elle vise à développer des médicaments plus efficaces avec moins d'effets secondaires indésirables. Il est donc essentiel de concevoir de nouveaux pharmacophores hybrides qui présentent plusieurs propriétés structurales et un mode d'action polyvalent, permettant une activité thérapeutique double ou triple.

L'étude menée par Abridach et coll. en 2014 [16] décrit la synthèse d'une série de composés bidentés à base de pyrazole et évalue leur activité anticancéreuse. La synthèse de ces composés a été réalisée en condensant le (composé A), le (3,5-diméthyl-1H-pyrazol-1-yl)

CHAPITRE I : SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE

méthanol et le (composé B), Pyrazol-1-yl-méthanol, avec une série d'amines primaires appropriées dans de l'acétonitrile sous reflux pendant 4 heures.

La bibliothèque de 14 composés obtenue a ensuite été testée pour son activité antiproliférative contre deux lignées cellulaires, le cancer du colorectal et le cancer du sein. Les résultats ont démontré que tous les composés présentent une activité antiproliférative, mais avec des différences d'activité entre les différents composés testés.

Parmi les composés étudiés, le composé 7 s'est révélé être le plus actif contre les lignées cellulaires MDA-MB 231 (cancer du sein) et LOVO (cancer colorectal) avec un IC₅₀ égal à 8,5 µg/mL. Ces résultats sont prometteurs et suggèrent que les composés pyrazoliques pourraient avoir un potentiel en tant qu'agents anticancéreux.

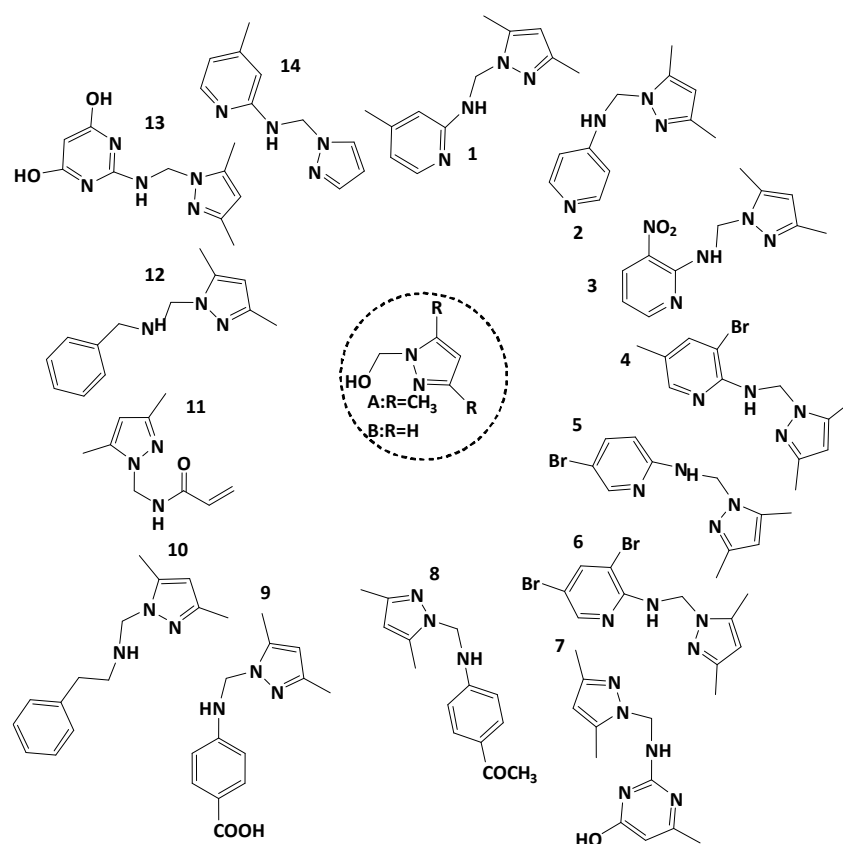


Figure 2: La structure des dérivés pyrazoliques synthétisés.

Il convient de souligner que cette étude représente une étape initiale dans l'évaluation de l'activité anticancéreuse de ces composés, et des recherches supplémentaires sont nécessaires pour mieux comprendre leur mode d'action et évaluer leur efficacité *in vivo*. Cependant, les résultats préliminaires sont encourageants et justifient des investigations plus poussées sur le potentiel de ces composés pyrazoliques en tant qu'agents anticancéreux.

CHAPITRE I : SYNTHÈSE BIBLIOGRAPHIQUE

L'étude menée par M. El Youbi et coll. en 2015 [17] visait à évaluer le potentiel antimicrobien de la série de composés précédemment synthétisés par Abridach et coll. en 2013 et 2014 [16,18]. Les composés ont été testés *in vitro* en tant qu'agents antifongiques contre la souche fongique *Fusariumoxysporum,f.sp.albidinis*, ainsi qu'en tant qu'agents antibactériens contre trois souches bactériennes, à savoir *Bacillus subtilis*, *Micrococcusluteus* et *Escherichia coli*.

Les résultats préliminaires ont montré que les composés contenant des groupes hydroxyle (OH) et des substituant phényle dans leur structure présentaient une meilleure activité antibactérienne. De plus, les analogues de ces composés contenant des groupes bromure (Br) se sont révélés plus efficaces contre la souche fongique testée.

Ces résultats suggèrent que la présence d'hétéroatomes (tel que l'azote), des cycles aromatiques et de halogènes dans les composés améliore considérablement leur activité antimicrobienne. Ces caractéristiques structurales peuvent jouer un rôle clé dans l'interaction avec les cibles microbiennes, ce qui conduit à une activité accrue contre les champignons et les bactéries testés.

Cependant, il est important de noter que ces résultats sont préliminaires et que des études supplémentaires sont nécessaires pour évaluer plus en détail l'activité antimicrobienne de ces composés. Des tests *in vivo* et des études de toxicité sont également nécessaires pour évaluer leur potentiel en tant qu'agents antimicrobiens.

En conclusion, cette étude suggère que les composés pyrazoliques de la série testée, contenant des hétéroatomes, des cycles aromatiques et des halogènes, présentent une activité antimicrobienne prometteuse. Ces résultats fournissent des pistes pour la conception de nouveaux agents antimicrobiens basés sur la structure des pyrazoles, qui pourraient être explorés davantage pour le développement de médicaments antibactériens et antifongiques.

En effet, la catalyse biomimétique est un sujet d'actualité croissant dans le domaine de la chimie. Elle se réfère à l'utilisation de catalyseurs inspirés de processus biologiques pour faciliter des réactions chimiques spécifiques. Les systèmes biologiques, tels que les enzymes, sont connus pour leur efficacité et leur sélectivité dans les transformations chimiques, et la catalyse biomimétique cherche à reproduire ces caractéristiques dans des réactions chimiques synthétiques.

L'utilisation de catalyseurs biomimétiques présente plusieurs avantages. Tout d'abord, ces catalyseurs peuvent permettre des réactions plus sélectives, minimisant ainsi la formation de sous-produits indésirables. De plus, ils peuvent fonctionner dans des conditions plus douces, nécessitant moins d'énergie et de ressources. En outre, la catalyse biomimétique peut offrir des

CHAPITRE I : SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE

voies de synthèse plus efficaces pour la production de produits chimiques, contribuant ainsi à des processus de fabrication plus durables et respectueux de l'environnement.

Les chercheurs explorent différentes stratégies pour développer des catalyseurs biomimétiques, que ce soit en utilisant des complexes de métaux de transition, des nanoparticules ou d'autres systèmes catalytiques inspirés de la nature. Les réactions d'intérêt comprennent la formation de liaisons carbone-carbone, les réactions d'oxydation et de réduction, ainsi que d'autres transformations chimiques clés.

La catalyse biomimétique offre un potentiel prometteur pour développer de nouvelles méthodes de synthèse chimique, permettant la préparation de produits complexes de manière efficace et sélective. Cela peut avoir un impact significatif dans divers domaines, tels que la production de produits pharmaceutiques, de produits chimiques fins et de matériaux avancés.

En résumé, la catalyse biomimétique représente une approche passionnante dans le domaine de la chimie, où l'inspiration est tirée des processus biologiques pour concevoir des catalyseurs efficaces et sélectifs. Cette approche prometteuse vise à développer des méthodes de synthèse plus durables, plus efficaces et plus respectueuses de l'environnement [19].

L'étude menée par A. Mouadili et coll. [19] décrit les propriétés catalytiques de complexes de cuivre II formés in situ à partir de ligands à base de pyrazole. Les ligands (L1-L7) ont été préparés en condensant du 3,5-diméthyl-1*H*-pyrazol-1-yl méthanol avec des dérivés d'amine correspondants dans de l'acétonitrile pendant 4 heures de reflux, selon une méthode précédemment décrite dans la littérature [18].

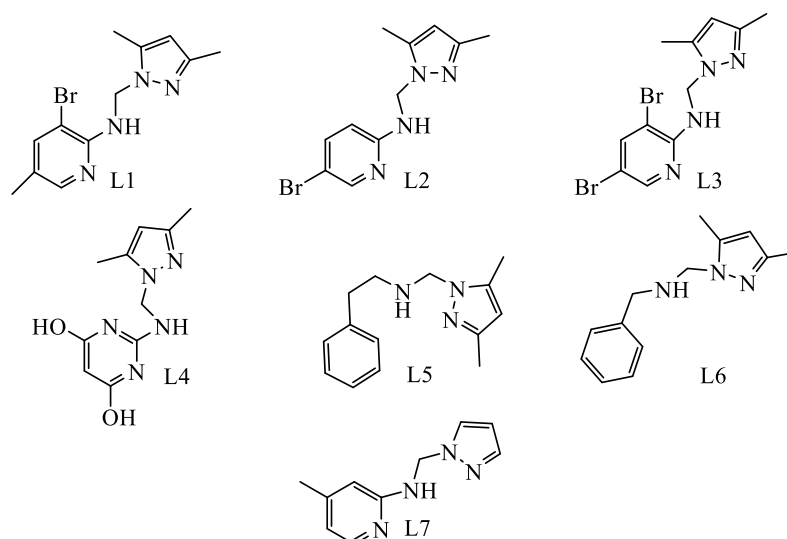


Figure 3 : Structures des ligands pyrazoliques (L1-L7).

L'objectif de l'étude était de reproduire la fonction de la catéchol oxydase de la tyrosinase, une métallo-enzyme impliquée dans la formation de la mélanine et d'autres pigments. Plusieurs

CHAPITRE I : SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE

essais ont été réalisés au laboratoire afin de mieux comprendre la réaction d'oxydation des catéchols en ortho-quinones et les phénomènes se déroulant dans le site actif de cette métallo-enzyme. Le schéma 8 illustre la réaction du catéchol en ortho-quinone.

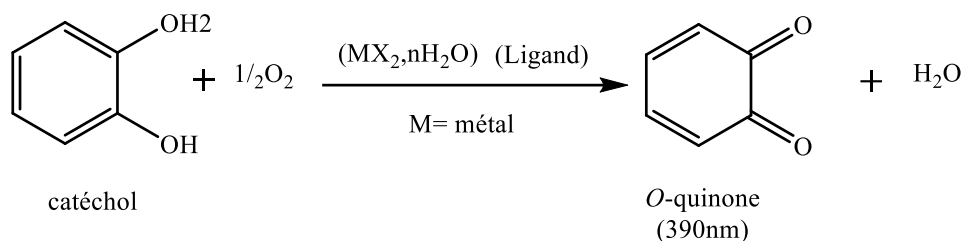


Schéma 3 : Réaction d'oxydation du catéchol en ortho-quinone.

Les résultats de l'étude ont montré que tous les complexes formés à partir des ligands pyrazoliques et de différents sels de cuivre avaient la capacité d'oxyder le catéchol en ortho-quinone à température ambiante en présence d'oxygène de l'air (activité catécholase). Cependant, ces complexes étaient incapables d'oxyder les phénols en catéchols (activité tyrosinase).

Les chercheurs ont conclu que l'activité catalytique dépendait de plusieurs facteurs tels que la nature du ligand, la nature du contre-anion et des ions métalliques, la concentration du ligand et la nature du solvant. Cette variation des vitesses de réaction d'oxydation a été observée, par exemple, avec une vitesse de $27,449 \mu\text{mol.L}^{-1} \text{ min}^{-1}$ pour le complexe L4 $[\text{Cu}(\text{CH}_3\text{COO})_2]$, formé in situ avec un rapport ligand:sels métalliques de 1:2 dans le THF, et une vitesse de réaction de $0,0635 \mu\text{mol.L}^{-1} \text{ min}^{-1}$ pour le complexe résultant d'un équivalent de L3 et d'un équivalent de ZnCl_2 dans le méthanol.

Ces résultats mettent en évidence l'importance de divers facteurs dans l'activité catalytique des complexes formés à partir des ligands pyrazoliques et des sels de cuivre II. Ils fournissent des informations précieuses pour la conception et l'optimisation de catalyseurs biomimétiques efficaces et sélectifs, qui peuvent être utilisés dans des réactions chimiques synthétiques pour des applications futures.

Suite aux résultats tirés de cet étude tous les complexes formés à partir des ligands pyrazoliques et différents sel métalliques possèdent la capacité d'oxyder le catéchol en ortho-quinone à température ambiante, en présence de l'oxygène de l'air (activité catécholase). En revanche ces complexes sont incapables d'oxyder les phénols en catéchols (activité tyrosinase).

La conclusion tirée de ce travail est que l'activité catalytique dépend de plusieurs facteurs (nature du ligand, nature du contre-anion et des ions métalliques, concentration du ligand et

CHAPITRE I : SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE

nature du solvant) expliquée par la grande variation des vitesses des réactions d'oxydation, 27, 449 $\mu\text{mol.L}^{-1} \text{ min}^{-1}$ pour le complexe L4 $[\text{Cu} (\text{CH}_3\text{COO})_2]$, généré in situ par 1: 2 rapport ligand: sel métallique, dans le THF, à 0,0635 $\mu\text{mol.L}^{-1} \text{ min}^{-1}$ pour le complexe résultant d'un équivalent de L3 et d'un équivalent de ZnCl_2 dans le méthanol.

C'est fascinant de voir comment la conception de nouvelles molécules hybrides est devenue un besoin essentiel dans la recherche de nouveaux remèdes, y compris dans le domaine de l'oncologie. L'étude mentionnée, réalisée par Somaia S. Abd El-Karim et coll. [20], avait pour objectif de synthétiser de nouvelles molécules en vue d'évaluer leurs pouvoirs anticancéreux.

Dans cette étude, huit composés spécifiques ont été sélectionnés par l'Institut National du Cancer des États-Unis (NCI) pour évaluer leurs propriétés antiprolifératives *in vitro*.

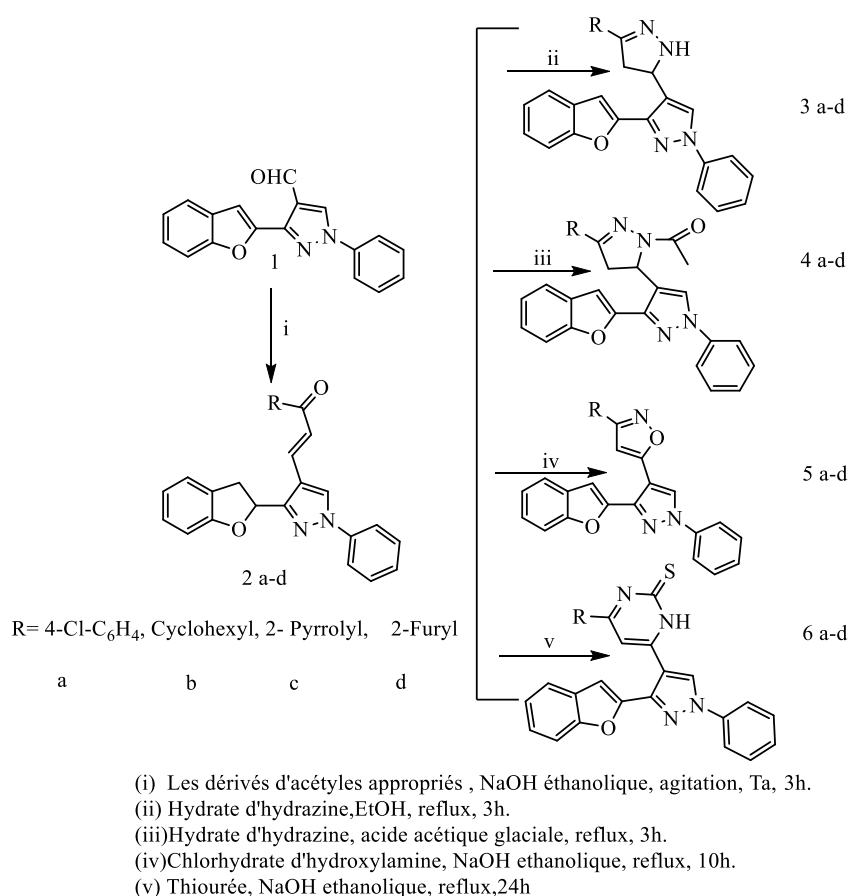


Schéma 4 : Synthèse de chalcone, pyrazole, isoxazole et thiopyrimidine.

Les composés [3a-3d] ont été conçus en mélangeant (0,002 mol) des chalcones [2a-d] et (0,2 mL 98%) d'hydrate d'hydrazine dans l'éthanol absolu, le mélange est porté à reflux

CHAPITRE I : SYNTHÈSE BIBLIOGRAPHIQUE

pendant 3h. Un précipité c'est formé durant le chauffage, une fois filtré, séché et recristallisé dans l'éthanol absolu on récupère nos produits.

Pour obtenir les [4a-4d] il suffit de remplacer l'éthanol par acide acétique glaciale.

Un mélange équimolaire de chalcones 2a – d (0,002 mol) et du chlorhydrate d'hydroxylamine (0,14 g, 0,002 mol) dans 15 ml de l'hydroxyde de sodium éthanolique à 5%, a été chauffé au reflux pendant 10 h. Après refroidissement, le précipité formé a été filtré, lavé plusieurs fois à l'eau, séché et recristallisé à partir d'éthanol absolu pour donner les composés [5a–d] respectivement.

De la même manière les composés [6a-d] ont été obtenus on substituant le chlorhydrate d'hydroxylamine par lathio-urée, pendant 24h de reflux, Le mélange réactionnel a été versé sur glace / eau froide acidifié par l'acide chlorhydrique. Le précipité formé a été filtré, lavé plusieurs fois à l'eau, séché et recristallisé afin d'avoir les produits désirés.

Il est intéressant de noter que dans cette étude, ils ont réussi à synthétiser avec succès de nouveaux dérivés hybrides benzofuranne-pyrazole. Parmi ces dérivés, huit ont été sélectionnés par l'Institut National du Cancer des États-Unis (NCI) pour évaluer leurs activités *in vitro* contre 60 lignées de cellules cancéreuses humaines à une concentration unique élevée de 10^{-5} M.

Les hybrides contenant des anneaux 3-furano-N-acétylpyrazoline et 3-furano-isoxazole, en particulier les composés 4d et 5d, ont démontré des activités anticancéreuses remarquables et à large spectre. Cependant, l'activité la plus puissante a été observée avec le dérivé portant la 3-pyrrolo-N-acétylpyrazoline 4c. Ce composé 4c a été sélectionné par la suite pour une évaluation plus approfondie par le NCI. Il a été testé contre un panel complet de lignées cellulaires à cinq concentrations minimales différentes, ce qui permet de mieux comprendre son potentiel thérapeutique dans divers contextes cellulaires.

De plus, une étude enzymatique a révélé que le composé 4c était un bon inhibiteur des kinases Src et ZAP-70. Ces kinases sont impliquées dans la régulation de la croissance et de la survie des cellules cancéreuses. L'inhibition de ces kinases est donc un mécanisme prometteur pour le développement de médicaments anticancéreux.

Les résultats obtenus suggèrent que le composé 4c pourrait être considéré comme un agent anticancéreux potentiel pour l'avenir, grâce à ses propriétés anticancéreuses remarquables, à large spectre et à son activité inhibitrice des kinases Src et ZAP-70.

Il convient de noter que ces résultats sont basés sur des évaluations *in vitro*, et des études supplémentaires, notamment *in vivo* et des essais cliniques ultérieurs, seraient nécessaires pour évaluer pleinement l'efficacité et la sécurité de ce composé en tant qu'agent anticancéreux potentiel.

CHAPITRE I : SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE

L'étude réalisée par Marwa S. Salem et coll. [21] s'est concentrée sur la création d'une série de composés à base de chromone pyrazole en tant qu'agents potentiels dans le traitement du cancer. Ces composés nouvellement synthétisés (schéma 4) ont été évalués pour leur activité anticancéreuse sur deux lignées cellulaires : le cancer du côlon humain (HCT-116) et le cancer du sein (MCF-7).

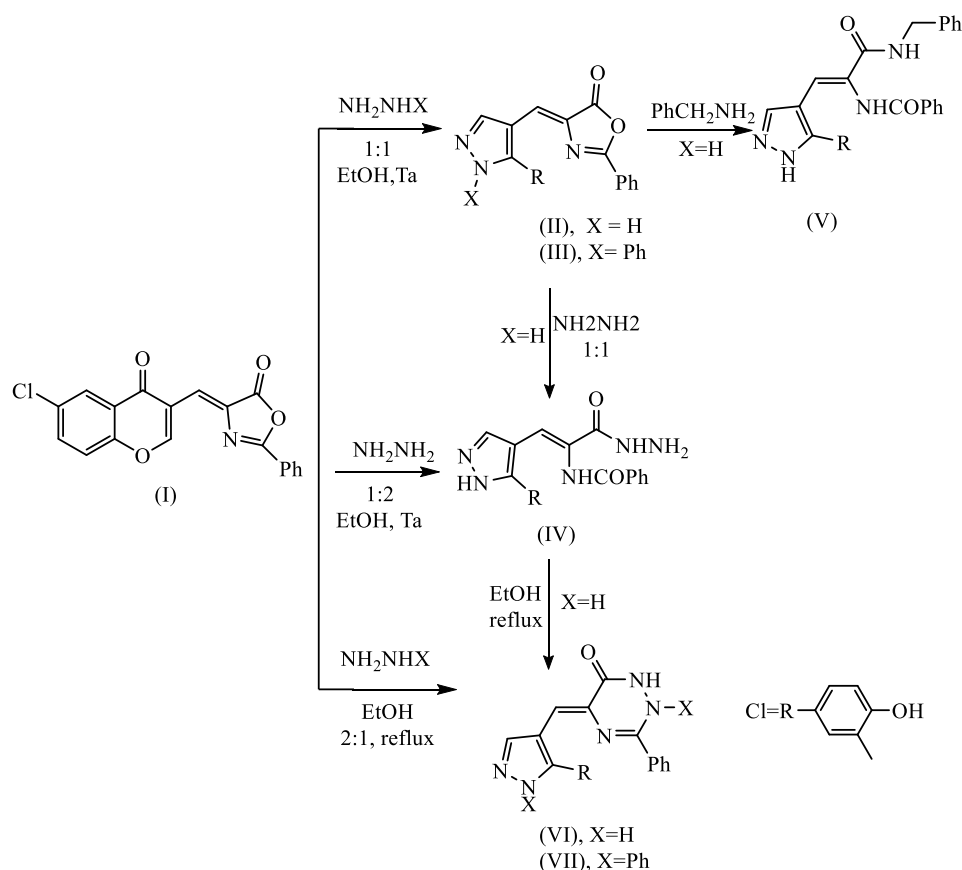


Schéma 5 : Illustration de synthèse d'agents anti-cancéreux dérivés de pyrazoles.

Les résultats obtenus lors de cette étude ont révélé que certains des composés étudiés présentaient une activité cytotoxique remarquable, surpassant même celle de la Doxorubicine, un médicament anticancéreux largement utilisé. Ces observations prometteuses suggèrent que ces composés pourraient être considérés comme des candidats prometteurs dans le développement de nouvelles stratégies antiprolifératives contre le cancer.

Ces découvertes soulignent l'importance de la recherche continue dans le domaine de la chimie des chromones pyrazoles et son potentiel pour contribuer à la mise au point de traitements pionniers contre le cancer. Cela met en évidence l'importance de la chimie médicinale et de la pharmacologie dans la recherche de solutions thérapeutiques avancées.

CHAPITRE I : SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE

I.1.2. Les hétérocycles oxygénés (Chromones/Chromanones) : Travaux antérieurs

Les chromones et les chromanones, également connus sous le nom de 2,3-dihydrochromones, sont des hétérocycles renommés pour leurs propriétés biologiques et leur utilisation dans le développement de médicaments anti-inflammatoires, tels que les flavones. Leur structure flexible permet différentes modifications, ce qui en fait d'excellents précurseurs synthétiques [22].

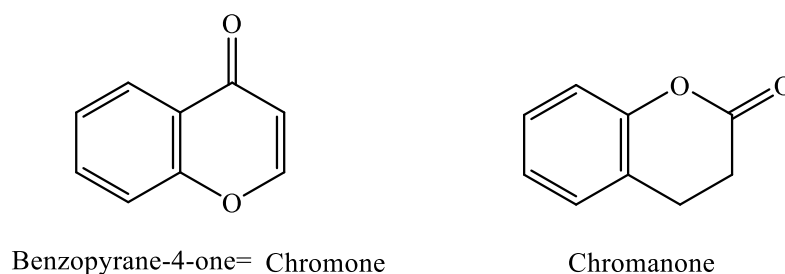


Figure 4 : Squelettes des chromones, chromanones.

Une transformation polyvalente de ce système consiste à modifier le groupe carbonyle intra-cyclique α,β -insaturé de l'anneau pyrone, ce qui conduit à la formation d'énaminochromones, d'aurones et de composés poly hétérocycliques. Cette diversité de transformations offre de nombreuses possibilités de conception et de synthèse de nouvelles molécules dotées de propriétés pharmacologiques intéressantes.

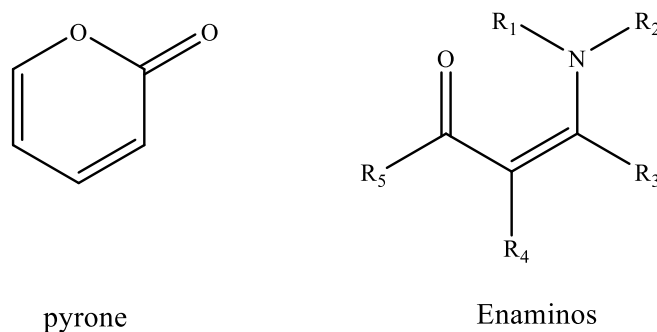


Figure 5 : Structures de noyau pyrone / enaminos.

Effectivement, les chromones occupent une place de choix dans la chimie des hétérocycles en raison de leurs propriétés variées. Dérivées de la chromone ou 1,4-benzopyrane (C₉H₆O₂), ces molécules sont couramment présentes dans le règne végétal et abondant dans la nature. Les chromones sont reconnues pour leur innocuité environnementale, ce qui en fait des composés attractifs. Elles sont utilisées à la fois comme compléments alimentaires et en phytothérapie. Elles sont largement exploitées dans l'industrie agroalimentaire. Les chromones

CHAPITRE I : SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE

sont connue pour leur large spectre d'activités pharmacologiques et biologiques, comprenant notamment des propriétés antioxydantes, anti-inflammatoires, anticancéreuses, antivirales (notamment contre le VIH) et antifongiques [23].

La chimie verte et le développement durable incitent à explorer des voies de synthèse des chromones respectueuses de l'environnement. Des efforts de recherche sont déployés pour trouver des méthodes de synthèse alternatives et durables permettant de produire une diversité de chromones. Ces études visent à développer des approches de synthèse efficaces tout en réduisant l'impact environnemental. De nouvelles méthodologies respectueuses de l'environnement sont en cours d'exploration, dans le but de promouvoir une chimie plus durable dans la synthèse de ces composés [24, 25].

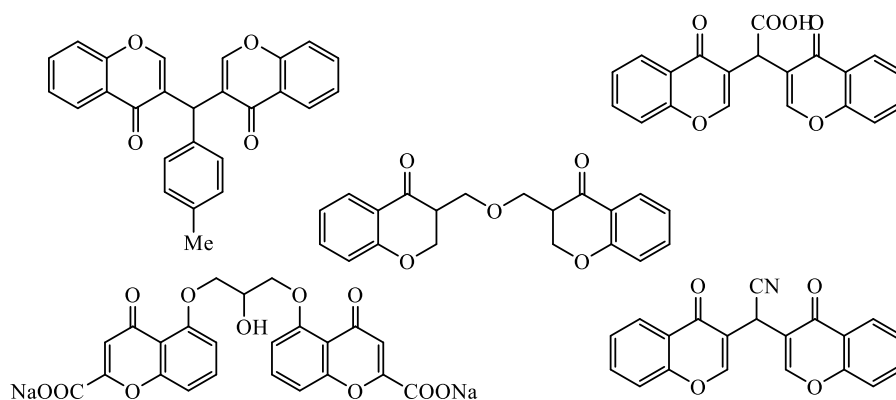


Figure 6 : Exemples de bis chromones.

La méthode de formylation de Vilsmeier-Haack, appliquée aux hydroxy acétophénone, constitue une approche efficace pour la synthèse des chromones. Cette méthode, développée par Allen T. Gordon et coll. [26], permet la conversion des hydroxy acétophénone en chromones-3-carbaldéhydes. Ces derniers peuvent ensuite être oxydés pour donner des chromones carboxyliques. Par la suite, les chromones carboxyliques obtenus peuvent être traités avec du chlorure de thionyle pour produire les chlorures acides correspondants. Ces chlorures acides peuvent alors réagir avec des amines en présence d'une base, conduisant ainsi à une nouvelle série de chromones-3-carboxamides.

Cette méthode offre une voie synthétique intéressante pour la diversification des chromones et la création de nouveaux composés à partir des hydroxy acétophénone.

CHAPITRE I : SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE

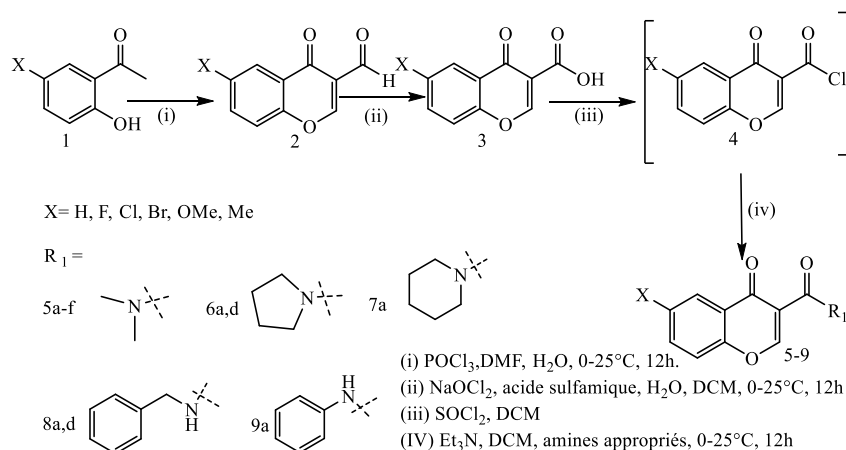


Schéma 6 : synthèse des chromones-3-carboxamides.

La méthode de formylation de Vilsmeier-Haack appliquée aux hydroxyacétophénone présente plusieurs avantages, notamment des rendements satisfaisants dans la formation des chromones-3-carboxamides. Elle constitue ainsi une voie synthétique efficace et pratique pour la synthèse de ces composés. Pour une compréhension plus détaillée de cette méthode et de ses applications spécifiques, il est recommandé de se référer à l'article d'Allen T. Gordon et coll. [26]. Les résultats et les détails expérimentaux y seront présentés en profondeur.

La méthode de formylation de Vilsmeier-Haack appliquée à la synthèse des chromones-3-carboxamides permet la création d'une nouvelle série de composés qui peuvent présenter des propriétés intéressantes et être pertinents dans divers domaines d'application, tels que la chimie médicinale et la pharmacologie. Ces composés offrent des perspectives prometteuses pour la découverte de nouveaux agents thérapeutiques ou de molécules à activité biologique. Leur potentiel dans ces domaines reste à explorer et à évaluer plus en détail.

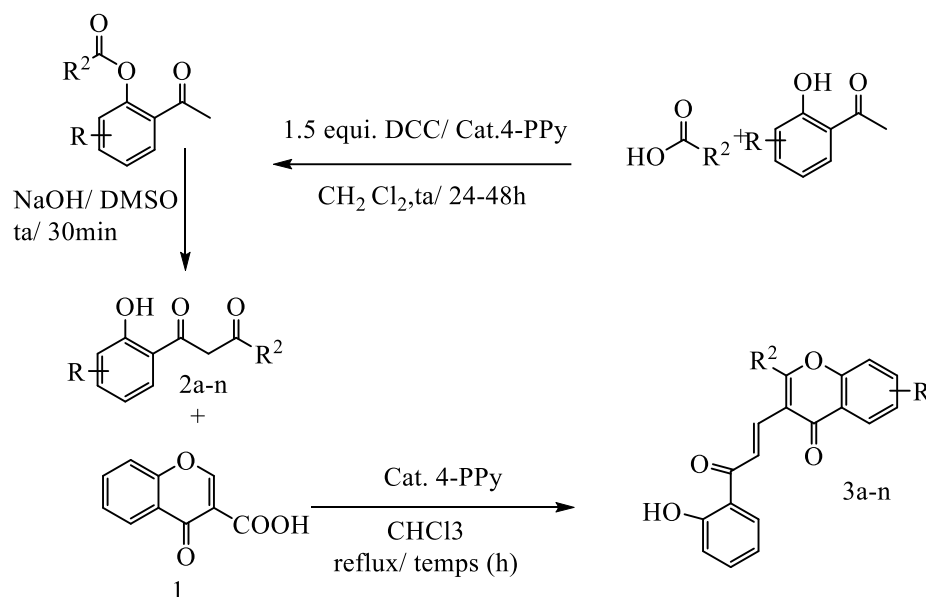
Les composés 2a et 2f ont exhibé une activité anti-inflammatoire, ce qui indique leur capacité à atténuer l'inflammation tissulaire. En revanche, les autres composés n'ont pas démontré d'activité notable dans ce domaine.

Les composés 2a et 8d ont démontré une activité anti-trypanosomiale, ce qui signifie qu'ils sont efficaces contre les parasites du genre *Trypanosoma*, responsables de la maladie du sommeil (*trypanosomiose africaine*). Les valeurs de CI₅₀ (concentration inhibitrice à 50%) pour ces composés étaient de 4,3 et 1,3 µg/mL respectivement, lorsqu'ils étaient testés sur la culture de Tb.

CHAPITRE I : SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE

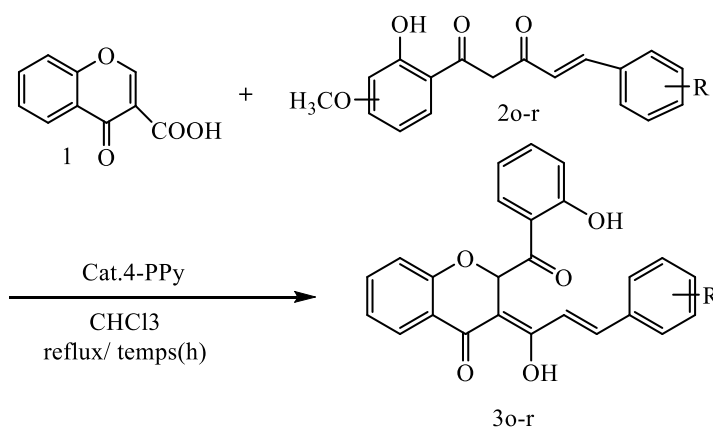
Les résultats prometteurs obtenus pour les composés 2a et 8d suggèrent leur potentiel en tant que candidats pour le développement de médicaments à activité anti-inflammatoire et anti-trypanosomiale. Toutefois, il convient de souligner que ces conclusions sont basées sur des études *in vitro* et que des investigations supplémentaires, telles que des essais *in vivo* et des tests cliniques, seront nécessaires pour évaluer pleinement leur efficacité et leur sécurité.

L'étude menée par OualidTalhi et coll. référencée sous le numéro [27], présente une série de benzopyranes-4-ones synthétisés en tandem par une réaction en une seule étape (one pot). Dans le but d'évaluer les propriétés antioxydantes des chromanones obtenues.



R²= H,méthyl, aryl, styryl

Conditions générales: 1(5.26 mmol,1g), **4PPy**(0.26mmol, 0.05 equiv 0,04g),**2a-n** (5.26mmol,1 equiv) dans 10ml de CHCl₃



Conditions générales: 1(5,26mmol,1g),**4-PPy**(0,26mmol, 0,05 equiv., 0,04g), **2o-r** (5,26mmol,1 equiv) dans 10 ml CHCl₃

Schéma 7 : Procédé générale de synthèse des composés 3a-3r.

CHAPITRE I : SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE

Les tests effectués pour évaluer les propriétés antioxydantes ont révélé que les chromanones (3o-3r) présentaient de fortes propriétés anti-radicalaires. Plus précisément, ces composés ont montré des valeurs élevées d'équivalent Trolox, mesurées en micromoles (μmol), dans le test DPPH (1,1-diphényl-2-picrylhydrazyle). L'équivalent Trolox est une mesure de l'activité antioxydante d'une substance par rapport à celle du Trolox, un composé de référence utilisé dans les études antioxydantes.

Les valeurs spécifiques obtenues pour les chromanones 3o-3r ne sont pas mentionnées, mais il est noté qu'elles étaient élevées (2,1 et 3,1 μmol d'équivalent Trolox / μmol). Ces résultats suggèrent que ces composés ont une capacité significative à neutraliser les radicaux libres dans le test DPPH, indiquant ainsi leur potentiel antioxydant.

Les antioxydants sont importants pour la santé humaine, car ils aident à neutraliser les radicaux libres, qui sont des espèces réactives pouvant causer des dommages oxydatifs dans les cellules. Les propriétés anti-radicalaires des chromanones 3o-3r suggèrent qu'ils pourraient être prometteurs en tant qu'agents antioxydants potentiels.

Cependant, il est important de noter que ces résultats sont basés sur des tests *in vitro*, qui peuvent donner une indication préliminaire des propriétés antioxydantes d'une substance. Des études supplémentaires seraient nécessaires, notamment des évaluations *in vivo* et des essais cliniques, pour évaluer pleinement l'efficacité et la sécurité de ces chromanones en tant qu'agents antioxydants potentiels.

La série de nouveaux dérivés de benzopyran-4-one décrite dans l'étude présente une méthode de synthèse basée sur la réaction en tandem d'addition de Michael sur l'acide chromone-3-carboxylique, catalysée par une base organique. Les composés obtenus ont montré un potentiel remarquable en termes de cytoprotection et d'activité anti-leucémique.

Il est intéressant de noter que les deux classes de composés qui ont présenté les meilleures activités contiennent des groupements fonctionnels curcuminoïdes et cinnamyle dans leur structure. Ces groupements fonctionnels ont contribué à leur capacité de piégeage des radicaux libres. D'autre part, les composés contenant le groupement HOPO (hydroxybenzylidène pyruvate oxime) ont également montré de bonnes activités.

CHAPITRE I : SYNTHÈSE BIBLIOGRAPHIQUE

Ces résultats indiquent que de légères modifications des substituants sur les benzopyran-4-ones permettent d'accéder à de nouveaux hétérocycles présentant un potentiel thérapeutique et chimio-préventif important.

Il est important de souligner que ces observations sont basées sur des études *in vitro* et qu'une évaluation plus approfondie serait nécessaire pour évaluer l'efficacité et la sécurité de ces composés *in vivo* et, éventuellement, dans des essais cliniques. Cependant, les résultats obtenus jusqu'à présent suggèrent que cette série de dérivés de benzopyran-4-one pourrait représenter une voie prometteuse pour le développement de composés à activité cytoprotectrice et anti-leucémique.

L'utilisation des chromones comme base pour la conception de nouvelles molécules thérapeutiques, offre une grande flexibilité et une multitude de possibilités pour la création de bibliothèques de composés ou pour le développement de molécules ciblées dans le domaine thérapeutique. Leur polyvalence et leur capacité à être modifiés de manière sélective en font des candidats attrayants pour le développement de médicaments et la recherche de nouvelles solutions thérapeutiques [25].

Les chromones sont des composés qui ont fait l'objet de nombreuses études en raison de leurs propriétés thérapeutiques avérées. Ils ont été largement utilisés dans le traitement de diverses affections, notamment les maladies inflammatoires, les allergies, les troubles respiratoires et les troubles gastro-intestinaux. Ces composés exercent leur activité pharmacologique en inhibant certaines enzymes et récepteurs qui jouent un rôle clé dans les processus pathologiques associés à ces maladies [27].

En résumé, les chromones sont des composés polyvalents qui servent de base pour la construction de diverses architectures moléculaires. Leurs propriétés thérapeutiques ont été démontrées dans de nombreux domaines, ce qui en fait des candidats prometteurs pour le développement de nouvelles molécules thérapeutiques. Grâce à leur structure chimique modifiable et à leurs capacités pharmacologiques, les chromones offrent de vastes possibilités pour la conception de médicaments innovants.

I.1.3. Les cyclopropanes

Les cyclopropanes sont couramment observés à la fois dans les produits naturels et dans les médicaments en raison de leurs propriétés pharmacologiques et de leur présence dans de nombreuses classes de composés biologiquement actifs. Ce motif cyclopropane est fréquemment trouvé dans une variété de molécules naturelles, notamment les mono- et

CHAPITRE I : SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE

diterpènes, les acides gras, les sucres et les stéroïdes, ce qui témoigne de sa prévalence dans le règne naturel. La cyclopropanation des oléfines c'est la réaction clé pour l'obtention des cyclopropanes connue comme la réaction de Simmon-Smith décrite dans le (schéma 7).

Cette réaction permet de former des cyclopropanes à partir d'oléfines en utilisant des composés organométalliques, tels que les organozinciques. Cette réaction se déroule en solution. Les réactifs, tels que les composés organozinciques, les oléfines et les catalyseurs, se dissolvent dans un solvant approprié, et la réaction se déroule dans cette solution. Il est à noter que l'utilisation de l'ultrasonication dans cette réaction à améliorer le rendement de formation des composés organozinciques, en améliorant le mélange des réactifs et en favorisant les collisions moléculaires ce qui contribue à une meilleure efficacité de la réaction [28]

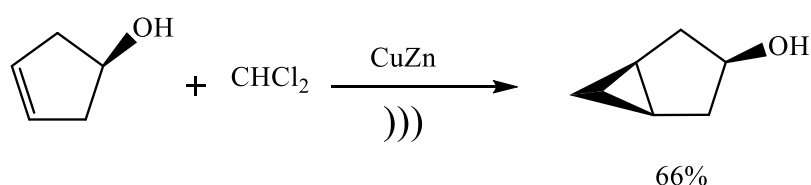


Schéma 8: Modèle de réaction de Simmons-Smith.

Le motif cyclopropane est considéré comme un pharmacophore clé en raison de ses caractéristiques physiques et chimiques uniques. Il confère une rigidité structurale aux molécules et peut influencer leurs propriétés biologiques. De nombreux médicaments approuvés contiennent des motifs cyclopropane dans leur structure, témoignant de leur importance dans la conception de composés bioactifs. La chiralité du cyclopropane joue également un rôle crucial, car elle peut avoir un impact significatif sur les propriétés physiologiques et pharmacologiques des molécules contenant cette sous-structure. Les interactions entre les motifs cyclopropane chiraux et les récepteurs biologiques chiraux peuvent être hautement spécifiques, influençant ainsi l'activité pharmacologique des composés [29].

Certains médicaments renommés contenant des motifs cyclopropane chiraux incluent l'éfavirenz(6), un antiviral utilisé dans le traitement du VIH, la saxagliptine (7), un médicament antidiabétique, et la Ciprofloxacine (8), un antibiotique couramment utilisé, (Figure 6).

La présence du motif cyclopropane dans ces molécules offre une diversité structurale et une modularité qui permettent la conception et la modification de composés présentant des propriétés spécifiques. Cela ouvre la voie à la découverte et au développement de nouveaux

CHAPITRE I : SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE

médicaments et de composés bioactifs, dotés de capacités d'interaction sélective avec les récepteurs biologiques ciblés. Ainsi, l'exploration du motif cyclopropane dans la conception de médicaments offre un potentiel prometteur pour la recherche et le développement de thérapies innovantes [29].

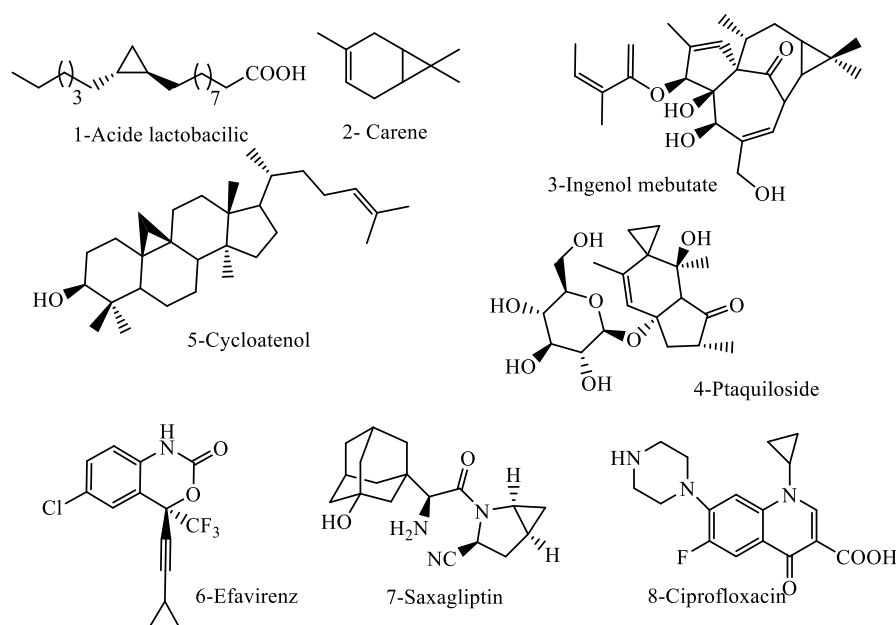


Figure 7 : Produits naturels et pharmaceutiques contenant le cyclopropane.

Les systèmes contenant du cyclopropane dans leur structure ont prouvé leur utilité en tant qu'agents pharmacologiques dans différents domaines. Ils ont montré leur efficacité en tant qu'agents anti-tumoraux, antiviraux et agonistes sélectifs de la sérotonine, entre autres applications thérapeutiques [30].

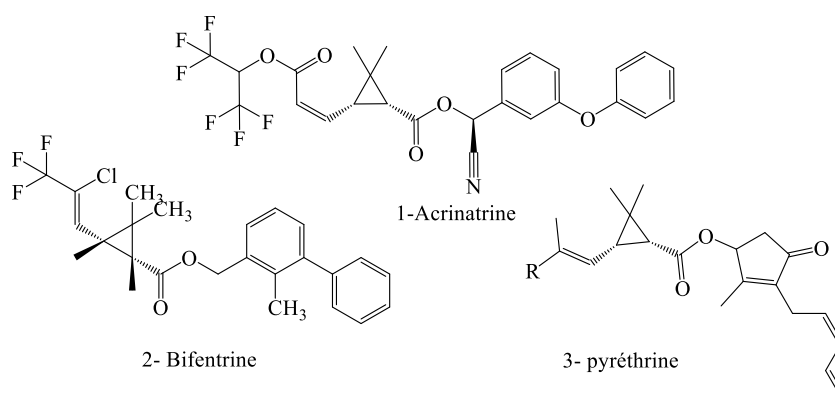


Figure 8 : Cyclopropanes insecticides.

CHAPITRE I : SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE

Il convient de noter que le cyclopropane présente une réactivité plus élevée que d'autres alcanes cycliques ou acycliques en raison de la tension de l'anneau. Bien qu'il ait été utilisé comme agent anesthésique dans le passé, il présente également un risque d'explosion significatif au contact de l'oxygène. Le terme "cyclopropane" fait référence à une famille de molécules contenant le motif C_3H_6 . Ces molécules sont largement utilisées comme insecticides, notamment l'acrinatine (1), la bifenthrine (2) et la pyrèthrine (3) (figure 7).

L'utilisation de ces composés, tels que l'acrinatine, la bifenthrine et la pyrèthrine, est répandue dans l'agriculture et d'autres environnements pour lutter contre les insectes nuisibles. Cependant, il est crucial de prendre en compte les précautions nécessaires lors de leur utilisation en raison de leur réactivité et de leur potentiel de dangerosité [29].

Les systèmes contenant du cyclopropane ont démontré leur valeur en tant qu'agents pharmaco-biologiques dans divers domaines, notamment l'oncologie, la virologie et la neurologie. Cependant, il est essentiel de prendre en compte leur réactivité élevée et leur potentiel de dangerosité lors de leur utilisation, en particulier dans le cas des insecticides. [29,30].

Une équipe de recherche dirigée par Ryotaro Ota et coll. [31] a récemment réussi à réaliser la première synthèse totalesymétrique alternative de la (-)-niranthine et de la (+)-niranthine, ce qui constitue une avancée significative dans ce domaine. En outre, ils ont entrepris une étude approfondie de la relation entre la structure énantiomère de la niranthine et son activité antivirale contre le virus de l'hépatite B (HBV) et le virus de la grippe (IFV), en utilisant les énantiomères synthétisés de la niranthine.

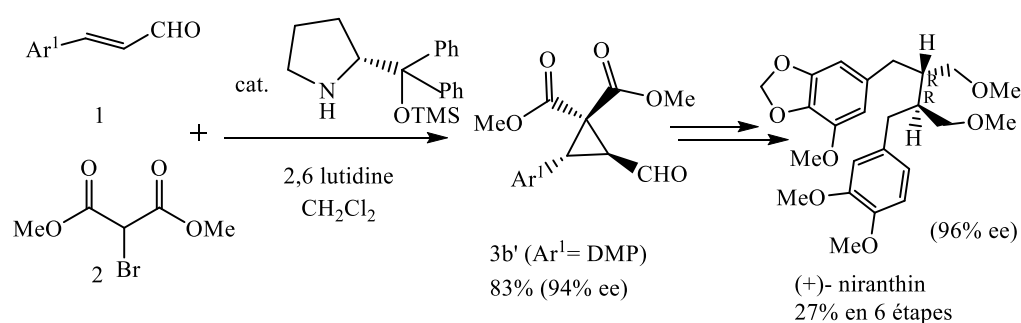


Schéma 9 : Alternative asymétrique de la synthèse totale de (+)- niranthin.

CHAPITRE I : SYNTHÈSE BIBLIOGRAPHIQUE

Ces avancées en matière de synthèse totale ouvrent de nouvelles perspectives pour la préparation de ces lignanes bioactifs, facilitant ainsi leur étude et leur exploration dans diverses applications biologiques et médicales.

Les résultats obtenus ont révélé que les deux énantiomères de la niranthine présentait une activité anti-HBV similaire, sans différence significative entre eux. Cependant, il est intéressant de noter que la (-)-niranthine a démontré une activité antivirale plus puissante contre le virus de la grippe (IFV) par rapport à la (+)-niranthine.

Les résultats obtenus suggèrent qu'il existe une reconnaissance différenciée de la structure énantiomérique d'un composé bioactif parmi différentes espèces de virus. Cela signifie que la configuration stéréochimique d'un composé peut influencer son interaction avec des virus spécifiques, conduisant à des variations d'activité antivirale.

Au cours des deux dernières décennies, la recherche scientifique s'est intensifiée dans le but de développer des stratégies et des méthodologies de synthèse totale pionnières. L'objectif est de créer des molécules complexes et prometteuses dotées de multiples domaines structuraux. Une approche clé consiste à combiner différentes familles d'hétérocycles évoquées précédemment, permettant ainsi la création de ce que l'on appelle des "hybridrugs" ou médicaments hybrides.

Les hybridrugs sont des composés qui intègrent différentes fonctionnalités chimiques ou domaines structuraux au sein d'une seule molécule. Cette approche permet de créer des synergies ou des complémentarités entre les différents éléments constitutifs, ce qui peut entraîner une activité pharmacologique renforcée ou l'émergence de nouvelles propriétés thérapeutiques [32].

Ces médicaments hybrides peuvent contourner ou surmonter les mécanismes de résistance développés par les cellules cancéreuses ou les agents pathogènes. En combinant différents modes d'action, ils peuvent agir sur plusieurs cibles simultanément, rendant plus difficile le développement de résistance [33].

Les récentes avancées dans la synthèse et la conception de molécules hybrides suscitent l'enthousiasme des chercheurs, ouvrant de nouvelles perspectives d'exploration. Les efforts de

CHAPITRE I : SYNTHÈSE BIBLIOGRAPHIQUE

recherche se poursuivent afin de découvrir de nouveaux médicaments hybrides en combinant différents hétérocycles, qui pourraient surpasser les traitements existants en termes d'efficacité, de sélectivité et de spectre d'activité. Cette approche offre une opportunité de répondre aux besoins médicaux non satisfaits en développant des nouvelles thérapies [33,34].

La mise en œuvre de méthodes de synthèse respectueuses de l'environnement et non toxiques revêt une importance capitale afin de réduire l'impact néfaste de la production chimique sur la santé humaine et l'écosystème. Il est essentiel de développer de nouvelles voies de synthèse pour les systèmes et molécules complexes qui favorisent une production durable de ces composés bénéfiques tout en minimisant l'utilisation de solvants et de réactifs nocifs. Cette approche responsable permettra de préserver notre environnement et de promouvoir une chimie plus écologique et durable [35].

I.2. Plantes aromatiques et médicinales

Les plantes aromatiques et médicinales, également connues sous l'acronyme PAM, jouent un rôle crucial dans la vie quotidienne des êtres humains. Elles renferment des substances hautement actives appelées métabolites secondaires, tels que les alcaloïdes, les polyphénols, les saponines et les huiles essentielles. Ces métabolites sont synthétisés naturellement par les plantes en réponse aux attaques d'insectes, d'herbivores et d'autres organismes.

La chimie et la biochimie des plantes sont d'une importance capitale dans l'utilisation thérapeutique des herbes. Le concept de "métabolite secondaire" a été introduit par Albrecht Kossel, lauréat du prix Nobel de physiologie ou de médecine en 1910, et a été ultérieurement développé par Czapek, qui les a décrits comme des produits finaux. Un exemple notable est l'artémisinine, qui est extraite de l'*Artemisia annua*. Cette substance est largement utilisée dans le traitement du paludisme en raison de ses propriétés antiparasitaires [36].

Les plantes médicinales jouent un rôle important dans la sécurité alimentaire et le traitement des maladies, améliorant ainsi les conditions de santé des individus. Elles représentent une source importante de nouveaux composés à usage thérapeutique, ce qui en fait une contribution majeure au secteur économique à l'échelle mondiale [37,38].

Les métabolites secondaires jouent un rôle essentiel dans la protection des plantes contre les prédateurs, les pathogènes et les conditions environnementales défavorables. Ainsi ils démontrent leur efficacité en tant qu'agents thérapeutiques potentiels dans plusieurs domaines,

CHAPITRE I : SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE

tels que les inhibiteurs des récepteurs d'œstrogènes chez les animaux, les anti-inflammatoires, les anti-hépatotoxiques, les insecticides, les relaxants respiratoires, les stimulateurs vasoconstricteurs, les agents expectorants et antitussifs, les analgésiques et les agents antitumoraux [39-46].

Les plantes aromatiques constituent une ressource précieuse pour la découverte de nouveaux médicaments et de composés pharmacologiques innovants. Leur disponibilité en tant que matières premières est essentielle pour les industries pharmaceutiques, de la parfumerie et de l'agroalimentaire [46].

I.3. Les Huiles essentielles

En 1965, la pharmacopée française a officiellement nommé "huiles essentielles" les produits contenant les principes volatils présents dans la matière végétale, qui sont souvent d'une composition complexe. Ces huiles essentielles ont été largement utilisées par d'anciennes civilisations telles que les civilisations égyptienne, romaine et arabo-islamique, témoignant de leur importance dans différentes cultures à travers l'histoire.

Les huiles essentielles sont des mélanges complexes de composés biologiques, se divisant en deux groupes distincts : les composés terpéniques et les composés aromatiques dérivés du phénylpropane. Ces métabolites secondaires, produits par les plantes aromatiques, jouent un rôle crucial dans leur mécanisme de défense [47].

Les composés terpéniques, tels que les monoterpènes et les sesquiterpènes, contribuent à l'arôme caractéristique des huiles essentielles. En parallèle, les composés aromatiques dérivés du phénylpropane, comme les phénols, les aldéhydes aromatiques et les esters aromatiques, sont également présents dans ces essences.

Les huiles essentielles sont reconnues pour leur richesse en principes actifs et leur composition chimique variée. Elles renferment une multitude de composés tels que des terpènes, des phénols, des aldéhydes, des cétones, des esters, qui leur confèrent des propriétés thérapeutiques potentielles [48].

Les essences végétales sont produites par une large variété de familles végétales, comprenant plus de soixante familles distinctes. Parmi celles-ci figurent les *Astéracées* (comme l'armoise et la camomille), les *Lamiacées* (dont la lavande, la menthe, le romarin et le thym), les *Lauracées* (comme le camphrier, le cannellier et le laurier), les *Myrtacées* (telles que

CHAPITRE I : SYNTHÈSE BIBLIOGRAPHIQUE

l'eucalyptus et le giroflier), les *Apiacées* (incluant la carotte, le cerfeuil et le persil), les *Abiétacées* (comme le pin et le sapin), les *Rutacées* (dont le citron et l'orange), ainsi que les *Poacées*, les *Zingibéracées*, les *Pipéracées*, et bien d'autres encore [49, 50].

Les huiles volatiles peuvent être présentes dans divers organes des plantes, tels que les fleurs (comme la lavande), les feuilles (comme l'eucalyptus et le laurier), les fruits (comme l'anis et l'orange), les graines (comme la muscade), l'écorce (comme la cannelle), les rhizomes (comme le gingembre et le curcuma), les racines (comme le vétiver) et le bois (comme le camphrier) [51].

Les essences médicinales sont largement utilisées dans divers domaines tels que l'aromathérapie, la cosmétique, la parfumerie, etc. Leur composition complexe leur confère un potentiel thérapeutique intéressant. Cependant, il est essentiel de les utiliser avec précaution et de respecter les recommandations appropriées, car certaines huiles essentielles peuvent présenter des risques d'irritation ou de toxicité à des doses élevées [52].

Ces précieuses substances naturelles sont utilisées comme matière première dans l'industrie pharmaceutique, la parfumerie et l'agroalimentaire. Leur utilisation repose sur leurs propriétés odorantes, thérapeutiques, conservatrices, antioxydantes, antimicrobiennes, etc. Les huiles essentielles sont de véritables sources naturelles de composés bioactifs, ce qui en fait des substances très recherchées pour de nombreuses applications [53].

Leur richesse en principes actifs en fait un sujet de recherche important dans le domaine de la pharmacognosie. Elles sont utilisées comme matière première dans l'industrie pharmaceutique, la parfumerie et l'agroalimentaire, contribuant ainsi à la fabrication de médicaments, à la création de parfums et à l'élaboration d'additifs aromatiques naturels [54].

I.31. propriétés biologiques des huiles essentielles

Actuellement, on recense environ 3000 variétés d'huiles essentielles différentes, dont environ 300 sont utilisées dans l'industrie des arômes et des parfums. Ces huiles essentielles sont largement utilisées dans divers domaines tels que la médecine naturelle, la cosmétique, la relaxation, la parfumerie, l'aromathérapie, et bien d'autres encore [55].

Les huiles essentielles ont récemment suscité un vif intérêt en raison de leurs propriétés désinfectantes, anti-inflammatoires, relaxantes et stimulantes. Elles sont largement utilisées dans le monde entier. De nos jours, ces dernières sont également exploitées de manière moderne

CHAPITRE I : SYNTHÈSE BIBLIOGRAPHIQUE

en tant qu'agents antibactériens, efficaces contre un large spectre de bactéries pathogènes. Certaines huiles essentielles riches en thymol et en carvacrol ont démontré leur efficacité dans ce domaine [56-58].

La diversité structurale des composés chimiques présents dans les huiles essentielles joue un rôle essentiel dans leur utilisation, ce qui se traduit par des différences dans leur absorption par le corps humain. Chaque huile essentielle possède une composition chimique unique, ce qui lui confère des propriétés spécifiques et des utilisations particulières.

Les extraits aromatiques sont reconnus depuis longtemps pour leurs remarquables propriétés antimicrobiennes, en particulier dans le domaine des plantes aromatiques médicinales. Leur utilisation à des fins thérapeutiques remonte à une longue histoire, étant largement utilisées dans différentes cultures à travers le monde. Dans le domaine de l'hygiène bucco-dentaire, les solutions de bain de bouche contenant des huiles essentielles sont couramment utilisées pour aider à contrôler la formation de plaque dentaire. Les huiles essentielles sélectionnées pour ces solutions sont spécifiquement choisies pour leurs propriétés antibactériennes, ce qui en fait un ajout efficace pour maintenir une bonne santé bucco-dentaire [59,60].

Les huiles volatiles ont suscité un intérêt croissant en raison de leurs propriétés désinfectantes, anti-inflammatoires, relaxantes, stimulantes, insecticides [61-65], ainsi que leur capacité à repousser les insectes [66]. Elles sont utilisées de manière moderne comme agents antibactériens et trouvent également leur place dans l'industrie des arômes et des parfums. Toutefois, il est important de prendre des précautions et d'avoir une bonne connaissance de leurs propriétés spécifiques lors de leur utilisation [55].

Suite à notre revue des différentes propriétés des huiles essentielles provenant de plantes aromatiques et médicinales, nous avons sélectionné deux plantes spécifiques pour notre étude : *Inula viscosa* de la famille des *Astéracées* et *Daucus gracilis steinh* de la famille des *Apiacées*.

Inula viscosa

Inula viscosa est une plante largement utilisée dans la médecine traditionnelle des peuples africains en raison de ses nombreuses propriétés bénéfiques. Elle est particulièrement prisée pour ses effets dans le traitement des infections du tube digestif et des troubles cardiovasculaires. De plus, cette plante présente également un intérêt culinaire, car elle compte parmi les plantes comestibles [67].

CHAPITRE I : SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE

Les huiles essentielles extraites de *Inula viscosa* se distinguent par la présence de composés phénylpropanoïdes. Certains de ces phénylpropanoïdes ont démontré des propriétés biologiques intéressantes, telles que les effets antioxydants, anti-inflammatoires, antimicrobiens et anticancéreux. Ces composés contribuent ainsi aux propriétés thérapeutiques des huiles essentielles issues de *Inulaviscosa* [68,69].

Daucus gracilis steinh

Daucus gracilis steinh, membre de la famille des *Apiacées*, possède des propriétés spécifiques liées à la fonction du système digestif. Les plantes de cette famille ont la capacité de stimuler les sécrétions enzymatiques des glandes salivaires, gastriques, pancréatiques et intestinales, ainsi que l'excrétion biliaire, ce qui favorise une digestion optimale. De plus, certaines plantes de la famille des *Apiacées* peuvent être consommées comme aliments, comme les racines de carotte, de panais, de maceron et de céleri, ainsi que les feuilles de persil et de céleri, qui sont couramment utilisées dans la cuisine [70-72].

Les huiles essentielles de *Daucus gracilis steinh*, également appelée carotte sauvage ou carotte gracile, renferment principalement des terpènes tels que le limonène, le carotol et le terpinéol. Ces composés chimiques confèrent aux huiles essentielles de *Daucus gracilissteinh* leurs caractéristiques aromatiques distinctes et peuvent également contribuer à leurs propriétés thérapeutiques. Le limonène, présent dans de nombreuses huiles essentielles végétales, est connu pour ses propriétés antibactériennes, antioxydantes et anti-inflammatoires. Le carotol est un autre composé présent dans les huiles essentielles de *Daucus gracilissteinh*, reconnu pour ses propriétés anti-inflammatoires et antispasmodiques. Quant au terpinéol, il est apprécié pour ses effets calmants et relaxants [73,74].

I.3.2.Méthode d'identification

L'analyse des huiles essentielles comprend généralement la séparation, l'identification et la quantification de leurs composants. Les techniques utilisées incluent la chromatographie sur couche mince, la chromatographie sur colonne et la chromatographie en phase gazeuse, ainsi que la spectrométrie de masse, la spectroscopie de résonance magnétique nucléaire et la spectrophotométrie infrarouge. Parfois, ces techniques chromatographiques et spectroscopiques sont combinées, telles que la chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (CPG/SM).

La chromatographie sur couche mince (CCM /CCP)

CHAPITRE I : SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE

La chromatographie sur couche mince (CCM/CCP) est une technique d'analyse très utile pour les extraits végétaux bruts, car elle permet d'optimiser le système de solvants afin de résoudre des problèmes spécifiques de séparation. La CCM est largement utilisée en raison de sa simplicité et de sa rapidité d'exécution. Elle offre une grande flexibilité, car différentes phases mobiles, phases stationnaires et réactifs de détection peuvent être testés et utilisés pour résoudre différents problèmes de séparation [75,76].

La chromatographie en phase gazeuse (CPG)

La chromatographie en phase gazeuse (CPG) est la méthode la plus importante pour la séparation des constituants des huiles essentielles. Cette technique repose sur la volatilisation des composés volatils d'un liquide ou d'un mélange gazeux dans une colonne contenant une phase liquide adsorbée sous forme d'un film mince sur un support (phase stationnaire). La phase mobile est composée d'azote ou d'hélium gazeux, qui transportent les composés volatils à travers la colonne. La colonne est placée dans un four où des conditions de température isocratiques ou programmées peuvent être établies. Les composants d'un mélange sont séparés en fonction des différences de coefficients de partage entre la phase gazeuse et la phase liquide stationnaire. Les composés ayant une affinité moindre avec la phase stationnaire sont les premiers à être élués de la colonne [77].

La chromatographie sur colonne

La chromatographie sur colonne est une méthode de laboratoire ancienne mais largement utilisée pour le fractionnement des huiles essentielles. Elle permet de séparer les composés hydrocarbonés des composés oxygénés. Dans cette méthode, les hydrocarbures sont séparés en utilisant une colonne remplie de gel de silice et sont élués à l'aide de pentane ou d'hexane [78].

La chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (CPG/SM)

La chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (CPG/SM) est une méthode complexe, mais elle est largement utilisée pour l'identification précise des différents composants des huiles essentielles. Elle permet de séparer les composés grâce à la CPG, tandis que la SM agit comme un détecteur pour ces composés séparés. Les composés isolés sont représentés sous la forme d'une série de pics. Les équipements modernes de CPG/SM sont équipés de bibliothèques informatisées et de systèmes de recherche avancés. Le spectre de masse de chaque composé détecté peut être instantanément enregistré et comparé à des milliers de spectres de masse contenus dans les bibliothèques informatisées afin de procéder à son identification [79].

La spectroscopie RMN C¹³

CHAPITRE I : SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE

La spectroscopie RMN C^{13} est une méthode couramment utilisée pour confirmer la structure moléculaire de composés synthétisés en chimie organique. Elle présente également des avantages spécifiques lorsqu'elle est appliquée à l'analyse des huiles essentielles et de mélanges complexes similaires, car elle permet d'obtenir des résultats sans nécessiter de séparation préalable des composants [77]. Contrairement à la chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (CPG-SM), la spectroscopie RMN C^{13} peut résoudre des problèmes liés à la présence de composants non volatils ou de composés thermiquement instables dans les mélanges, car elle fonctionne à température ambiante. Ainsi, elle constitue un complément utile pour confirmer les résultats obtenus par CPG-SM et résoudre certaines limitations associées à des échantillons complexes.

I.4. Intérêt de la modélisation moléculaire

I.4.1. Généralités

La modélisation moléculaire est un champ de recherche et d'analyse qui se concentre sur l'étude de la structure, de la réactivité et des propriétés des molécules. Les scientifiques utilisent des méthodes théoriques et des calculs informatiques pour résoudre des problèmes liés à la structure moléculaire, ainsi que pour comprendre les transformations physiques, chimiques ou biologiques qui se produisent [80].

La modélisation moléculaire vise principalement à évaluer la réactivité chimique des molécules, c'est-à-dire comment elles interagissent avec d'autres molécules et subissent des transformations. En comprenant la réactivité, les chercheurs peuvent prédire ces transformations et fournir des informations précieuses pour des domaines tels que la conception de médicaments, la catalyse chimique, la nanotechnologie, et bien d'autres encore. En utilisant des méthodes théoriques et des simulations informatiques, la modélisation moléculaire permet d'obtenir des données détaillées sur les réactions chimiques, les mécanismes réactionnels et les propriétés des molécules, ce qui aide à guider les recherches expérimentales et à accélérer le processus de découverte scientifique et technologique [81].

Les méthodes de modélisation moléculaire peuvent présenter une gamme de complexité et de coût. Certaines méthodes sont simples et rapides, tandis que d'autres sont extrêmement complexes et nécessitent d'importantes ressources informatiques, y compris l'accès à des superordinateurs. Les méthodes complexes sont conçues pour utiliser des techniques de calcul sophistiquées qui permettent de traiter de vastes quantités de données numériques et de les représenter graphiquement de manière facilement interprétable [82].

La visualisation joue un rôle crucial dans la modélisation moléculaire, car elle facilite la compréhension et la prédiction des propriétés des molécules. La représentation précise de la

CHAPITRE I : SYNTHÈSE BIBLIOGRAPHIQUE

géométrie et des propriétés thermodynamiques d'une molécule est essentielle. L'objectif est de visualiser une molécule à l'écran de la manière la plus réaliste possible. L'utilisation de l'informatique a permis le développement d'outils puissants pour la modélisation moléculaire, offrant aux chercheurs la possibilité de visualiser et d'analyser les structures moléculaires de manière efficace et précise [83].

En conclusion, la modélisation moléculaire est un outil précieux pour les chercheurs qui cherchent à comprendre la structure, la réactivité et les propriétés des molécules. En utilisant des méthodes théoriques et des calculs informatiques avancés, la modélisation moléculaire permet de résoudre des problèmes complexes et de fournir des informations essentielles pour la recherche scientifique et le développement de nouvelles technologies. Grâce à la visualisation et à l'analyse des structures moléculaires, les chercheurs peuvent prédire les réactions chimiques, concevoir de nouveaux médicaments, étudier les interactions moléculaires et bien plus encore. La modélisation moléculaire a ouvert de nouvelles perspectives dans de nombreux domaines, contribuant ainsi à l'avancement de la science et de la technologie [84].

I.4.2. Application de la modélisation moléculaire

La modélisation moléculaire a récemment trouvé sa place dans l'industrie, notamment dans la recherche et le développement de nouveaux matériaux, procédés et produits chimiques dans les domaines de l'énergie et de l'environnement. Grâce aux avancées dans ce domaine, la modélisation moléculaire permet désormais de simuler des matériaux et des fluides à l'échelle nanométrique, voire à l'échelle d'angström.

Ces techniques reposent sur les lois fondamentales de la mécanique quantique et de la mécanique statistique. En utilisant des méthodes théoriques et des calculs informatiques sophistiqués, les chercheurs peuvent étudier les propriétés des matériaux à un niveau moléculaire. Cela comprend la prédiction des structures, des propriétés électroniques, des interactions moléculaires et des propriétés thermodynamiques des matériaux [85].

Le domaine de la chimie physique bénéficie des avancées significatives de la puissance de calcul des ordinateurs, des algorithmes améliorés, des paramètres plus précis et de la disponibilité de logiciels. Cela permet de répondre au besoin d'expliquer les phénomènes et les expériences au niveau microscopique. Il n'est donc pas surprenant que la modélisation moléculaire trouve de plus en plus d'applications industrielles [86].

Au cours des dernières années, les techniques de modélisation moléculaire sont devenues de plus en plus reconnues comme une méthode analytique à part entière, aux côtés de techniques

CHAPITRE I : SYNTHÈSE BIBLIOGRAPHIQUE

spectroscopiques telles que la RMN, l'IR, l'UV, le dichroïsme, et autres. Elles sont utilisées à la fois pour la prédiction et l'interprétation des résultats.

I.4.3. Principe de la modélisation moléculaire

Le processus de modélisation moléculaire repose principalement sur des calculs visant à déterminer la position des atomes qui composent une molécule dans l'espace, ainsi qu'à calculer l'énergie de la structure résultante. L'objectif est d'obtenir une représentation aussi réaliste que possible, correspondant à une structure d'énergie minimale.

Les utilisateurs de la modélisation moléculaire peuvent être divisés en deux groupes principaux. D'une part, il y a ceux qui effectuent des calculs relativement précis sur de petites molécules, généralement composées d'environ 100 atomes. Ces calculs utilisent la chimie quantique qui est une discipline à part entière de la chimie théorique, pour déterminer avec précision la structure moléculaire et les propriétés associées [86].

Les résultats obtenus à partir de la chimie quantique sont essentiels pour de nombreux domaines scientifiques et industriels, tels que la conception de médicaments, le développement de nouveaux matériaux, l'étude des réactions chimiques, la compréhension des propriétés des catalyseurs. C'est une discipline fondamentale pour la compréhension approfondie du monde moléculaire qui nous entoure [86].

D'autre part, il y a ceux qui utilisent des méthodes plus approximatives pour déterminer la structure des macromolécules, telles que les protéines ou les acides nucléiques. Étant donné que ces molécules sont de taille considérable, la modélisation moléculaire sur ces systèmes est souvent basée sur des approximations et des simplifications. Ces méthodes incluent des techniques de modélisation par homologie, de Docking moléculaire et de simulations moléculaires basées sur la mécanique moléculaire ou la Dynamique moléculaire.

Les méthodes utilisées en modélisation moléculaire peuvent être classées en deux catégories principales : les méthodes quantiques, basées sur la mécanique quantique (MQ), et les méthodes non quantiques, basées sur la mécanique moléculaire (MM) [87].

La transition de la plupart des équipes de recherche vers des calculs théoriques avant de passer à la synthèse s'explique par la capacité prédictive de cette approche pour comprendre les phénomènes délicats au niveau atomique, qui sont souvent difficiles à analyser à l'aide d'outils classiques. Un autre avantage important est la possibilité d'effectuer une étude préliminaire,

CHAPITRE I : SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE

généralement peu coûteuse, d'un phénomène d'intérêt afin de planifier une analyse expérimentale qui peut s'avérer coûteuse.

Grâce à l'augmentation continue de la puissance des processeurs, à un coût relativement constant, la plupart des personnes disposent désormais d'un ordinateur de bureau suffisamment puissant pour effectuer des calculs courants en modélisation moléculaire tels que la minimisation, la conception de médicaments ou la Dynamique moléculaire pour des protéines ou de petits systèmes. Ainsi, on peut affirmer que l'objectif principal de la modélisation moléculaire est de prédire la structure et la réactivité des molécules ou des systèmes moléculaires [88].

CHAPITRE 2 : MATERIELS & METHODES

CHAPITRE II : MATERIELS & METHODES

II.1. Synthèse des Hybrides à base de 1-cinnamoyl-1a,7a-dihydrocyclopropa [b]chromèn-7 (1H)-one

Depuis longtemps, les chercheurs ont été engagés dans le développement de nouvelles méthodes permettant d'accéder à une variété d'hétérocycles, en s'inspirant de leur omniprésence dans les molécules bioactives naturelles. Parmi ces hétérocycles, ceux contenant de l'azote sont particulièrement intéressants en raison de leur vaste champ d'applications dans divers domaines. De plus, leur accessibilité relativement facile ouvre la voie à une chimie verte, permettant la synthèse de molécules complexes et diversifiées avec un rendement élevé et à faible coût. L'utilisation de méthodes de synthèse basées sur des réactions multi-composantes, également appelées "one-pot", présente de nombreux avantages dans l'accès à ces systèmes hétérocycliques. Ces méthodes permettent de réaliser plusieurs réactions chimiques en une seule étape, dans un même réacteur, ce qui simplifie les opérations et offre une efficacité synthétique accrue. Cela permet de gagner du temps et des ressources tout en favorisant une approche plus respectueuse de l'environnement [6].

Les hétérocycles azotés à cinq chaînons jouent un rôle essentiel en chimie organique, et ils sont présents dans une grande variété de composés, qu'ils soient d'origine naturelle ou synthétique. Parmi ces hétérocycles, les pyrazoles et leurs dérivés, qui sont des composés aromatiques simples appartenant à la famille des diazoles, et qui occupent une position importante dans le domaine de la chimie des hétérocycles.

Leur présence dans différents squelettes de molécules présente un intérêt pharmacologique et biologique significatif en raison de leur présence dans diverses structures moléculaires. Ces composés sont connus pour exhiber une variété d'activités biologiques importantes, notamment : anti tumorale, antimicrobienne, stimulant sexuel, antioxydants, anti prolifératifs, anti-inflammatoires et neuraux-protectives [8].

II.1.1.Synthèse des cyclopropa[b]chromones

Notre travail trouve son origine dans les recherches menées par Joana L.C. Sousa et ses collègues [1]. Dans le cadre d'un stage effectué à l'université d'Aveiro au Portugal, nous avons participé à un projet multinational d'envergure visant la synthèse d'une gamme de molécules ayant une activité anticancéreuse.

La réaction décrite dans le schéma 5 implique l'addition diastéréosélective de Michael catalysée par une base en une seule étape, suivie de la cyclisation d'une méthylcétone activée par la 3-bromochromone pour former des cyclopropa[b]chromanones.

CHAPITRE II : MATERIELS & METHODES

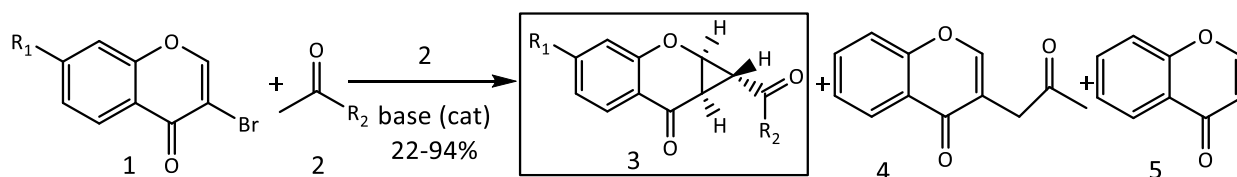


Schéma 10: Description de synthèse de cyclopropane[b]chromones.

Les molécules de cette série sont caractérisées par la présence de cyclopropanes dans leur structure. La synthèse du composé 3 est réalisée en faisant réagir la 3-bromochromone (1) avec de l'acétone (2), qui est à la fois un réactif et un solvant, sous reflux en présence d'une quantité catalytique de pyrrolidine. Pour les autres composés de la série, les meilleurs résultats ont été obtenus en remplaçant la pyrrolidine par une solution aqueuse de NaOH à 60 % dans le THF à température ambiante. Les produits ont été isolés et purifiés par chromatographie préparatives sur couches minces [1].

Mode opératoire 1 :

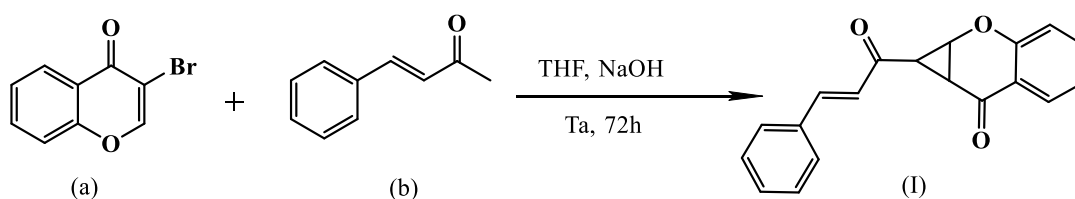


Schéma 11 : Synthèse de cyclopropa[b]chromanone.

Pour réaliser la réaction, 6,69 mmol de 3-bromo-4H-chromen-4-one (a) sont introduits dans 10 mL de THF. Après 5 minutes d'agitation, 7,36 mmol de (E)-4-phenylbut-3-en-2-one (b) sont ajoutés. Ensuite, une quantité catalytique de NaOH à 60 % est ajoutée. La réaction est maintenue sous agitation pendant 72 heures et est suivie par chromatographie sur couche mince (CCM).

Une fois la réaction terminée, elle est traitée avec une solution de HCl à 10 % jusqu'à l'apparition d'un précipité. Le précipité est récupéré en utilisant du dichlorométhane (CH₂Cl₂).

Le produit obtenu est ensuite purifié en utilisant une colonne flash pour éliminer les produits de départ. Cependant, on observe une perte considérable en ce qui concerne la quantité de produit récupéré. Après évaporation du dichlorométhane, le produit est dissous dans de l'éther diéthylique. Une simple filtration sous Buchner permet de récupérer le produit avec un rendement de 85%.

CHAPITRE II : MATERIELS & METHODES

II.1.1.1. Synthèse de 3-bromo-4H-chromèn-4-one (a)

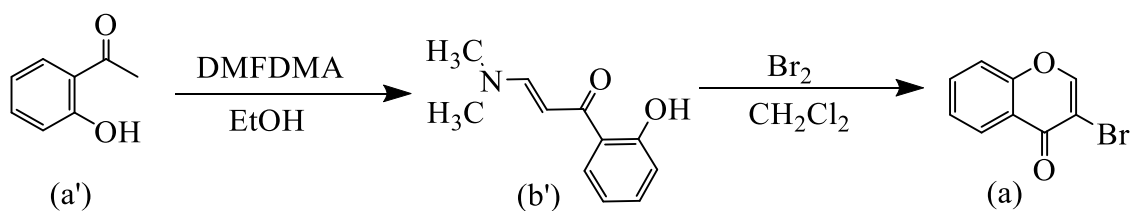


Schéma 12 : Synthèse de 3-bromo-4H-chromèn-4-one.

Mode opératoire 2 :

Dans un ballon bicolore de 100 mL, équipé d'une garde d'azote et d'une ampoule de brome, on introduit 14 mmol de composé b', qui est préalablement solubilisé dans 25 mL de CH_2Cl_2 , tout en maintenant le ballon dans un bain de glace. On ajoute goutte à goutte 14 mmol d'une solution de Br_2 à 10 %. La réaction est ensuite agitée pendant 24 heures [89].

L'aspect du solide obtenu est celui d'une poudre jaune. Le rendement de la réaction est de 45%.

II.1.1.2. Synthèse de l'intermédiaire réactionnel le (E)-3-(diméthylamino)-1-(2-hydroxyphényl) prop-2-ène-1-one (b')

Mode opératoire 3 :

On dissout 7,34 mmol de 2'-hydroxyacétophénone dans 10 mL d'éthanol, puis on ajoute 11,11 mmol de DMFDMA. La réaction est portée à reflux à une température de 80 °C dans un bain d'huile. La progression de la réaction est surveillée par chromatographie sur couche mince (CCM) pendant 24 heures. Le produit obtenu est un cristal de couleur marron. Le rendement de la réaction est de 98%, la réaction est démontrée dans le schéma 12.

II.2. Synthèse des hybrides à base de 1-cinnamoyl-1a,7a-dihydrocyclopropa [b]chromèn-7 (1H)-one

Note : Tous les produits obtenus présentaient une consistance huileuse ou pâteuse.

II.2.1. Synthèse de 1-(5-phényl-1H-pyrazol-3-yl)-1a,7a-dihydrocyclopropa[b]chromèn-7(1H)-one (I-1) et 2-((5-phényl-1H-pyrazol-3-yl)méthyl)chroman-4-one (I-2)

CHAPITRE II : MATÉRIELS & MÉTHODES

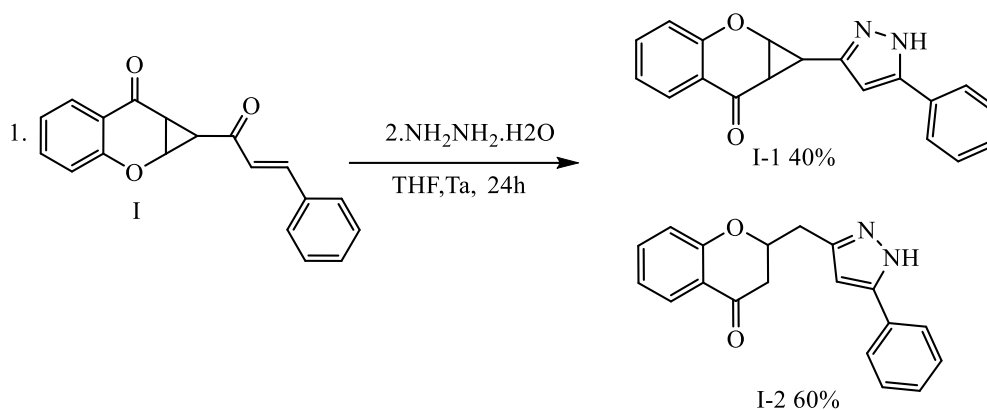


Schéma 13: Réaction de cyclopropane I en présence de l'hydrate d'hydrazine.

Mode opératoire 4 :

Pour cette réaction, on mélange 1 équivalent de composé I dans 10 mL de THF. Une fois que le produit est dissous, nous ajoutons l'hydrate d'hydrazine en goutte à goutte jusqu'à ce que 2 équivalents aient été ajoutés. La réaction est maintenue à température ambiante pendant 24 heures. Une fois la réaction terminée, nous procédons à une séparation sur plaques préparatives en utilisant un mélange de dichlorométhane (DCM) et d'acétate d'éthyle (AcOEt) [9:1] comme solvant éluant.

Tableau 1 : Optimisation de la réaction de cyclopropane I avec l'hydrate d'hydrazine

Produit départ	Réactifs	Conditions	Résultats
	2 éq. $\text{NH}_2\text{NH}_2.\text{H}_2\text{O}$	THF, Ta, 24h.	Obtention de produit I-2 à 60% en produit majoritaire.
	1 éq. $\text{NH}_2\text{NH}_2.\text{H}_2\text{O}$	THF, Ta, 24h.	I-2 65% I-1 35%
	6 éq. $\text{NH}_2\text{NH}_2.\text{H}_2\text{O}$	THF, Ta, 24h.	Obtention des produits avec des rendements déplorables (traces) plus des troubles.

Des expérimentations ont été menées en variant la quantité d'hydrate d'hydrazine et la durée de la réaction afin d'obtenir le pyrazole souhaité (I-1) comme produit principal. Dans un premier essai, un équivalent d'hydrate d'hydrazine a été utilisé et la réaction a été suivie pendant 4 heures. Cependant, les résultats obtenus ont montré la formation préférentielle du produit (I-2) plutôt que du produit désiré (I-1).

CHAPITRE II : MATERIELS & METHODES

Les résultats de ces expérimentations sont présentés dans le tableau 1 et le schéma 4 illustre la synthèse. Sur la base de ces observations, on peut conclure que le produit (I-2) est toujours formé en premier, avant la formation du produit désiré (I-1).

II.2.2. Synthèse de 1(1,5-diphényl-1H-pyrazol-3-yl)-1a, 7a-dihydrocyclopropa [b]chromèn-7(1H)-one (I-3).

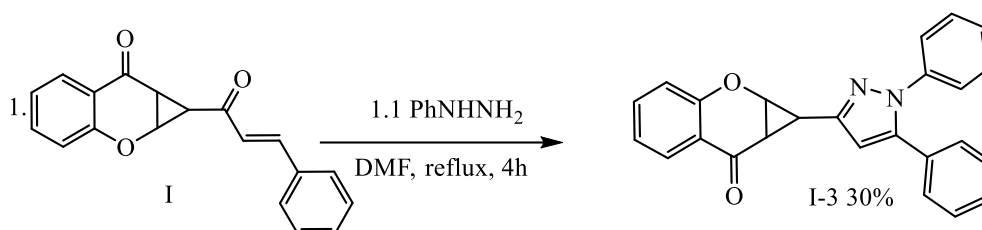


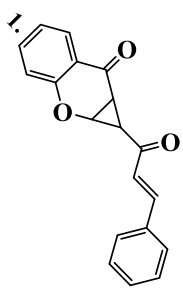
Schéma 14 : Réaction de cyclopropane I en présence phényle hydrazine.

Mode opératoire 5 :

Un mélange de 1,1 équivalent de PhNHNH₂ dans 5 ml de DMF est ajouté à 1 équivalent de cyclopropane (I). La réaction est maintenue sous reflux pendant 4 heures. Après purification par chromatographie sur plaque préparative en utilisant un mélange de DCM et d'hexane dans un rapport de 9:1 comme éluant, on a obtenu le produit I-3 avec un rendement de 30%.

CHAPITRE II : MATERIELS & METHODES

Tableau 2 : Optimisation de la réaction cyclopropane I avec phényle hydrazine

Produit départ	Réactifs	Conditions	Résultats
	4 éq. PhNHNH ₂	THF, Ta, 48h	Changement de couleur, aucune amélioration, produit départ.
	4 éq. PhNHNH ₂	THF, 72h 24h Ta et 48h reflux	Après avoir forcé la réaction pendant 71h décomposition de produit départ.
	1.1 éq. PhNHNH ₂	THF, 48h, reflux	Produits de départ
	1.1 éq. PhNHNH ₂	EtOH, Ta, 48h	Produits de départ
	1.1 éq. PhNHNH ₂	DMF, Ta, 24h	Toujours les mêmes spots aucune amélioration
	1.1 éq. PhNHNH ₂	DMF, reflux, 4 h	I-3 Rdt : 30%

CHAPITRE II : MATERIELS & METHODES

II.2.3. Synthèse de 1-(1-méthyl-5-phényl-1H-pyrazol-3-yl)-1a, 7a-dihydrocyclopropa[b]chromèn-7(1H)-one (I-4) & 1-(1-méthyl-5-phényl-4,5-dihydro-1H-pyrazol-3-yl)-1a, 7a-dihydrocyclopropa[b]chromèn-7(1H)-one (I-5)

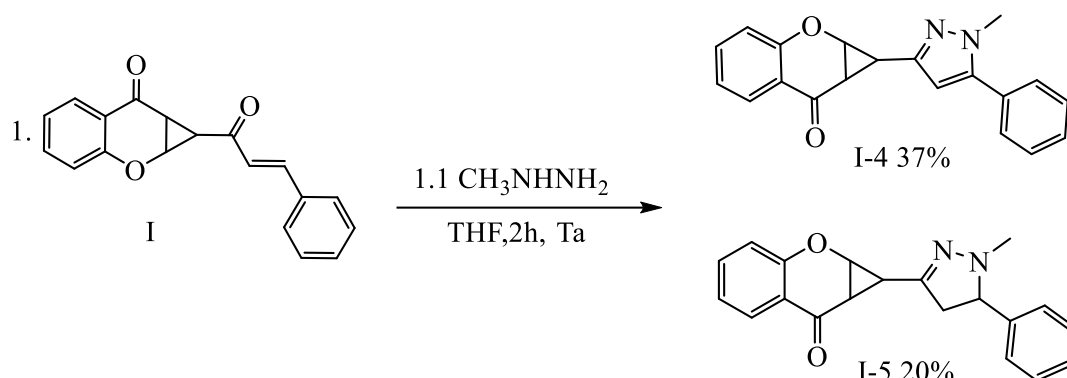


Schéma 15 : Réaction de cyclopropane I en présence de méthyle hydrazine.

Mode opératoire 6 :

Dans un mélange contenant 1 équivalent de composé I dans 10 mL de THF, on ajoute 1,1 équivalent de CH_3NHNH_2 . Pour ajouter la quantité appropriée, nous utilisons une seringue pour ajouter 11,2 μL , équivalent à deux gouttes, en deux portions de 5,6 μL chacune. Après une heure, nous observons la présence de produit de départ sur une plaque de chromatographie sur couche mince (CCM). Nous ajoutons alors la deuxième portion de 5,6 μL . Après deux heures, la réaction est arrêtée et nous observons deux taches très proches sur la CCM, qui sont ensuite séparées par chromatographie préparative en utilisant un mélange d'hexane et d'acétate d'éthyle dans un rapport de 9:1.

II.2.4. Synthèse de (1R,1aS,7aR)-1-((S)-4nitro-3-phénylbutanoyl)-1a, 7a-dihydrocyclopropa[b]chromèn-7(1H)-one (I-6) & (1R,1aS,7aR)-1-((R)-4nitro-3-phénylbutanoyl)-1a, 7a-dihydrocyclopropa[b]chromèn-7(1H)-one (I-7)

Différentes conditions ont été testées pour l'addition de nitrométhane au cyclopropane dans une réaction de Michael, en utilisant un système similaire aux chalcones. Parmi les conditions testées, y compris celles mentionnées dans le tableau suivant, aucune n'a donné les résultats attendus. Les produits désirés ont été obtenus en utilisant les conditions spécifiées dans le mode opératoire. Les structures des deux diastéréoisomères ont été confirmées par analyse par résonance magnétique nucléaire (RMN- H), résonance magnétique nucléaire du carbone-13 (C13) et RMN 2D.

CHAPITRE II : MATERIELS & METHODES

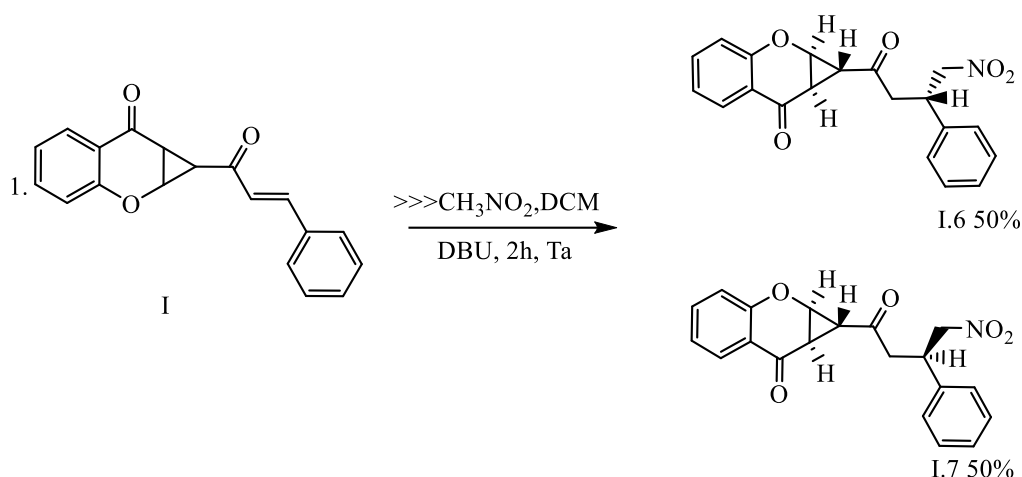
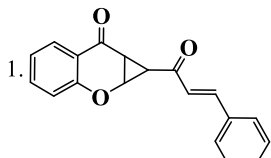


Schéma 16 : Addition du nitrométhane sur le cyclopropane I.

Mode opératoire 7 :

La réaction est initiée en ajoutant 1 équivalent de composé I à 1 mL de dichlorométhane (DCM) et 0,56 mL de nitrométhane, en présence de 1 goutte de DBU (1,8-diazabicyclo[5.4.0]undéc-7-ène). Après 2 heures de réaction à température ambiante, on observe la consommation du composé I. Les deux produits de la réaction, qui sont des diastéréoisomères, apparaissent comme un seul spot important. Ces produits sont ensuite séparés en utilisant des plaques préparatives avec un système d'éluion DCM-hexane [8-2].

Tableau 3 : Tableau des additions de nitrométhane.

Produit départ	Réactifs	Conditions	Résultats
	3ml NO ₂ CH ₃ 98%, 1.DBN (Neat conditions)	THF, Ta, 2h	Dégradation du produit départ
	1éq. NO ₂ CH ₃ 98% 1. DBN	THF, Ta, 2h	Dégradation du produit départ
	10 éq. NO ₂ CH ₃ 98% 1. DBN	THF, Ta, 2h	Ouverture de chromone dégradation totale

CHAPITRE II : MATERIELS & METHODES

II.2.5.Synthèse de 2-((S)-3-oxo-3-((1R,1aS,7aR)-7-oxo-1,1a,7,7a-tetrahydrocyclopropa[b]chromèn-1-yl)-1-phénylpropyl)malononitrile (I-8)&2-((R)-3-oxo-3-((1R,1aS,7aR)-7-oxo-1,1a,7,7a-tetrahydrocyclopropa[b]chromèn-1-yl)-1-phénylpropyl)malononitrile (I-9)

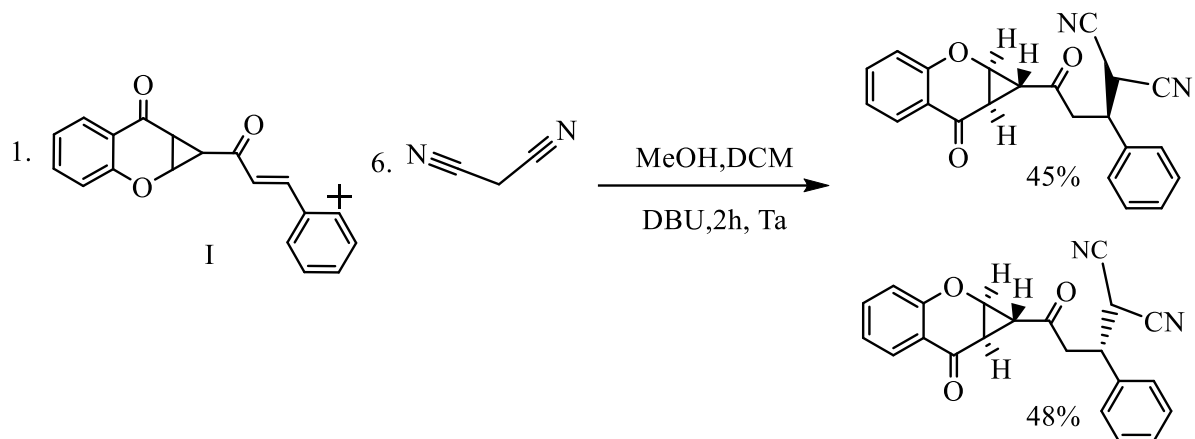


Schéma 17 : Réaction du cyclopropane I en présence de malononitrile.

Mode opératoire 8 :

Dans un mélange d'éthanol et de dichlorométhane (DCM) dans un rapport de 9:1, on dissout 1 équivalent de 1-cinnamoyl-1a, 7a-dihydrocyclopropa[b]chromen-7(1H)-one (I) puis on ajoute 6 équivalents de malononitrile et 1 goutte de DBU. La réaction est maintenue à température ambiante pendant 2 heures. Après le suivi de la réaction par CCM, on observe la disparition complète du produit de départ, avec l'apparition de deux nouvelles taches très proches mais distinctes, ce qui indique la formation de deux produits différents. Les deux fractions sont ensuite séparées en utilisant des plaques préparatives avec un système d'éluion DCM-hexane dans un rapport de 9:1.

II.2.Extraction, identification et purification

II.2.1.*Inula viscosa*.

Le matériel végétal utilisé (parties aériennes) d'*I. viscosa* a été récolté en mai 2019 à partir de 10 emplacements (S1-S10) réparti dans différentes régions de Tlemcen en Algérie, pendant la période de floraison. Après avoir été séchée à l'air libre, la matière végétale a été soumise à une hydrodistillation pendant 5 heures en utilisant un appareil de type Clevenger.

L'hydrodistillation a été réalisée plusieurs fois afin d'obtenir une quantité maximale d'huile essentielle. Cette huile essentielle a ensuite été analysée par chromatographie en phase gazeuse (CPG) et chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (CPG/SM) afin de déterminer sa composition chimique.

CHAPITRE II : MATERIELS & METHODES

Le tableau 4 présente l'origine géographique de chaque échantillon, les rendements obtenus et les numéros de bon correspondants.

Tableau 4 : Données relatives aux lieux de récolte d'*I. viscosa* d'Algérie.

Echantillons	Locations	Coordonnées	Codes	Rendements	Altitudes(m)
		GPS	d' <i>I.viscosa</i>		
S1	Sidna	35° 7' 0'' N ;	I.V-0518-	0.06	5
	Youcha	1° 46' 60'' O	DMA7		
S2	Beni Saf	35°18'08''N;	I.V-0518-	0.08	25
		1°23'01''O	DMA9		
S3	Rachgoun	35° 19'26'' N ;	I.V-0518-	0.06	36
		1° 28' 47'' O	DMA10		
S4	Ghazaouet	35° 05' 38''N ;	I.V-0518-	0.05	118
		1° 51' 37''O	DMA6		
S5	Souahlia	35° 1' 60'' N ;	I.V-0518-	0.1	138
		1° 52' 60'' O	DMA8		
S6	Terny	4° 47' 45'' N ;	I.V-0518-	0.09	854
		1° 21' 29'' O	DMA4		
S7	Tlemcen	34° 52' 41''N ;	I.V-0518-	0.08	811
		1° 18' 53''O	DMA3		
S8	Beni Snous	34° 38' 35'' N ;	I.V-0518-	0.16	1500
		1°33' 41' O	DMA1		
S9	Tafna	34° 52' 38'' N ;	I.V-0518-	0.2	1600
		1° 14' 07'' O	DMA2		
S10	El Aricha	34° 13' 22'' N ;	I.V-0518-	0.2	1148
		1°15' 21''O	DMA9		

II.2.2.Daucus gracilis steinh

Les fleurs de *D. gracilis steinh* utilisées dans cette étude ont été récoltées près de la gare de Sidi Abdeli, près de la ville de Tlemcen en Algérie, au début du mois de juin 2018. Un spécimen de référence (Dgrc.DA.06.2018) a été conservé à l'Herbier de l'Université de Tlemcen.

CHAPITRE II : MATERIELS & METHODES

L'huile essentielle a été obtenue à partir des fleurs séchées de *D. gracilis steinh* par distillation pendant 5 heures en utilisant un appareil de type Clevenger. Cette méthode a permis d'obtenir un rendement de 0,2% en poids d'huile essentielle de couleur jaune.

La composition chimique de l'huile essentielle a été déterminée par analyse chromatographique en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (CPG/SM). L'identification des différents composés chimiques a été réalisée de la même manière que précédemment décrite.

II.2.3. Identification de la composition des échantillons

Les analyses de la chromatographie en phase gazeuse ont été effectuées à l'aide d'un appareil Perkin Elmer Auto System XL équipé d'un système de détection par ionisation à flamme double et de colonnes capillaires en silice Rtx-1 fondue (60 mx 0,22 mm d'épaisseur de film 0,25 μm ; méthylsiloxane). La température du four a été programmée par augmentation de 60 à 230 °C avec 2 °C/min et a ensuite été maintenue isothermiquement à 230 °C pendant 35 min. Injecteur et détecteur les températures ont été maintenues à 280 °C. Les huiles essentielles ont été injectées dans le mode split (1/50), et le volume d'injection était de 0,2 μL .

Les échantillons ont été analysés par chromatographie en phase gazeuse couplée à la masse à l'aide d'un détecteur de masse Perkin Elmer Turbo (quadripôle) couplé à un système Perkin Elmer Autosystem XL équipé de colonnes capillaires en silice fondue Rtx-1 et de RtxWax (température de la source d'ions, énergie d'ionisation de 150 °C, 70eV). L'énergie d'ionisation SM a été acquise sur une plage de masse comprise entre 35 et 350 Da (temps de balayage, 1 s). Les autres conditions du CPG/SM étaient comme décrites pour CPG, sauf que le split était de 1/80. L'hélium a été utilisé comme gaz vecteur.

L'identification de chaque composé de l'huile essentielle a été réalisée par comparaison avec :

- ❖ Indice de rétention d'une série de n-alcanes à interpolation linéaire, avec ceux des composés authentiques ou des données de la littérature (Jennings et Shibamoto, 1980, Joulain et Keonig, 1998 ; Keonig et coll., 2001) et par appariement informatique avec la masse commerciale bibliothèques spectrales (Mc Lafferty et Stauffer, 1988, National Institute of Standards and Technology, 2008)
- ❖ les spectres obtenus avec ceux de l'interne bibliothèque de laboratoire.

La quantification des huiles essentielles et le mélange a été effectué en utilisant la normalisation maximale (%) des abondances calculé en intégrant les facteurs de réponse FID relatifs à tridécane (0.7 g/100 g), utilisé comme étalon interne.

CHAPITRE II : MATERIELS & METHODES

II.2.4. Etude statistique

II.2.4.1. Analyse en composants principales (ACP)

Afin de mieux appréhender la relation entre les composés volatils présents dans les différents échantillons, nous avons utilisé une technique statistique appelée analyse en composantes principales (ACP) sur les données expérimentales.

L'analyse en composantes principales est une méthode couramment utilisée pour analyser la composition des huiles essentielles. Elle permet d'évaluer les similarités et les différences entre les résultats obtenus. Dans notre étude, nous avons appliqué cette méthode pour mieux comprendre les relations entre les composés volatils présents dans les échantillons étudiés [90].

II.2.4.2. Classification ascendante hiérarchique (CAH)

L'analyse exploratoire des données, telle que l'analyse en composantes principales (ACP), est couramment utilisée pour examiner les relations générales entre les données. Cependant, il peut être nécessaire de répondre à des questions plus complexes, telles que la présence de regroupements d'échantillons.

C'est là que l'analyse par clusters entre en jeu. Cette approche, largement utilisée par les biologistes, vise à déterminer les similitudes entre les échantillons. Elle utilise différentes techniques d'analyse de clusters (AC) qui permettent de visualiser les données multidimensionnelles en réduisant leur complexité.

Les variables présentant des caractéristiques similaires sont regroupées près les unes des autres sur les dendrogrammes de l'AC, tandis que les variables avec des caractéristiques différentes sont séparées. L'analyse de clusters est souvent combinée à d'autres méthodes multi variées, notamment l'ACP, afin d'obtenir une meilleure visualisation des résultats [91].

II.3. Etude *in silico* de l'activité inhibitrice des récepteurs du facteur de croissance vasculaire endothéliale.

Le cancer est une maladie complexe et dévastatrice qui englobe de nombreux types de tumeurs pouvant affecter tous les tissus du corps humain. Au cours des dernières années, la recherche et le développement de thérapies contre le cancer, telles que la radiothérapie et la chimiothérapie, ont constitué un défi majeur [92]. Cependant, il est bien connu que ces traitements sont destructifs non seulement pour les cellules cancéreuses, mais aussi pour les tissus et cellules saines du corps humain.

CHAPITRE II : MATÉRIELS & MÉTHODES

Dans ce contexte, l'étude des produits naturels s'est révélée être l'une des stratégies prometteuses pour la découverte de nouveaux médicaments utilisables dans les thérapies anticancéreuses. Cette approche consiste à explorer les composés naturels présents dans diverses sources, tels que les plantes, les micro-organismes et les organismes marins, afin de découvrir des molécules dotées d'activités anticancéreuses potentielles. Cela permet de trouver des alternatives aux traitements conventionnels plus agressifs, tout en minimisant les effets néfastes sur les cellules saines du corps.

Les huiles essentielles présentent l'avantage d'une bonne absorption par le corps, ce qui les rend polyvalentes en termes d'administration. Elles peuvent être utilisées de différentes manières, notamment par voie orale, respiratoire (inhalation, olfaction, diffusion), rectale et cutanée (massage). Cette diversité d'administration permet aux composés actifs présents dans les huiles essentielles d'être rapidement disponibles dans l'organisme, ce qui favorise leur biodisponibilité [92].

Le Docking Moléculaire, également connu sous le nom d'ancrage ou d'Amarrage moléculaire, fait référence à une technique de simulation moléculaire utilisée pour étudier les interactions et les liaisons entre deux molécules. Dans cette approche, on étudie généralement l'interaction entre une macromolécule réceptrice dont la structure tridimensionnelle est connue, telle qu'une protéine, de l'ADN ou de l'ARN, et une petite molécule appelée ligand, qui possède des propriétés médicamenteuses potentielles.

Le Docking Moléculaire est couramment utilisé pour étudier les interactions protéine-ligand, où la protéine est considérée comme la cible du Docking. Grâce à l'énorme augmentation du nombre de structures protéiques disponibles, cette technique est devenue de plus en plus populaire dans la découverte de nouvelles molécules leaders (lead) potentielles pour le développement de médicaments [93,94].

II.3.1. Activité inhibitrice des récepteurs de facteur vasculaire endothéliale par Docking moléculaire des molécules hybrides

Les récepteurs de la tyrosine kinase sont des protéines qui activent de nombreuses voies de signalisation à l'intérieur des cellules. Ces voies de signalisation régulent des processus cellulaires importants tels que la prolifération cellulaire, la migration et le métabolisme. La famille des récepteurs de la tyrosine kinase comprend différents membres, tels que les récepteurs de l'insuline et de nombreux facteurs de croissance, notamment le facteur de croissance épidermique (EGF), le facteur de croissance des fibroblastes (FGF), le facteur de croissance dérivé des plaquettes (PDGF), le facteur de croissance endothélial vasculaire (VEGF) et le facteur de croissance nerveuse (NGF) [95].

CHAPITRE II : MATERIELS & METHODES

Le facteur de croissance endothélial vasculaire A (VEGF-A ou VEGF) est une protéine sécrétée hautement conservée, connue principalement pour son rôle clé dans le développement vasculaire et l'angiogenèse. Son action est médiée par ses récepteurs, notamment VEGFR1 et VEGFR2, qui sont exprimés dans de nombreux types de cellules, y compris des cellules non vasculaires. De plus, on observe une expression aberrante de VEGF et de ses récepteurs dans divers cancers [96].

L'angiogenèse est un processus complexe régulé par divers facteurs pro-angiogéniques et anti-angiogéniques. Parmi ces facteurs, le VEGF (VascularEndothelialGrowth Factor) joue un rôle clé dans l'angiogenèse tumorale. Il se lie aux récepteurs VEGFR à activité tyrosine kinase, ce qui stimule la croissance de nouveaux vaisseaux sanguins.

II.3.1.1.Préparation et optimisation des enzymes et des ligands

II.3.1.1.1.Préparation et optimisation du modèle

Les structures de trois enzymes ont été téléchargées à partir de la base de données Protein Data Bank (PDB) de Bookhaven. Les enzymes comprennent le VEGF (PDB ID: 5T89) [97], VEGFR-1 (PDB ID: 3HNG), et VEGFR-2 (PDB ID: 2XIR) [98].

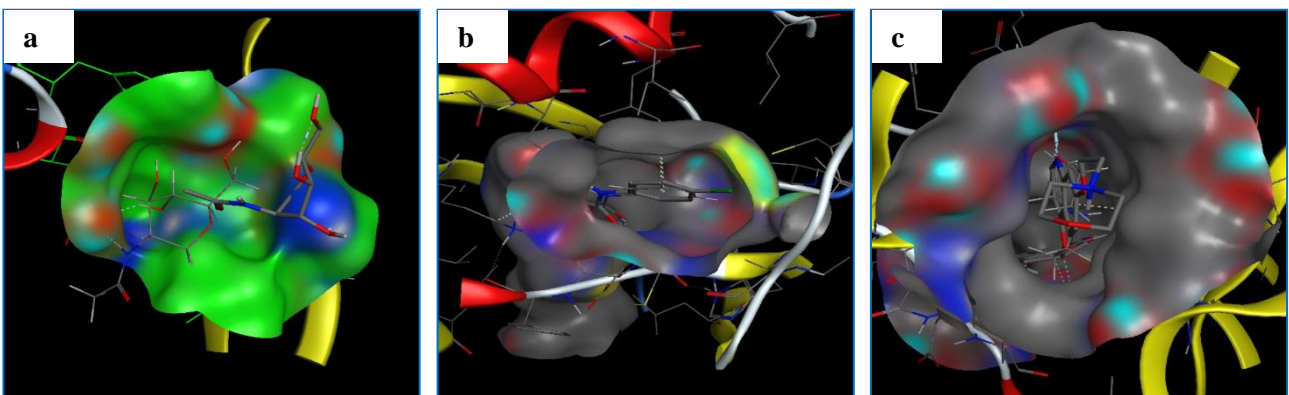


Figure 9: Site active des trois enzymes étudiés, (a) : VEGF (PDB ID: 5T89), (b) : VEGFR-1 (PDB ID: 3HNG) et (c) : VEGFR-2 (PDB ID: 2XIR).

CHAPITRE II : MATERIELS & METHODES

Tableau 5 : Quelques informations des enzymes étudiés : VEGF (PDB ID:5T89), VEGFR-1 (PDB ID:3HNG) et VEGFR-2 (PDB ID:2XIR).

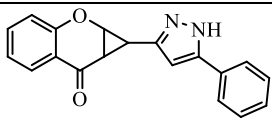
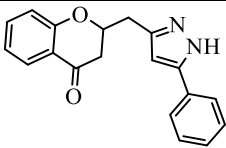
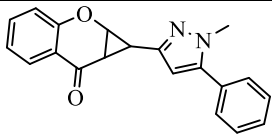
Enzymes PDB	Méthodes	Organisme	Resolution (Å)	Ligands co-cristallisés	Méthodes
5T89	X-ray diffraction	<u>Homo sapiens</u>	4.00	NAG	5T89
3HNG	X-ray diffraction	<u>Homo sapiens</u>	2.70	8ST	3HNG
2XIR	X-ray diffraction	<u>Homo sapiens</u>	1.50	00J	2XIR

Les cofacteurs et les ions ont été retirés, tandis que les ligands et les enzymes ont été adaptés au pH physiologique. Les ligands ont été considérés comme flexibles, tandis que les enzymes ont été traitées comme étant rigides.

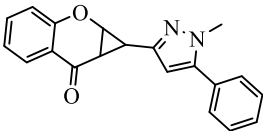
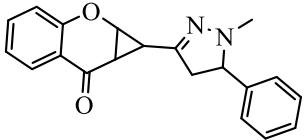
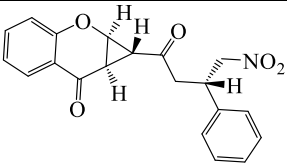
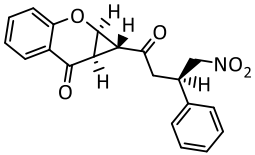
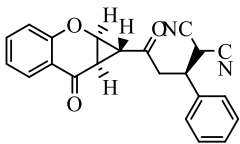
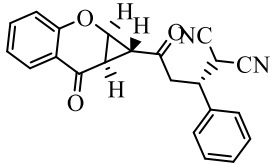
II.3.1.1.2. Préparation des composés (ligands)

Les composés sont généralement des molécules organiques dont la structure de départ peut être dessinée à l'aide de logiciels d'interface graphique ou de modélisation moléculaire. Dans ce cas, les structures des composés ont été dessinées à l'aide du logiciel ChemDraw Ultra 16.0 et sont présentées ci-dessous.

Tableau 6 : Structure chimique des composés étudiés.

Ligands	Nomenclature
	1-(5-phényl-1H-pyrazol-3-yl)-1a,7a-dihydrocyclopropa[b]chromèn-7(1H)-one
	2-((5-phényl-1H-pyrazol-3-yl)méthyl)chroman-4-one
	1-(1,5-diphényl-1H-pyrazol-3-yl)-1a,7a-dihydrocyclopropa[b]chromèn-7(1H)-one

CHAPITRE II : MATERIELS & METHODES

	<p>1-(1-méthyl-5-phényle-1<i>H</i>-pyrazol-3-yl)-1a,7a-dihydrocyclopropa[b]chromèn-7(1H)-one</p>
	<p>1-(1-méthyl-5-phényle-4,5-dihydro-1<i>H</i>-pyrazol-3-yl)-1a,7a-dihydrocyclopropa[b]chromèn-7(1H)-one</p>
	<p>(1<i>R</i>,1<i>aS</i>,7<i>aR</i>)-1-((<i>S</i>)-4-nitro-3-phénylbutanoyl)-1a,7a-dihydrocyclopropa[b]chromèn-7(1H)-one</p>
	<p>(1<i>R</i>,1<i>aS</i>,7<i>aR</i>)-1-((<i>R</i>)-4-nitro-3-phénylbutanoyl)-1a,7a-dihydrocyclopropa[b]chromèn-7(1H)-on</p>
	<p>2-((<i>S</i>)-3-oxo-3-((1<i>R</i>,1<i>aS</i>,7<i>aR</i>)-7-oxo-1,1a,7,7a-tetrahydrocyclopropa[b]chromèn-1-yl)-1-phénylpropyl)malononitrile</p>
	<p>2-((<i>R</i>)-3-oxo-3-((1<i>R</i>,1<i>aS</i>,7<i>aR</i>)-7-oxo-1,1a,7,7a-tetrahydrocyclopropa[b]chromèn-1-yl)-1-phénylpropyl)malononitrile</p>

Dans notre étude, nous avons utilisé neuf composés capables d'interagir avec trois enzymes : VEGF (PDB ID: 5T89), VEGFR-1 (PDB ID: 3HNG) et VEGFR-2 (PDB ID: 2XIR). Pour optimiser les géométries de nos ligands, nous avons utilisé le logiciel HyperChem (Version 7.0, Hypercube, USA, <http://www.hyper.com>) en utilisant la méthode de la mécanique

CHAPITRE II : MATERIELS & METHODES

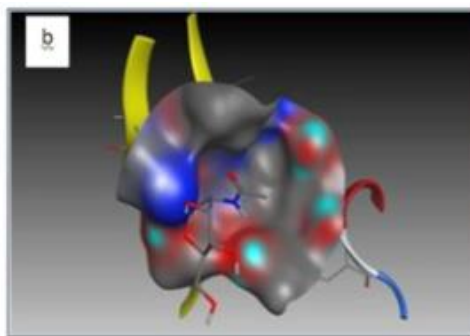
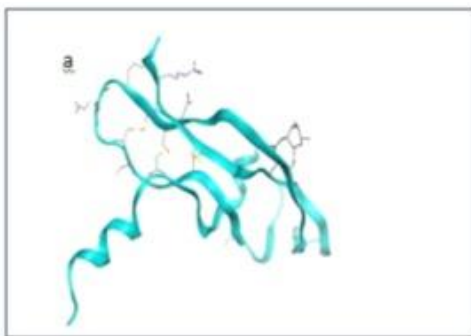
moléculaire avec le champ de force MM+. Ensuite, nous avons effectué une optimisation supplémentaire en utilisant la méthode semi-empirique AM1.

II.3.2. Activité inhibitrice des récepteurs de facteur vasculaire endothéliale par Docking moléculaire de H.E d'*Inula viscosa* de Tlemcen

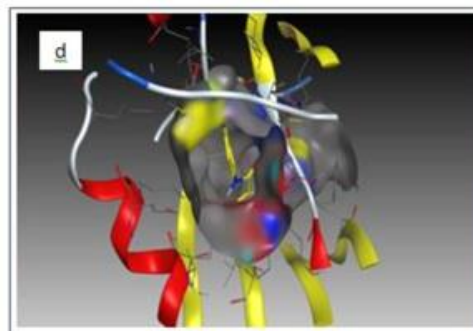
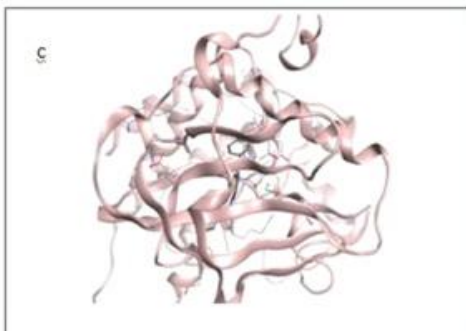
II.3.2.1. Préparation et optimisation des enzymes et des inhibiteurs

L'étude de simulation d'amarrage moléculaire a été réalisée à l'aide du logiciel Molecular Operating Environment (MOE) [99]. La minimisation de l'énergie a été effectuée dans les conditions suivantes : Température = 300°K, pH = 7, la géométrie a été réalisée en utilisant les valeurs de champ de MMFF94x et Hamiltonian AM1. La base de données PDB (<https://www.rcsb.org/>) a été utilisée pour obtenir la structure complète des récepteurs VEGF : (VEGFR-1) ID PDB : 3HNG, VEGFR-2 (ID PDB : 2XIR), VEGF (PDB ID : 5t89 a été obtenu par diffraction des rayons X). Les molécules d'eau ont été retirées et le récepteur a été préparé pour l'étude du Docking. Les structures des inhibiteurs ont été téléchargées de la base de données PubChem (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov>).

Les sites actifs de l'enzyme avec la molécule de co- cristallisation sont illustrés aux figures suivantes.

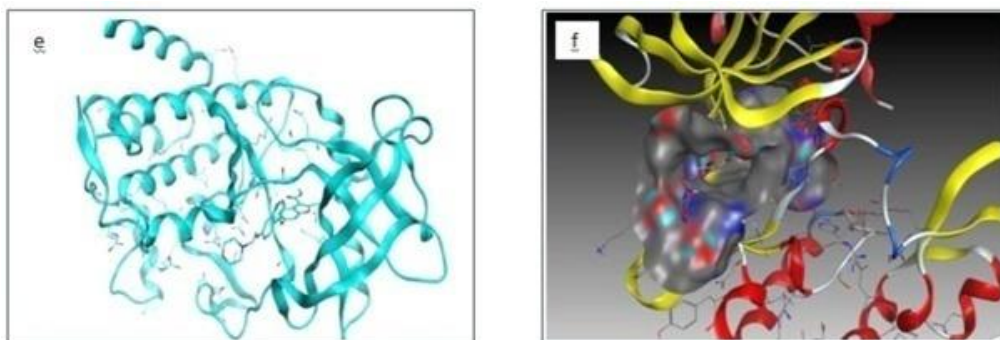


(a) le modèle simplifié de (VEGF), (b) le site actif isolé du (VEGF),5t89.



(c) modèle simplifié de (récepteur VEGFR-1), (d) le site actif du VEGFR-1 isolé, 3HNG.

CHAPITRE II : MATERIELS & METHODES



(e) modèle simplifié de (récepteur de VEGFR-2), et (f) site actif isolé de VEGFR-2, 2XIR.

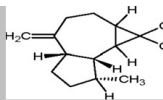
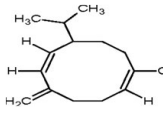
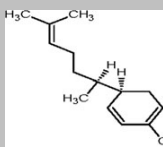
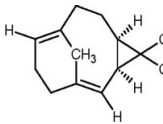
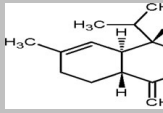
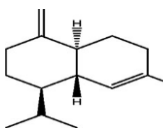
Figure 10 : Modèle simplifié d'enzymes et de site actif isolé.

La liste des médicaments utilisés dans les études d'amarrage *in silico* est extraite du tableau 5, qui est basé sur la base de données en ligne PubChem (consultée le 07.01.2014) et la base de données ChEMBL en ligne (consultée le 13.11.2013). Les énergies minimisées des ligands et leur toxicité sont répertoriées dans le tableau 6.

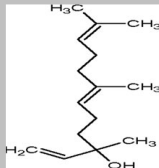
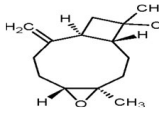
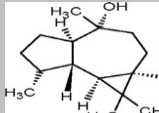
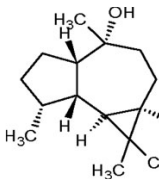
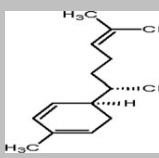
Tableau 7 : Divers médicaments utilisés dans les études d'amarrage *in silico*.

N°	Médicament anti angiogénique	Nom IUPAC	N° /CID	Masse moléculaire (g/mol)	Formule moléculaire	Structure
1	cis- α -Bergamotene	(1S,5S,6S)-2,6-diméthyle-6-(4-méthylpent-3-enyl)bicyclo[3.1.1]hept-2-ène	6429303	204.35	C ₁₅ H ₂₄	
2	(E)- β -Caryophyllene	[(5Z)-6,10-diméthyl-2-méthylidène-10-bicyclo[7.2.0]undéc-5-enyl]méthanol	5352484	220.35	C ₁₅ H ₂₄ O	
3	β -Copaène	1,3-diméthyl-8-propan-2-yltricyclo[4.4.0.0 ^{2,7}]déc-3-ène	19725	204.35	C ₁₅ H ₂₄	
4	(E)- β -Farnésène	(3E,6E)-3,7,11-triméthyl-dodéc-1,3,6,10-tétraène	5281516	204.35	C ₁₅ H ₂₄	

CHAPITRE II : MATERIELS & METHODES

5	allo- Aromadendrene	(4aS,7R,7aR)-1,1,7- trimethyl-4- methylidene- 2,3,4a,5,6,7,7a,7b- octahydro- 1aHcyclopropa[e]azulene	42608158	204.35	C15H24	
6	Germacrene-D	(1Z,6Z,8S)-1-methyl- 5-methylidene-8- propan- 2-ylcyclodeca-1,6- diene	91723653	204.35	C15H24	
7	Zingibrene	(5R)-2-methyl-5- [(2S)-6-methylhept-5- en-2- yl]cyclohexa-1,3- diene	92776	204.35	C15H24	
8	Bicyclogermacrene	Bicyclogermacrene (1R,2E,6E,10S)- 3,7,11,11- tetramethylbicyclo[8.1 .0]undeca-2,6-dien	11820258	204.35	C15H24	
9	γ-Cadinene	(1S,8aR)-4,7- dimethyl-1-propan-2- yl- 1,2,3,5,6,8a- hexahydronaphthalene	441005	204.35	C15H24	
10	δ-Cadinene	(1S,4aR,8aR)-7- methyl-4- methylidene-1- propan-2-yl- 2,3,4a,5,6,8a-	6432404	204.35	C15H24	

CHAPITRE II : MATERIELS & METHODES

		hexahydro- 1Hnaphthalene				
11	(E)-Nerolidol	(6E)-3,7,11-trimethyldodeca-1,6,10-trien-3-ol	5284507	222.37	C15H26O	
12	L'oxyde de caryophyllene	(1R,4R,6R,10S)-4,12,12-trimethyl-9-methylidene-5-oxatricyclo[8.2.0.0.4,6]dodecane	1742210	220.35	C15H24O	
13	Globulol	(1aR,4R,4aR,7R,7aS,7bS)-1,1,4,7-tetramethyl-2,3,4a,5,6,7,7a,7b-octahydro-1aHcyclopropa[e]azulen-4-ol	12304985	222.37	C15H26O	
14	Ledol	(1aR,4R,4aS,7R,7aS,7bS)-1,1,4,7-tetramethyl-2,3,4a,5,6,7,7a,7b-octahydro-1aHcyclopropa[e]azulen-4-ol	92812	222.37	C15H26O	
15	Zingibereol	1-methyl-4-(6-methylhept-5-en-2-yl)cyclohex-2-en-1-ol	13213649	222.37	C15H26O	
16	τ-Muurolol	(1S,4S,4aR,8aS)-1,6-dimethyl-4-propan-2-yl-	3084331	222.37	C15H26O	

CHAPITRE II : MATERIELS & METHODES

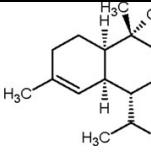
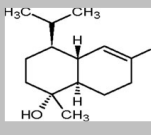
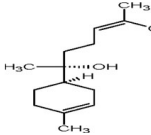
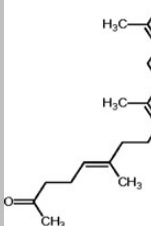
		3,4,4a,7,8,8a-hexahydro-2H-naphthalen-1-ol				
17	α -Cadinol	(1R,4S,4aS,8aS)-1,6-dimethyl-4-propan-2-yl-3,4,4a,7,8,8a-hexahydro-2H-naphthalen-1-ol	12302222	222.37	C15H26O	
18	α -Bisabolol	(2R)-6-methyl-2-[(1R)-4-methylcyclohex-3-en-1-yl]hept-5-en-2-ol	1549992	222.37	C15H26O	
19	Farnesylacetone	(5E,9E)-6,10,14-trimethylpentadeca-5,9,13-trien-2-one	1711945	222.37	C18H30O	

Tableau 8 : Minimisation des énergies des molécules naturelles pour les médicaments anti-angiogénique (Kcal/mol).

Ligand	Molécule	Energies (Kcal/mol)	Log P	Log S	Toxicité
1	cis- α -Bergamotene	3,91656e+001	4,73	- 5,29	No
2	(E)- β -Caryophyllene	4,00404e+001	3,70	- 3,07	No
3	β -Copaene	4,34100e+001	4,27	-5,91	No
4	(E)- β -Farnesene	2,18401e+001	5,20	-6,01	No
5	allo-Aromadendrene	5,36129e+001	4,27	-6,41	No
6	Germacrene-D	3,17611e+001	4,89	-4,74	No
7	Zingibrene	2,59488e+001	4,89	-4,87	No
8	Bicyclogermacrene	4,80650e+001	4,73	-4,67	No

CHAPITRE II : MATERIELS & METHODES

9	γ -Cadinene	2,61312e+001	4,73	-4,80	No
10	δ -Cadinene	2,95608e+001	4,58	-5,17	No
11	(E)-Nerolidol	2,19630e+001	4,40	-3,93	No
12	L'oxyde de caryophyllene	4,51752e+001	3,94	-4,39	Yes
13	Globulol	5,49887e+001	3,47	-4,79	No
14	Ledol	5,91711e+001	3,47	-4,79	No
15	Zingibereol	2,38235e+001	4,09	-4,37	No
16	τ -Muurolol	3,54879e+001	3,78	-3,54	No
17	α -Cadinol	3,89123e+001	3,78	-3,54	No
18	α -Bisabolol	2,58813e+001	4,23	-2,92	No
19	(E)-Z- Farnesylacetone	2,17939e+001	5,77	-5,18	No

Le tableau 6 présente les ligands des huiles essentielles des parties aériennes d'*I. viscosa*, ainsi que leurs valeurs de toxicité et d'énergie obtenues à l'aide du logiciel MOE. Ces ligands démontrent des activités biologiques cruciales, conformément aux règles établies par Lipinski et coll. en 1997 et Petersson et coll., 1988.

II. 4. Docking moléculaire

Le dépistage virtuel est une méthode alternative recommandée pour le criblage expérimental et présente un taux de réussite significatif dans le processus de découverte de médicaments. Il s'agit d'une approche informatique analogue au dépistage biologique qui gagne en popularité dans l'industrie pharmaceutique pour l'identification des meilleurs candidats. La procédure d'amarrage consiste à déterminer les spécifications du site de liaison d'un récepteur pour un ligand donné, puis à ancrer le ligand dans le site spécifié, permettant ainsi d'évaluer leur interaction [2].

II. 5. Prédiction de la ressemblance aux médicaments

Les propriétés analysées comprennent le TPSA (Surface Polaire Totale), le calcul du logP (coefficient de partage octanol/eau), le calcul du logS (solubilité), le poids moléculaire, la similarité avec les fragments de médicaments et le score de médicament [100,101].

II.6. Prédiction ADME

CHAPITRE II : MATERIELS & METHODES

ADME, qui correspond au profil pharmacocinétique d'un médicament, joue un rôle crucial dans l'évaluation des activités pharmacodynamiques d'une molécule [102]. Dans cette étude, nous avons utilisé l'outil en ligne Swiss ADME pour calculer les propriétés ADMET de tous les composés présentant les meilleurs scores [103].

II.7. Simulation Dynamique moléculaire

La dynamique moléculaire vise à simuler numériquement les phases condensées d'un système moléculaire afin de comprendre, prédire et calculer les propriétés du système étudié [104]. Dans cette étude, le meilleur conformère des récepteurs VEGF avec les ligands a été soumis à des simulations de dynamique moléculaire (MD) en utilisant le logiciel MOE [Al-Hader et coll., 1993].

La simulation de dynamique MOE est basée sur l'équation du mouvement de Poincaré-Andersen (NPA) [Bond et coll., 1999; Sturgeon & Laird, 2000]. Pour contrôler la température de simulation, l'algorithme du thermostat Berendsen a été utilisé pour redimensionner les vitesses des particules dans les simulations MD [Berendsen et coll., 1984].

Les coordonnées ont été enregistrées toutes les 0,2 ps pour obtenir une vision précise du mouvement moléculaire. Dans toutes les simulations, la distance de coupure pour les interactions van der Waals a été fixée à 8 Å. Le processus de minimisation de l'énergie a été appliqué en utilisant le champ de force MMFF94x Parikesit et coll., [166]. Une analyse détaillée des résultats a été réalisée.

II.8. Etude de l'activité antimicrobienne de l'huile essentielle de *Daucus Gracilis steinh*

L'activité antibactérienne de l'huile essentielle de fleur de *D gracilis steinh* a été testé contre plusieurs micro-organismes quatre bactéries de Gram-positifs: *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923), *Listeriamonocytogenes* (ATCC 15313), *Enterococcus faecalis* ATCC 49452 et *Bacillus cereus* (ATCC 10876), ainsi que trois bactéries à Gram négatif : *Escherichia coli* (ATCC25912), *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853), *Klebsiellapneumoniae* (ATCC 700603) et deux levures : *Candida albicans* (IP444) et *Aspergillus flavus* (ATCC 200026).

II. 8. 1. Evaluation de l'activité anti microbienne par la méthode de diffusion sur disque

L'activité antibactérienne de l'huile a été évaluée à l'aide de la méthode de diffusion sur disque de gélose, selon le protocole de Rios et coll. Pour réaliser l'aromatogramme, des disques de papier filtre stérilisés de 6 mm de diamètre ont été déposés sur la surface du gélose ensemencé, après avoir été préalablement chargés avec 10 µL d'huile essentielle.

Les boîtes de Pétri d'un diamètre de 9 cm ont été préparées avec une épaisseur de gélose de 4 mm. Après 24 heures d'incubation à 37 °C, le diamètre de l'inhibition a été mesuré. Pour les

CHAPITRE II : MATERIELS & METHODES

champignons, l'incubation a été réalisée à une température de 28 °C pendant 7 jours. Des disques chargés avec 10 µL de DMSO ont été utilisés comme contrôle négatif, en plus du disque antibiotique utilisé comme contrôle positif. Tous les tests ont été effectués en trois exemplaires.

II.8. 2. La technique de micro dilution en milieu liquide

Les huiles essentielles ont été dissoutes dans des micro-tubes stériles contenant du DMSO. Ensuite, des dilutions en série demi-logarithmique ont été préparées dans des microplaques à 96 puits. Pour chaque dilution, 50 µl ont été transférés dans les puits de la microplaque, qui contenaient chacun 150 µl de bouillonensemencé avec une concentration de 10⁶ UFC/ml de cultures bactériennes. Après une période d'incubation de 18 heures à 37 °C, la Concentration Minimale Inhibitrice (CMI) de l'huile essentielle a été déterminée à partir du premier puits où aucune croissance bactérienne n'était observée [105]. Tous les tests ont été réalisés en triplicata.

II.9. Etude *in vitro* de l'activité anti-inflammatoire de l'huile essentielle de *D,gracilis steinh*

Pour évaluer l'activité anti-inflammatoire *in vitro* de l'huile essentielle, nous avons utilisé la méthode de dénaturation de la protéine. Le Diclofénac sodique, un puissant anti-inflammatoire, a été utilisé comme référence.

Dans cette méthode, 2 mL de différentes concentrations d'huiles essentielles (10, 20 et 30 ml/L) ont été mélangés avec 2,8 mL d'une solution tampon phosphate (pH 6,4) et 0,2 mL d'albumine d'œuf frais. Le mélange a ensuite été incubé à 37°C pendant 15 minutes.

La dénaturation de l'albumine a été induite en plaçant le mélange dans un bain-marie à 70°C pendant 5 minutes. Après refroidissement, l'absorbance a été mesurée à 660 nm. Le pourcentage d'inhibition de la dénaturation a été calculé en utilisant la formule suivante :

$$\% \text{ inhibition} = (A_{\text{contrôle}} - A_{\text{test}}) / A_{\text{contrôle}} \times 100,$$

II.10. Etude de l'Activité Insecticide par l'Effet Toxique par Fumigation de l'huile essentielle des fleurs de *Daucus gracilis steinh*

Dans le cadre de cette étude visant à déterminer la toxicité fumigante des huiles essentielles à différentes concentrations, soit 0,5, 1 et 2 µL, des papiers filtres de diamètre 2 cm (Whatman No.1) ont été utilisés. Les huiles essentielles ont été directement appliquées sur les papiers filtres, sans l'utilisation de solvant. Les filtres ont ensuite été fixés à la surface inférieure des couvercles en plastique de pots d'une capacité de 1 L.

Les pots contenant les papiers filtres imprégnés d'huile essentielle ont été conservés à une température de 25-26 °C et à une humidité relative de 80-85%. Des jeux de contrôle ont été prévus sans l'ajout d'huile essentielle. Les tests ont été réalisés en triplicat. La mortalité des

CHAPITRE II : MATERIELS & METHODES

insectes a été évaluée 24 heures après le début de l'exposition. Le pourcentage de mortalité des insectes a été calculé en utilisant la formule de correction d'Abbott, comme mentionné précédemment.

La mortalité corrigée = $(OMT - OMC) / (100 - CM) \times 100$, Ou

MOT : Mortalité observée pendant le traitement,

MOC : Mortalité Observé sous contrôle,

CM: Mortalité de contrôle Pourcentage de mortalité = $(\text{Nombre de larves mortes} / \text{Nombre de larves introduites}) \times 100$.

CHAPITRE 3: RESULTATS & DISCUSSIONS

CHAPITRE III : RESULTATS & DISCUSSIONS : PARTIE CHIMIQUE

III.1 Synthèse des hybrides à base de 1-cinnamoyl-1a,7a-dihydrocyclopropano [b]chromèn-7 (1H)-one

Introduction

Ce travail de synthèse fait suite aux recherches menées par Joana Sousa [1], visant à obtenir des hétérocycles azotés attachés au cyclopropane. Ces composés complexes ont été synthétisés dans le cadre d'un stage de longue durée en collaboration avec le laboratoire de synthèse organique de l'université d'Aveiro, au Portugal. L'objectif était de produire une série de molécules appelées "hybrides drugs" dans le but de tester leur efficacité contre le cancer. Tout au long de la synthèse, une étude optimale complète et approfondie a été réalisée pour avoir les résultats fiables et pertinents. Les molécules ont été obtenues avec des rendements allant de 20% à 100%.

Les structures des molécules synthétisées ont été validées grâce à l'analyse par résonance magnétique nucléaire (RMN). Les spectres RMN ont été enregistrés en utilisant un spectromètre Bruker Avance fonctionnant à une fréquence de 300 MHz pour les protons (^1H) et de 75,47 MHz pour les carbones (^{13}C).

Les spectres RMN ^1H présentent trois signaux caractéristiques importants : des doublets de doublets situés à des déplacements chimiques (δH) compris entre 2,62 et 3,38 ppm, 2,83 et 3,19 ppm, et 4,71 à 4,95 ppm. Ces signaux correspondent respectivement aux protons 1-H, 7a-H et 1a-H de l'anneau cyclopropane, ce qui confirme la présence de cyclopropane dans les nouvelles structures synthétisées.

La présence du cyclopropane dans les molécules étudiées est confirmée en se basant sur les données des spectres RMN ^{13}C . Les atomes de carbone C-1 sont attribués à des déplacements chimiques (δC) compris entre 24,6 et 28,9 ppm, les atomes C-7a sont attribués à des déplacements chimiques entre 34,4 et 35,8 ppm, et les atomes C-1a sont attribués à des déplacements chimiques entre 63,5 et 65,2 ppm. Ces attributions confirment la présence de la fraction cyclopropane dans les molécules étudiées.

Les données HSQC, complétées par les corrélations croisées HMBC, ont été utilisées pour tous les composés synthétisés. Les principales connectivités HMBC observées comprennent les corrélations de 1-H avec C-1a et C-7, de 7a-H avec C-1, C-6a, C-7 et C-1', et de 1a-H avec C-2a et C-1'. Ces corrélations ont été majoritairement observées dans tous les cas. De plus, les groupes carbonyle 7-C=O ($\delta\text{C} = 184,5\text{-}186,7$ ppm) et 1'-C=O ($\delta\text{C} = 193,3\text{-}203,3$ ppm) ont été identifiés [1].

CHAPITRE III : RESULTATS & DISCUSSIONS : PARTIE CHIMIQUE

Ces molécules synthétisées font l'objet d'une étude *in silico* de leur activité inhibitrice sur les récepteurs du facteur de croissance vasculaire endothélial VEGF moyennant le Docking Moléculaire.

Les études stéréochimiques ont mis en évidence l'importance de la chiralité dans les scaffolds à base de cyclopropane et son influence sur les propriétés physiologiques et pharmacologiques des composés contenant cette sous-structure, en particulier, dans les interactions avec les bio récepteurs chiraux. Les composés contenant du cyclopropane sont donc des agents pharmacologiques biologiquement pertinents et intéressants, largement utilisés comme agents anticancéreux, composés antiviraux, agonistes sélectifs de la sérotonine 2C et peptidomimétiques [1].

Les composés naturels contenant du cyclopropane exhibent une complexité structurale significative et ont un impact biologique important. Ils ont démontré des propriétés antifongiques, anticancéreuses, inhibitrices de protéines, insecticides et antimétaboliques. Leur présence dans différents organismes et leur diversité structurale suggèrent leur implication dans divers processus biologiques, ainsi que leur potentiel en tant que sources d'agents thérapeutiques et de produits chimiques d'intérêt[106].

Selon les recherches menées par Armin de Meijere et coll. [107-108], le cyclopropane est le plus petit système cyclique de cycloalcane, présent dans une grande diversité de métabolismes secondaires, couvrant une variété de structures. Ces composés ont été isolés à partir de diverses sources telles que des plantes, des champignons, des micro-organismes, des terpénoïdes, des métabolites d'acides gras, des phéromones et des acides aminés. On cite à titre d'exemples l'acide trans chrysanthemique (1) isolé en 1924 par Staudinger et Ruzicka[109], et Synthétisé par la suite par Masanao Matsui et coll.[110] à partir de (+)- carène (2) pour les utiliser comme produits optiquement purs dans la synthèse énantio-spécifiques.



Figure 11 : Structure des : acide trans chrysanthemique et (+)- carène.

III.1.1. Stratégie de synthèse

CHAPITRE III : RESULTATS & DISCUSSIONS : PARTIE CHIMIQUE

Dans la synthèse suivante on a fait réagir une série de nucléophiles donneurs de Michael avec notre précurseur de base le Cinnamoyl-1a,7a-dihydrocyclopropa[b]chromèn-7(1H)-one accepteur de Michael[1], la réaction de Michael avec les différents nucléophiles a été réalisée dans les conditions appropriées, généralement en présence d'une base comme catalyseur. Les conditions réactionnelles peuvent varier en fonction du nucléophile utilisé. Le choix des différents nucléophiles était adapté à notre objectif qui est la synthèse des composés pyrazoliques. Une optimisation a été réalisée dans le cas de tous les substrats.

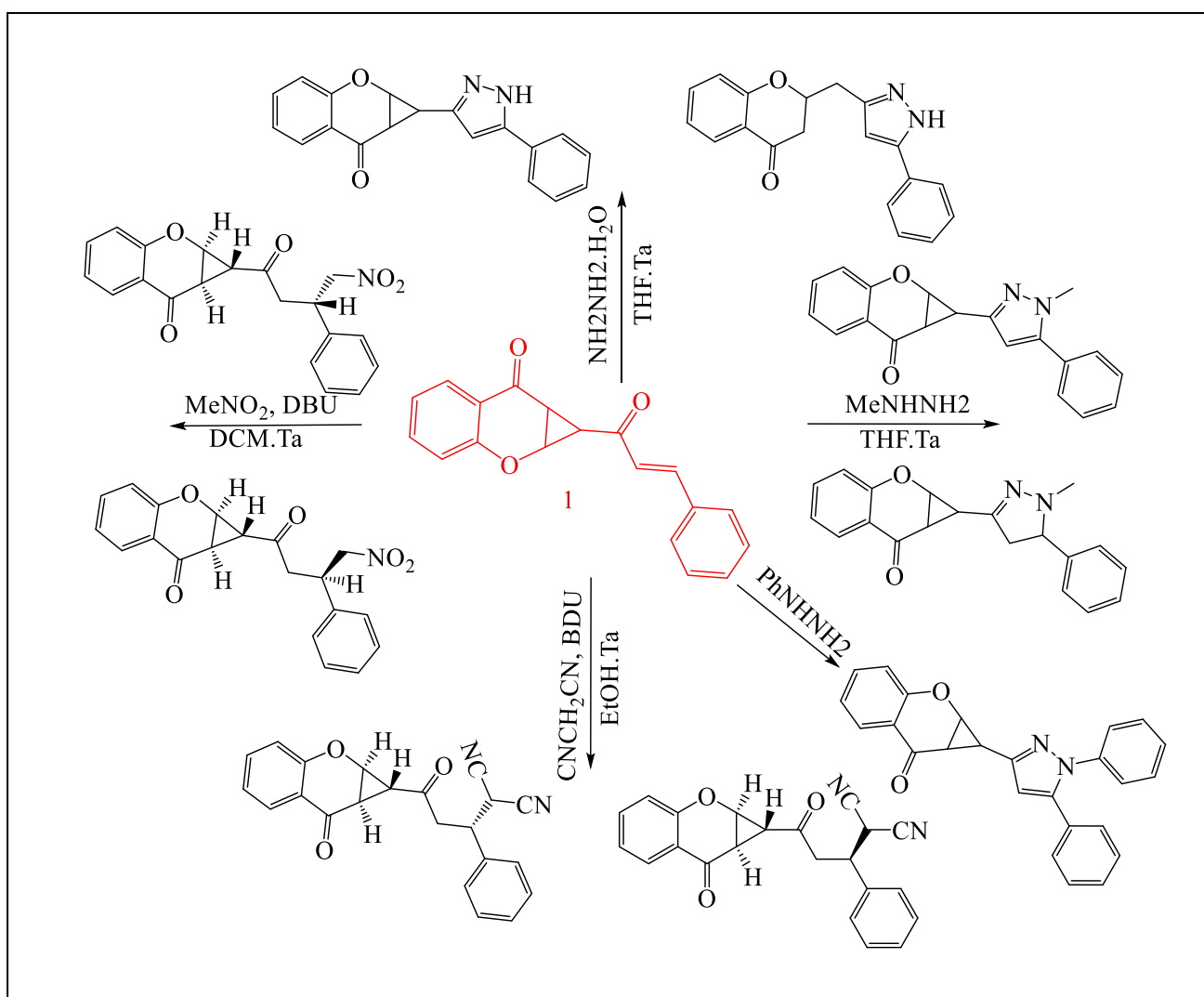


Schéma 18: Synthèse des hybrides à base de cyclopropa[b]chromanones.

III.1.2. Mécanisme proposé de molécules hybrides synthétisées

Mécanisme de formation du :

CHAPITRE III : RESULTATS & DISCUSSIONS : PARTIE CHIMIQUE

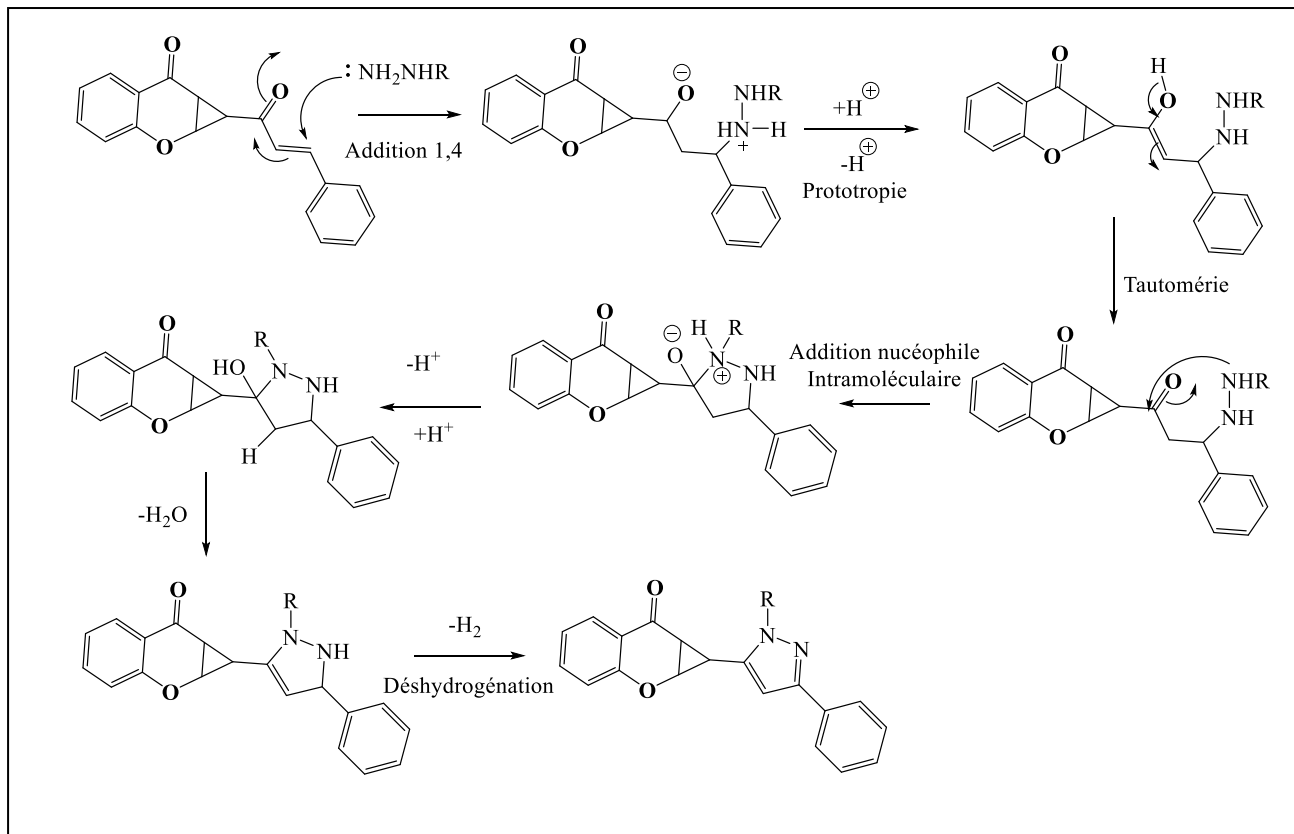
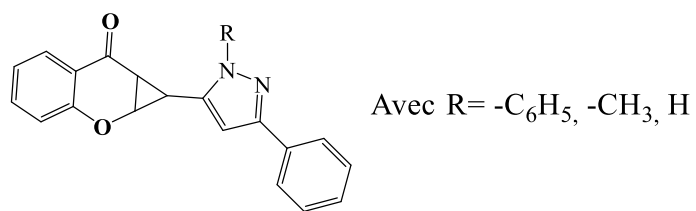
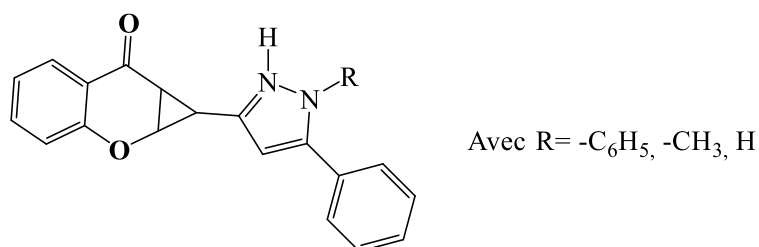


Schéma 19 : Synthèse des hybrides à base de cyclopropa[b]chromanones.

Mécanisme de formation du :



CHAPITRE III : RESULTATS & DISCUSSIONS : PARTIE CHIMIQUE

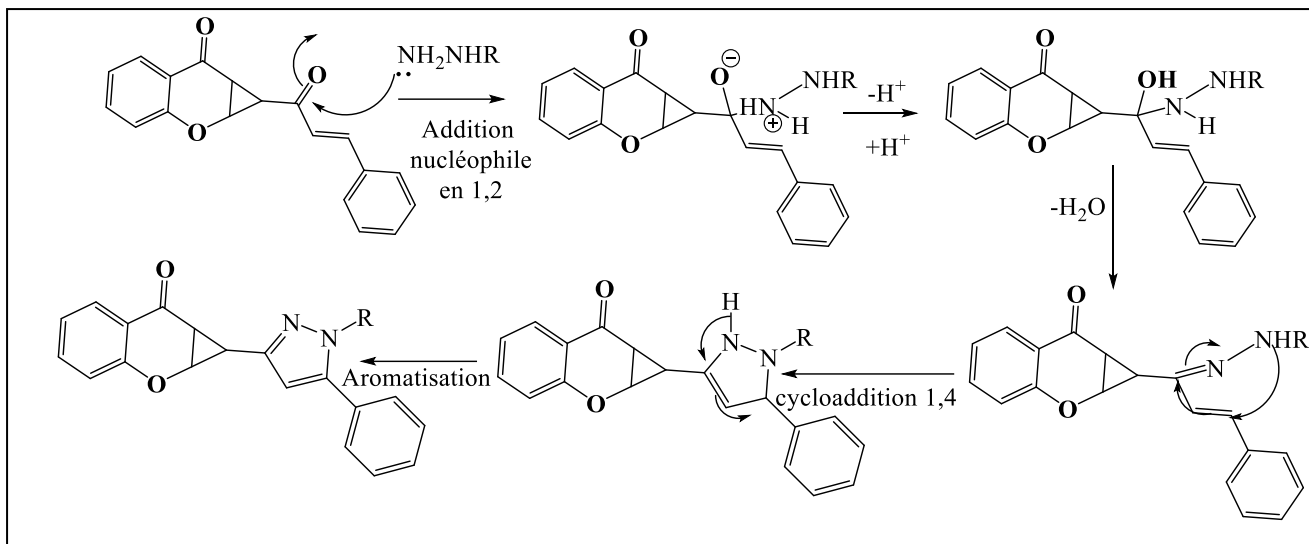


Schéma 20: Synthèse des hybrides à base de cyclopropa[b]chromanones.

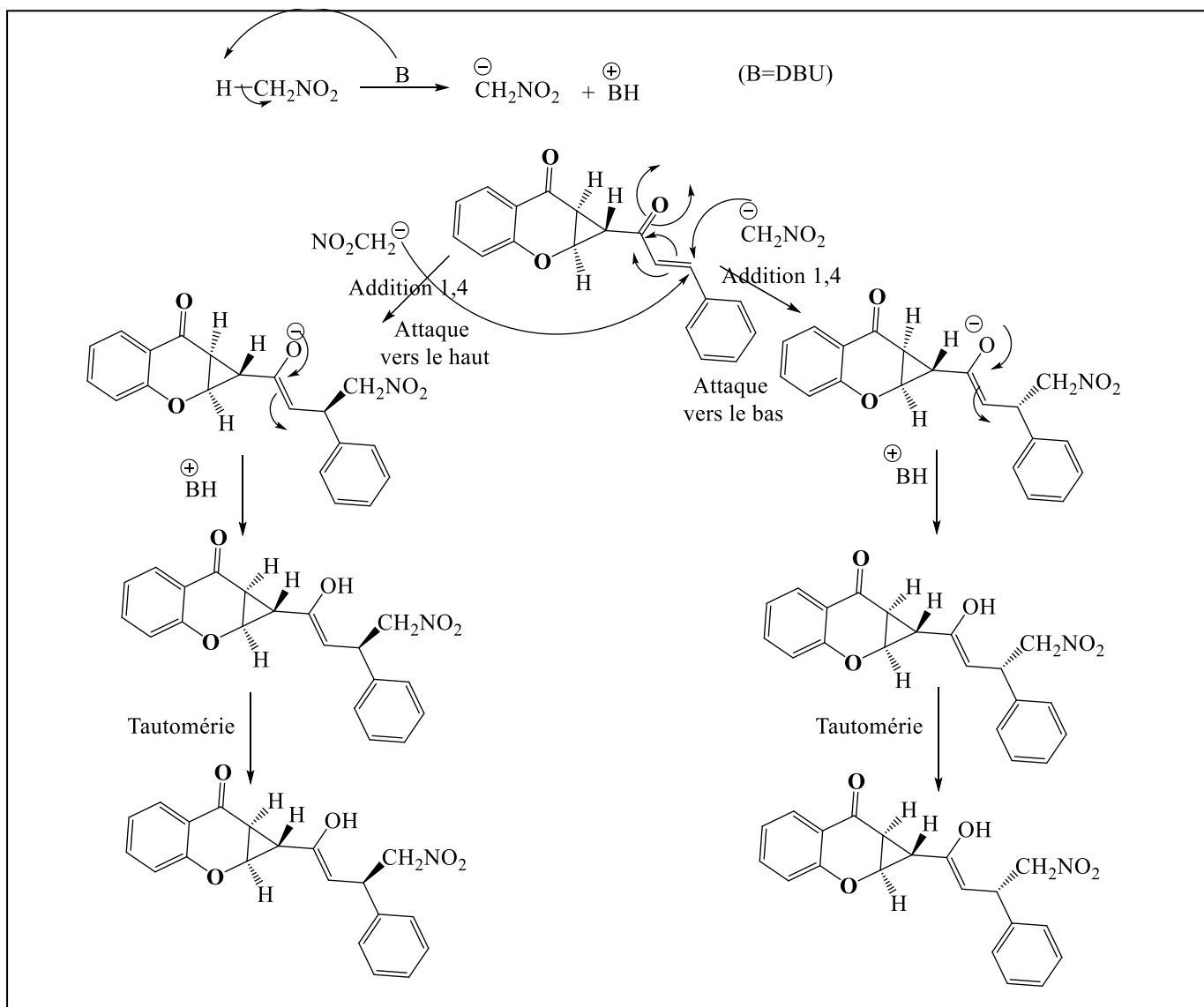


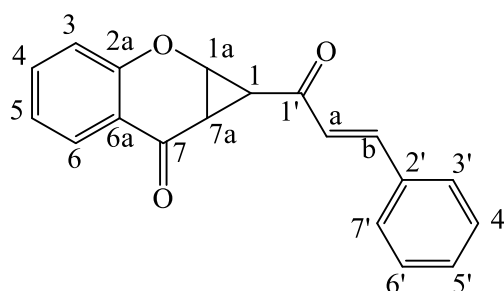
Schéma 21 : Mécanisme de l'addition de nitrométhane à notre précurseur de base accepteur de Michael.

CHAPITRE III : RESULTATS & DISCUSSIONS : PARTIE CHIMIQUE

Dans le cas de l'addition de malononitrile à notre précurseur de base accepteur de Michael, le processus se déroule pratiquement selon le même mécanisme que l'addition de nitrométhane dans l'addition de Michael.

Les spectres de RMN proton et C13 des molécules synthétisées sont interprétés en les comparant avec les spectres de RMN proton et C13 de leurs précurseurs de base le Cinnamoyl-1a,7a-dihydrocyclopropa[b]chromèn-7(1H)-one.

a. Cinnamoyl-1a,7a-dihydrocyclopropa[b]chromèn-7(1H)-one

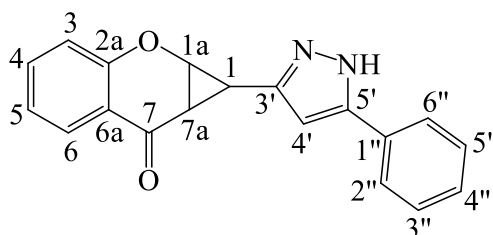


RMN- H^1 (300,13 MHz, $CDCl_3$): δ = 2,97 (dd, J = 4,8, 2,8 Hz, 1 H, 1-H), 3,03 (dd, J = 6,7,4,8 Hz, 1H, 7a-H), 4,85 (dd, J = 6,7, 2,8 Hz, 1 H, 1a-H), 6,87 (d, J = 16,1 Hz, 1 H, α -H), 7,02 (dd, J = 8,4, 0,9 Hz, 1 H, 3-H), 7,13 (td, J = 7,8, 0,9 Hz, 1 H, 5-H), 7,37–7,44 (m, 3 H, 4'-H, 5'-H, 6'-H), 7,52–7,58 (m, 3 H, 4-H, 3'-H, 7'-H), 7,60 (d, J = 16,1 Hz, 1 H, β -H), 7,95 (dd, J = 7,8, 1,7 Hz, 1 H, 6-H) ppm.

RMN- C^{13} (125,77 MHz, $CDCl_3$): δ = 27,1 (C-1), 35,3 (C-7a), 64,1 (C-1a), 117,9 (C-3), 118,7 (C-6a), 122,6 (C-5), 125,6 (C- α), 127,1 (C-6), 128,6 (C-3', C-7'), 129,1 (C-4', C-6'), 131,1 (C-5'), 134,0 (C-2'), 136,1 (C-4), 144,2 (C- β), 157,2 (C-2a), 186,5 (C-7), 194,3 (C-1') ppm.

HRMS (ESI⁺): calc, pour $[C_{19}H_{14}O_3 + Na]^+$ 313,0841, 13,0841.

b. 1-(5-Phényl-1H-pyrazol-3-yl)-1a,7a-dihydrocyclopropa[b]chromèn-7(1H) one produit pâteux de couleur blanche, Rdt = 40%.



CHAPITRE III : RESULTATS & DISCUSSIONS : PARTIE CHIMIQUE

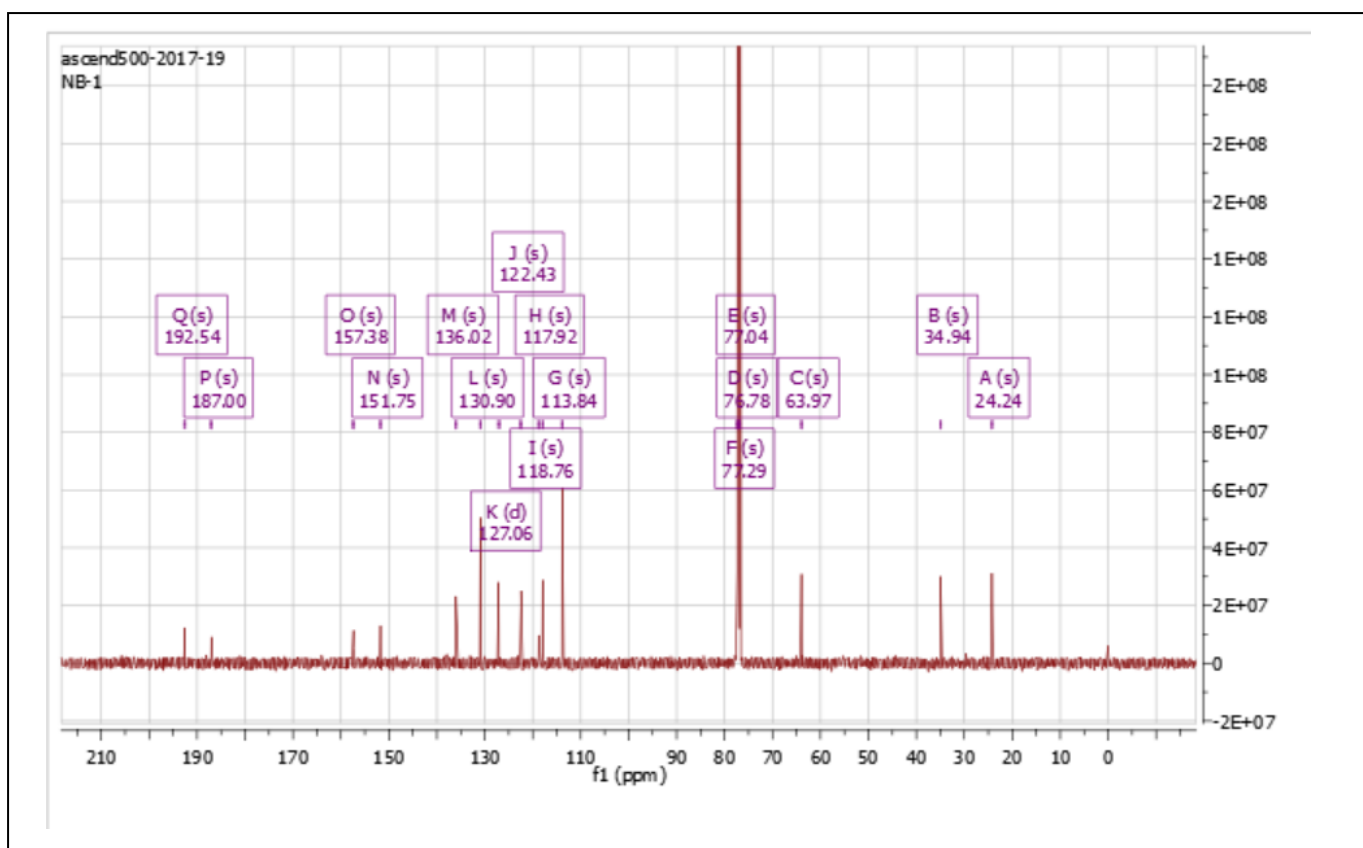


Figure 12 : RMN -C¹³ de 1- (5-Phényl-1H-pyrazol-3-yl)-1a, 7a-dihydrocyclopropa[b]chromèn-7(1H)-one.

RMN-H¹ (500,13 MHz, CDCl₃): δ 2,80 (dd, *J*5,0,6,5 Hz, 1H, H-7a), 2,86 (dd, *J*3,5,5,0 Hz, 1H, H-1), 4,85 (dd, *J*3,5,6,5 Hz, 1H, H-1a), 6,38 (s, 1H, H-4'), 6,99 (dd, *J*0,8, 8,5 Hz, 1H, H-3), 7,08 (dt, *J*0,8, 7,6 Hz, 1H, H-5), 7,34-7,37 (m, 1H, H-4''), 7,42 (t, *J*7,5 Hz, 2H, H-3'',5''), 7,51 (ddd, *J*1,6, 7,6, 8,5 Hz, 1H, H-4), 7,56-7,58 (m, 2H, H-2'',6''), 7,93 (dd, *J*1,6, 7,6 Hz, 1H, H-6) ppm.

RMN-C¹³ (75,47 MHz, CDCl₃): δ 19,0 (C-1), 34,7 (C-7a), 62,4 (C-1a), 101,3 (C-4'), 117,9 (C-3), 118,8 (C-6a), 122,1 (C-5), 125,5 (C-2'',6''), 127,2 (C-6), 128,7 (C-4''), 129,1 (C-3'',5''), 129,7 (C-1''), 136,0 (C-4), 145,7 (C-5'), 147,6 (C-3'), 157,1 (C-2a), 187,9 (C-7) ppm.

HRMS-ESI *m/z*calc, pour [C₁₉H₁₄N₂O₂+H]⁺: 303,11335: 303,11335.

L'analyse des spectres RMN de la molécule I-1 révèle les observations suivantes par rapport au spectre proton du substrat d'origine :

On observe la persistance des signaux du cyclopropane dans le spectre RMN, avec des déplacements chimiques légèrement plus faibles. Trois doublets de doublets sont présents, avec des déplacements chimiques de (2,80-3,03 ppm, 1H, 7a), (2,86-2,97 ppm, 1H, 1) et (4,85 ppm, 1H, 1a).

CHAPITRE III : RESULTATS & DISCUSSIONS : PARTIE CHIMIQUE

Un signal singulier caractéristique du proton pyrazolique apparaît à 6,38 ppm. Les deux doublets caractéristiques du proton en position α et β , α -H et β -H, ont disparu, avec des déplacements chimiques à 6,87 ppm et 7,60 ppm respectivement.

On observe la présence d'un doublet de doublets à (6,99-7,02 ppm, 1H, 3), d'un doublet de triplet à (7,08-7,13 ppm, 1H, 5) et d'un doublet de doublet de doublet (1H, 4 à 7,51 ppm).

Un pic massif apparaît entre (7,34 et 7,37 ppm, 1H, 4), ainsi qu'un triplet (2H, 3' et 5') à 7,42 ppm, et un autre massif correspond aux (2H, 2' et 6') à 7,56-7,58 ppm.

On note la disparition du pic massif des (3H, 4', 5' et 6') entre 7,52-7,58 ppm. Ces observations concernent la RMN proton.

Lors de l'analyse des spectres RMN-C13 et en comparant les signaux caractéristiques du cyclopropane, les observations suivantes ont été faites :

Les signaux correspondant au cyclopropane sont moins blindés par rapport au substrat. On observe les signaux des carbones C-1 (δ = 19,0-27,1 ppm), C-7a (δ = 34,7-35,3 ppm) et C-1a (δ = 62,4-64,1 ppm) respectivement, ainsi que C-4' (δ = 101,3-129,1 ppm).

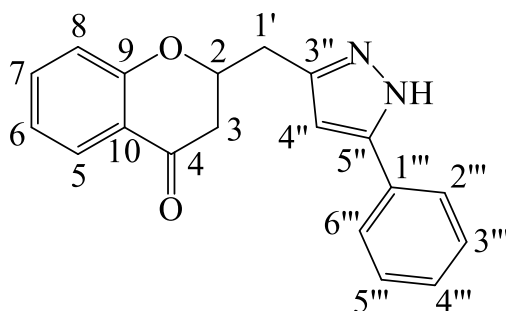
Les déplacements des carbones C-3 (δ = 117,9 ppm), C-6a (δ = 118,8 ppm), C-5 (δ = 122,1-122,6 ppm), C-6 (δ = 127,2 ppm), C-4 (δ = 136,0 ppm), C-2a (δ = 157,2 ppm) et C-7 (δ = 187,9-186,5 ppm) apparaissent pratiquement dans les mêmes régions.

On observe la disparition des signaux des carbones C- α (δ = 125,6 ppm) et C- β (δ = 144,2 ppm). Les deux carbones C-2''-6'' (δ = 125,5 ppm), C-4'' (δ = 128,7 ppm), C-3''-5'' (δ = 129,1 ppm) et C-1'' (δ = 129,7 ppm), ainsi que C-5' (δ = 145,7 ppm) et C-3' (δ = 147,6 ppm) présentent également des déplacements chimiques caractéristiques.

D'autres signaux sont présents tels que C-3' (δ = 128,6 ppm), C-7' (δ = 129,1 ppm), C-4' (δ = 131,1 ppm), C-5' (δ = 134,0 ppm) et C-1' (δ = 194,3 ppm).

c. 3-[(5-Phényle-1H-pyrazol-3-yl)méthyl]chroman-4-one

Huile jaunâtre, Rdt= 60%.



CHAPITRE III : RESULTATS & DISCUSSIONS : PARTIE CHIMIQUE

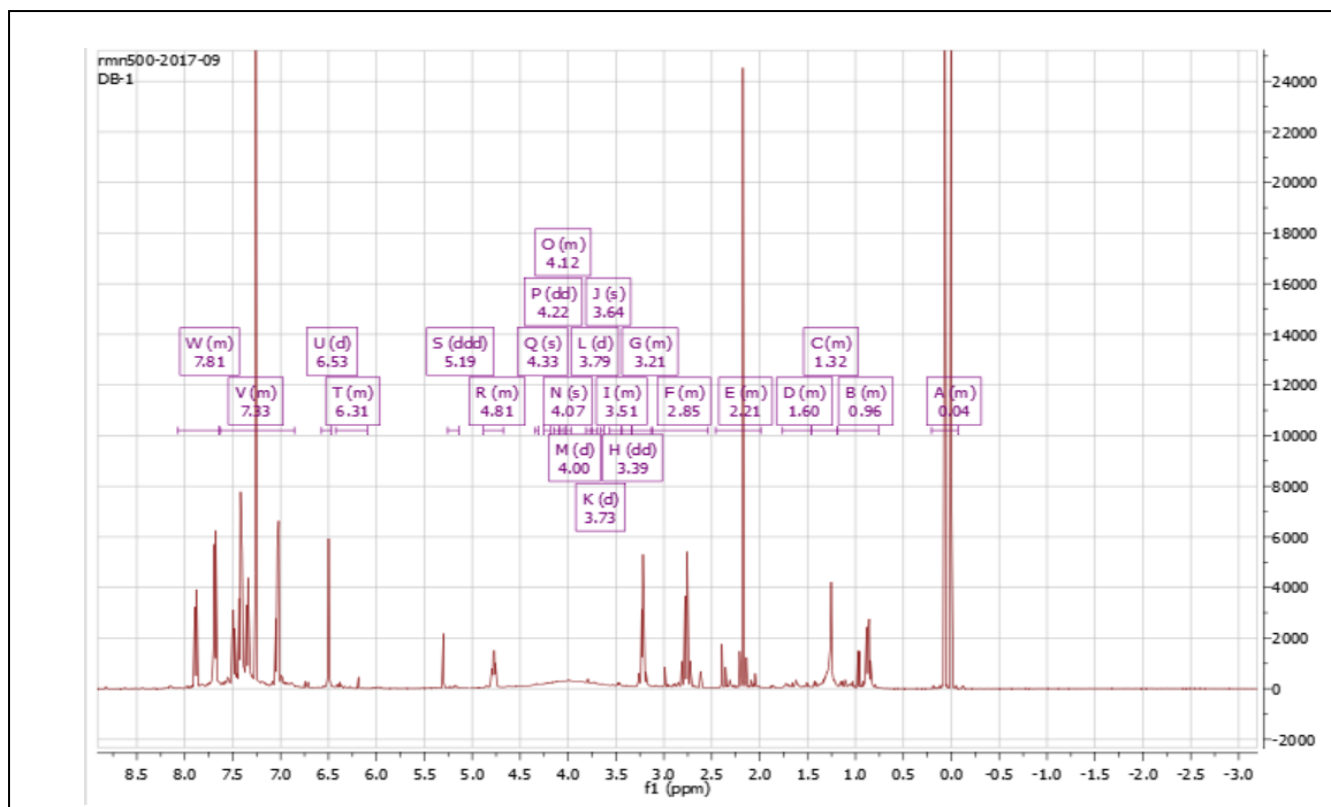


Figure 13 : RMN -H de 3-[(5-Phényl-1H-pyrazol-3-yl) méthyl] chroman-4-one.

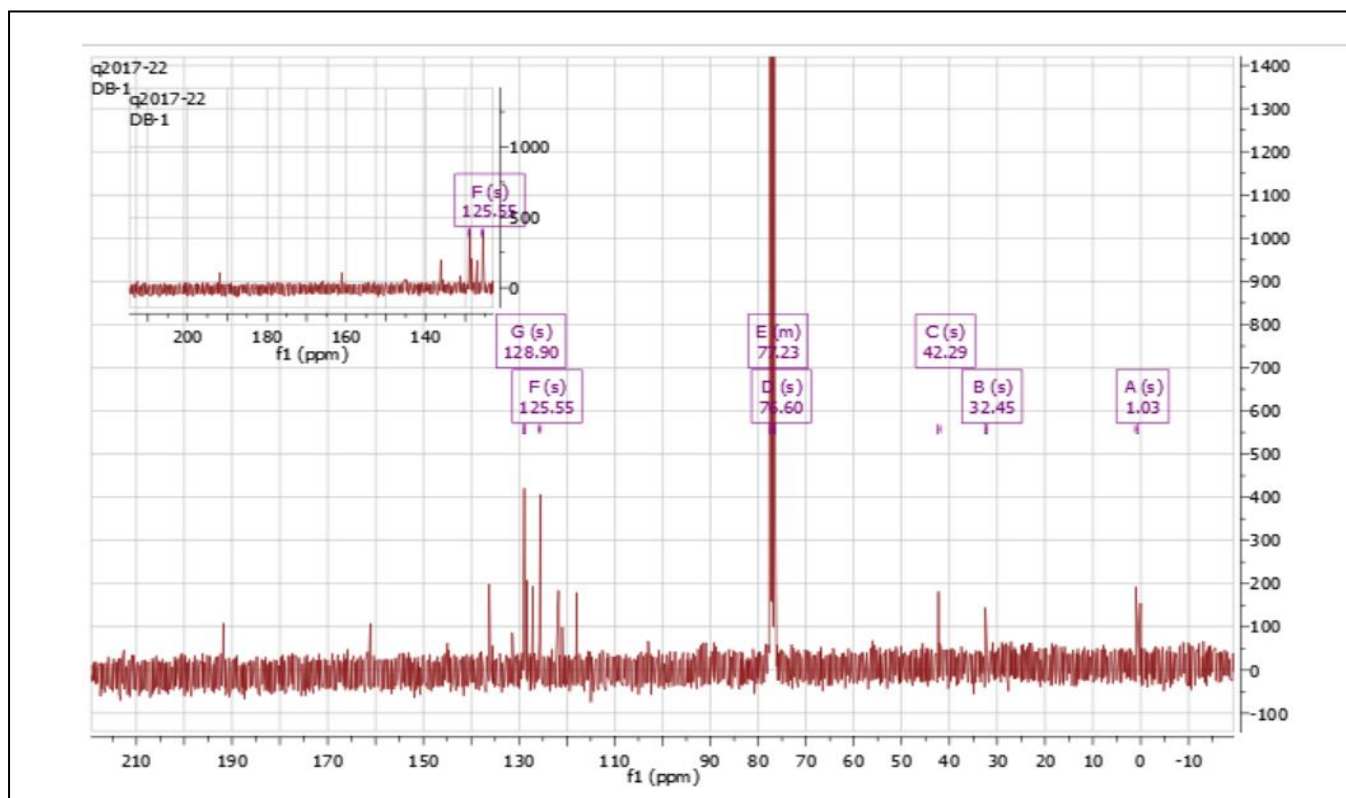


Figure 14 : RMN- C^{13} de 3-[(5-Phényl-1H-pyrazol-3-yl) méthyl] chroman-4-one.

CHAPITRE III : RESULTATS & DISCUSSIONS : PARTIE CHIMIQUE

RMN- ^1H (500,13 MHz, CDCl_3): δ 2,72-2,81 (m, 2H, H-3), 3,18-3,26 (m, 2H, H-1'), 4,75-4,80 (m, 1H, H-2), 6,50 (s, 1H, H-4''), 7,02-7,05 (m, 2H, H-6,8), 7,32-7,36 (m, 1H, H-4'''), 7,40-7,43 (m, 2H, H-3''',5'''), 7,49 (ddd, J 1,7, 7,3, 8,7 Hz, 1H, H-7), 7,67-7,69 (m, 2H, H-2''',6'''), 7,88 (dd, J 1,7, 8,1 Hz, 1H, H-5) ppm.

RMN- ^{13}C (75,47 MHz, CDCl_3): δ 32,5 (C-1'), 42,3 (C-3), 77,2 (C-2), 103,0 (C-4''), 117,9 and 121,7 (C-6,8), 120,9 (C-10), 125,6 (C-2''',6'''), 127,1 (C-5), 128,3 (C-4'''), 128,9 (C-3''',5'''), 131,4 (C-1'''), 136,2 (C-7), 143,6 (C-3''), 148,6 (C-5''), 161,1 (C-9), 191,9 (C-4) ppm.

HRMS-ESI m/z calc, Pour $[\text{C}_{19}\text{H}_{16}\text{N}_2\text{O}_2+\text{H}]^+$: 305,12900: 305,12916.

Dans le cas de la molécule I-2, les observations des spectres RMN révèlent les informations suivantes :

On observe la disparition totale des signaux caractéristiques du cyclopropane, ce qui indique l'ouverture du cycle et la formation de nouvelles liaisons. Cela se traduit par l'apparition d'un massif de 2H à (δ =2,72-2,81 ppm, H-3), un massif de 2H à (δ =3,18-3,26 ppm, H-1') et un signal singulier de proton à (δ =4,80 ppm, H-2).

La présence caractéristique d'un signal singulier à (δ =6,50 ppm, H-4'') confirme la présence du groupe pyrazole.

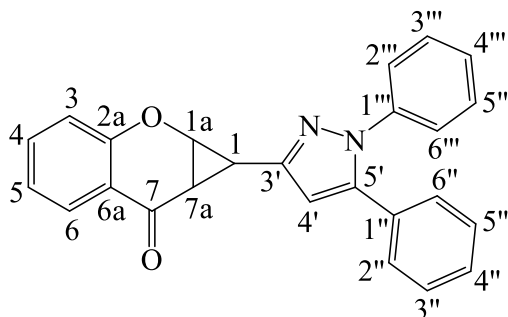
On observe l'apparition d'un massif de 2H à (δ =7,02-7,05 ppm, H-6 et H-8), ainsi qu'un massif à (δ =7,40-7,43 ppm, H-3''', H-5''') et un massif à (δ =7,67-7,69 ppm, H-2''', H-6''').

De plus, on observe un doublet de doublets de doublets à (δ =7,49 ppm, 1H, H-7) et un doublet de doublets à (δ =7,88 ppm, 1H, H-5). Ces informations proviennent des spectres RMN proton.

Par ailleurs, des différences significatives sont observées dans les déplacements des atomes de carbone (spectre RMN- ^{13}C) par rapport au substrat d'origine.

d. 1-(1,5-Diphényle-1H-pyrazol-3-yl)-1a,7a-dihydrocyclopropa[b]chromèn-7(1H)-one

Une huile de couleur marron, Rdt= 30%.



CHAPITRE III : RESULTATS & DISCUSSIONS : PARTIE CHIMIQUE

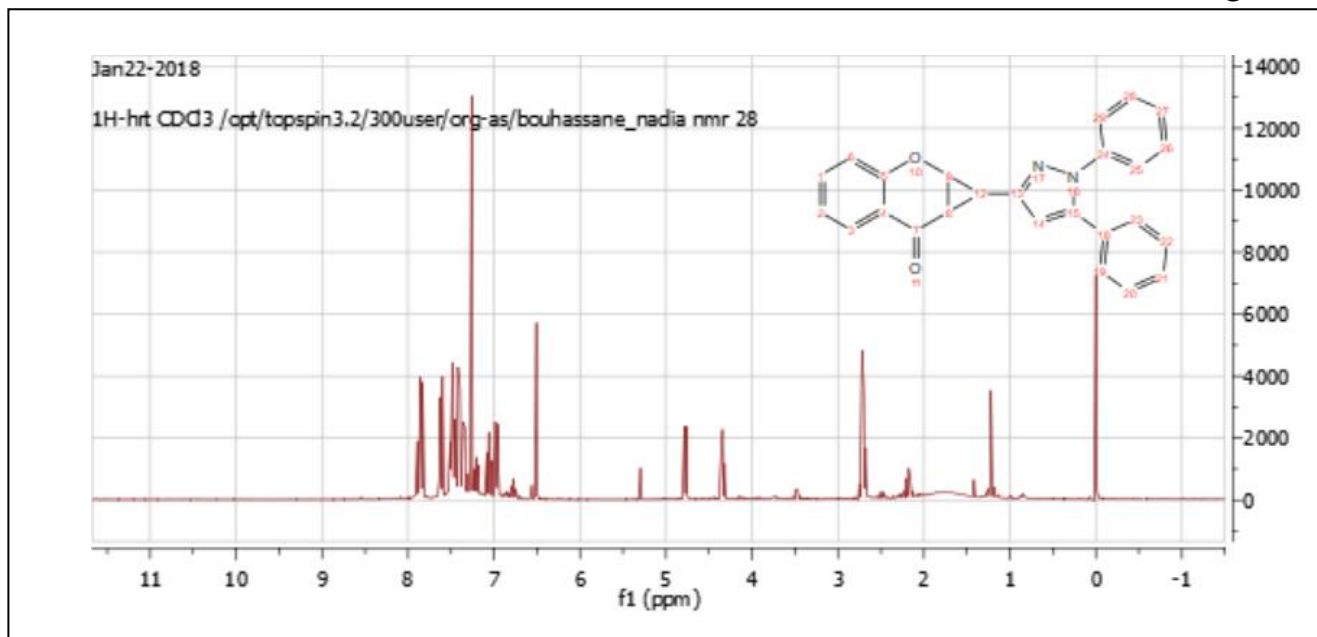


Figure 15: RMN -H de 1-(1, 5-Diphényl-1H-pyrazol-3-yl)-1a,7a-dihydrocyclopropano[b]chromèn-7(1H)-one.

RMN-H (300,13 MHz, CDCl_3): δ 2,67-275 (m, 2H, H-1,7a), 4,78 (dd, J 3,7, 6,4 Hz, 1H, H-1a), 6,51 (d, J 0,6 Hz, 1H, H-4'), 6,97 (dd, J 1,1, 8,4 Hz, 1H, H-3), 7,06 (ddd, J 1,1, 7,2, 8,0 Hz, 1H, H-5), 7,33-7,53 (m, 5H, H-4,3'',5'',3''',5'''), 7,59-7,63 et 7,82-7,86 (2 m, 2H chaque un, H-2'',6'',2''',6'''), 7,88 (dd, J 1,7, 8,0 Hz, 1H, H-6) ppm.

RMN- C^{13} (75,47 MHz, CDCl_3): δ 17,7 and 34,5 (C-1,7a), 62,4 (C-1a), 101,3 (C-4'), 117,8 (C-3), 118,4 (C-6a), 122,4 (C-5), 124,6 and 125,7 (C-2'',6'',2''',6'''), 127,2 (C-6), 128,0 et 128,2 (C-4'',4'''), 128,7 and 129,4 (C-3'',5'',3''',5'''), 132,6 et 139,2 (C-1'',1'''), 136,2 (C-4), 139,4 (C-5'), 152,0 (C-3'), 156,8 (C-2a), 186,5 (C-7) ppm.

HRMS-ESI m/z calc, Pour $[\text{C}_{25}\text{H}_{18}\text{N}_2\text{O}_2+\text{H}]^+$: 379,14465: 379,14472.

Pour la molécule I-3, les spectres RMN-H mettent en évidence les informations suivantes :

On observe la présence des signaux caractéristiques du cyclopropane, notamment un massif de 2H à (δ =2,67-2,75 ppm, H-1 et H-7a) et un doublet de doublet à (δ =4,78 ppm, 1H, 1a).

On remarque également la présence d'un doublet de pic pyrazolique à (δ =6,51 ppm, 1H, H-4'). De plus, les différents signaux des trois noyaux benzéniques sont observés, tels qu'un doublet de doublet à (δ =6,97 ppm, 1H, H-3) et un doublet de doublet dédoublé à (δ =7,06 ppm, 1H, H-5).

Un massif de 5 protons (H-4, H-3'', H-5'', H-3''', H-5''') est également identifié entre 7,33 et 7,53 ppm. On observe également deux massifs à (δ =7,59-7,63 ppm, 2H, H-2'', H-6'') et à (δ =7,82-7,86 ppm, 2H, H-2''', H-6'''). De plus, un doublet de doublet est présent à 7,88 ppm, correspondant au proton H-6.

CHAPITRE III : RESULTATS & DISCUSSIONS : PARTIE CHIMIQUE

Ces observations permettent d'analyser les différents groupes présents dans la molécule I-3 et de caractériser les déplacements chimiques des protons correspondants.

Le spectre RMN-C13 de la molécule I-3 a été enregistré à une fréquence de 75,47 MHz en utilisant du CDCl₃ comme solvant. Les déplacements chimiques observés sont les suivants :

Les carbones C-1 et C-7a sont situés à des déplacements chimiques de $\delta=17,7$ et $34,5$ ppm, respectivement. Le carbone C-1a est enregistré à $\delta=62,4$ ppm, tandis que le carbone C-4' est observé à $\delta=101,3$ ppm. Les déplacements chimiques des carbones C-3, C-6a et C-5 sont de $\delta=117,8$ ppm, $\delta=118,4$ ppm et $\delta=122,4$ ppm, respectivement.

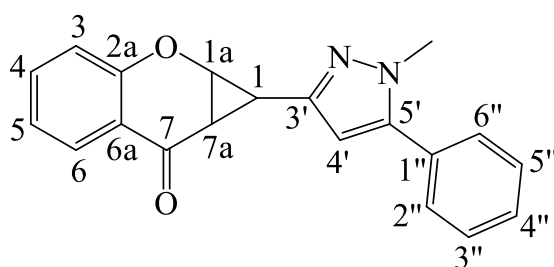
Les carbones C-2'', C-6'', C-2''', et C-6''' sont détectés à des déplacements chimiques de $\delta=124,6$ ppm et $125,7$ ppm. Le carbone C-6 est situé à $\delta=127,2$ ppm. Les carbones C-4'' et C-4''' présentent des déplacements chimiques de $\delta=128,0$ ppm et $\delta=128,2$ ppm, respectivement.

Les carbones C-3'', C-5'', C-3''', et C-5''' se trouvent à des déplacements chimiques de $\delta=128,7$ ppm et $129,4$ ppm. Les carbones C-1'', C-1''', C-4, et C-5' sont observés à $\delta=132,6$ ppm et $139,2$ ppm, $\delta=136,2$ ppm et $\delta=139,4$ ppm, respectivement.

Le carbone C-3' présente un déplacement chimique de $\delta=152,0$ ppm, tandis que le carbone C-2a est détecté à $\delta=156,8$ ppm. Enfin, le carbone C-7 est situé à un déplacement chimique de $\delta=186,5$ ppm

e. 1-(1-Méthyl-5-phényle-1H-pyrazol-3-yl)-1a,7a-dihydrocyclopropa[b]chromèn-7(1H)-one

Huile visqueuse incolore, Rdt= 37%.



CHAPITRE III : RESULTATS & DISCUSSIONS : PARTIE CHIMIQUE

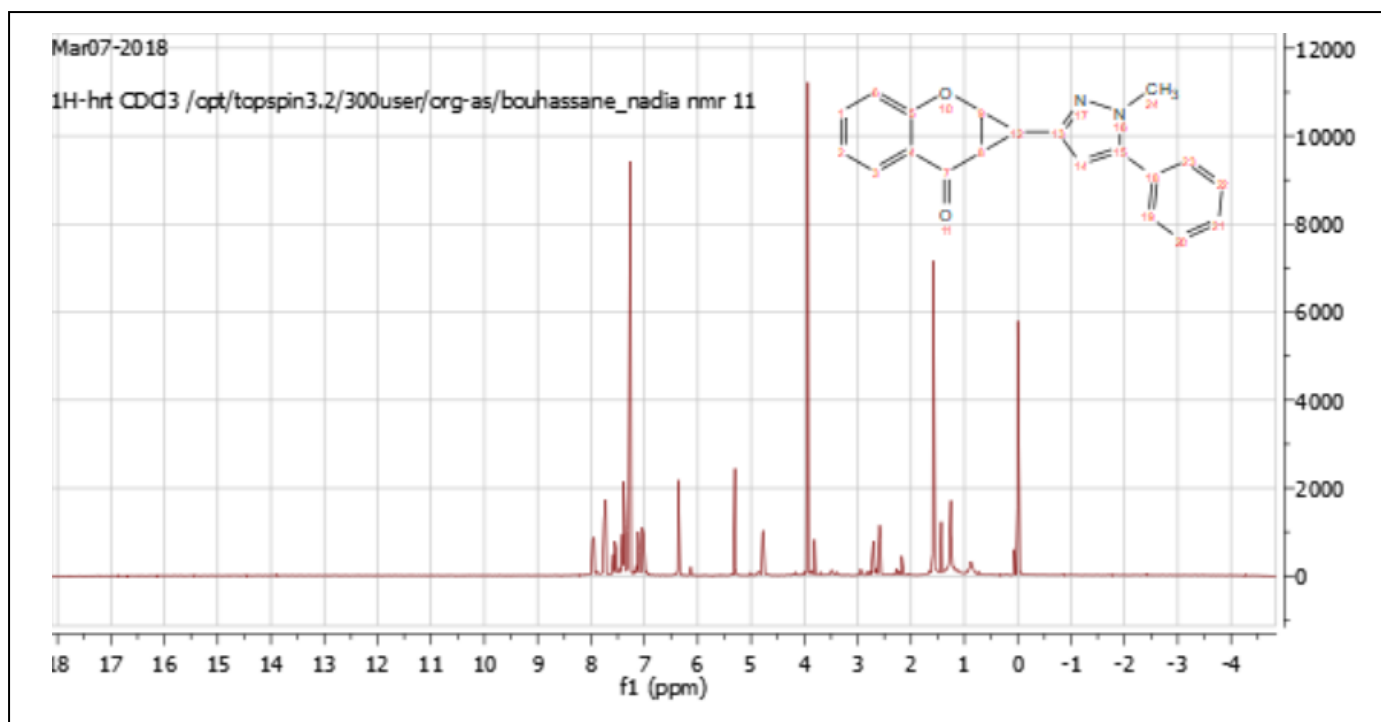


Figure 16: RMN-H de (1-Méthyl-5-phényle-1H-pyrazol-3-yl)-1a,7a-dihydrocyclopropa[b]chromèn-7(1H)-one.

RMN-H (300,13 MHz, CDCl_3): δ 2,59 (dd, J 5,2, 6,7 Hz, 1H, H-7a), 2,71 (dd, J 3,4,5,2 Hz, 1H, H-1), 3,94 (s, 3H, NCH_3), 4,76 (dd, J 3,4, 6,7 Hz, 1H, H-1a), 6,36 (d, J 0,7 Hz, 1H, H-4'), 7,03 (dd, J 1,1, 8,5 Hz, 1H, H-3), 7,12 (ddd, J 1,1, 7,2, 8,0 Hz, 1H, H-5), 7,27-7,33 (m, 1H, H-4''), 7,36-7,42 (m, 2H, H-3'',5''), 7,55 (ddd, J 1,8, 7,2, 8,5 Hz, 1H, H-4), 7,71-7,75 (m, 2H, H-2'',6''), 7,95 (dd, J 1,8, 8,0 Hz, 1H, H-6) ppm.

RMN- C^{13} (75,47 MHz, CDCl_3): δ 16,2 (C-1), 33,5 (C-7a), 36,8 (NCH_3), 61,7 (C-1a), 101,3 (C-4'), 117,9 (C-3), 118,4 (C-6a), 122,5 (C-5), 125,4 (C-2'',6''), 127,3 (C-6), 127,8 (C-4''), 128,7 (C-3'',5''), 133,0 (C-1''), 136,3 (C-4), 138,9 (C-5'), 150,5 (C-3'), 156,9 (C-2a), 186,8 (C-7) ppm.

HRMS-ESI m/z calc, Pour $[\text{C}_{20}\text{H}_{16}\text{N}_2\text{O}_2 + \text{H}]^+$: 317,12900: 317,12908.

Dans le spectre RMN-H de la molécule I-3, plusieurs signaux caractéristiques sont observés. On remarque tout d'abord les trois doublets de doublets qui indiquent la présence des trois protons du cyclopropane. Les déplacements chimiques de ces protons sont enregistrés à $\delta=2,59$ ppm (H-7a), 2,71 ppm (H-1), et 4,76 ppm (H-1a).

On observe également un singulier à $\delta=3,94$ ppm, correspondant aux trois protons méthyliques N-CH_3 . Un doublet à $\delta=6,36$ ppm est caractéristique du proton H-4' du pyrazole.

Les signaux spécifiques du benzène sont détectés à $\delta=7,03$ ppm (H-3) et 7,95 ppm (H-6), apparaissant sous forme de doublets de doublets.

CHAPITRE III : RESULTATS & DISCUSSIONS : PARTIE CHIMIQUE

Le proton H-5 présente un doublet de doublet de doublet dédoublé avec des déplacements chimiques à $\delta=7,12$ ppm. De plus, le proton H-4 est enregistré à $\delta=7,55$ ppm. Un signal entre $\delta=7,27$ et $7,33$ ppm apparaît sous forme d'un massif, représentant le proton H-4".

Également, un massif de 2H identiques (H-3" et H-5") est observé à $\delta=7,36-7,42$ ppm. De manière similaire, les protons H-2" et H-6" présentent un massif à $\delta=7,71-7,75$ ppm.

f. Mélange de diastérisomères (d₁ et d₂) de 1-(1-méthyl-5-phényle-4,5-dihydro-1H-pyrazol-3-yl)-1a,7a-dihydrocyclopropa[b]chromèn-7(1H)-one

Produit huileux incolore, Rdt= 20%.

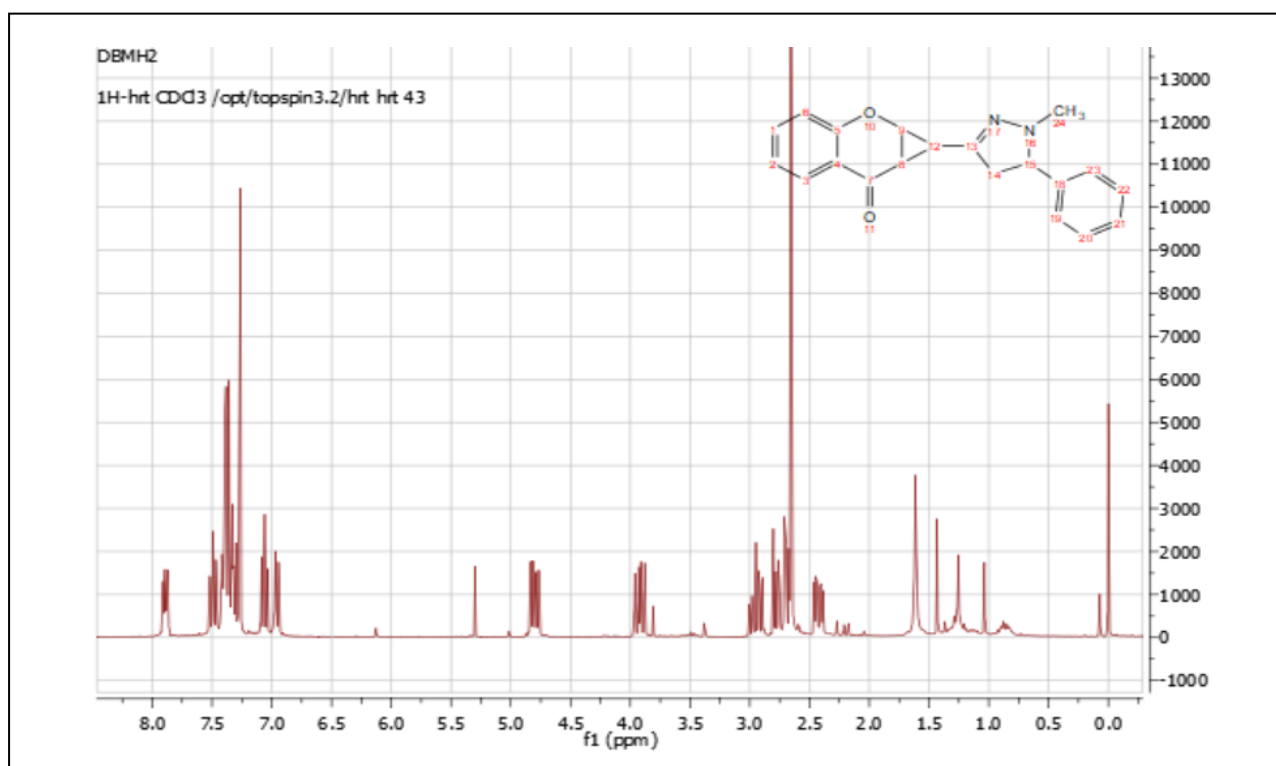
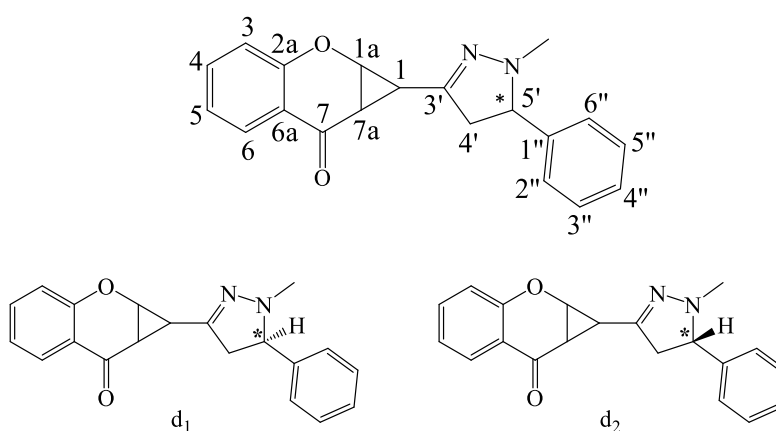


Figure 17: RMN-H1-(1-méthyl-5-phényle-4,5-dihydro-1H-pyrazol-3-yl)-1a,7a-dihydrocyclopropa[b]chromèn-7(1H)-one.

CHAPITRE III : RESULTATS & DISCUSSIONS : PARTIE CHIMIQUE

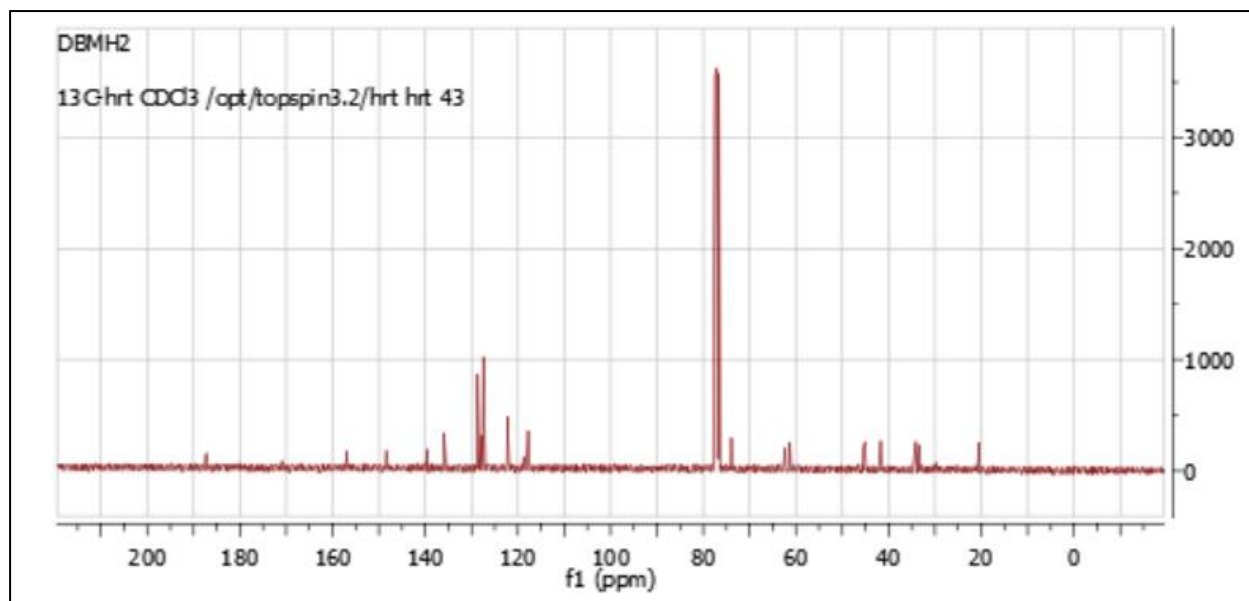


Figure 18: RMN $^{-}C^{13}$ -1-(1-méthyl-5-phényle-4,5-dihydro-1*H*-pyrazol-3-yl)-1a,7a-dihydrocyclopropa[b]chromèn-7(1H)-one.

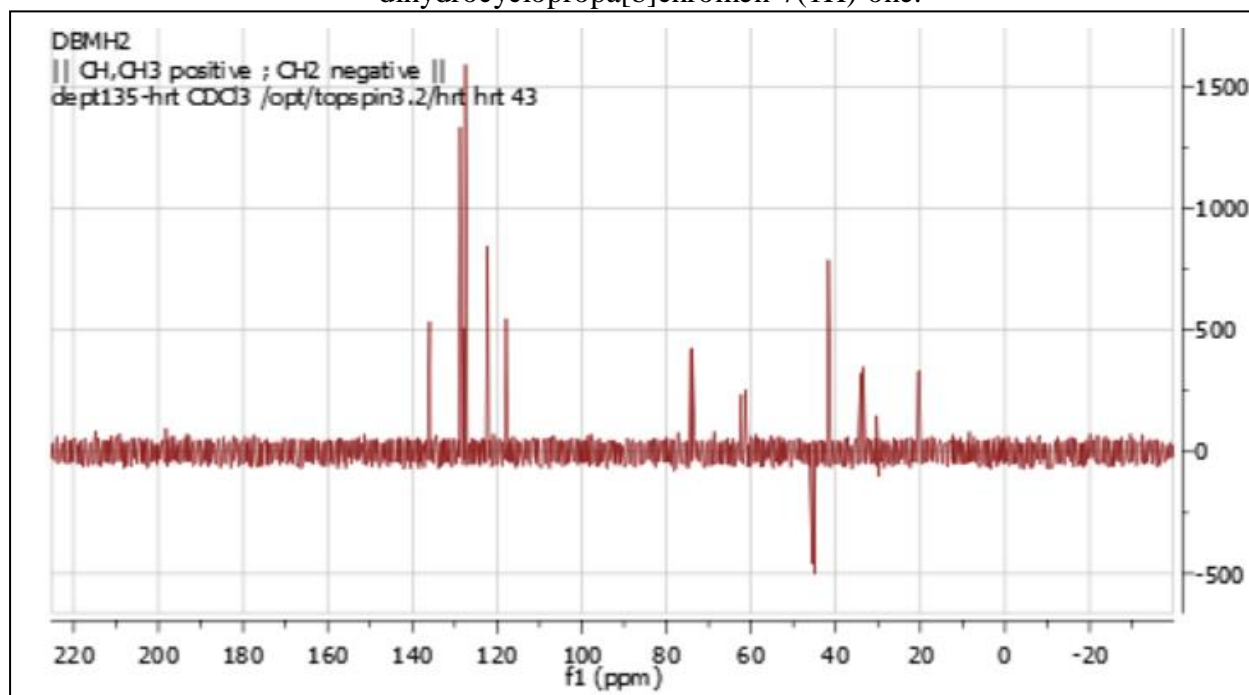


Figure 19: RMNDept 1-(1-méthyl-5-phényle-4,5-dihydro-1*H*-pyrazol-3-yl)-1a,7a-dihydrocyclopropa[b]chromèn-7(1H)-one.

RMN-H (300,13 MHz, $CDCl_3$): δ 2,40 (dd, J 3,2,5,1 Hz, 1H, H-1), 2,45 (dd, J 3,4,5,0 Hz, 1H, H-1), 2,65 (s, 3H, NCH_3), 2,66 (s, 3H, NCH_3), 2,66-2,80 (m, 3H, H-4',7a), 2,89-3,00 (m, 1H, H-4'), 3,90 (d, J 9,7 Hz, 1H, H-5'), 3,94 (d, J 9,7 Hz, 1H, H-5'), 4,78 (dd, J 3,2, 6,6 Hz, 1H, H-1a), 4,82 (dd, J 3,4, 6,7 Hz, 1H, H-1a), 6,94-6,97 (m, 2H, H-3), 7,03-7,09 (m, 2H, H-5), 7,27-7,42 (m, 10H, H-2'',3'',4'',5'',6''), 7,49 (ddd, J 1,8, 7,2, 8,7 Hz, 2H, H-4), 7,88 (dd, J 1,8, 7,8 Hz, 1H, H-6), 7,89 (dd, J 1,7, 7,9 Hz, 1H, H-6) ppm.

CHAPITRE III : RESULTATS & DISCUSSIONS : PARTIE CHIMIQUE

RMN-C ¹³ (75,47 MHz, CDCl₃): δ20,2 et 20,5 (C-1), 33,5 et 34,1 (C-7a), 41,7 et 41,8 (NCH₃), 45,1 et 45,5 (C-4'), 61,3 et 62,3 (C-1a), 73,9 et 74,2 (C-5'), 117,8 (C-3), 118,67 et 118,75 (C-6a), 122,2 (C-5), 127,09 et 127,10 (C-6), 127,4 (C-2'',6''), 127,93 et 127,95 (C-4''), 128,7 (C-3'',5''), 135,9 (C-4), 139,64 et 139,66 (C-1''), 148,4 et 148,7 (C-3'), 156,9 (C-2a), 187,2 et 187,4 (C-7) ppm.

HRMS-ESI *m/z*calc, Pour [C₂₀H₁₈N₂O₂+H]⁺: 319,14465: 319,14488.

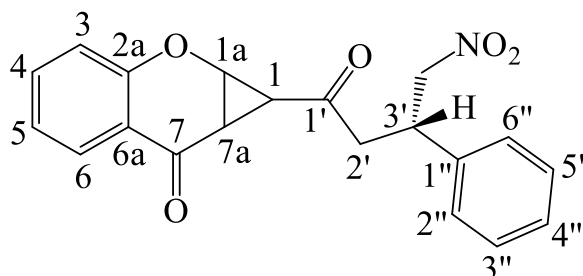
L'analyse par RMN indique la présence d'un mélange de diastéréoisomères dans la molécule étudiée. Il est donc nécessaire de noter les deux valeurs existantes correspondant à chaque signal de proton. Dans la partie gauche du spectre proton, aucun changement n'est observé par rapport à l'analyse précédente, tandis qu'une légère différence est notée dans la partie droite.

δ2,40 (dd, *J* 3,2,5,1 Hz, 1H, H-1), 2,45 (dd, *J* 3,4,5,0 Hz, 1H, H-1), 2,65 (s, 3H, NCH₃), 2,66 (s, 3H, NCH₃), 2,66-2,80 (m, 3H, H-4',7a), 2,89-3,00 (m, 1H, H-4'), 3,90 (d, *J* 9,7 Hz, 1H, H-5'), 3,94 (d, *J* 9,7 Hz, 1H, H-5'), 4,78 (dd, *J* 3,2, 6,6 Hz, 1H, H-1a), 4,82 (dd, *J* 3,4, 6,7 Hz, 1H, H-1a), 6,94-6,97 (m, 2H, H-3), 7,03-7,09 (m, 2H, H-5), 7,27-7,42 (m, 10H, H-2'',3'',4'',5'',6''), 7,49 (ddd, *J* 1,8, 7,2, 8,7 Hz, 2H, H-4), 7,88 (dd, *J* 1,8, 7,8 Hz, 1H, H-6), 7,89 (dd, *J* 1,7, 7,9 Hz, 1H, H-6) ppm.

La stéréochimie relative des deux composés formés dans la réaction entre le cyclopropane I et le méthyle hydrazine n'a pas été déterminé de manière définitive. On note que l'analyse des attributions de spectres NOESY été peu conclusifs. Par conséquent, leur attribution a été effectuée de manière arbitraire.

g. 1-(4-Nitro-3-phénylbutanoyl)-1a,7a-dihydrocyclopropa[b]chromèn-7(1H)-one

Huile incolore, Rd= 50%.



CHAPITRE III : RESULTATS & DISCUSSIONS : PARTIE CHIMIQUE

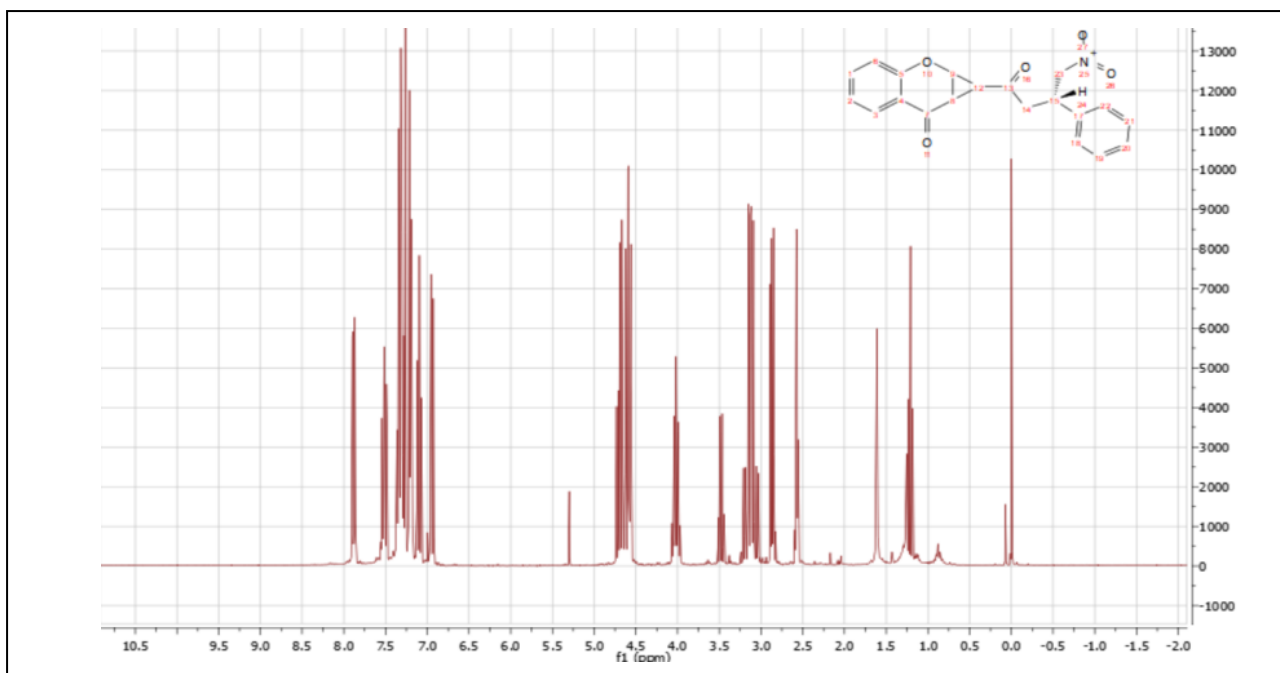


Figure 20: RMN-Hde1-(4-Nitro-3-phénylebutanoyl)-1a,7a-dihydrocyclopropa[b]chromèn-7(1H)-one.

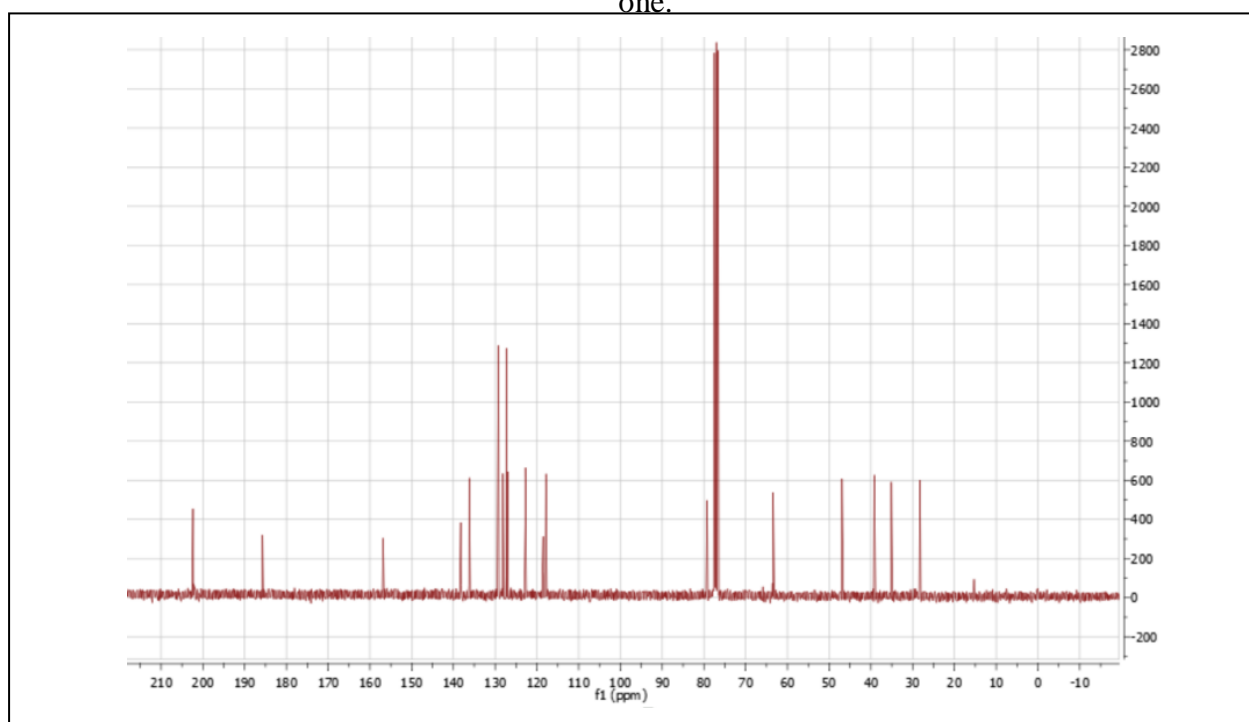


Figure 21: RMN-C¹³ de1-(4-Nitro-3-phénylebutanoyl)-1a,7a-dihydrocyclopropa[b]chromèn-7(1H)-one.

CHAPITRE III : RESULTATS & DISCUSSIONS : PARTIE CHIMIQUE

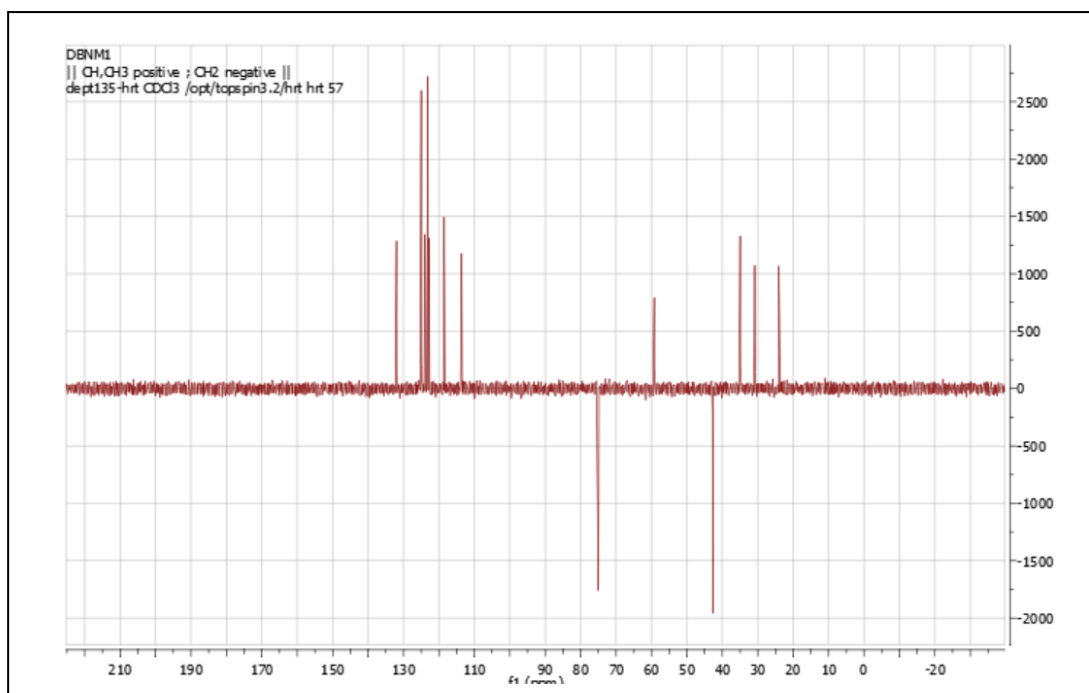


Figure 22: RMN 2D dept de 1-(4-Nitro-3-phénylbutanoyl)-1a,7a-dihydrocyclopropra[b]chromène-7(1H)-one.

RMN-H (300,13 MHz, CDCl_3): δ 2,57 (dd, J 2,7, 4,9 Hz, 1H, H-1), 2,87 (dd, J 4,9, 6,8 Hz, 1H, H-7a), 3,03-3,21 (m, 2H, H-2'), 4,02 (p, J 7,1 Hz, 1H, H-3'), 4,55-4,73 (m, 2H, 3'- CH_2NO_2), 4,58 (dd, J 2,7, 6,8 Hz, 1H, H-1a), 6,94 (dd, J 1,1, 8,4 Hz, 1H, H-3), 7,10 (ddd, J 1,1, 7,2, 8,0 Hz, 1H, H-5), 7,18-7,22 (m, 1H, H-2'',6''), 7,25-7,37 (m, 3H, H-3'',4'',5''), 7,51 (ddd, J 1,8, 7,2, 8,4 Hz, 1H, H-4), 7,88 (dd, J 1,8, 8,0 Hz, 1H, H-6) ppm.

RMN- C^{13} (75,47 MHz, CDCl_3): δ 28,3 (C-1), 35,1 (C-7a), 39,2 (C-3'), 46,9 (C-2'), 63,4 (C-1a), 79,2 (3'- CH_2NO_2), 117,8 (C-3), 118,5 (C-6a), 122,7 (C-5), 127,0 (C-6), 127,3 (C-2'',6''), 128,1 (C-4''), 129,2 (C-3'',5''), 136,2 (C-4), 138,2 (C-1''), 156,8 (C-2a), 185,7 (C-7), 202,4 (C-1') ppm.

HRMS-ESI m/z calc, Pour $[\text{C}_{20}\text{H}_{17}\text{NO}_5 + \text{H}]^+$: 352,11850: 352,11847.

Les spectres RMN révèlent des déplacements caractéristiques du cyclopropane sous forme de doublets de doublets (dd) à $\delta=2,57$ ppm (H-H1) et dd à $\delta=2,87$ ppm (H-H7a), avec un déplacement chimique plus désblindé pour le proton H-1a à $\delta=4,85$ ppm. On observe également un pic à $\delta=4,02$ ppm correspondant au proton H3'.

Il y a l'apparition d'un massif à $\delta=3,03-3,21$ ppm caractéristique des deux protons 2', ainsi qu'un massif distinctif pour les deux protons H3'- CH_2NO_2 à $\delta=4,55-4,73$ ppm.

Les déplacements des protons dans la structure cyclobenzénique se manifestent par des doublets de doublets (dd) à $\delta=6,94$ ppm (H-H3), des triplets de doublets (ddd) à $\delta=7,51$ ppm (H-

CHAPITRE III : RESULTATS & DISCUSSIONS : PARTIE CHIMIQUE

H4), des triplets de doublets (ddd) à $\delta=7,10$ ppm (H-H5) et un doublet de doublets (dd) à $\delta=7,88$ ppm (H-H6). De plus, un massif à $\delta=7,18-7,22$ ppm est observé pour les 2H-H2'' et H6'', ainsi qu'un massif à $\delta=7,25-7,37$ ppm pour les 3H-H3''-H4'' et H5''.

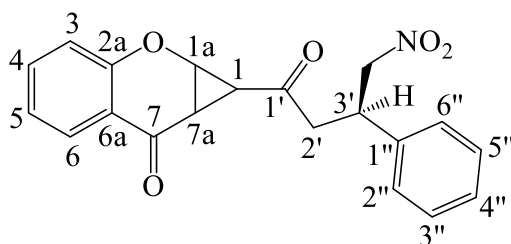
En comparant le spectre de la molécule de départ, on observe des différences au niveau des déplacements dans la partie droite. Les déplacements des atomes de carbone C1' diffèrent légèrement à $\delta=202,4$ ppm, tandis que les pics correspondant aux atomes de carbone C2' et C3' diffèrent à $\delta=46,9$ et $39,2$ ppm respectivement.

Pour le deuxième diastéréoisomère, les spectres H et C13 présentent pratiquement les mêmes valeurs.

h. 1-(4-Nitro-3-phénylbutanoyl)-1a,7a-dihydrocyclopropa[b]chromèn-7(1H)-one

Huile incolore, Rdt= 50%.

Afin de déterminer la stéréochimie relative des deux composés qui sont des diastéréoisomères, des spectres NOESY ont été enregistrés pour les deux structures. Ces spectres permettent de visualiser les interactions spatiales entre les protons et fournissent des informations sur la configuration relative des molécules. (A voir annexe)



RMN-H (300,13 MHz, CDCl_3): δ 2,58 (dd, $J_{2,7}$, 4,9 Hz, 1H, H-1), 2,85 (dd, $J_{4,9}$, 6,8 Hz, 1H, H-7a), 3,04-3,24 (m, 2H, H-2'), 4,02 (p, J 7,1 Hz, 1H, H-3'), 4,59-4,71 (m, 3H, H-1a+ 3'- CH_2NO_2), 6,98 (dd, $J_{1,0}$, 8,5 Hz, 1H, H-3), 7,10 (ddd, $J_{1,1}$, 7,2, 8,0 Hz, 1H, H-5), 7,18-7,21 (m, 1H, H-2'', 6''), 7,25-7,37 (m, 3H, H-3'', 4'', 5''), 7,53 (ddd, J 1,8, 7,2, 8,5 Hz, 1H, H-4), 7,87 (dd, J 1,8, 8,0 Hz, 1H, H-6) ppm.

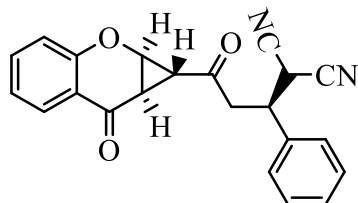
RMN-C 13 (75,47 MHz, CDCl_3): δ 28,2 (C-1), 35,0 (C-7a), 39,0 (C-3'), 46,9 (C-2'), 63,6 (C-1a), 79,3 (3'- CH_2NO_2), 117,9 (C-3), 118,5 (C-6a), 122,7 (C-5), 127,0 (C-6), 127,3 (C-2'', 6''), 128,2 (C-4''), 129,2 (C-3'', 5''), 136,2 (C-4), 138,2 (C-1''), 156,9 (C-2a), 185,7 (C-7), 202,2 (C-1') ppm.

HRMS-ESI m/z calc, Pour $[\text{C}_{20}\text{H}_{17}\text{NO}_5+\text{H}]^+$: 352,11850.

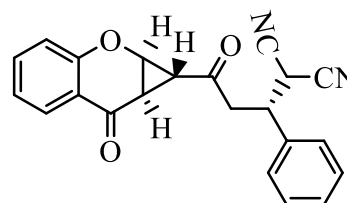
CHAPITRE III : RESULTATS & DISCUSSIONS : PARTIE CHIMIQUE

i. Mélange de diastérisomères 1-(4,4-Dicyano-3-phénylbutanoyl)-1a,7a-dihydrocyclopropa[b]chromèn-7(1H)-one

Un produit pâteux de couleur marron foncé à 45% et 48%.



I.8 45%



I.9 48%

Étant donné qu'il n'a pas été possible de distinguer entre les deux diastérisomères, il est intéressant de les présenter conjointement.

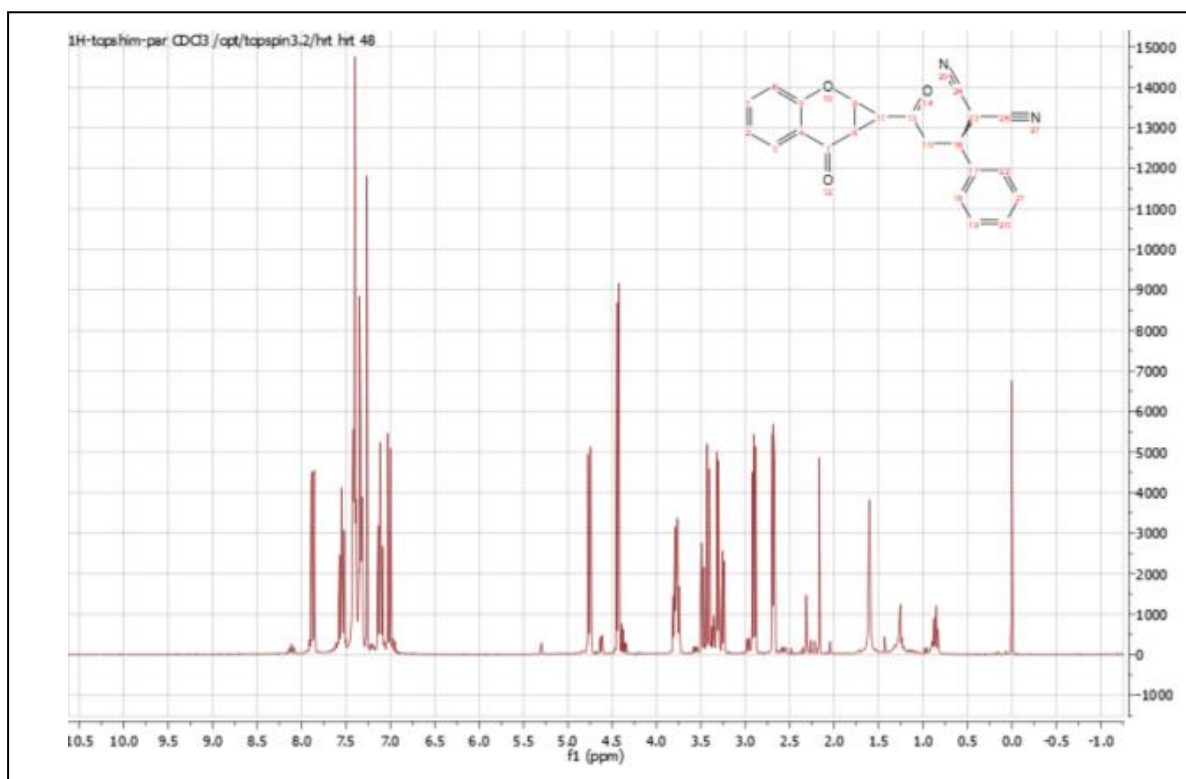
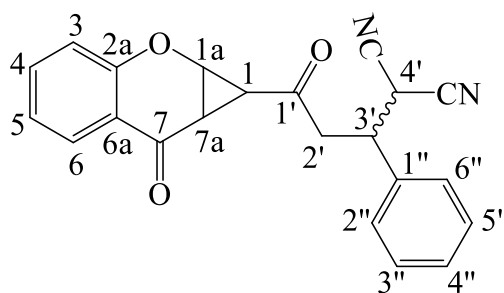


Figure 23: RMN-H du 1-(4,4-Dicyano-3-phénylbutanoyl)-1a, 7a-dihydrocyclopropa[b]chromèn-7(1H)-one.

CHAPITRE III : RESULTATS & DISCUSSIONS : PARTIE CHIMIQUE

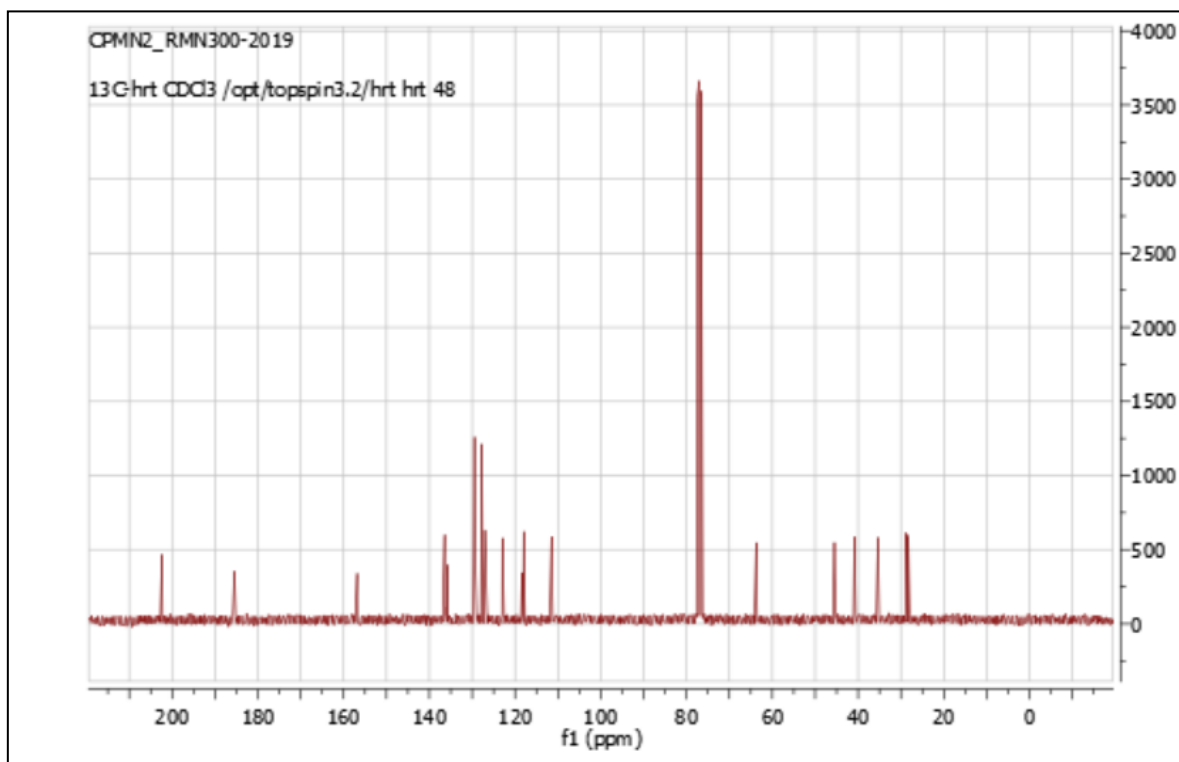


Figure 24: RMN- C¹³de 1-(4,4-Diciano-3-phénylbutanoyl)-1a,7a-dihydrocyclopropa[b]chromèn-7(1H)-one.

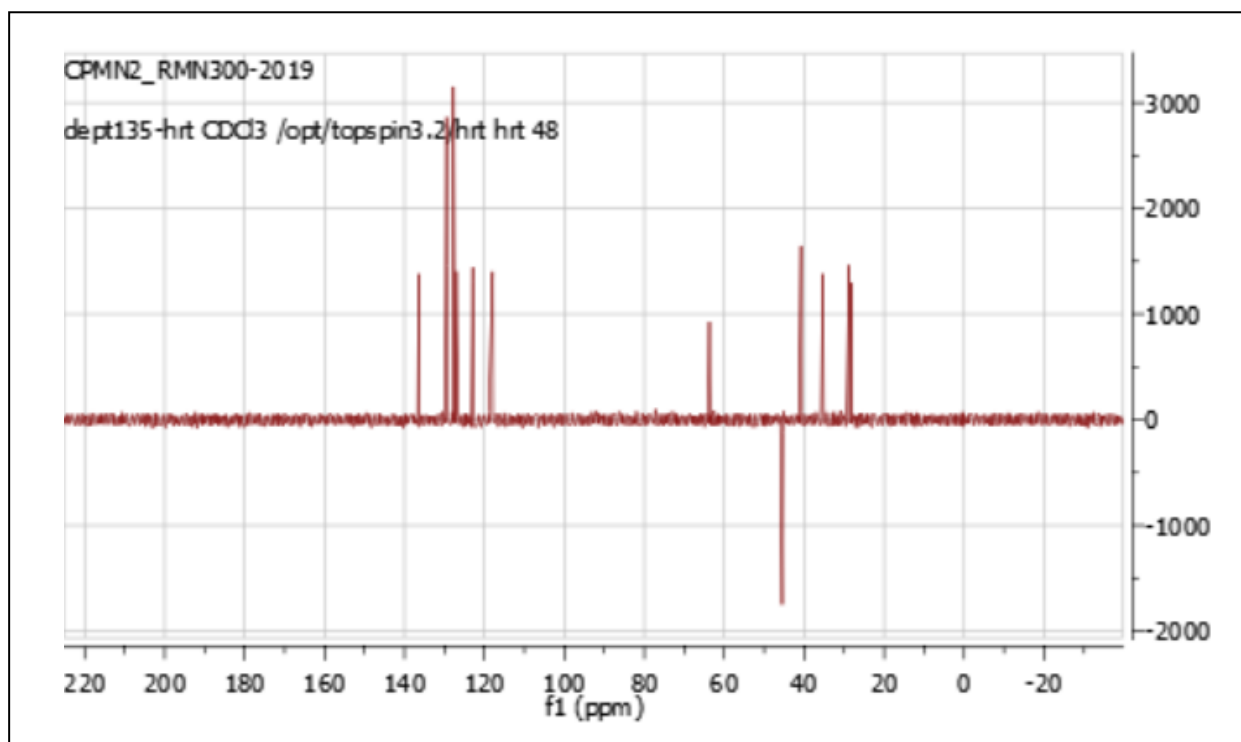


Figure 25: RMN DEPT 1-(4,4-Diciano-3-phénylbutanoyl)-1a,7a-dihydrocyclopropa[b]chromèn-7(1H)-one.

CHAPITRE III : RESULTATS & DISCUSSIONS : PARTIE CHIMIQUE

RMN-H (300,13 MHz, CDCl₃): δ 2,69 (dd, J 2,6, 5,0 Hz, 1H, H-1), 2,96 (dd, J 5,0, 6,9 Hz, 1H, H-7a), 3,35-3,38 (m, 2H, H-2'), 3,78 (q, J 6,4 Hz, 1H, H-3'), 4,39 (d, J 5,3 Hz, 1H, H-4'), 4,62 (dd, J 2,6, 6,9 Hz, 1H, H-1a), 6,96 (d, J 8,4 Hz, 1H, H-3), 7,11 (t, J 7,3 Hz, 1H, H-5), 7,33-7,43 (m, 5H, H-2'', 3'', 4'', 5'', 6''), 7,53 (ddd, J 1,8, 7,3, 8,7 Hz, 1H, H-4), 7,89 (dd, J 1,8, 7,9 Hz, 1H, H-6) ppm,

Nous observons la présence de trois valeurs caractéristiques du cyclopropane : un doublet de doublets à δ =2,69 ppm pour H1, un doublet de doublets à δ =2,96 ppm pour H7a et un doublet à δ =4,62 ppm pour H1a. De plus, nous remarquons un ensemble de signaux entre δ =3,35 et 3,38 ppm correspondant aux 2H de H2', ainsi qu'un quadruplet à δ =3,78 ppm pour H3' et un doublet à δ =4,39 ppm pour H4'.

Concernant le cyclohexène, nous identifions les valeurs caractéristiques suivantes : un doublet à δ =6,96 ppm pour H3, un triplet à δ =7,11 ppm pour H5, un doublet de doublets à δ =7,89 ppm pour H6 et un triplet de doublets à δ =7,53 ppm pour H4. De plus, nous observons un ensemble de signaux entre δ =7,33 et 7,43 ppm correspondant aux 5H de H2'', 3'', 4'', 5'' et 6''. Pour le diastéréoisomère, une légère différence est observée dans le spectre RMN-H.

RMN-C¹³ (75,47 MHz, CDCl₃): δ 28,3 (C-1), 28,8 (C-4'), 35,3 (C-7a), 40,8 (C-3'), 45,5 (C-2'), 63,7 (C-1a), 111,5 (4'-(CN)₂), 118,0 (C-3), 118,4 (C-6a), 122,9 (C-5), 127,0 (C-6), 127,8 (C-2'', 6''), 129,4 (C-4''), 129,5 (C-3'', 5''), 135,8 (C-1''), 136,4 (C-4), 156,8 (C-2a), 185,4 (C-7), 202,3 (C-1') ppm.

HRMS-ESI m/z calc, Pour [C₂₂H₁₆N₂O₃+H]⁺: 357,12392.

Lors de la comparaison des spectres RMN-C¹³, des différences sont observées au niveau des carbones C2', C3' et C4'. Les déplacements chimiques sont de δ =45,5 ppm, δ =40,8 ppm et δ =28,8 ppm, respectivement. De plus, un déplacement chimique de δ =111,5 ppm est observé pour le groupe 4'-(CN)₂.

III.2. Etude de la composition chimique et biologique des huiles essentielles de *Inulaviscosae* *D. gracilis steinh*

L'étude des produits naturels est une stratégie importante dans la recherche de nouveaux médicaments pour traiter le cancer, les maladies infectieuses et développer de nouveaux antibiotiques. Parallèlement, les agriculteurs ont pour objectif la sécurité alimentaire et l'amélioration de leurs revenus. Cependant, de nombreux facteurs peuvent affecter la production agricole, tels que les ravageurs et les maladies qui peuvent causer des dommages considérables aux cultures. L'utilisation de pesticides de synthèse pour lutter contre ces ravageurs et maladies est

CHAPITRE III : RESULTATS & DISCUSSIONS : PARTIE CHIMIQUE

limitée en raison de leur coût élevé, et leur mauvaise utilisation peut entraîner des effets indésirables et favoriser le développement de résistances aux pesticides [111].

Les huiles essentielles offrent une alternative intéressante, car elles sont bien absorbées par l'organisme et peuvent être administrées de différentes manières, telles que l'ingestion, l'inhalation, l'olfaction, la diffusion, l'application rectale et cutanée (massage), ce qui leur confère une biodisponibilité élevée [112].

III.2.1. *Inulaviscosa*

Ce travail avait deux objectifs principaux. Le premier était d'étudier la variation de l'huile essentielle de *Inula viscosa* d'Algérie au sein de la même espèce en analysant des échantillons provenant de 10 sites différents. Cette étude a été réalisée en utilisant des analyses statistiques et en établissant une relation structure-activité (SAR) pour comprendre les variations observées. Le deuxième objectif était d'étudier les propriétés inhibitrices des huiles essentielles de *I. viscosa* sur les récepteurs du facteur de croissance endothélial vasculaire (VEGF) et d'explorer le mécanisme d'inhibition enzymatique associé. Étant donné que le VEGF est connu pour stimuler la phosphorylation de la tyrosine kinase FAK [98], notre objectif était d'inhiber cette phosphorylation afin de réduire son activité.

Notre étude portait sur les huiles essentielles des parties aériennes de *Inula viscosa*. Nous nous sommes intéressés à cibler la partie intracellulaire des récepteurs du facteur de croissance endothélial vasculaire (VEGF), plus précisément le domaine de la tyrosine kinase. Il est important de noter que les deux récepteurs, VEGFR1 et VEGFR2, ont des affinités différentes pour le VEGF et induisent des effets cellulaires et biologiques distincts.

Notre objectif principal était de développer de nouveaux inhibiteurs potentiels de l'interaction entre le VEGF et les récepteurs VEGFR. Pour atteindre cet objectif, nous avons utilisé différentes approches telles que l'évaluation des scores, la bioactivité, la similarité avec des médicaments existants, la pharmacocinétique, la chimie médicinale, le Docking Moléculaire et l'analyse de la Dynamique Moléculaire (DM) des principaux composants des huiles essentielles.

III.2.2. Etude botanique

Inula viscosa (IV) (L.) Ait, également connue sous le nom de *Dittrichiaviscosagreuter*, est une plante herbacée vivace largement reconnue pour ses propriétés médicinales [67]. Originaires du bassin méditerranéen (Figure 26), elle appartient à la famille des *Astéracées*, qui compte plus de 90 espèces réparties en Espagne, en France, en Asie, en Turquie et en Afrique (Maroc, Égypte et

CHAPITRE III : RESULTATS & DISCUSSIONS : PARTIE CHIMIQUE

Algérie) [69]. Cette famille est extrêmement répandue dans le règne végétal, notamment en Algérie [113].

Le nom *Inula*, dérivé de l'ancien grec "Inéo" signifiant "je purge", fait référence à la propriété thérapeutique de la plante [113]. Le terme "*viscosa*" désigne sa texture visqueuse [114]. Cette plante est connue sous différents noms vernaculaires selon les populations, tels que Magrammane, Mersitou Terhal [113,116]. Elle pousse sur les pentes des collines, dans des habitats humides et le long des routes [115]. *Inula viscosa* présente des feuilles collantes et produit des fleurs jaune vif qui fleurissent entre août et novembre [116]. En médecine traditionnelle, cette plante est utilisée pour ses multiples vertus, notamment ses propriétés antimicrobiennes, cicatrisantes, anti-inflammatoires, antifongiques, cardiovasculaires et digestives [126,127].

Cette plante herbacée annuelle peut atteindre une hauteur de 50 cm à 1 mètre. Sa base est ligneuse, caractérisée par une forte racine pivotante lignifiée mesurant environ 30 cm de long [116-136]. Elle produit de nombreux capitules de fleurs jaunes au sommet de la tige [115]. Les feuilles sont sessiles, ondulées, dentées et pointues [116]. Elles ont des bords crénelés et forment deux petites oreillettes à leur base [137]. Les feuilles sont rugueuses et recouvertes de glandes visqueuses des deux côtés [139]. Ces glandes dégagent une odeur forte et piquante pendant la phase végétative [119,120]. Les inflorescences sont de longues grappes pyramidales [121,122]. Les fleurs périphériques sont ligulées, tandis que celles du centre sont tubulaires. Elles sont de couleur jaune rayonnante et dégagent une forte odeur. Les fruits sont des akènes velus avec des aigrettes grisâtres [129].

Plusieurs études ont mis en évidence la présence de divers composés biologiquement actifs dans *Inulaviscosa*, ainsi que leur capacité à induire l'apoptose dans les cellules cancéreuses. Parmi ces composés, on trouve des polyphénols [142] et des sesquiterpènes [143]. Dans une étude réalisée par Danino et coll. [114], plusieurs antioxydants polyphénoliques ont été isolés à partir des feuilles de *Inula viscosa*, dont sept dérivés de la famille de l'acide caféoylquinique (CQA) et de l'acide dicaféoylquinique.



Figure 26: Illustration de *Inula viscosa*.

CHAPITRE III : RESULTATS & DISCUSSIONS : PARTIE CHIMIQUE

Plusieurs études ont été réalisées pour étudier la composition des huiles essentielles de *Inula viscosa*. Ces études ont confirmé la présence de triterpénoïdes, qui sont des composés caractéristiques de cette famille. De plus, des rapports antérieurs suggèrent la présence d'esters monoterpéniques, d'esters phényléthanoïdes et de galactosylglycérides dans ces huiles essentielles [142].

III.2.3. Rendement et composition chimique des huiles essentielles d'*Inula Viscosa*

L'échantillonnage de la plante a été effectué en mai 2019 à partir de dix localités situées dans la wilaya de Tlemcen en Algérie (voir Tableau 8). Les huiles essentielles ont été extraites avec des rendements compris entre 0,05 et 0,2 (% p/p).

Tableau 8 :Données relatives aux lieux de récolte d'*I. viscosa*d'Algérie.

Echantillons	N° voucher	Sites de récolte	Rendement	Altitude (m)
S1	I,V-0518-DMA7	Sidna Youcha	0,06	5
S2	I,V-0518-DMA9	Beni Saf	0,08	25
S3	I,V-0518-DMA10	Rachgoun	0,06	36
S4	I,V-0518-DMA6	Ghazaouet	0,05	118
S5	I,V-0518-DMA8	Souahlia	0,1	138
S6	I,V-0518-DMA4	Terny	0,09	854
S7	I,V-0518-DMA3	Tlemcen	0,08	811
S8	I,V-0518-DMA1	Beni Snous	0,16	1500
S9	I,V-0518-DMA2	Tafna	0,2	1600
S10	I,V-0518-DMA9	El Aricha	0,2	1148

Les rendements en huile essentielle ont été exprimés en pourcentage (p/p) par rapport au poids de la matière végétale sèche. L'hydrodistillation des feuilles séchées de *I. viscosa* provenant des différentes localités a permis d'isoler des huiles jaunâtres. Les rendements en huile essentielle des différentes populations collectées dans les zones d'étude sont présentés dans le tableau 8. Les rendements varient de 0,05% à 0,2%. Les stations de Beni snous (S8), Tafna (S9) et EL Aricha (S10), situées à des altitudes supérieures à 1000 m, ont enregistré les rendements les plus élevés en huiles essentielles (0,16% et 0,2% respectivement). En revanche, les stations S1 à S7, avec des altitudes allant de 5 à 854 m, ont présenté les rendements les plus faibles en huile essentielle (0,05% à 0,1%).

CHAPITRE III : RESULTATS & DISCUSSIONS : PARTIE CHIMIQUE

L'analyse de la composition chimique des huiles essentielles de *I. viscosa* provenant de 10 stations différentes (tableau 9) a révélé la présence de 19 composés, représentant de 90,1% à 98,8% de la composition totale des huiles. Tous les composants ont été identifiés en comparant leurs spectres de masse (EI-MS) et leurs indices de rétention (RI) avec ceux de la bibliothèque de spectres de masse. Parmi ces composés, 10 hydrocarbures sesquiterpéniques et 9 sesquiterpènes oxygénés ont été identifiés (Tableau 9).

L'huile essentielle de *I. viscosa* de toutes les stations ne contenait que des composés sesquiterpéniques (97,2%). Les sesquiterpènes oxygénés étaient les composants les plus abondants, représentant 87,3% de la composition totale. Parmi les principaux composants identifiés, on retrouve l' α -bisabolol (16,0%), la (E)-Z-farnésylacétone (13,2%), le (E)-nérolidol (15,5%), l' α -cadinol (11,6%), l'oxyde de caryophyllène (10,6%) et le s-muurolol (9,8%). Les hydrocarbures sesquiterpéniques étaient présents en petites quantités, notamment le (E)- β -farnésène (2,6%), l'allo-aromadendrène (1,8%) et le σ -cadinène (1,5%) (Tableau 9).

Lorsque nous comparons nos données avec celles de la littérature, il est évident que la composition chimique de notre huile essentielle diffère considérablement des autres régions du monde. Par exemple, les principaux composants de l'huile essentielle de *I. viscosa* en Turquie étaient le bornéol (25,2%), l'acétate d'isobornyle (22,5%) et le bornyl acétate (19,5%) [146]. En France et en Espagne, le fokiéol était le composant prédominant, représentant respectivement 21,1% et 38,8% de l'huile [120,121]. En Jordanie, les principaux composants étaient le fokiéol (20,9%) et le (E)-nérolidol (19,8%) [122] (Tableau 10).

Cependant, nos résultats diffèrent de ceux des autres études. Dans notre étude, nous avons identifié l'acide eudesma-3,11(13)-dien-12-oïque comme le principal composant de l'huile essentielle d'*I. viscosa* en Algérie orientale (56,8%) et dans le sud de l'Italie (62,4%) [142,144]. De plus, d'autres recherches ont révélé que l' α -terpinène (35,9%) et l' α -pinène (18,9%) étaient les composants prédominants dans l'huile essentielle d'*I. viscosa* à Sidi Bel Abbès en Algérie [113]. Au Portugal, les composants principaux étaient le 3-méthoxycuminylisobutyrate (12%) et l' α -cadinol (6,3%) [123].

Dans une étude sur l'huile essentielle de feuilles d'*I. viscosa* en Tunisie, la composition était caractérisée par une forte présence de sesquiterpènes hautement oxygénés (92,7%), principalement dominés par l'acide isocostique (70,8%) [123]. D'autres composés tels que le globulol (26, 15,0%), le chamazulène (27, 49,6%) et le 1,4-diméthylazulène (28, 32,1%) ont également été identifiés à des pourcentages élevés dans différentes études sur l'huile essentielle de *I. viscosa* [69]. En revanche, les feuilles contenaient de l'eucalyptol selon les données du tableau 10.

CHAPITRE III : RESULTATS & DISCUSSIONS : PARTIE CHIMIQUE

Tableau 9 : Composition chimique des huiles essentielles de *I. viscosa*.

No ^a	Composé s	IR ^b	IR ^c	IR ^d _p	He Coll	S1	S2	S3	S4	S5	S6	S7	S8	S9	S10	Identificati on ^e
1	cis-a- Bergamote ne	1411	1409	1560	0,9	1,2	1,2	0,6	0,2	0,1	1,2	1,1	0,1	1,5	1,6	IR, SM
2	(E)-β- Caryophyll ene	1421	1418	1590	0,3	0,3	0,2	0,6	1,5	1,8	0,3	0,2	0,6	1,2	0,3	IR, SM
3	β-Copaene	1431	1430	1579	0,8	0,4	0,5	0,1	0,6	0,3	0,1	0,1	0,4	0,3	0,1	IR, SM
4	(E)-β- Farnesene	1448	1444	1660	2,6	1,6	3,2	4,8	5,6	2,6	0,3	0,5	0,6	0,3	0,5	IR, SM
5	allo- Aromaden drene	1462	1459	1637	1,8	1,3	0,8	2,3	3,3	0,3	0,5	0,6	1,3	1,1	0,9	IR, SM
6	Germacren e-D	1480	1477	1700	0,5	0,8	1,5	1,1	0,6	0,9	0,5	0,3	0,1	0,1	0,1	IR, SM
7	Zingibrene	1489	1486	1715	0,1	0,4	0,5	0,1	0,1	0,3	0,8	0,2	0,1	0,1	0,1	IR, SM
8	Bicycloger macrene	1494	1492	1720	0,5	0,3	0,6	0,2	0,1	0,5	1,3	0,2	0,3	0,2	0,1	IR, SM
9	γ- Cadinene	1507	1509	1752	0,9	1,1	0,9	2,1	0,1	0,6	1,4	0,2	0,1	0,8	0,2	IR, SM
10	δ-Cadinene	1516	1522	1785	1,5	0,8	0,2	0,6	0,3	1,3	6,3	0,3	0,1	0,7	0,1	IR, SM
11	(E)- Nerolidol	1546	1551	2036	15,5	30,2	20,5	19,5	20,5	18,3	5,3	4,2	4,8	3,2	5,2	IR, SM
12	Oxyde de caryophyll ene	1576	1569	1985	10,6	13,6	12,3	15,6	18,1	11,8	5,8	5,1	6,5	3,5	7,3	IR, SM
13	Globulol	1589	1581	2066	2,9	2,3	1,3	2,3	2,9	5,3	5,3	6,9	7,2	9,1	7,3	IR, SM
14	Ledol	1600	1605	2023	4,5	2,5	7,6	7,5	1,5	3,9	3,5	3,1	5,4	3,7	0,7	IR, SM
15	Zingiberen ol	1613	1612	2169	3,2	7,3	1,8	2,6	2,3	6,5	1,6	8,5	4,3	3,5	0,5	IR, SM
16	τ- Muurolol	1634	1631	2142	9,8	0,3	5,7	0,6	0,2	0,1	10,5	14,5	25,3	29,5	33,2	IR, SM
17	α-cadinol	1645	1641	2108	11,6	8,1	9,2	7,5	5,5	10,3	25,3	26,3	19,5	20,1	18,6	IR, SM
18	A- bisabolol	1672	1671	2216	16,0	3,1	5,6	4,1	1,6	6,6	26,2	22,3	15,3	17,3	16,3	IR, SM
19	(E)-Z- Farnesylac etone	1871	1879	2331	13,2	23,2	19,6	18,5	25,1	21,6	2,6	2,2	1,1	0,6	2,3	IR, SM
% Identification					97,2	98,8	93,2	90,7	90,1	93,1	98,8	96,8	93,1	96,8	95,4	
Sesquiterpènes hydrocarbonés																
Sesquiterpènes oxygénés					9,9	8,2	9,6	12,5	12,4	8,7	12,7	3,7	96,8	6,3	4,0	
					87,3	90,6	83,6	78,2	77,7	84,4	86,1	93,1	89,4	90,5	91,4	

CHAPITRE III : RESULTATS & DISCUSSIONS : PARTIE CHIMIQUE

Tableau 10: Variations dans la composition chimique des huiles essentielles de *I. viscosa* selon les pays.

Région	Composant majeur	Pourcentage %	Référence
Turquie	Bornéol	25,2	Perez-Alonso et coll., 1996)[119].
	l'isobornylacétate	22,5	
	L'acétate bornyl	19,5	
France	Fokienol	21,1	(Blanc et coll., 2006, Camacho et coll., 2000)[120,121].
Espagne	Fokienol	38,8	
Jordanie	Fokiéno	20,9	Al-Qudah et coll,2010[122].
	(E)-nerolidol	19,8	
Est d'Algérie	L'acide Eudesma-	56,8	Haoui et coll, 2015) [142-145].
Sud d'Italie	3,11(13)-dien-12-oïque	62,4	

III.2.4. Variabilité chimique des huiles essentielles

Des différences quantitatives significatives ont été observées dans les principaux constituants des huiles essentielles de *I. viscosa* provenant de différentes stations (S1 à S10), en raison de leur localisation géographique. L'analyse typologique basée sur l'analyse en composantes principales (ACP) (Figure 27) des principaux composés (N 11,12, 16-19 du Tableau 9) a révélé des variations significatives. Le dendrogramme résultant de l'ACP a permis d'identifier deux groupes principaux d'huiles essentielles de *I. viscosa* (Figure 28). Le premier groupe (Groupe I) comprenait les échantillons d'huile provenant des cinq premières localités (S1-S5), tandis que le deuxième groupe (Groupe II) regroupait les échantillons des cinq dernières localités (S6-S10). De plus, le groupe se présentait deux sous-groupes distincts. Le sous-groupe I1 comprenait les stations S6 et S7, tandis que le sous-groupe I2 regroupait les stations S8-S10.

L'analyse en composantes principales (ACP) (Figure 28) met en évidence les relations entre la composition des composés et leur emplacement géographique. Les deux premiers axes de l'ACP expliquent respectivement 82,96 % et 8,5 % de la variance totale. Les résultats de l'ACP confirment clairement l'existence de deux groupes distincts. Le groupe I (S1-S5), situé à basse altitude, se distingue principalement par des taux élevés de (E)-nerolidol (15,5 % à 20,2 %), d'oxyde de caryophyllène (10,6 % à 18,1 %), de (E)-Z-farnésylacétone (13,2 % à 25,1 %) et de (E)- β -farnésène (1,5 % à 5,6 %). En revanche, les stations S6 et S7 (sous-groupe I1) se caractérisent par une proportion plus élevée d' α -bisabolol (25,3 % et 26,3 % respectivement) et d' α -cadinol (25,3 % et 26,3 % respectivement) par rapport aux autres stations. Quant au sous-groupe I2 (S8-S10) situé à des altitudes plus élevées (1148-1600 m), il se distingue par des teneurs plus élevées en s-muurolool (25,3 % à 33,2 %) et en globulol (7,2 % à 9,1 %).

CHAPITRE III : RESULTATS & DISCUSSIONS : PARTIE CHIMIQUE

(Figure 27, 28, Tableau 8).

Les variations dans la composition chimique des huiles essentielles peuvent être attribuées à plusieurs facteurs, tels que les stress abiotiques auxquels les plantes sont soumises [124], la zone géographique de culture du matériel récolté, l'altitude ainsi que l'âge des plantes [125]. Ces éléments peuvent influencer la biosynthèse des composés volatils présents dans les huiles essentielles, conduisant à des profils chimiques différents d'une région à l'autre.

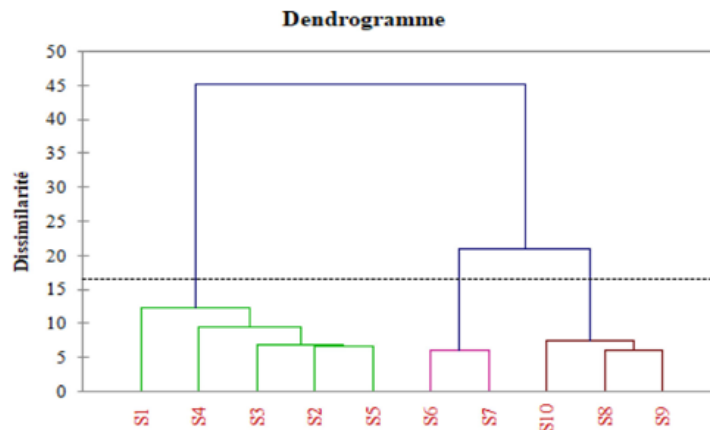


Figure 27 : L'analyse typologique (AC) des compositions chimiques de l'huile essentielle de *I. viscosa* d'Algérie.

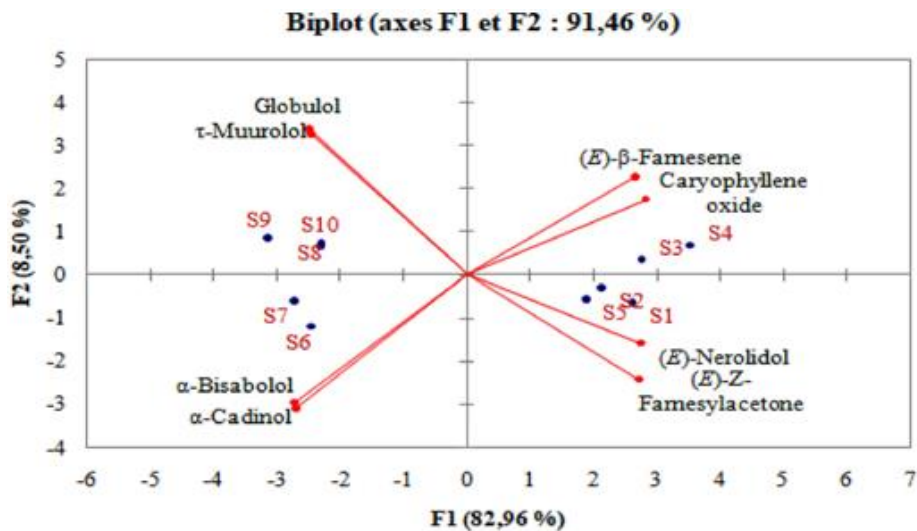


Figure 28 : L'analyse des composantes principales et répartition des variables de la composition chimique des huiles essentielles de *I. viscosa* d'Algérie.

Les sesquiterpénoïdes sont un groupe de composés qui se distinguent par leur structure et sont connus pour leurs diverses activités biologiques [126,127]. Certains de ces composés, tels que le β-

CHAPITRE III : RESULTATS & DISCUSSIONS : PARTIE CHIMIQUE

caryophyllène, le σ -muurolool, l' α -cadinol et le (2Z,6E)-farnésol, ont été signalés pour leur activité cytotoxique contre les cellules cancéreuses humaines du côlon, du foie et des poumons, ainsi que leur capacité à lutter contre le stress oxydatif [128-129]. Il a également été observé que plusieurs plantes contenant principalement de l'oxyde de caryophyllène présentent des activités biologiques prometteuses [68-130]. Ces études suggèrent que le composé majoritaire de l'huile essentielle pourrait être responsable de ces activités bénéfiques.

Tableau 11 : Activités biologiques correspondantes à l'oxyde de caryophyllène.

Espèce	% caryophyllène oxyde	Activités biologiques
<i>Inulaviscosa</i> (L,)Aiton de Chypre	6,8	Activités insecticides et inhibitrice d'AChE[64]
<i>Inulaviscosa</i> (L,) d'Algérie	4,91 (ouest d'Algérie) 5,5(Constantine)	Anti bactérienne [147]

Des études ont confirmé l'intérêt biologique et pharmacologique des sesquiterpénoïdes de caryophyllène. Ces composés actifs à large spectre, tels que le caryophyllène et son oxyde, ont la capacité de pénétrer facilement dans les membranes cellulaires, ce qui détermine leur biodisponibilité et leur gamme de propriétés biologiques [67, 138, 139]. Leurs structures chimiques uniques leur confèrent des activités variées, notamment des effets anti-inflammatoires, antioxydants, antimicrobiens et anticancéreux [138, 139]. En raison de leur potentiel thérapeutique, ces sesquiterpénoïdes de caryophyllène suscitent un intérêt croissant dans la recherche pharmacologique.

Une étude menée par Lněničková et coll. en 2018 [130] a démontré la capacité de l'oxyde de caryophyllène à moduler certaines enzymes. Il a été observé qu'une seule dose de ce composé favorisait l'augmentation de l'activité et de l'expression des enzymes impliquées dans le métabolisme des xénobiotiques, notamment le cytochrome P450 (CYP2B, 3A, 2C), l'aldo-cétoréductase 1C, et l'acétyl-coA carboxylase dans le foie. Parallèlement, l'activité de la NAD(P) quinone oxydoréductase était réduite dans l'intestin grêle. Ces résultats suggèrent que l'oxyde de caryophyllène peut avoir des effets significatifs sur les voies de détoxification et de métabolisme des substances étrangères dans l'organisme.

III.3. *Daucus gracilissteinh*

Jusqu'à présent, il y a eu peu d'études signalées sur *D. gracilissteinh*, une plante appartenant à la famille des *Apiacées* et largement répandue en Algérie [72]. Elle est souvent trouvée sur les collines et le long des zones côtières [72,73]. Les connaissances sur cette plante sont limitées et

CHAPITRE III : RESULTATS & DISCUSSIONS : PARTIE CHIMIQUE

seuls quelques travaux ont été publiés à ce jour. Parmi eux, un ouvrage unique rapporte la composition chimique et l'activité antimicrobienne de l'huile essentielle des parties aériennes de *D. gracilissteinh*[74]. Ces travaux contribuent à une meilleure compréhension de cette plante et de ses propriétés, mais des recherches supplémentaires sont nécessaires pour explorer davantage ses caractéristiques chimiques et ses éventuelles applications.

À ce jour, il n'existe aucune étude documentée sur la composition chimique et les propriétés insecticides, antimicrobiennes et anti-inflammatoires des fleurs de *D. gracilis. steinh*. Dans le cadre de notre travail de recherche, nous avons entrepris d'étudier spécifiquement la composition chimique ainsi que les activités antimicrobiennes, insecticides et anti-inflammatoires de l'huile essentielle extraite des fleurs de *D. gracilis. steinh*.

III.3.1. Etude botanique

Le genre *Daucus*, également connu sous le nom d'Ombellifères ou *Apiacées*, est largement répandu dans le monde, avec environ 3000 espèces réparties dans 420 genres [72]. En Algérie, la famille des *Apiacées* est présente avec 55 genres différents, ce qui témoigne de son importance dans la flore de la région [71]. Le nom "*Daucus*" provient de l'ancien grec "*Daucos*", qui était utilisé par les Grecs pour désigner divers fruits, y compris la carotte [161]. La région méditerranéenne, en particulier l'Afrique du Nord, est riche en espèces de ce genre. L'identification précise des espèces de ce genre, qui présente une grande polymorphie, nécessite souvent l'étude des fruits.

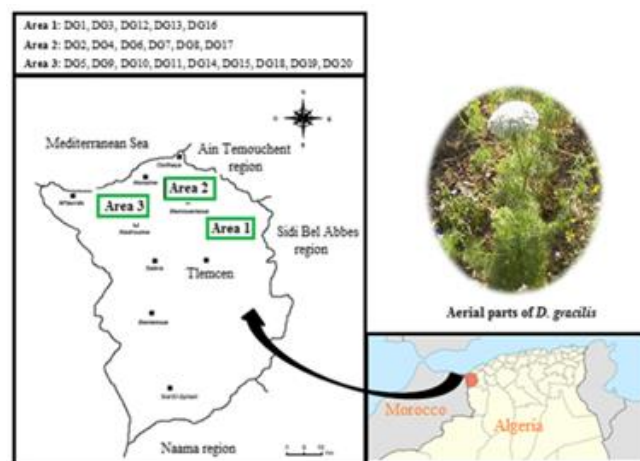


Figure 29 : Répartition géographique du *Daucus gracilissteinh* de l'ouest Algérien.

Les fleurs de *Daucus gracilissteinh* sont utilisées depuis longtemps par la population de l'ouest algérien pour traiter les aphtes [73]. Cependant, il existe peu d'études sur les propriétés biologiques de l'huile essentielle extraite de ces fleurs.

CHAPITRE III : RESULTATS & DISCUSSIONS : PARTIE CHIMIQUE

Plusieurs études ont été menées sur la composition chimique des huiles essentielles de l'espèce *Daucus*, et la plupart d'entre elles ont révélé une dominance de composés monoterpéniques tels que l' α -pinène, le sabinène, le trans-anéthole, le myrcène, le carotol et l'acétate de géranyle. On trouve aussi occasionnellement des composés phénylpropanoïdes tels que l'apiol, la myristicine, l'isochavicol et le germacrène D. En ce qui concerne l'espèce *Daucus gracilissteinh*, deux études ont été réalisées pour examiner et analyser la composition chimique de l'huile essentielle de cette plante [72,73].

Dans une étude réalisée par Benyelles et coll. [72], a examiné la composition chimique des huiles essentielles obtenues à partir de parties distinctes de *Daucus gracilissteinh*. L'analyse par CG et CG/SM des huiles essentielles obtenue à partir des feuilles et des fleurs de cette plante a permis d'identifier un total de 47 composés, représentant respectivement 92,3 % et 94,1 % de la composition totale de l'huile. Les principaux composants identifiés dans les huiles de feuilles et de fleurs de *D. gracilissteinh* étaient le linalol (22,7 %), le 2-méthylbutyl 2-méthylbutyrate (18,9 %), le 2-méthylbutyl isovalérate (13,6 %), l'ammimajane (10,4 %), le 3-l'isovalérate de méthylbutyle (10,3 %), le (E)- β -ocimène (8,4 %) et le 2-méthylbutyrate d'isopentyle (8,1 %).

Une autre étude réalisée par El Kolli et coll. [73], présente la composition chimique de l'huile essentielle de *Daucus gracilissteinh* provenant de la région de Sétif en Algérie. Cette H.E a été analysée par CG-FID et CG/SM. Cette étude a révélé la présence de 49 composants différents, parmi lesquels l'élémicine (35,5 %) et l'acétate de géranyle (26,8 %) ont été identifiés comme composés principaux.

L'équipe dirigée par Meriem El Kolli a réalisé une étude visant à évaluer les activités antimicrobienne et antioxydante de l'huile essentielle de *Daucus gracilissteinh*. Cette huile essentielle, a été riche en acétate de géranyle (26,8 %), a démontré une inhibition significative de la croissance de *Bacillus cereus* et *Proteus mirabilis*, avec des concentrations minimales inhibitrices de 17,15 mg/mL selon la méthode de dilution en gélose, et de 57,05 mg/mL et 114,1 mg/mL respectivement par microdilution liquide. De plus, l'huile essentielle a présenté des effets antioxydants importants, avec une CI_{50} de 0,002 mg/mL et un pouvoir réducteur dépendant de la dose. Ces résultats suggèrent que l'huile essentielle de *D. gracilissteinh* possède de puissantes activités antimicrobiennes et antioxydantes qui pourraient être exploitées dans l'industrie alimentaire.

III.3.2. Composition chimique de l'huile essentielle de *Daucus gracilissteinh*

Les chercheurs ont utilisé des fleurs de *Daucus gracilissteinh* récoltées à la station de Sidi Abdeli, près de la ville de Tlemcen en Algérie, au début du mois de juin 2018. Un spécimen de

CHAPITRE III : RESULTATS & DISCUSSIONS : PARTIE CHIMIQUE

référence (Dgrc,DA,06,2018) a été conservé à l'Herbier de l'Université de Tlemcen. L'huile essentielle a été obtenue à partir des fleurs séchées de *D. gracilissteinh* par hydrodistillation, donnant un rendement de 0,2 (% p/p) d'huile essentielle de couleur jaune.

Tableau 12 : Analyse des constituants de l'huile essentielle de *D.gracilissteinh*.

No,	Composés	RI ^b _{Lit}	RI ^c _a	RI ^d _p	(%)	Identification ^f
1	Isobutyrate disobutyle	902	898	1090	tr	IR, MS
2	α -Thuyène	922	922	1022	1,1	IR, MS
3	α -Pinène	931	930	1022	2,3	IR, MS
4	Camphène	950	948	1064	0,1	IR, MS
5	Sabinène	964	964	1117	1,5	IR, MS
6	6-méthyl-5-heptène-2-one	966	964	1324	0,2	IR, MS
7	β -Pinène	970	970	1107	0,2	IR, MS
8	Myrcène	979	980	1155	3,2	IR, MS
9	Ethylbutyrate disobutyle	991	990	1173	tr	IR, MS
10	Isobutyrate de méthyl-3butyle	1002	998	1194	4,3	IR, MS
11	Isobutyrate de méthyle-2butyle	1004	1003	1194	2,1	IR, MS
12	α -Terpinène	1008	1012	1269	0,5	IR, MS
13	<i>p</i> -Cymène	1011	1012	1262	0,1	IR, MS
14	Limonène	1020	1021	1196	0,8	IR, MS
15	β -Phellandrène	1021	1021	1206	0,1	IR, MS
16	(<i>Z</i>)- β -Ocimène	1024	1025	1226	3,5	IR, MS
17	(<i>E</i>)- β -Ocimène	1034	1036	1244	1,2	IR, MS
18	oxyde de linalool THF-cis	1073	1073	1460	5,3	IR, MS
19	Linalool	1081	1090	1538	12,3	IR, MS
20	Ethylbutyrate disopentyle	1086	1084	1299	tr	IR, MS
21	Terpinène-4-ol	1161	1161	1589	0,1	IR, MS
22	α -Terpinéol	1179	1172	1682	0,2	IR, MS
23	Isovalérate de 3- Hexenyl	1220	1217	1455	0,1	IR, MS
24	Ethylbutyrate hexyl	1226	1228	1420	0,1	IR, MS
25	Acétate de lavandulyle	1270	1271	1589	15,2	IR, MS

CHAPITRE III : RESULTATS & DISCUSSIONS : PARTIE CHIMIQUE

26	Acétate de géranyle	1358	1360	1749	18,3	IR, MS
27	(E)- β -Damascénone	1362	1362	1803	0,1	IR, MS
28	α -Copaène	1379	1380	1476	0,2	IR, MS
29	β -Bourbonène	1385	1383	1509	0,1	IR, MS
30	Isobutyrate de lavandulyle	1407	1405	1667	13,6	IR, MS
31	(E)- β -Farnesène	1447	1445	1656	0,1	IR, MS
32	2-méthylbutyrate de phenylethyle	1460	1458	1950	tr	IR, MS
33	Isobutyrate de citronellyle	1469	1467	1716	6,8	IR, MS
34	Germacrène D	1480	1473	1694	0,1	IR, MS
35	Isovalérate de lavandulyle	1495	1492	1760	2,2	IR, MS
36	oxide de caryophyllene	1578	1572	1935	0,5	IR, MS
37	Ethyle butyrate de géranyle	1591	1589	1882	tr	IR, MS
38	τ -Muurolol	1633	1630	2140	0,2	IR, MS
39	α -Cadinol	1643	1645	2225	0,1	IR, MS
Taux d'identification %					98,8	
monoterpènes oxygénés					51,4	
sesquiterpènes oxygénés					23,5	

L'analyse de l'huile essentielle de *Daucus gracilissteinh* a permis d'identifier trente-neuf composés, représentant 96,8% de la composition totale (Tableau 12). L'identification des composants a été réalisée à l'aide d'analyses CG et CG-SM, en comparant les indices de rétention et les spectres de masse. Les résultats ont révélé la présence de douze hydrocarbures monoterpéniques, sept sesquiterpènes oxygénés, six monoterpènes oxygénés, cinq composés oxygénés non terpéniques et cinq hydrocarbures sesquiterpéniques. L'huile essentielle était principalement composée de composés oxygénés (81,7%), en particulier de monoterpènes oxygénés (51,4%), suivis par une quantité significative de sesquiterpènes oxygénés (23,5%).

Cependant, les composés monoterpéniques oxygénés étaient présents en quantités significatives dans les esters, notamment l'acétate de géranyle (18,3%), l'acétate de lavandulyle (15,2%), l'isobutyrate de lavandulyle (13,6%), l'isobutyrate de citronellyle (6,8%) et l'isovalérate de lavandulyle (2,2%). Les monoterpènes alcooliques, tels que le linalol (12,3%) et l'oxyde de linalol thf-cis (5,3%), étaient également présents. Les hydrocarbures monoterpéniques (14,6%) étaient

CHAPITRE III : RESULTATS & DISCUSSIONS : PARTIE CHIMIQUE

représentés par le (Z)- β -ocimène (3,5%), le myrcène (3,2%), l' α -pinène (2,3%), le (E)- β -ocimène (1,2%) et l' α -thujène (1,1%) (Tableau 1). Les différences observées entre notre huile essentielle et les études rapportées par Benyelles et coll. [72], peuvent être attribuées à divers facteurs tels que la période de récolte (floraison précoce ou en pleine floraison), les types de sols et les variations climatiques. Cependant, d'autres recherches sont nécessaires pour étudier ces variations de composition chimique.

CHAPITRE III : RESULTAS & DISCUSSIONS : PARTIE BIOLOGIQUE

III.3. Etude *in silico* de l'activité inhibitrice des récepteurs du facteur de croissance vasculaire endothéliale

Dans cette partie de notre étude, nous adoptons une approche numérique basée sur la modélisation moléculaire, notamment le Docking moléculaire. Notre objectif est d'évaluer l'activité inhibitrice de nos molécules synthétisées ainsi que de l'huile essentielle d'*Inula viscosa* sur les récepteurs du facteur de croissance vasculaire endothéliale.

Le Docking Moléculaire vise à étudier le mode d'interaction entre deux ou plusieurs molécules en recherchant les orientations et les conformations favorables pour la liaison d'un ligand sur le site actif d'un récepteur ou d'une enzyme. Ce concept est basé sur l'analogie de la clé et de la serrure, où une inhibition efficace est obtenue grâce à une complémentarité optimale et une forte affinité entre les molécules [2].

III.3.1. Interaction : Enzyme –composés (Ligands synthétisés)

Le tableau 13 présente les énergies de score, les valeurs RMSD (RootMean Square Deviation) et les distances des interactions pour les différents complexes.

Tableau 13: Les résultats du docking moléculaire des composés L1-L9 avec les cibles suivantes ont été obtenus : VEGF (PDB ID: 5T89), VEGFR-1 (PDB ID: 3HNG) et VEGFR-2 (PDB ID: 2XIR).

VEGF(PDB ID: 5T89)								
Ligands	s- score (kcal/mol)	RMSD(A°)	Liaisons entre atomes de ligands et les residue de site actif					
			Atome Ligands	Atomes/ enzymes	Résidus/e nzymes	Catégories	Distances (Å)	Énergie d'interaction
L1	-4,045	2,259	O13	NE2	GLN37	H-acceptor	3,13	-2,2
L2	-4,038	2,259	6-ring	CB	LEU97	Pi-H	4,10	-1,1
L3	-3,915	1,848	/	/	/	/	/	/
L4	-3,916	1,566	/	/	/	/	/	/
L5	-3,919	1,525	/	/	/	/	/	/

CHAPITRE III : RESULTAS & DISCUSSIONS : PARTIE BIOLOGIQUE

L6	-4,394	1,618	/	/	/	/	/	/
L7	-4,695	2,143	N28	OE1	GLU38	H-donor	2,99	-5,3
			O30	N	LEU97	H-acceptor	2,89	-5,4
L8	-4,255	2,477	N30	N	LEU97	H-acceptor	3,07	-3,8
L9	-4,742	2,203	/	/	/	/	/	/
NAG	-3,871	5,627	N2	OE1	GLU38	H-donor	3,01	-5,7
			O4	OE1	GLU38	H-donor	3,09	-1,2
VEGFR-1 (PDB ID:3HNG)								
L1	-6,663	1,220	N16	O	CYS912	H-donor	3,15	-3,5
			O13	CB	CYS1039	H-acceptor	3,08	-0,9
			N17	N	CYS912	H-acceptor	3,54	-1,8
			6-ring	CD2	LEU833	Pi-H	3,86	-1,2
			6-ring	CE	LYS861	Pi-H	3,87	-1,2
L2	-7,634	1,816	C6	5-ring	HIS1020	H-Pi	3,96	-1,1
			6-ring	CE	LYS861	Pi-H	3,83	-0,7
L3	-6,703	1,198	O12	N	ASP1040	H-acceptor	3,20	-0,6
			6-ring	CE	LYS861	Pi-H	4,01	-0,9
			5-ring	CD2	LEU882	Pi-H	4,27	-0,7
L4	-6,698	1,198	O12	N	ASP1040	H-acceptor	3,20	-0,6
			6-ring	CE	LYS861	Pi-H	4,01	-0,9
			5-ring	CD2	LEU882	Pi-H	4,27	-0,7
L5	-6,702	1,198	O12	N	ASP1040	H-acceptor	3,20	-0,6
			6-ring	CE	LYS861	Pi-H	4,01	-0,9

CHAPITRE III : RESULTAS & DISCUSSIONS : PARTIE BIOLOGIQUE

			5-ring	CD2	LEU882	Pi-H	4,27	-0,7
L6	-6,816	1,142	O31	SG	CYS1018	H-donor	3,61	-10,8
			6-ring	CE	LYS861	Pi-H	4,01	-0,8
L7	-5,572	2,087	C23	SG	CYS1018	H-donor	4,32	-1,9
			C18	5-ring	HIS1020	H-Pi	4,35	-0,8
			6-ring	CE	LYS861	Pi-H	4,13	-0,7
L8	-7,407	1,395	O12	N	ASP1040	H-acceptor	3,15	-0,7
			6-ring	CE	LYS861	Pi-H	3,96	-0,8
L9	-7,029	1,485	O12	N	ASP1040	H-acceptor	3,17	-0,7
			6-ring	CE	LYS861	Pi-H	3,99	-0,8
8ST	-10,104	0,250	CL16	SG	CYS1018	H-donor	4,10	-0,9
			N9	OE2	GLU878	H-donor	2,88	-4,1
			O8	N	ASP1040	H-acceptor	3,11	-1,7
			N22	N	CYS912	H-acceptor	3,38	-2,8
			6-ring	CE	LYS861	Pi-H	3,76	-1,0
			6-ring	CD2	LEU882	Pi-H	3,93	-0,6
VEGFR-1 (PDB ID: 2XIR)								
L1	-7,418	0,837	O13	N	CYS919	H-acceptor	3,16	-2,3
			6-ring	CD2	LEU840	Pi-H	3,97	-0,8
			6-ring	CE	LYS868	Pi-H	3,99	-0,6
L2	-7,417	1,543	O11	N	ASP1046	H-acceptor	2,99	-1,4
			5-ring	N	CYS919	Pi-H	4,96	-0,8
L3	-7,417	0,847	C24	6-ring	PHE1047	H-Pi	3,82	-0,6

CHAPITRE III : RESULTAS & DISCUSSIONS : PARTIE BIOLOGIQUE

L4	-7,418	0,847	C24	6-ring	PHE1047	H-Pi	3,82	-0,6
L5	-7,417	0,847	/	/	/	/	/	/
L6	-6,999	2,761	O30	CE	LYS868	H-acceptor	3,29	-1,0
			O30	CA	PHE1047	H-acceptor	3,36	-1,5
			6-ring	CD2	LEU840	Pi-H	3,80	-0,9
L7	-5,376	1,743	6-ring	CE	LYS868	Pi-H	3,97	-0,6
L8	-5,631	2,330	/	/	/	/	/	/
L9	-5,159	2,141	/	/	/	/	/	/
00J	-8,328	2,516	O34	N	ASP1046	H-acceptor	3,03	-1,7
			O32	N	CYS919	H-acceptor	2,71	-2,8
			6-ring	CE	LYS868	Pi-H	4,30	-0,6
			6-ring	CE	LYS868	Pi-H	3,93	-0,6

Selon les observations faites à partir des résultats obtenus, il a été constaté que :

Concernant l'enzyme 1 (VEGF, PDB ID: 5T89), les composés L1-10 ont tous formé des complexes stables, comme en témoigne leur faible valeur d'énergie de score par rapport au ligand co-cristallisé. De plus, il est remarquable que le L7 soit supérieur aux autres composés, car il présente à la fois une faible énergie de score et deux liaisons hydrogènes avec les résidus du site actif de VEGF (PDB ID: 5T89). Ces informations sont disponibles dans le Tableau 13, la figure 30 et les annexes.

Dans le cas de l'enzyme 2 (VEGFR-1, PDB ID: 3HNG), les composés L2 et L8 ont formé des complexes avec le site de liaison de l'enzyme, présentant de faibles valeurs d'énergie de score (-7.634 et -7.407 kcal/mol, respectivement) par rapport aux autres composés. De plus, ces deux composés ont des valeurs d'énergie de score proches de celle du ligand co-cristallisé (8ST). Le composé L2 établit deux interactions hydrophobes avec l'enzyme étudiée, tandis que le composé L8 forme trois interactions, dont une liaison

CHAPITRE III : RESULTAS & DISCUSSIONS : PARTIE BIOLOGIQUE

hydrogène et deux interactions hydrophobes, avec la même enzyme. Ces résultats sont présentés dans le Tableau 13, la figure 31 et les annexes.

Pour l'enzyme 3 (VEGFR-2, PDB ID: 2XIR), les composés L1 et L4 ont formé des complexes avec le site de liaison de l'enzyme, présentant des valeurs d'énergie de score similaires (-7.418 kcal/mol) par rapport aux autres composés. De plus, ces deux composés ont des valeurs d'énergie de score proches de celle du ligand co-cristallisé (00J). Le composé L1 établit trois interactions, dont une liaison hydrogène (H-accepteur) et deux interactions hydrophobes, avec l'enzyme étudiée. Le composé L4, quant à lui, forme une seule interaction hydrophobe avec le même enzyme. Ces résultats sont récapitulés dans le Tableau 13, la figure 32 et les annexes.

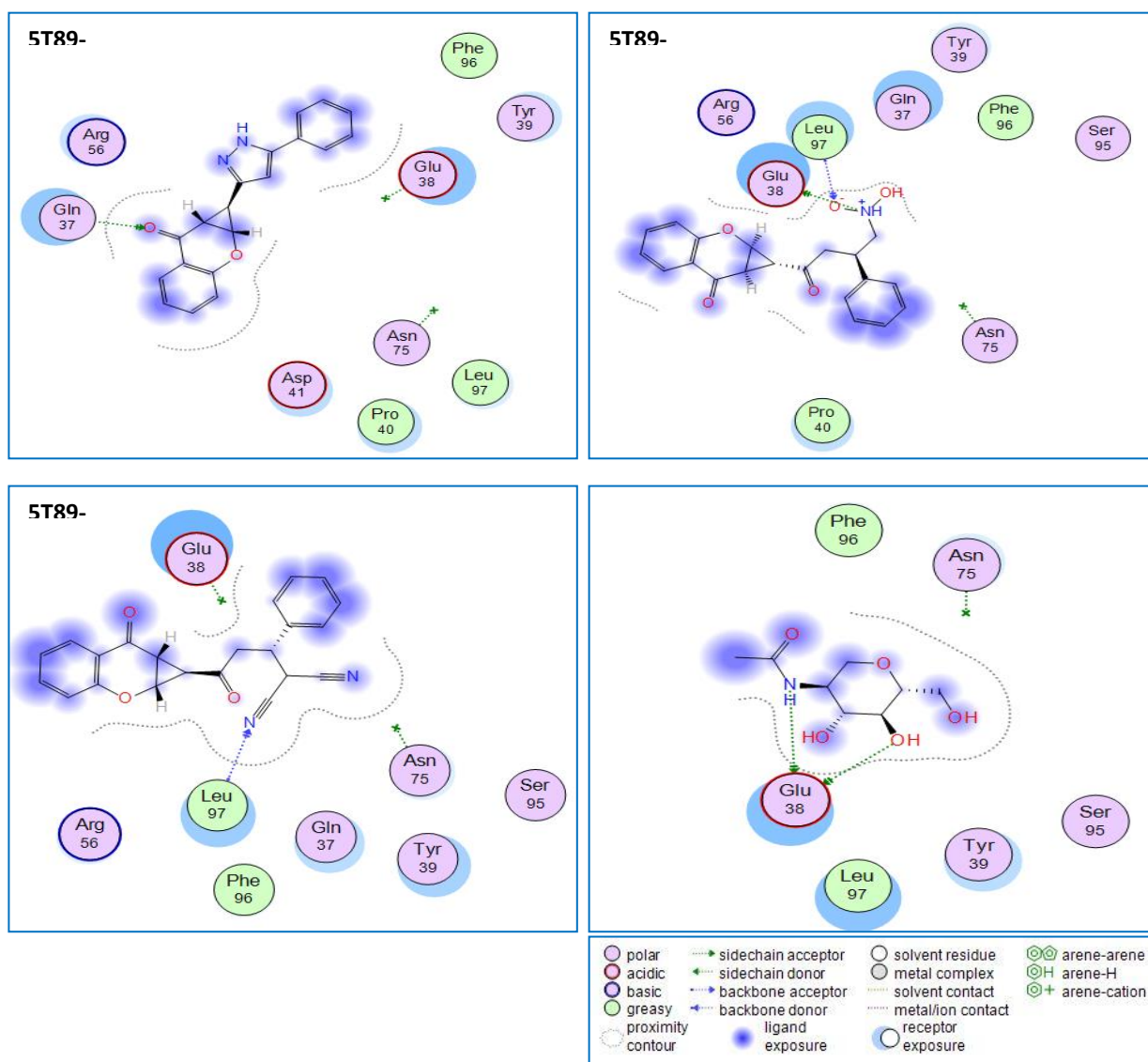


Figure 30 : Diagramme 2D des interactions entre les composés L1, L7, L8 et NAG et le site actif de VEGF (PDB ID: 5T89).

CHAPITRE III : RESULTAS & DISCUSSIONS : PARTIE BIOLOGIQUE

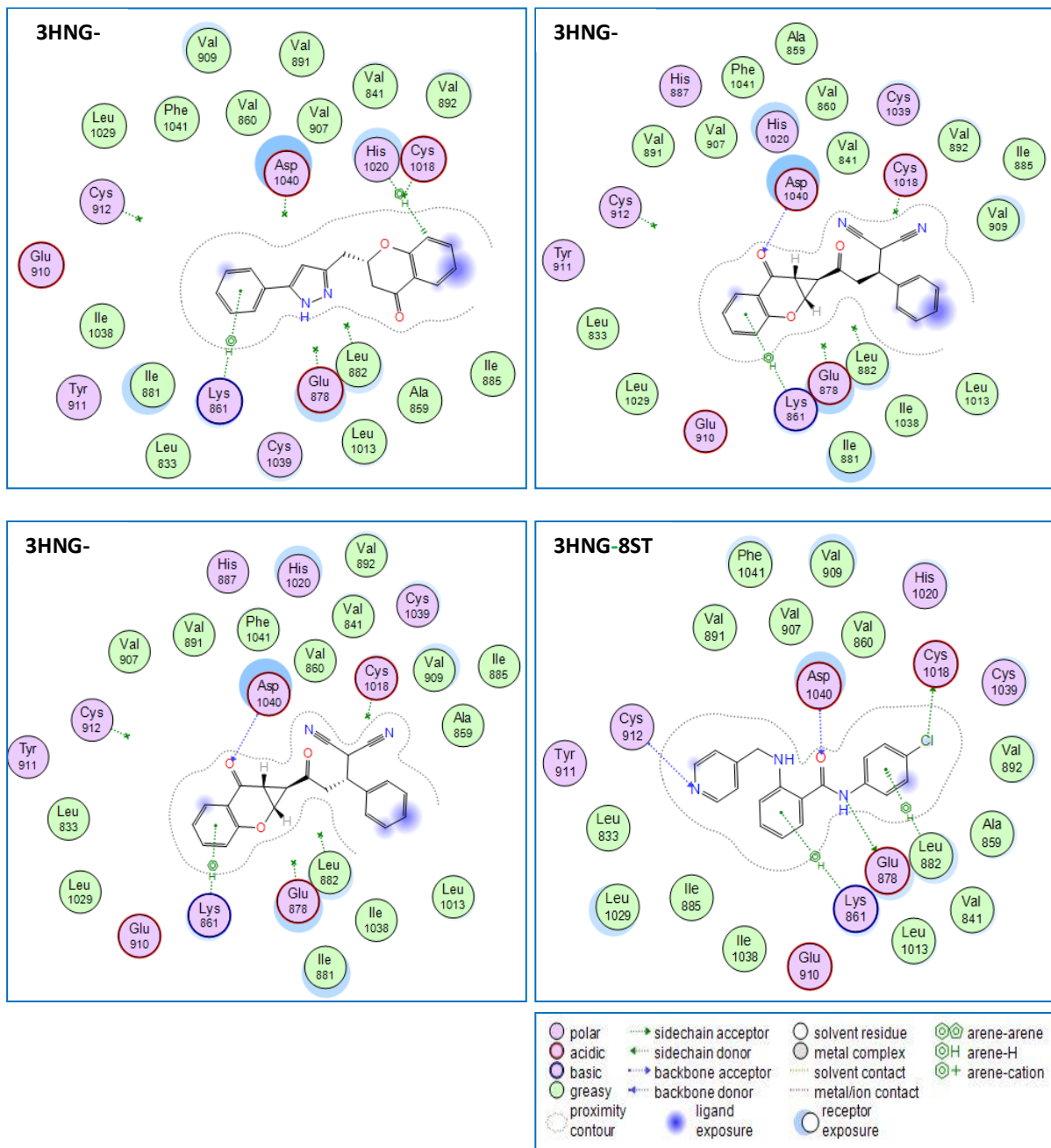


Figure 31 : Diagramme 2D des interactions entre les composés L2, L8, L9 et 8ST et le site actif de VEGFR-1 (PDB ID: 3HNG).

CHAPITRE III : RESULTAS & DISCUSSIONS : PARTIE BIOLOGIQUE

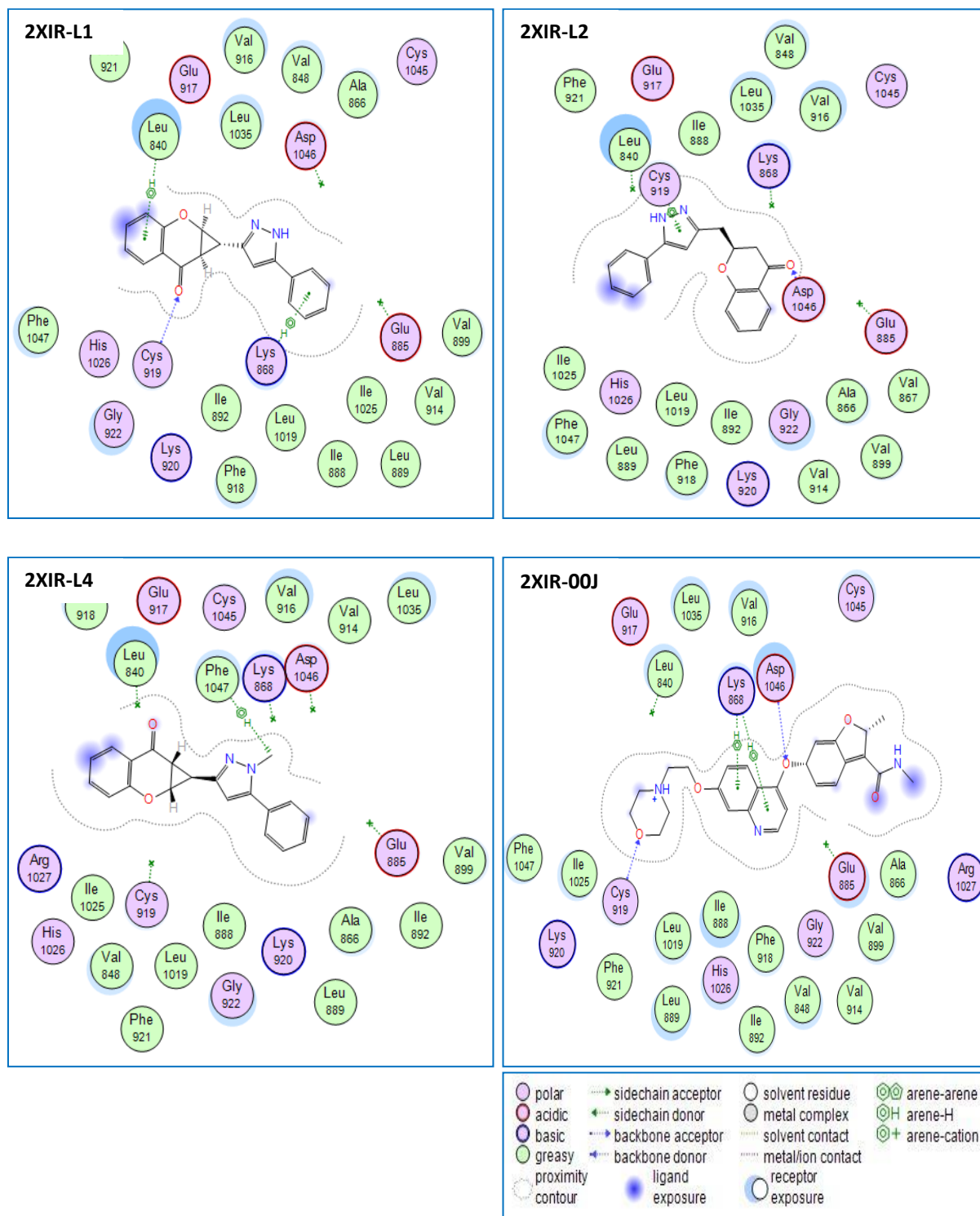


Figure 32 : Diagramme 2D des interactions entre les composés L1, L2, L4 et 00J et le site actif de VEGFR-2 (PDB ID: 2XIR).

CHAPITRE III : RESULTAS & DISCUSSIONS : PARTIE BIOLOGIQUE

III.3.2. Interaction : Enzyme–composés (ligands présent dans l’H.E de *Inula viscosa*)

Tableau 14 : Le bilan énergétique des complexes entre l'enzyme et le ligand est exprimé en kilocalories par mole (kcal/mol).

Mol	Score	RMSD refine	Mol	Score	RMSD refine	Mol	Score	RMSD refine
L- VE GF	-3,7899	3,80355	L- VEGFR1	-10,2159	1,63261	L- VEGF R2	-10,4227	2,93172
L1	-3,49325	1,4171	L1	-5,67572	0,73895	L1	-4,71330	1,21814
L2	-3,54622	4,25287	L2	-5,79094	1,84575	L2	-5,82724	1,41441
L3	-3,38240	1,97325	L3	-5,31909	2,69288	L3	-5,65643	2,08355
L4	-4,01963	1,95341	L4	-7,55429	1,32448	L4	-7,39465	1,14210
L5	-3,38378	2,55735	L5	-5,51163	3,15417	L5	-4,11897	-4,11897
L6	-3,18338	1,66500	L6	-5,51596	1,31669	L6	-5,33562	-5,33562
L7	-3,73947	1,08847	L7	-6,2743	1,10227	L7	-6,07355	-6,07355
L8	-3,52705	2,08294	L8	-4,31459	1,23091	L8	-5,7500	-5,7500
L9	-3,69257	2,31939	L9	-5,35120	2,12681	L9	-5,50285	-5,50285
L10	-3,4522	3,45120	L10	-5,29777	0,68889	L10	-5,40128	-5,40128
L11	-3,98458	1,67662	L11	-6,78250	1,8873	L11	-6,50306	-6,50306
L12	-3,59765	3,55976	L12	-5,14908	1,49792	L12	-5,50666	-5,50666
L13	-3,80335	6,73355	L13	-4,79661	1,32344	L13	-5,69354	-5,69354
L14	-3,75419	2,29156	L14	-5,34053	2,14731	L14	-5,68339	-5,6833
L15	-3,60531	1,56402	L15	-5,08465	2,31756	L15	-5,73431	-5,73431
L16	-3,23660	3,01242	L16	-5,04594	0,91354	L16	-5,5116	-5,5116
L17	-3,55800	2,01988	L17	-4,74857	1,52684	L17	1,1341	1,13416
L18	-3,71103	1,11560	L18	-5,1971	2,11682	L18	-6,2293	-6,22930
L19	-4,52469	1,46585	L19	-7,96668	2,71927	L19	-8,1082	-8,1082

III.3.1.1. Docking moléculaire

III.3.1.1.1. Approche par inhibiteur naturelle

En analysant les résultats du tableau 14, il est clair que le composé le plus prometteur parmi ceux étudiés est le Farnésylacétone (L19), comme le montre la figure 33. Ce composé a formé le complexe le plus stable avec le récepteur VEGF, présentant l'énergie la plus basse (-4.52469 kcal/mol). Ces résultats soulignent le potentiel du Farnésylacétone en tant que ligand puissant pour le récepteur VEGF.

CHAPITRE III : RESULTAS & DISCUSSIONS : PARTIE BIOLOGIQUE

Parmi les ligands qui ont interagi avec VEGFR-1, nous avons observé les interactions suivantes : Le ligand L2 a établi des interactions avec deux acides aminés (GLU 93 et GLU 93) à des distances de 2.51 Å et 2.82 Å respectivement, formant des liaisons fortes avec des énergies de 1.2 Kcal/mol et 1.0 Kcal/mol. De même, le ligand L11 a interagi avec l'acide aminé GLU 38 en tant que donneur d'hydrogène, avec une distance de liaison de 2.58 Å et une énergie de -1.4 Kcal/mol. Ces observations mettent en évidence les interactions spécifiques entre ces ligands et les acides aminés ciblés dans le site actif de VEGFR-1.

Une autre interaction significative a été observée entre le ligand L12 et l'acide aminé LEU 97 en tant qu'accepteur d'hydrogène, avec une distance de liaison de 2.96 Å. Ces interactions soulignent l'importance des résidus du site actif dans la formation des complexes avec les ligands étudiés.

Il convient de noter que le complexe formé entre le ligand Farnésylacétone et le résidu du site actif de la protéine 5T89 a démontré une grande stabilité.

Par ailleurs, le deuxième meilleur ligand identifié était l'(E)- β -Farnésène (Ligand 4) (figure 34), avec une énergie de liaison de (-4.01963854 Kcal/mol).

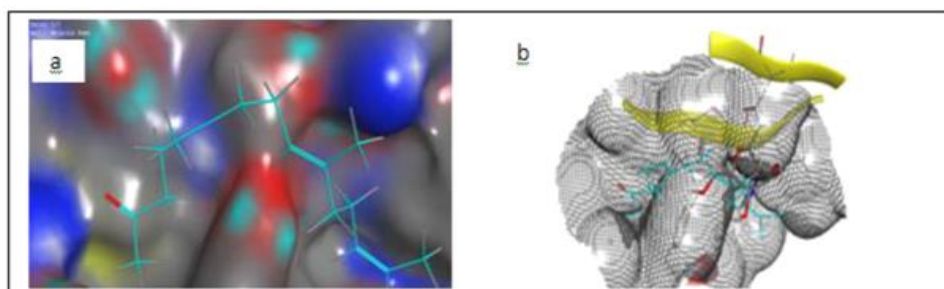


Figure 33 : (a) le composé le mieux noté, (b) L-19 : est montré dans le site actif.

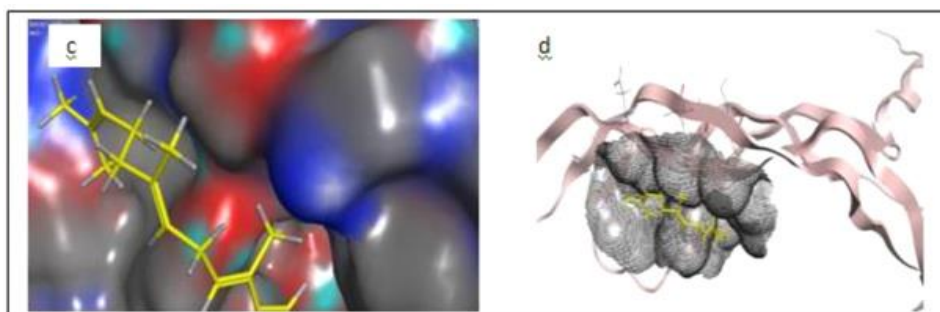


Figure 34 : (c) le composé de score le plus élevé, (d) L-4 : est montré dans le site actif.

CHAPITRE III : RESULTAS & DISCUSSIONS : PARTIE BIOLOGIQUE

Lors de l'étude du VEGFR-1, il est important de souligner que le (E)-Z-Farnésylacétone (Ligand 19) (figure 35) a été identifié comme inhibiteur le plus puissant de ce récepteur. Le complexe formé entre le ligand 19 et le site actif de VEGFR-1 a démontré une grande stabilité, avec l'énergie de liaison la plus basse (-7.96668Kcal/mol).

Le ligand (E)-Z-Farnésylacétone a démontré une interaction significative avec deux acides aminés (ARG 1021 et ARG 1021) - H accepteur, à des distances d'interaction de 3.00 et 2.94 Å respectivement. De plus, huit forces électriques ont été observées entre le ligand et certains résidus (GLU910, GLU 878, CYS 912, VAL 891, LEU 882, ASP1040, LYS861 et ARG1021).

La présence de ces forces électriques suggère que le Farnésylacétone a la capacité d'inhiber les récepteurs du VEGF. Il est important de souligner que les interactions entre les résidus du site actif de VEGFR-1 (PDB ID: 3HNG) et le(E)-Z-Farnésylacétone forment un complexe stable avec des interactions fortes.

Le ligand (E)-β-Farnésène (Ligand 4) a été identifié comme le deuxième meilleur ligand, avec une énergie de liaison de -7,55429745 Kcal/mol (Figure 36). Dans le cas de VEGFR-1, plusieurs ligands ont montré des interactions significatives.

Le ligand L3 a formé une faible interaction avec l'acide aminé PHE 1041 H-pi à une distance de 4.08 Å, avec une énergie de liaison de 0.7 kcal/mol. Le ligand L14 a interagi avec deux acides aminés, GLU910 et CYS912, en tant qu'accepteur et donneur d'hydrogène respectivement, avec des énergies de liaison de 1.8 et 1.7 kcal/mol dans l'ordre respectif.

Enfin, le ligand L19 a interagi avec les mêmes acides aminés ARG 1021 en tant qu'accepteur d'hydrogène, avec des énergies de liaison de 4.5 et 1.6 kcal/mol respectivement.

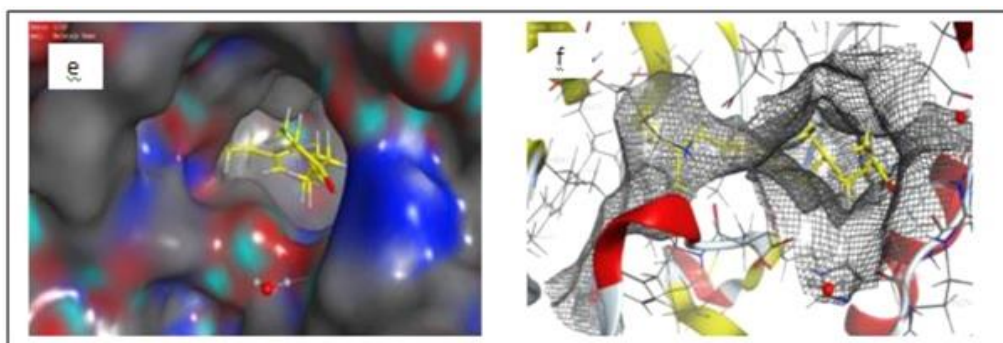


Figure 35 :(e) le composé au meilleur score, (f) un nouveau inhibiteur L-19 est montré dans le site actif.

CHAPITRE III : RESULTAS & DISCUSSIONS : PARTIE BIOLOGIQUE

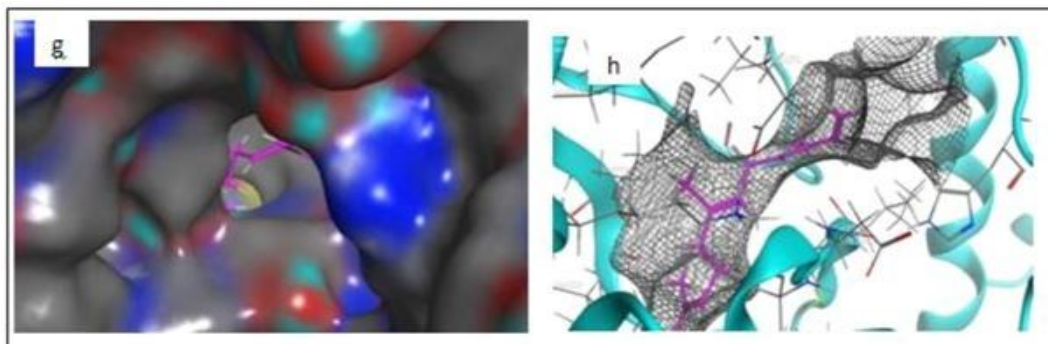


Figure 36 : (g) Le composé au meilleur score, (h) L-4 inhibiteur dans le site actif.

Le(E)-Z-Farnésylacétone (Ligand 19) a été identifié comme l'inhibiteur le plus efficace du récepteur VEGFR-2, formant le complexe le plus stable avec une énergie de liaison très basse de -8.10823 Kcal/mol (Figure 37). Les interactions entre le(E)-Z-Farnésylacétone et les résidus du site actif de la protéine VEGFR-2, notamment GLU 917, CYS 919, ASP 1024 et LEU840, contribuent à cette stabilité.

Les résultats indiquent que le(E)-Z-Farnésylacétone a la capacité d'inhiber les récepteurs du VEGF. Les interactions entre les résidus du site actif de la protéine VEGFR-2 (2XIR) et le ligand (E)-Z-Farnésylacétone conduisent à la formation d'un complexe stable avec une interaction solide.

Le (E)- β -Farnesene (Ligand 4) s'est révélé être le deuxième meilleur ligand, avec une énergie de liaison de (-7,39465475 Kcal/mol) (Tableau 1, figure 38). Il a été observé qu'il interagit avec quatre résidus spécifiques (GLU 917, CYS 919, LEU840 et ASP 1046) par le biais de forces électriques. Cette observation suggère que le (E)- β -Farnesène pourrait également avoir un potentiel inhibiteur des récepteurs du VEGF.

Parmi les ligands qui interagissent avec VEGFR-2, nous avons observé les interactions suivantes : le ligand 1 interagit avec l'acide aminé PHE 1041 grâce à une interaction de type H- π , à une distance de 4.44 Å. Cette interaction présente une faible énergie de liaison de 0.7 Kcal/mol. Ensuite, le ligand L16 interagit avec deux acides aminés, à savoir HOH 3159 et ASN 923, en formant des interactions de type H-donneur et H-accepteur respectivement. Ces interactions ont des énergies de liaison de 0.5 Kcal/mol chacune, à des distances de 2.51 Å et 3.26 Å respectivement.

De plus, nous avons observé que le ligand L11 forme une interaction forte avec l'acide aminé ASP 1046 à une distance de 2,95 Å, avec une énergie de liaison d'interaction de 0,85 Kcal/mol. Également, le ligand L18 interagit avec l'acide aminé PHE 1047 grâce à une

CHAPITRE III : RESULTAS & DISCUSSIONS : PARTIE BIOLOGIQUE

interaction de type H-pi. L'énergie de liaison entre le récepteur et cet acide aminé est de -0,6 Kcal/mol.

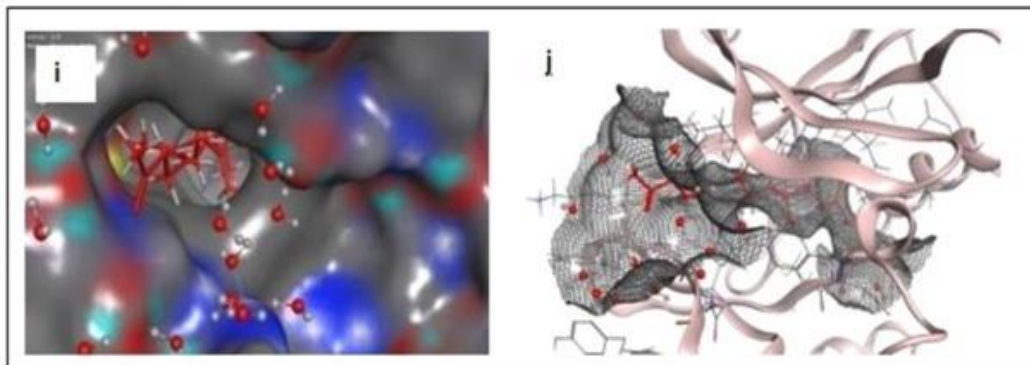


Figure 37 : (i) le composé au meilleur score, (j) L-19 est montré dans le site actif.

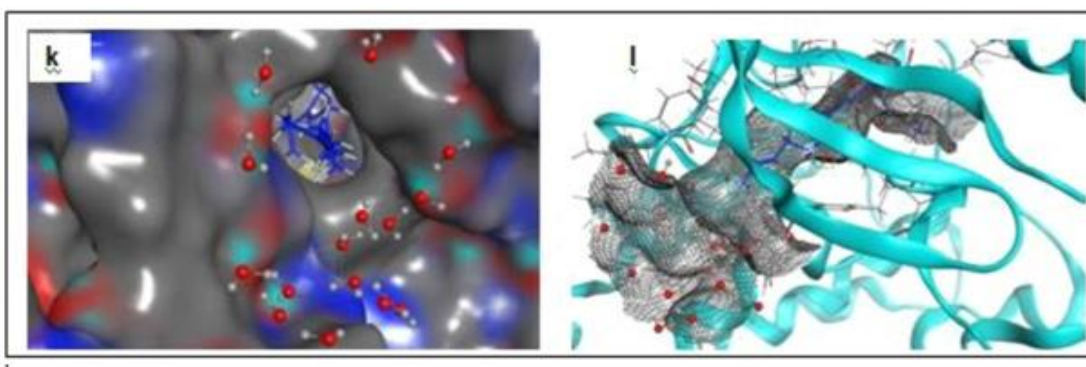


Figure 38 : (k) le composé de meilleur score, (l) L-4 est montré dans le site actif.

Les résultats des 19 composés et leurs interactions avec les atomes des résidus du site actif sont résumés dans le tableau 15.

CHAPITRE III : RESULTAS & DISCUSSIONS : PARTIE BIOLOGIQUE

Tableau 15 : Les résultats concernant les interactions entre les ligands et les résidus du site actif, en excluant les molécules d'eau.

Les liaisons entre les atomes des ligands et les résidus du site actif							
Ligands	Score (Kcal/mol)	Atomes des composés	Atomes impliquée de récepteur	Résidus impliqués de récepteur	Type d'interactio n	Distance A°	Energie s (Kcal/ mol)
L1-ref	-3,7899	O3 21	ND2	ASN 75	H-Acceptor	2,95	-0,7
VEGF							
L2	-3,54622	O1 1	O	GLU93 GLU93	H-donor H- acceptor	2,51 2,82	1,2
L11	-3,9858	O1 1	N			2,58	-1,0
		O1 1	O	GLU 38	H-donor		-1,4
L12	-3,59765	O1 1	N	LEU 97	H-acceptor	2,96	-1,3
L2-	-	N9 12	OE2	GLU 878	H-donor	2,88	
refVEG	10,215993				H-acceptor	2,79	-4,3
FR1	9				H-acceptor Pi-H	2,81 3,86	
L3	-5,3190	O8 15 N22 36 6-ring C10 10	N N CE 6-ring	ASP 1014 CYS 912 LYS861	H-pi	4,08	-3,9 -4,9 -0,7
L14	-5,34053	O1 1	O	PHE 1041 GLU 910 CYS 912	H-donor H-acceptor	2,49 2,49	-0,7 1,8
L19	-7,9666	O1 1 O1 1 O1 1	N NE NH2	ARG 1021 ARG 1021	H-acceptor H- acceptor	3,00 2,94	1,7 -4,5 -1,6
L3-ref	-10,422	N28 3	OE2	GLU 885 HOH	H-donor	2,74	
VEGFR		N29 50		3334 ASP 1046	H-donor	2,62	-4,2
2		O 30				2,66	

CHAPITRE III : RESULTAS & DISCUSSIONS : PARTIE BIOLOGIQUE

						3,24	
				CYS 919	H-acceptor		-6,1
	N27 35		O		H- acceptor		-1,9
			N				-3,3
			N				
L1	-4,71330	C2 2	6-ring	PHE 1047	H-Pi	4,44	-0,7
			O				
L16	-5,5116	O1 1		HOH	H-donor	2,51	0,5
		O1 1		3159 ASN 923	H-acceptor	3,26	
L11		O1 1	N				-0,5
	-6,2293		o	ASP 1046	H-donor	2,95	-0,8
L18	-6,2293	C6 6	6-ring	PHE 1047	H-pi	4,44	-0,6

III.3.1.1.2 Les interactions VEGF-VEGFR

Les deux monomères VEGF jouent un rôle dans l'interaction avec le domaine d2 de VEGFR1, comme illustré dans la figure 39.

Les résultats du Docking des inhibiteurs de VEGF/VEGFR, incluant les énergies associées, sont présentés dans le tableau 16.

Les traitements ciblant le VEGF peuvent avoir un effet direct sur les cellules tumorales, et le ligand identifié comme le meilleur inhibiteur est celui qui forme le complexe le plus stable. En particulier, le ligand (E)-Z Farnésylacétone L19 a démontré une capacité à se lier à la place de l'ATP, empêchant ainsi l'activité de phosphorylation.

En conclusion, nous avons observé que pour le ligand L19, les résidus d'acides aminés NE et NH₂ situés au niveau N-terminal de l'hélice α 1 du VEGF étaient fortement impliqués dans l'interaction avec le domaine d2 de VEGFR-1. Ces interactions jouent un rôle clé dans la stabilité et la spécificité de la liaison entre le ligand et le récepteur.

CHAPITRE III : RESULTAS & DISCUSSIONS : PARTIE BIOLOGIQUE

Tableau 16 : Les énergies des inhibiteurs du VEGF et récepteurs via Docking moléculaire.

Composés	récepteur	DE (Kcal/mol)	ETOR(KT)	EVDW (Kcal/mol)	EIE (Kcal/mol)
L-ref	VEGF	-3,7899	446,407	1047540	-1737,84
L1-ref	VEGF-R1	-10,2159	1368,097	2080,669	-5387,31
L2-ref	VEGF-R2	-10,4227	1390,209	3828,302	-12968,3
Cis-α- pergamotene	VEGF	-3,49325	1335,02	3562,36	-5425,32
	VEGF-R1	-5,67572	1393,038	4147,532	-7697,59
	VEGF-R2	-4,71330	1432,478	7939,513	16668,8
(E)-β-caryphyllene	VEGF	-3,54622	433,400	1139,926	-2146,11
	VEGF-R1	-5,79094	1385,513	4149,818	-7881,64
	VEGF-R2	-5,82724	1410,691	7362,473	-16633,5
β-Copaene	VEGF	-3,38240	427,554	1158,022	-2143,96
	VEGF-R1	-5,31909	1389,996	5010,046	-7878,19
	VEGF-R2	-5,65643	1407,077	532379,7	-16614,5
(E)-β-Farnesene	VEGF	-4,01963	414,741	2090,109	-2145,24
	VEGF-R1	-7,5542	1359,000	4145,776	-7902,41
	VEGF-R2	-7,3946	1392,285	6897,438	-16714,3
Allo- Aomadendrene	VEGF	-3,38378	430,065	1145,375	-2153,00
	VEGF-R1	-5,51163	1371,339	231553,0	-7920,27
	VEGF-R2	-4,1189	1443,131	6965,071	-16707,4
Germacrene-D	VEGF	-3,18338	422,577	1307,654	-2170,70
	VEGF-R1	-5,51596	1351,486	876706,2	-8017,91
	VEGF-R2	-5,335625	1413,735	6276,327	-16765,2
Zingibrene	VEGF	-3,73947	419,629	1557,475	-2169,54
	VEGF-R1	-6,27436	1361,151	3623,325	-7950,19
	VEGF-R2	-6,07355	1418,436	6344,492	-16807,0

CHAPITRE III : RESULTAS & DISCUSSIONS : PARTIE BIOLOGIQUE

Bicyclogermacrene	VEGF	-3,52705	435,838	1161,354	-2167,69
	VEGF-R1	-4,31459	1425,992	4574,672	-8036,23
	VEGF-R2	-5,7500	1433,365	6378,849	-16813,3
γ- Cadiene	VEGF	-3,69257	418,943	1173,223	-2176,87
	VEGF-R1	-5,35120	1346,747	3704,720	-8035,35
	VEGF-R2	-5,50285	1418,794	6395,554	-16875,6
δ- Cadiene	VEGF	-3,45229	417,317	1176,686	-2181,88
	VEGF-R1	-5,29777	1361,461	3664,779	-8029,96
	VEGF-R2	-5,40128	1439,985	7144,735	-16887,5
(E)-Nerolidol	VEGF	-3,98458	422,134	1164,999	-2186,37
	VEGF-R1	-6,78250	1344,803	3657,513	-8052,21
	VEGF-R2	-6,50306	1415,265	6451,999	-16925,8
L'oxyde de caryophellene	VEGF	-3,59765	440,442	1168,931	-2181,25
	VEGF-R1	-5,14908	1367,995	3668,767	-8032,72
	VEGF-R2	-5,5066	1432,530	6516,935	-17038,0
Globulol	VEGF	-3,80335	434,962	1154,406	-2180,96
	VEGF-R1	-4,79661	1372,607	3671,807	-8054,30
	VEGF-R2	-5,69354	1419,371	6517,878	-17007,6
Ledol	VEGF	-3,75419	447,435	1172,155	-2193,51
	VEGF-R1	-5,34053	1370,180	3672,611	-8060,27
	VEGF-R2	-5,68339	1426,335	6473,761	-16958,5
Zingibereol	VEGF	-3,60531	422,277	120516,4	-2201,03
	VEGF-R1	-5,08465	1355,302	3664,348	-8048,25
	VEGF-R2	-5,73431	1420,350	7133,076	-17031,6

CHAPITRE III : RESULTAS & DISCUSSIONS : PARTIE BIOLOGIQUE

τ-Muurolol	VEGF	-3,23660	429,610	1175,279	-2180,06
	VEGF-R1	-5,04594	1364,183	3653,479	-8038,35
	VEGF-R2	-5,51163	1384,837	6176,431	-16669,6
α-Cadinol	VEGF	-3,55800	428,868	1497,248	-2185,07
	VEGF-R1	-4,74857	1360,631	3667,001	-8025,35
	VEGF-R2	-1,13416	1403,009	6226,658	-16646,7
α-Bisabolol	VEGF	-3,71103	424,113	1168,157	-2185,81
	VEGF-R1	-5,19713	1350,979	3664,608	-8020,31
	VEGF-R2	-6,22930	1389,838	6244,659	-16740,6
E-(Z)- Farnesylacetone	VEGF	-4,52469	413,838	1568,082	-2164,04
	VEGF-R1	-7,96668	1353,882	4156,540	-8033,24
	VEGF-R2	-8,10823	1386,549	6252,439	-16605,2

DE : énergie d'amarrage, ETOR : énergie de torsion, VDW : forces de Van der Wals,
EIE : énergie d'interaction électrostatique.

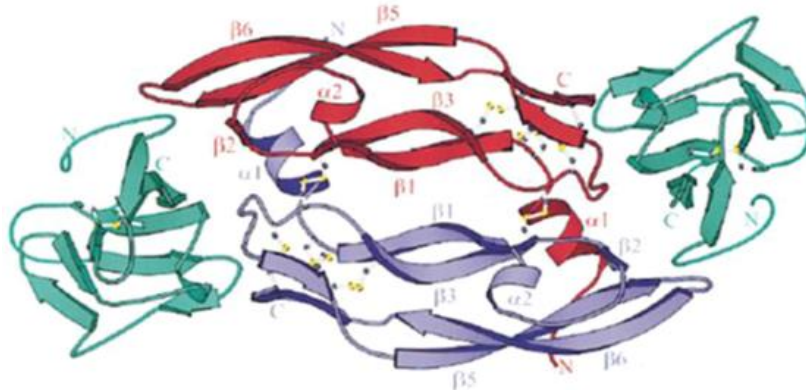


Figure 39 : structure du complexe VEGF/VEGFR1-d2 déterminée par rayons X. Le dimère VEGF est représenté en rouge et bleu et les deux VEGFR1-domaines d2 en vert.

III.3.2. Dynamique moléculaire

En utilisant l'approche de simulation DM, nous avons étudié l'évolution des propriétés thermodynamiques du ligand L19 dans le complexe VEGF-VEGFR1 en utilisant l'ensemble NVT. Les résultats sont résumés dans le tableau 17.

CHAPITRE III : RESULTAS & DISCUSSIONS : PARTIE BIOLOGIQUE

Nous avons observé que pour le ligand L19 dans le complexe VEGF-VEGFR-1, les énergies cinétiques de translation et l'énergie interne ont été relativement faibles. Cela suggère que le ligand se déplace et interagit avec le récepteur de manière relativement stable et conservée.

Toutefois, lorsque le ligand L19 était lié au récepteur VEGFR-2, nous avons observé des fluctuations plus significatives et une pression plus élevée. Cela pourrait indiquer une plus grande flexibilité et une dynamique plus importante du complexe ligand-récepteur.

En revanche, contrairement au complexe formé par le ligand L19 avec l'enzyme VEGF, l'interaction du ligand L19 avec le récepteur VEGFR-1 était relativement faible. Dans le cadre de l'ensemble canonique (NVT), qui maintient les variables de nombre de particules (N), de volume (V) et de température (T) constantes lors de la simulation, le ligand L19 a montré une interaction moins marquée avec VEGFR-1.

Cependant, il convient de noter que le ligand L19 a été prédit comme étant le système le plus interactif parmi les autres ligands étudiés. Bien que son interaction avec VEGFR-1 puisse être relativement faible, elle reste significative par rapport aux autres ligands.

Ces résultats sont en parfait accord avec les prédictions du Docking moléculaire présentées dans les tableaux 13 à 16. Nous avons effectué une analyse détaillée des résultats de la simulation DM spécifiquement pour le composé L19 et ses interactions avec les récepteurs cibles du VEGF. Les figures 40 à 42 illustrent ces résultats de manière détaillée.

CHAPITRE III : RESULTAS & DISCUSSIONS : PARTIE BIOLOGIQUE

Tableau 17 : Les propriétés thermodynamiques calculées sont exprimées en unités réelles, notamment la pression (P), l'énergie de configuration (U), l'énergie cinétique de translation (EKT) et l'enthalpie (H).

SP _i	Méthode	H	U	EKT	P	V	T
SP ₁	VEGF-Lig-19	-96,0353775	1507,44727	1388,18652	160,447647	12775,3398	357,959808
	VEGR1-Lig-19	-292,459259	3246,96533	4352,19336	-36,4663124	37559,7031	370,825592
	VEGR2-Lig-19	-346,652924	-1199,86816	4999,32471	-55,1730194	44492,7852	363,23175
	VEGR-Lig-19	-0,186085999	937,379517	1097,74744	-40,0676231	12775,3398	283,066742
	VEGR1-Lig-19	-7,79605532	2488,10181	4052,91699	183,276642	37559,7031	345,325989
	VEGR2-Lig-19	-0,443735003	-2920,92236	4110,30371	-254,836838	44492,7852	298,638916
	VEGR-Lig-19	0,175413504	959,181213	1135,01062	-58,5749931	12775,3398	292,675476
	VEGR1-Lig-19	0,186976507	1493,63403	3423,13843	93,5603485	37559,7031	291,666138
	VEGR2-Lig-19	1,34591353	-3326,87671	4023,22656	86,2301178	44492,7852	292,312225
	VEGR-Lig-19	0,323196739	926,048157	1186,59265	167,378677	12775,3398	305,976501
SP ₂	VEGR1-Lig-19	0,186976507	1493,63403	3423,13843	93,5603485	37559,7031	291,666138
	VEGR2-Lig-19	1,34591353	-3326,87671	4023,22656	86,2301178	44492,7852	292,312225
	VEGR-Lig-19	-0,609911978	803,180115	1162,90198	-276,769501	12775,3398	299,867584
	VEGR1-Lig-19	-0,533955097	-0,805478334	3475,16797	39,4337997	37559,7031	296,099274
	VEGR2-Lig-19	-0,431310326	-3345,53491	4122,03809	43,8750153	44492,7852	299,491516
	VEGR-Lig-19	0,588058352	808,855286	1155,84644	132,805405	12775,3398	298,048248
	VEGR1-Lig-19	-0,527443051	1390,62939	3412,94312	-188,243103	37559,7031	290,797455
	VEGR2-Lig-19	1,69389367	-3485,01563	4041,8418	-1,55086923	44492,7852	293,664734
	VEGR-Lig-19	-0,239414528	832,668152	1137,39722	-119,197212	12775,3398	293,290924
	VEGR1-Lig-19	1,1400882	1405,06104	3494,96069	41,3016739	37559,7031	297,785706
SP ₃	VEGR2-Lig-19	1,69389367	-3485,01563	4041,8418	-1,55086923	44492,7852	293,664734
	VEGR-Lig-19	0,697540104	853,860718	1097,72119	168,965363	12775,3398	283,059998
	VEGR1-Lig-19	1,57997549	1337,56262	3379,97607	117,144455	37559,7031	287,988525
	VEGR2-Lig-19	-1,35737085	-3514,72388	4062,38794	-46,1831398	44492,7852	
	VEGR-Lig-19	-0,016821704	1133,17383	1133,17383	124,116997	12775,3398	292,201874
	VEGR1-Lig-19	3,1954596	1367,98035	3419,4978	-95,8944092	37559,7031	291,355927
	VEGR2-Lig-19	1,8799262	-3460,46631	3998,78369	-149,61528	44492,7852	290,536285

CHAPITRE III : RESULTAS & DISCUSSIONS : PARTIE BIOLOGIQUE

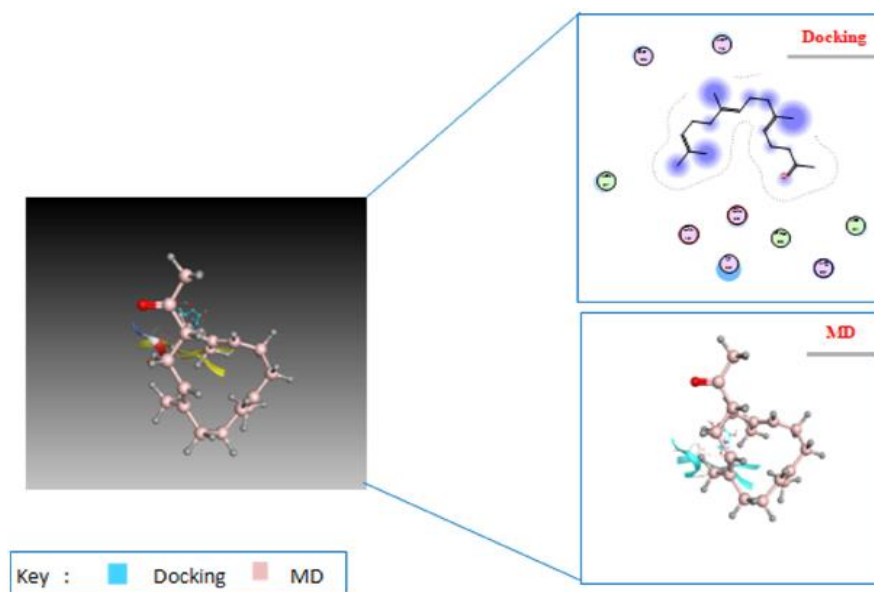


Figure 40: Le composé L19 (E)-Z-Farnesylacétone est amarrédans le site de liaison du VEGF.

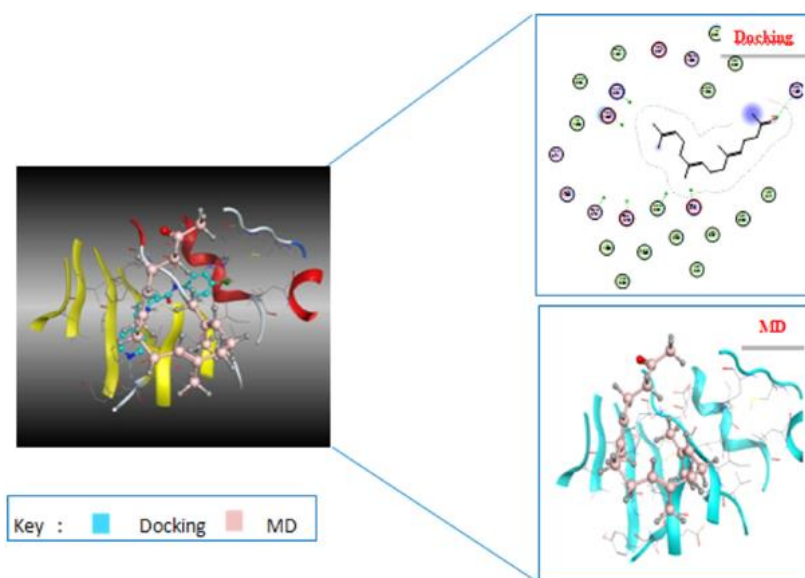


Figure 41 : Le composé L19 (E)-Z-Farnesylacétone est amarré dans le site de liaison de VEGFR-1.

CHAPITRE III : RESULTAS & DISCUSSIONS : PARTIE BIOLOGIQUE

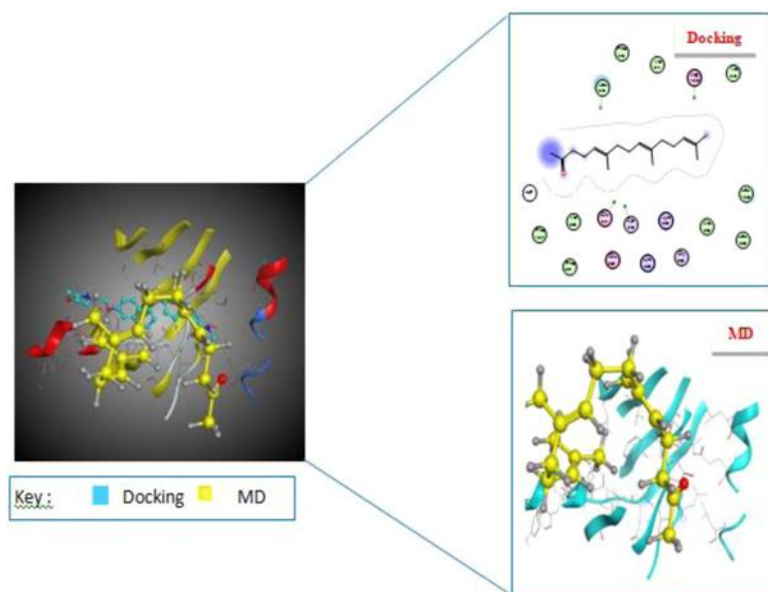


Figure 42: Le composé L19 (E)-Z-Farnesylacétone est amarré dans le site de liaison de VEGFR-2.

La différence entre la pose finale du ligand après une simulation de Dynamique moléculaire (DM) et la pose du Docking initiale est également très évidente dans le score de docking le plus élevé.

III.3. Evaluation *in silico* de l'ADME

L'analyse informatique a été effectuée afin d'évaluer les propriétés ADME des deux composés ayant obtenu les scores les plus élevés. Les valeurs correspondantes sont répertoriées dans le tableau 18.

Les résultats du tableau 17 indiquent que le composé L19 présente une absorption élevée, tandis que le composé L4 montre une faible absorption.

De plus, il est remarquable que ces composés respectent les règles de Lipinski, de Veber et d'Egan Wiesmann et coll., 1997 [162]. Les valeurs logP se situent entre 4,50 et 4,84 (<5), la plage de masse moléculaire (MW) est de 204,35 à 262,43 (<500), le nombre d'accepteurs de liaison hydrogène (HBA) est de (0 à $0 \leq 10$), et le nombre de donneurs de liaison hydrogène (HBD) est de 0 à ($0 \leq 5$). Ces résultats suggèrent que ces composés ne devraient pas présenter de problèmes de biodisponibilité orale et indiquent ainsi leur potentiel pour le développement de propriétés médicamenteuses.

CHAPITRE III : RESULTAS & DISCUSSIONS : PARTIE BIOLOGIQUE

En conclusion, le ligand L19 (E)-Z-Farnésylacétone présent dans l'huile essentielle de *I. viscosa*, a montré un score d'activité élevé (-4,52469969, -7,96668291, -8,10823059 Kcal/mol) pour VEGF, VEGFR-1 et VEGFR-2 respectivement. Ces résultats confirment son potentiel en tant qu'inhibiteur prometteur pour cibler ces récepteurs et inhiber l'activité du VEGF.

Tableau 18 : Les propriétés ADME des ligands avec le meilleur score sont présentées dans l'ordre suivant.

Entré	ABS	TPSA (Å ²)	n- ROTB	Pmol	M Log P	n-ON accepteurs	n-OHNH donneurs	Les violations de Lipinski	Les violations de Veber	Les violations D'Egan
Mesure	-	-	-	<500	≤ 5	<10	<5	≤ 1	≤ 1	≤ 1
L4	Elevé	00,00	6	204,35	4,84	0	0	1	1	1
L19	Faible	17,07	9	262,43	4,50	1	0	1	1	1

ABS: absorption, TPSA : surface polaire topologique, n-ROTB : nombre de liaisons rotatives, Mmol : poids moléculaire, MLogP : logarithme du coefficient de partage de composé entre le n-octanol et l'eau, accepteurs n-ON : nombre de liaisons d'accepteurs hydrogène, donneurs n-OHNH : nombre de liaisons hydrogène donneurs.

III.4. Pharmacocinétique et propriétés de chimie médicinale

Nos résultats en chimie médicinale et en pharmacocinétique ont établi une corrélation entre les propriétés évaluées d'ADME (tableau 18) et les prédictions en chimie et pharmacocinétique (tableau 19). Plus spécifiquement, le (E)-Z-Farnésylacétone, qui se trouve dans l'huile essentielle extraite des parties aériennes d'*I. viscosa* contenant des sesquiterpènes oxygénés (Ligand 19), a présenté une lipophilie élevée et un coefficient de perméabilité cutanée élevé (log Kp). Ces résultats sont cohérents avec les propriétés d'absorption gastro-intestinale élevée observées pour le composé L19. En revanche, le (E)-β-Farnésène (Ligand 4) a montré de faibles valeurs d'absorption gastro-intestinale, ce qui est en accord avec sa faible lipophilie prédite.

Il est important de noter que selon les études précédentes menées par Kacprzyk et Pedrycz, 2015 [163], plus la valeur du log Kp (avec Kp en cm/s) est négative, moins la molécule est susceptible d'être absorbée par la peau.

Il est important de souligner les travaux de recherche réalisés par Mesli, Bouchentouf en 2018 [164], qui ont utilisé le logiciel MOE pour démontrer la stabilité des complexes

CHAPITRE III : RESULTAS & DISCUSSIONS : PARTIE BIOLOGIQUE

formés et leur affinité avec les récepteurs VEGF. Selon leurs études, le ligand L19 a montré une affinité plus élevée que les ligands L4 et L11, comme le suggère le Log Po/w. De plus, l'accessibilité synthétique (SA) a été un critère clé dans la sélection de ces ligands. Les valeurs de SA obtenues pour les ligands L19 et L4 se situent dans une plage acceptable (3,27 à 3,47), ce qui les rend plus prometteurs pour la synthèse et les essais biologiques. Ces résultats renforcent davantage l'intérêt potentiel de ces composés en tant qu'agents thérapeutiques.

Nous tenons à mettre en évidence les précédents travaux menés dans notre région, qui ont démontré les excellentes activités biologiques des huiles essentielles, comme le rapportent Benyoucef et coll. 2020[165] et Miguel et coll. 2008 [144]. Ces résultats viennent corroborer nos propres recherches sur les huiles essentielles d'*I. viscosa*. Dans le tableau 20, nous présentons les résultats de la validation de nos découvertes dans différentes régions, ce qui confirme l'efficacité et le potentiel des huiles essentielles d'*I. viscosa* dans divers contextes géographiques.

Nos résultats en matière de Docking moléculaire renforcent nos observations en indiquant que les sesquiterpènes oxygénés constituent les principaux composants de l'huile essentielle, représentant 87,3 % du total. Parmi eux, notre ligand (E)-Z-Farnésylacétone représente 13,2 % et se distingue par sa capacité à stabiliser efficacement le système, avec une énergie de liaison de -4,52469 kcal/mol, comparée aux composants provenant d'autres régions du monde (voir tableau 20).

Cette stabilité renforce la complémentarité du complexe formé et confirme le potentiel de notre ligand en tant qu'agent majeur contre le cancer cellulaire.

L'analyse actuelle, basée sur le Docking moléculaire et les simulations DM, a été menée pour étudier de nouveaux sesquiterpènes oxygénés en tant que composés inhibiteurs des récepteurs du VEGF. Des études antérieures ont déjà mis en évidence les effets cytotoxiques du (2Z, 6E)-Farnésol sur les cellules cancéreuses du côlon humain, du foie et du poumon [129].

CHAPITRE III : RESULTAS & DISCUSSIONS : PARTIE BIOLOGIQUE

Tableau 19 :l'évaluation des molécules principales en fonction de leur notation, en utilisant les propriétés pharmacocinétiques de la chimie médicinale.

N°	Composés	GI absorption				
1	cis- α - Bergamotene	Faible	-2,97 cm/s	4,63	No; 2 violations: MW<250, XLOGP3>3,5	5,07
2	(E)- β - Caryophyllene	Elevé	5,53 cm/s	3,56	No; 1 violation: MW < 250	4,48
3	β -Copaene	Faible	5,65 cm/s	-4,37 cm/s	No; 2 violations: MW<250, XLOGP3>3,5	4,62
4	(E)- β -Farnesene	Faible	-3,20 cm/s	4,84	No; 2 violations: MW<250, XLOGP3>3,5	3,72
5	allo- Aromadendrene	Faible	-4,20 cm/s	5,65	No; 2 violations: MW<250, XLOGP3>3,5	3,70
6	Germacrene-D	Faible	-4,18 cm/s	4,53	No; 2 violations: MW<250, XLOGP3>3,5	4,55
7	Zingibrene	Faible	-3,88 cm/s	4,53	No; 2 violations: MW<250, XLOGP3>3,5	4,81
8	Bicyclogermacr ene	Faible	-4,61 cm/s	4,63	No; 2 violations: MW<250, XLOGP3>3,5	4,34
9	γ -Cadinene	Faible	-4,85 cm/s	4,63	No; 2 violations: MW<250, XLOGP3>3,5	4,14
10	δ -Cadinene	Faible	-4,49 cm/s	4,63	No; 2 violations: MW<250, XLOGP3>3,5	4,35
11	(E)-Nerolidol	Elevé	-4,23 cm/s	3,86	No; 2 violations: MW<250, XLOGP3>3,5	3,53
12	L'oxyde de caryophyllene	Elevé	-5,12 cm/s	3,67	No; 2 violations: MW<250, XLOGP3>3,5	4,35
13	Globulol	Elevé	-5,00 cm/s	3,81	No; 2 violations: MW<250, XLOGP3>3,5	3,58
14	Ledol	Elevé	-5,00 cm/s	3,81	No; 2 violations: MW<250, XLOGP3>3,5	3,58

CHAPITRE III : RESULTAS & DISCUSSIONS : PARTIE BIOLOGIQUE

15	Zingibereol	Elevé	-4,63 cm/s	3,56	No; 2 violations: MW<250, XLOGP3>3,5	4,15
16	τ -Muurolol	Elevé	-5,29 cm/s	3,67	No; 1 violation: MW < 250	4,29
17	α -Cadinol	Elevé	-5,29 cm/s	3,67	No; 1 violation: MW < 250	4,29
18	α -Bisabolol	Elevé	-4,97 cm/s	3,56	No; 2 violations: MW<250, XLOGP3>3,5	3,95
19	Farnesylacetone	Elevé	-3,95 cm/s	4,50	No; 2 violations: Rotors>7, XLOGP3>3,5 MW < 350	3,47

Tableau 20 : Comparaison de l'équilibre énergétique des complexes formés avec le VEGF entre nos résultats et les études précédentes.

Molécule majoritaire	Score	Référence
VEGF reçu de PDB data base (https://www.rcsb.org/) PDB	ID: 5t89	
L-ref	-3,78999	
Autres expériences		
(E)-nerolidol(19,8%) la Jordanie	VEGF -3,98458	(Al-Qudah et coll. 2010 [122], Parikesit et coll., 2015 [166]).
L-Born-éol (25,2%)	-3,23326	(Berendsen et coll, 1984[167], Perez -
Bornylacetate(19,5%)	-3,47815	Alonso ,1996[119])
la Turquie		
Fokienol (21,1% et 38,8%, respectively)		(Blanc et coll., 2006[120], Camacho et
France et Espagne	-4,01069	coll., 2000 [121], Parikesit et coll, 2015[166], Perez-Alonso [119]),
Acid Eudesma-3,11 (13) -dien-12-oïque (56,8%) et (62,4%, respectivement)	-3,50546	(Al-Qudah et coll. [122], Blanc et coll, [120], De Laurentis et coll., 2002 [145],
L'est d'Algérie et le sud d'Italie		Haoui et coll., 2015[142]),
δ-terpinene(35,9%) et α-pinene (18,9%)	-3,20504	(Benchohra et coll., 2011[113]),
Sidi Bel Abbes	-3,30435	
Acide isocostique (70,8%) Tunisie	-3,62129	(Aissa et coll., [123], Benchohra coll, [113])

CHAPITRE III : RESULTAS & DISCUSSIONS : PARTIE BIOLOGIQUE

isobutyrate de 3-m_ethoxy cuminylole(12%)	-4,26027	(Mesli et coll., [164] , Miguel et coll., 2008 [144]),
Portugal		
Nos résultats	-4,5246	Sesquiterpènes oxygénés
(E)-Z-Farnesylacetone		
L19 (13,2%)		
Algérie		
(E)-b-Farnesene	-4,01963	Sesquiterpènes hydrocarbonés,
L4 (2,6%)		
Algérie		

Nos résultats montrent que les ligands (E)-Z-Farnésylacétone (L19) et (E)- β -farnésène (L4) appartiennent à la même famille, sous la forme de (2Z, 6E)-farnésol. Ces composés présentent une bonne affinité avec les récepteurs VEGF, ce qui suggère que les sesquiterpènes oxygénés de cette famille pourraient être des médicaments efficaces contre l'angiogenèse induite par le VEGF.

Dans le domaine *in vitro*, plusieurs études ont examiné les effets inhibiteurs de *I. viscosa* et des nano corps sur les enzymes clés associées à la thérapie anticancéreuse, notamment les récepteurs VEGF.

Il a été démontré que l'inhibition de VEGF a un effet significatif sur la migration des cellules endothéliales humaines ($p < 0.045$) par Kazemi-Lomedasht et coll., 2017 [167]. De plus, l'utilisation d'un nanocorps anti-VEGF a montré une inhibition significative de la croissance tumorale chez des souris porteuses de tumeurs ($p < 0.001$).

Les résultats obtenus suggèrent que les nanocorps (NB), une nouvelle classe d'anticorps dérivés du chameau, ont un fort potentiel en tant que candidats prometteurs pour les médicaments anticancéreux. En particulier, les nanocorps réticulés ont démontré une spécificité et une affinité élevées pour se lier au VEGF humain et murin, avec des valeurs dans la gamme nano molaire.

Une étude menée par Kazemi-Lomedasht et coll., 2017[168] a démontré que l'anti-VEGF présente un puissant effet inhibiteur sur la migration des cellules endothéliales humaines. De plus, l'utilisation d'un nanocorps anti-VEGF a montré une inhibition significative de la croissance tumorale chez des souris porteuses de tumeurs.

En ce qui concerne l'activité anticancéreuse, l'Institut national du cancer américain considère qu'un produit anticancéreux est prometteur pour de futures études bioguidées si sa

CHAPITRE III : RESULTAS & DISCUSSIONS : PARTIE BIOLOGIQUE

valeur d'CI₅₀ est inférieure à 30 µg/mL. Cette valeur indique un effet cytotoxique significatif du produit contre les cellules cancéreuses et suggère son potentiel en tant que traitement anticancéreux (Seca et coll., 2014) [169].

Selon une étude menée par Merghoub et coll., en 2009 [170], une valeur d'IC₅₀ supérieure à 54 µg/mL est associée à un effet tumoral. De même, selon les travaux de Mazzio et Soliman en 2009[173], des valeurs d'CI₅₀ supérieures à 200 µg/mL sont considérées comme inacceptables pour une activité anticancéreuse. Des études menées par Talib et Mahasneh en 2010 [117], ainsi que par Ferrara et ses collègues en 2004, ont révélé que les extraits de fleurs de *I.viscosa* présentaient une faible toxicité envers les cellules humaines normales (IC₅₀ de la lignée cellulaire Vero = 202,43 ± 73,70 µg/mL).

Pour *Inula viscosa*, les valeurs d'IC₅₀ enregistrées étaient généralement autour de 30 mg/mL. Ces résultats suggèrent une activité anticancéreuse potentielle de l'extrait ou du composé testé.

En outre, plusieurs études antérieures ont souligné les propriétés anti-inflammatoires de la lactone sesquiterpéniques d'*Inula viscosa*. Hernandez et coll. en 2001 et Manez et coll., en 2007 [171] ont tous les deux mis en évidence ces propriétés bénéfiques.

Dans notre étude, nous avons utilisé le progiciel (MOE) pour analyser les interactions entre (E)-Z-Farnesylacétone et les récepteurs VEGF. Cependant, aucune interaction hydrophobe n'a été identifiée entre ce ligand et les récepteurs VEGF. Cette absence d'interactions hydrophobes peut être attribuée à la grande taille de ce ligand et au nombre élevé d'angles de torsion, ce qui rend le ligand plus flexible.

Nos résultats ont révélé des activités inhibitrices prometteuses contre les nouveaux récepteurs VEGF, notamment pour le composé (E)-Z-Farnesylacétone qui a démontré une forte liaison et une affinité élevée avec VEGF. Ces résultats sont non seulement encourageants sur le plan scientifique, mais ils soutiennent également l'utilisation traditionnelle de ces plantes par les herboristes et les guérisseurs traditionnels.

En conclusion, nos résultats démontrent que les ligands étudiés, qu'ils soient de synthèse ou extraits de l'huile essentielle d'*Inula viscosa*, présentent une activité inhibitrice intéressante contre les récepteurs du facteur de croissance vasculaire endothéliale (VEGF). Les deux séries de ligands ont montré une affinité élevée envers les récepteurs VEGF, comme le montrent les données du tableau 13, 14 et 15. Ces résultats sont encourageants et justifient la poursuite des travaux dans ces deux domaines.

CHAPITRE III : RESULTAS & DISCUSSIONS : PARTIE BIOLOGIQUE

III.4. Evaluation des activités biologiques

III.4.1.Introduction

Les progrès significatifs dans le traitement des maladies infectieuses ont été largement attribués à la découverte et au développement des antibiotiques, à partir des travaux pionniers sur la pénicilline réalisés en 1928. L'utilisation généralisée et souvent inappropriée des diverses classes d'antibiotiques a entraîné l'émergence de la résistance bactérienne, représentant désormais une menace sérieuse pour l'efficacité des traitements médicaux modernes [149]. Les huiles essentielles sont reconnues pour leurs propriétés antimicrobiennes, insecticides et anti-inflammatoires. Certaines d'entre elles sont considérées comme des substances sûres et pourraient donc être utilisées pour prévenir la croissance de micro-organismes pathogènes et de contaminants [150,151]. Le genre *Daucus* a été largement étudié pour la composition chimique de ses huiles essentielles ainsi que pour leurs activités biologiques [72,73],[151-156].

Cependant, les études sur *D. gracilis steinh* sont rares. Cette plante, appartenant à la famille des *Apiacées* et largement présente en Algérie, est principalement trouvée sur les collines et le long des côtes. Jusqu'à présent, seule une étude a signalé l'activité antimicrobienne de l'huile essentielle des parties aériennes de *D. gracilis steinh*[155]. Cependant, aucune étude n'a encore été réalisée sur les fleurs de cette espèce pour évaluer leurs activités biologiques. Dans cette optique, la présente étude explore l'activité antimicrobienne, insecticide et anti-inflammatoire de l'huile essentielle des fleurs de *D. gracilis. Steinh* .

III.4.2.Evaluation de l'activité antimicrobienne de *D. gracilis steinh* par la méthode de diffusion papier-disque

L'activité antimicrobienne de l'huile essentielle extraite des fleurs de *D. gracilis. steinh* a été évaluée en utilisant la méthode de diffusion sur disque contre sept souches microbiennes et deux levures, comme indiqué dans le Tableau 21.

CHAPITRE III : RESULTAS & DISCUSSIONS : PARTIE BIOLOGIQUE

Tableau 21: Zones d'inhibition de l'huile essentielle de *Daucus. gracilis*.

Microorganismes	Zones d'inhibition (mm)			
	H.E (10 µg/disque)	Gent (10 µg/disque)	Amph B	
Bactéries gram-positives	<i>S. aureus</i>	30±0,5	33,1±0,6	-
	<i>L. monocytogenes</i>	5,1±0,6	12,2±0,58	-
	<i>E. faecalis</i>	20,2±0,5	18,5 ± 0,5	-
	<i>B. cereus</i>	21,0±0,5	22,3±0,7	-
Bactéries gram-négatives	<i>E. coli</i>	11,6±0,7	23,2±0,5	-
	<i>P. aeruginosa</i>	10,1 ±1,7	25,6±1,5	-
	<i>K. pneumoniae</i>	14,2±1,5	15,4±0,70	-
Levures	<i>C. albicans IP444</i>	32,5±1,2	-	30,2±0,9
	<i>A. flavus</i>	35,4±1,6		33,3±0,3

H.E : Huile essentielle, Gent : Gentamicine, Amph B : Amphotericine B.

L'huile essentielle extraite des fleurs de *D. gracilis steinh* a démontré une activité prometteuse contre la croissance de *S. aureus*, *E. faecalis* et *K. pneumoniae*, avec des diamètres d'inhibition respectifs de 30, 20, 21 et 14 mm, qui étaient comparables à ceux de l'antibiotique de référence.

Toutefois, l'huile essentielle de *D. gracilis steinh* n'a pas démontré d'activité significative contre *E. coli*, *L. monocytogenes*, *B. cereus* et *P. aeruginosa* par rapport à la gentamicine. En revanche, elle a présenté un effet antifongique important contre *C. albicans* (32 mm) et *A. flavus* (35 mm), dépassant les résultats obtenus avec l'amphotéricine B (30 et 33 mm respectivement) (Tableau 20).

III.4.3. Evaluation de l'activité antimicrobienne de *D. gracilis steinh* par la concentration minimale inhibitrice (CMI)

Afin d'obtenir des données plus précises sur les propriétés antibactériennes de l'huile essentielle testée, la concentration minimale inhibitrice (CMI) a été déterminée (Tableau 22).

L'activité inhibitrice la plus importante été observée contre *A. flavus* (0.06 µg/mL), suivi de *S. aureus*, *E. faecalis*, *B. cereus* et *C. albicans* avec des valeurs de CMI de 0.125 µg/mL.

L'activité antibactérienne la plus faible de l'huile essentielle a été obtenue contre *E. coli*, *P. aeruginosa*, *K. pneumoniae* et *L. monocytogenes* avec des CMI supérieures à 1.2 g/mL.

CHAPITRE III : RESULTAS & DISCUSSIONS : PARTIE BIOLOGIQUE

L'étude de l'activité antimicrobienne de notre huile essentielle a montré des propriétés plus prononcées contre *S. aureus*, *L. monocytogenes*, *E. faecalis*, *K. pneumoniae*, *A. flavus* et *C. albicans* (Tableau 22).

Tableau 22 : Concentration minimale inhibitrice (CMI) de l'huile essentielle des fleurs de *Daucus.gracilis.steinh*

Microorganismes	Zones d'inhibition (mm)			
	H,E	Gent	Amph B	
Bactéries gram-positive	<i>S. aureus</i>	0,125±0,0	0,416±0,1	-
	<i>L. monocytogenes</i>	1,25±0,2	0,812±0,1	-
	<i>E.faecalis</i>	0,125±0,0	0,125±0,0	-
	<i>B.cereus</i>	0,125±0,0	0,512±0,0	-
Bactéries gram-négative	<i>E. coli</i>	1,512±0,2	0,650±0,0	-
	<i>P.aeruginosa</i>	1,512±0,1	0,412±0,0	-
	<i>K. pneumoniae</i>	1,410±1,2	0,650±0,1	-
Levures	<i>C. albicans IP444</i>	0,125±0,0	-	0,310±0,0
	<i>A.flavus</i>	0,060±0,0		0,125±0,0

Il convient de souligner que l'activité antimicrobienne des substances naturelles, en particulier des huiles essentielles, est étroitement liée à leur composition chimique, avec une activité notable observée pour les terpènes oxygénés.

Une illustration de cette relation se trouve dans le cas du linalol, qui a démontré des propriétés antibactériennes, En effet, il est utilisé comme agent conservateur pour prévenir la détérioration des aliments en détruisant la membrane cellulaire de *Pseudomonas aeruginosa*,

L'acétate de géranyle présente une activité insecticide notable contre *Microsporungypseum*, *Trichophyton verrucosum* et *Candida tropicalis*,

III4.4. Evaluation *in vitro* de l'activité anti- inflammatoire

Les anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS) sont des médicaments utilisés pour soulager les symptômes liés à l'inflammation, Cependant, une utilisation excessive d'AINS peut entraîner divers effets indésirables tels que les troubles digestifs, les complications cardiaques, les réactions cutanées, une susceptibilité accrue aux infections (ORL, pulmonaires, cutanées, etc.), les sensations de vertige et de somnolence, parmi d'autres.

Les médicaments anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS) présentent un risque important d'effets secondaires, en particulier lorsqu'ils sont utilisés à long terme, Ces effets indésirables

CHAPITRE III : RESULTAS & DISCUSSIONS : PARTIE BIOLOGIQUE

incluent notamment des ulcères et des saignements gastro-intestinaux, ainsi que des risques accrus de problèmes cardiovasculaires, Par conséquent, il est essentiel de relever le défi de développer de nouveaux traitements qui puissent traiter l'inflammation de manière efficace tout en étant mieux tolérés par les patients [111].

Ces derniers temps, les huiles essentielles sont de plus en plus utilisées en milieu clinique pour traiter les maladies inflammatoires, des études ont prouvé et confirmé l'efficacité anti-inflammatoire de certaines huiles essentielles [157].

Le tableau 23 présente le pourcentage d'inhibition de la dénaturation des protéines par l'huile essentielle de fleurs de *D,gracilis* par rapport à celui du Diclofénac sodique.

Tableau 23 : Pourcentage d'inhibition de la dénaturation des protéines par l'huile essentielle de *Daucusgracilis*.

Concentrations ($\mu\text{L}/\text{ml}$)	% d'inhibition	
	Huile essentielle	Diclofénac sodique
10	56,6 \pm 1,2	74,3 \pm 3,3
20	80,2 \pm 3,0	100 \pm 00
30	99,7 \pm 2,2	100 \pm 00

III4. 5. Evaluation de l'activité insecticide

La sécurité alimentaire et l'amélioration des revenus sont des objectifs majeurs pour les agriculteurs, Cependant, de nombreux facteurs, tels que les ravageurs et les maladies, peuvent entraver la production agricole. L'utilisation de pesticides synthétiques pour lutter contre ces problèmes est souvent limitée en raison de leur coût élevé, ce qui rend leur accessibilité difficile pour de nombreux producteurs. De plus, une mauvaise application de ces pesticides peut aggraver les problèmes liés aux ravageurs et favorise le développement de résistances [111].

L'huile essentielle des fleurs de *Daucus gracilis steinh* a été soumise à un test de toxicité en utilisant la méthode de fumigation sur *T,confusum*, Les résultats ont montré que le pourcentage de mortalité de *T,confusum* augmentait avec l'augmentation de la concentration de l'huile essentielle, à une concentration de 0,5 $\mu\text{L}/\text{L}$ d'air, l'huile essentielle a provoqué une mortalité de 47% chez *T,confusum* après 24 heures d'exposition,

CHAPITRE III : RESULTAS & DISCUSSIONS : PARTIE BIOLOGIQUE

L'effet de l'huile essentielle extraite des fleurs de *Daucus gracilis steinh* a été évalué à différentes concentrations, et les résultats ont révélé une augmentation progressive de la mortalité de *T. confusum* avec l'augmentation de la concentration. À une concentration de 2 $\mu\text{L/L}$ d'air, l'huile essentielle a entraîné une mortalité de 100% chez *T. confusum* (Figure 43). Cette étude démontre que l'huile essentielle de *D. gracilis steinh* présente une toxicité significative envers cet insecte. Cette toxicité peut être attribuée à la composition chimique de l'huile essentielle, qui est riche en monoterpènes (51,4%), tels que le linalol, l'acétate de lavandulyl et l'acétate de géranyle.

Les recherches menées par Govindarajan et Benelli ont démontré que l'acétate de lavandulyle possède des propriétés insecticides [172], notamment une activité contre les larves d'insectes tels que *Anopheles subpictus*, *Anopheles albopictus* et *Culex tritaeniorhynchus*.

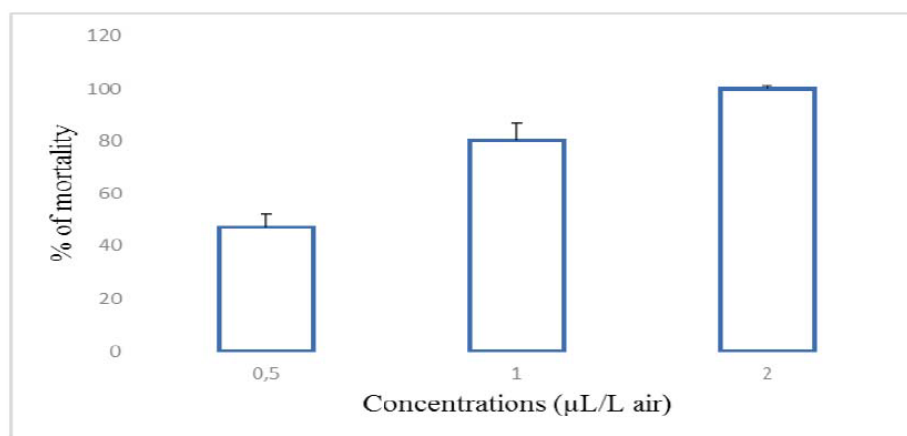


Figure 43 : L'activité insecticide de l'huile essentielle de *Daucus gracilis steinh* après 24h d'exposition,

Les tests biologiques réalisés sur l'huile essentielle des fleurs de *D. gracilis* ont révélé de bonnes propriétés antimicrobiennes, insecticides et anti-inflammatoires.

Cependant, des études supplémentaires *in vivo* sont nécessaires pour évaluer l'allergénicité de l'huile essentielle et pour son application à grande échelle dans l'industrie.

CONCLUSION GENERALE & PERSPECTIVES

Le manuscrit est composé de deux parties principales. La première partie se concentre sur la synthèse de molécules hybrides dérivées des cyclopropanes [b] chromones. Dans le cadre de cette synthèse, une optimisation complète a été réalisée afin d'obtenir les molécules souhaitées avec des rendements satisfaisants. La synthèse a été couronnée de succès en utilisant la réaction entre divers donneurs de Michael et notre électrophile, le cyclopropane [b]chromone. Cette approche a permis d'obtenir les molécules avec des rendements variant de 20% à 100%. L'identification de ces molécules a été effectuée à l'aide de techniques d'analyse telles que la résonance magnétique nucléaire (RMN - H et C^{13} RMN 2D, DEPT, HSQC, HMBC, et les attributions COESY et NOESY). La réussite de cette synthèse de molécules hybrides a contribué à une meilleure compréhension de la réactivité des cyclopropanes [b] chromones.

Les spectres RMN ont été enregistrés à l'aide d'un spectromètre Bruker Avance fonctionnant à une fréquence de 300 MHz pour les protons (H^1) et de 75,47 MHz pour les carbones (C^{13}).

Les spectres RMN $1H$ révèlent la présence de trois signaux caractéristiques importants : des doublets de doublets observés à des déplacements chimiques (δH) compris entre 2,62 et 3,38 ppm, 2,83 et 3,19 ppm, et 4,71 à 4,95 ppm. Ces signaux correspondent respectivement aux trois protons de l'anneau cyclopropane, confirmant ainsi la présence de cyclopropane dans les nouvelles structures synthétisées.

Le rendement le plus élevé a été obtenu lors de l'addition de nitrométhane à notre précurseur de base, le cyclopropane [b]chromone. L'utilisation de la RMN en 2D a permis de déterminer avec précision la stéréochimie des structures obtenues, en particulier pour les diastéréoisomères et les énantiomères.

Une étude de l'activité anticancéreuse des molécules synthétisées a été réalisée en utilisant la modélisation moléculaire moyennant le Docking Moléculaire. L'activité inhibitrice de l'enzyme VEGF (facteur de croissance vasculaire endothélial) ainsi que de ses deux récepteurs, VEGF-R1 et VEGF-R2, dont les codes PDB sont respectivement 5T89, 3HNG et 2XIR, a été évaluée par le biais du Docking Moléculaire en utilisant le logiciel MOE.

Ces molécules ont manifesté une capacité d'interaction distincte avec les sites actifs des enzymes étudiées, ce qui s'est traduit par une gamme de valeurs de scores significatives.

CONCLUSION GENERALE & PERSPECTIVES

Certains composés ont présenté une affinité notable avec les sites actifs des enzymes cibles par rapport aux ligands de référence, ce que suggère leur potentiel d'inhibition.

Le composé (1R,1aS,7aR)-1-((R)-4-nitro-3-phénylbutanoyl)-1a, 7a-dihydrocyclopropa[b]chromèn-7(1H)-on (L7) a affiché le meilleur score enregistré pour l'enzyme 5T89, avec une valeur de -4,965 kcal/mol, tandis que le ligand de référence NAG a obtenu un score de 4,871 kcal/mol.

Les ligands les plus performants pour le VEGF-R1 (code PDB : 3HNG) ont été identifiés comme étant le 2-((5-phényle-1H-pyrazol-3-yl)méthyl)chroman-4-one (L2) et le 2-((S)-3-oxo-3-((1R,1aS,7aR)-7-oxo-1,1a,7,7a-tetrahydrocyclopropa[b]chromèn-1-yl)-1-phénylpropyl)malononitrile (L8), avec des scores de -7,634 et -7,407 Kcal/mol respectivement, en comparaison au ligand de référence 8ST qui a obtenu un score de -10,104 Kcal/mol.

Pour l'enzyme 2XIR, les ligands 1-(5-phényle-1H-pyrazol-3-yl)-1a,7a-dihydrocyclopropa[b]chromèn-7(1H)-one (L1) et 1-(1-méthyl-5-phényle-1H-pyrazol-3-yl)-1a,7a-dihydrocyclopropa[b]chromèn-7(1H)-one (L4) ont présenté les meilleurs scores, atteignant tous deux la même valeur de -7,418 kcal/mol, comparativement au ligand de référence 00J qui a obtenu un score de -8,328 kcal/mol.

Les résultats obtenus révèlent que les molécules L7, L2, L8, L1 et L4 ont démontré une capacité d'interaction prometteuse avec les sites actifs des enzymes étudiées, avec des scores énergétiques plus favorables par rapport aux ligands de référence. Ces observations suggèrent que ces molécules pourraient représenter des candidats potentiels pour des études et des développements ultérieurs dans le domaine de l'inhibition enzymatique.

Dans la deuxième partie de notre étude, nous nous sommes intéressés à deux plantes distinctes, à savoir *Inula viscosa* appartenant à la famille des *Astéracées*, et *Daucus gracilis steinh*, appartenant à la famille des *Apiacées*. Notre objectif principal était d'analyser la composition chimique des huiles essentielles d'*Inula viscosa* et d'étudier leur variabilité chimique. Ainsi, l'étude *in silico* de son activité inhibitrice sur les récepteurs du facteur de croissance vasculaire endothéliale a été réalisée moyennant le Docking Moléculaire en utilisant le programme MOE. De plus, nous avons étudié la composition chimique et les différentes propriétés biologiques de l'huile essentielle extraite des fleurs de *Daucus gracilis steinh* à savoir les activités anti-inflammatoires, antimicrobiennes et insecticides.

CONCLUSION GENERALE & PERSPECTIVES

Les études sur les huiles essentielles ont fourni des informations précieuses, notamment pour *Inula viscosa*. Des variations significatives ont été observées dans les rendements en huile essentielle, avec des stations situées en haute altitude, comme Terny, Benisnous et El Aricha, présentant les rendements les plus élevés. Une relation positive a été établie entre l'altitude et les rendements en huile essentielle, suggérant l'impact des facteurs environnementaux sur la production de ces composés.

L'analyse de l'huile essentielle a révélé une teneur élevée en sesquiterpènes oxygénés, représentant jusqu'à 87,3% de la composition totale. Parmi ces composés, l' α -Bisabolol et le (E)-Z-Farnesylacétone étaient les plus abondants. La corrélation observée entre la présence des sesquiterpènes oxygénés et l'activité inhibitrice des enzymes peut s'expliquer par les caractéristiques chimiques et structurales de ces composés. Les sesquiterpènes oxygénés sont souvent pourvus de groupes fonctionnels tels que les groupes hydroxyle, carbonyle ou époxy, qui leur confèrent la capacité d'interagir avec les sites actifs des enzymes cibles, perturbant ainsi leur fonctionnement normal. Ces interactions peuvent entraîner le blocage ou le ralentissement des réactions enzymatiques, entraînant ainsi une inhibition de l'activité enzymatique.

Les résultats de Docking Moléculaire ont montré que le ligand (L19) (E-Z-Farnesylacétone) et le ligand L4 (E- β -Farnésène) étaient les meilleurs inhibiteurs pour le VEGF (5T89) avec des valeurs de score de -4,5247 et -4,019 Kcal/mol respectivement, par rapport au ligand de référence NAG qui avait un score de -3,7899 Kcal/mol.

Pour le VEGF-R1 (3HNG), les valeurs de score obtenues étaient respectivement de -7,96668 et -7,5542 Kcal/mol pour les ligands L19 et L4, par rapport au ligand de référence 8ST qui avait un score de -10,2159 Kcal/mol.

Quant au VEGF-R2 (2XIR), les valeurs de score obtenues étaient de -8,10823 et -7,3946 Kcal/mol pour les ligands L19 et L4 respectivement, par rapport au ligand de référence 00J qui avait un score de -10,4225 Kcal/mol.

Ces résultats indiquent que les ligands L19 et L4 ont montré une forte affinité et une bonne capacité d'interaction avec les sites actifs des protéines cibles (VEGF, VEGF-R1, VEGF-R2). Leurs valeurs de score énergétique plus faibles par rapport aux ligands de référence suggèrent qu'ils pourraient être de bons candidats inhibiteurs pour ces cibles spécifiques.

CONCLUSION GENERALE & PERSPECTIVES

Cependant, il est important de noter que ces résultats sont basés sur des simulations de Docking Moléculaire et doivent être confirmés expérimentalement par des études supplémentaires, telles que des tests d'activité inhibitrice *in vitro* ou des études *in vivo*.

Dans le cadre de l'étude *in silico*, le Docking Moléculaire a été employé pour évaluer les propriétés médicamenteuses du meilleur ligand identifié, le (E)-Z-Farnesylacétone. Ce composé représente le principal constituant des huiles essentielles des parties aériennes d'*Inula viscosa*. Le ligand a démontré une forte affinité de liaison et une bonne substitution pour l'ATP, entraînant ainsi une inhibition de l'activité de phosphorylation *in vivo*. L'inhibiteur naturel, le (E)-Z-Farnesylacétone, a interagi avec des résidus clés du site actif des cibles, formant des interactions H-pi et H-accepteur.

Les études menées sur l'huile essentielle extraite des fleurs de *Daucus gracilis steinh*, une plante endémique d'Algérie, ont fourni des informations importantes. Cette huile essentielle est principalement constituée d'esters et d'alcools tels que l'acétate de géranyle, l'acétate de lavandulyle, l'isobutyrate de lavandulyle, l'isobutyrate de citronellyle et le linalol. Des tests biologiques ont révélé de bonnes propriétés antimicrobiennes, insecticides et anti-inflammatoires.

Lors des tests biologiques, notre huile essentielle a montré des propriétés antimicrobiennes efficaces contre diverses bactéries et levures. Deux méthodes ont été employées pour évaluer ces propriétés : la méthode de diffusion sur disque et la méthode de la concentration minimale inhibitrice (CMI).

Selon la méthode CMI, notre huile essentielle a montré la même concentration minimale inhibitrice de 0,125 mm contre les souches bactériennes, *S. aureus*, *L. monocytogenes*, *E. faecalis*, *B. cereus* et la souche fongique, *C. albicans IP444*, tandis que l'antibiotique (la Gentamicine) et l'antifongique (l'Amphotéricine B) de référence ont montré des CMI de 0,416 mm, 0,812 mm, 0,125 mm, 0,512 mm et 0,310 mm respectivement pour les mêmes souches.

L'activité anti-inflammatoire de notre huile essentielle a été évaluée en utilisant la méthode de dénaturation des protéines. Les résultats ont révélé des taux d'inhibition comparables entre notre huile essentielle et le Diclofénac sodique, la molécule de référence. Les pourcentages d'inhibition étaient de 56,6%, 80,2% et 99,7% pour des concentrations de l'échantillon étudié 10, 20 et 30 µL/mL respectivement. Alors que le Diclofénac sodique a

CONCLUSION GENERALE & PERSPECTIVES

révélé des pourcentages d'inhibition de 74,3%, 100% et 100% pour les mêmes concentrations.

Les résultats obtenus suggèrent que notre huile essentielle présente une activité antimicrobienne efficace contre différentes souches bactériennes et levure, ainsi qu'une activité anti-inflammatoire similaire à celle du Diclofénac sodique. L'activité insecticide réalisée par fumigation de l'huile essentielle extraite des fleurs de *Daucus gracilis steinh* a présenté un effet insecticide significatif à de faibles concentrations.

Ces recherches ont apporté une contribution significative à notre compréhension des mécanismes d'interaction des molécules dérivées de chromones cyclopropane et de leur potentiel d'inhibition des récepteurs du facteur de croissance vasculaire endothéliale. En outre, elles ont permis de mettre en valeur les huiles essentielles de *Inula viscosa* et de *Daucus gracilis steinh* en raison de leurs propriétés pharmacologiques et thérapeutiques prometteuses.

En tant que travail de recherche scientifique, il est essentiel d'identifier les perspectives et les orientations pour les futures recherches. Voici quelques suggestions qui pourraient être explorées :

- Synthétiser, identifier et caractériser de nouvelles séries de molécules hybrides à base de cyclopropane et cyclopropane [b]chromanones.
- Évaluer l'activité anticancéreuse de nos molécules synthétisées par des tests *in vitro* et *in vivo*, afin de confirmer leur potentiel thérapeutique.
- Étudier d'autres propriétés biologiques telles que l'activité anti-inflammatoire, insecticide, etc..., de notre série de composés synthétisés précédemment.
- Investiguer davantage les propriétés pharmacologiques spécifiques de certaines molécules présentes dans *Inula viscosa*, afin de mieux comprendre leur mécanisme d'action et leur potentiel thérapeutique.
- Une extension de notre étude à d'autres sous-espèces du genre *Daucus* présentes en Algérie pourrait impliquer une investigation chimique et biologique approfondie pour chacune d'entre elles.

REFERENCES

- (1) Sousa, J. L. C.; Talhi, O.; Mendes, R. F.; Almeida Paz, F. A.; Bachari, K.; Silva, A. M. S. Catalytic One-Pot Diastereoselective Michael-Initiated Ring-Closure of Methyl Ketones with 3-Bromochromones: Synthesis of Cyclopropa[b] Chromanones. *European Journal of Organic Chemistry* **2016**, 2016 (23), 3949–3958. <https://doi.org/10.1002/ejoc.201600413>.
- (2) Daoud, I. Modélisation de l'interaction des ions demétaux lourds avec des colorants. Thesis, 2015. <http://dspace.univ-tlemcen.dz/handle/112/7704>.
- (3) Halperin, I.; Ma, B.; Wolfson, H.; Nussinov, R. Principles of Docking: An Overview of Search Algorithms and a Guide to Scoring Functions. *Proteins* **2002**, 47 (4), 409–443. <https://doi.org/10.1002/prot.10115>.
- (4) Al-Shalah, L. A. M.; Hindi, N. K. K.; Mohsen, I. H.; Al-Shalah, L. A. M.; Hindi, N. K. K.; Mohsen, I. H. Essential Oils. In *Essential Oils - Bioactive Compounds, New Perspectives and Applications*; IntechOpen, 2020. <https://doi.org/10.5772/intechopen.92216>.
- (5) Kerru, N.; Gummidi, L.; Maddila, S.; Gangu, K. K.; Jonnalagadda, S. B. A Review on Recent Advances in Nitrogen-Containing Molecules and Their Biological Applications. *Molecules* **2020**, 25 (8), 1909. <https://doi.org/10.3390/molecules25081909>.
- (6) Khan, I.; Ibrar, A.; Abbas, Dr. N.; Saeed, A. One-Pot Access to a Privileged Library of Six Membered Nitrogenous Heterocycles Through Multi-Component Cascade Approach. *Research on Chemical Intermediates* **2016**, 42. <https://doi.org/10.1007/s11164-015-2354-1>.
- (7) Iacopetta, D.; Ceramella, J.; Baldino, N.; Sinicropi, M. S.; Catalano, A. Targeting Breast Cancer: An Overlook on Current Strategies. *Int J Mol Sci* **2023**, 24 (4), 3643. <https://doi.org/10.3390/ijms24043643>.

REFERENCES

- (8) Abrigach, F.; Touzani, R. Pyrazole Derivatives with NCN Junction and Their Biological Activity: A Review. *Med chem (Los Angeles)* **2016**, *06* (05). <https://doi.org/10.4172/2161-0444.1000359>.
- (9) Yu, J.; Zhou, Y.; Chen, D.-F.; Gong, L.-Z. Organocatalytic Asymmetric Synthesis of Chiral Nitrogenous Heterocycles and Natural Products. *Pure and Applied Chemistry* **2014**, *86* (7), 1217–1226. <https://doi.org/10.1515/pac-2013-1208>.
- (10) Rong, R.-X.; Wang, S.-S.; Liu, X.; Li, R.-F.; Wang, K.-R.; Cao, Z.-R.; Li, X.-L. Lysosomes-Targeting Imaging and Anticancer Properties of Novel Bis-Naphthalimide Derivatives. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters* **2018**, *28* (4), 742–747. <https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2018.01.008>.
- (11) Yu, J.; Shi, F.; Gong, L.-Z. Brønsted-Acid-Catalyzed Asymmetric Multicomponent Reactions for the Facile Synthesis of Highly Enantioenriched Structurally Diverse Nitrogenous Heterocycles. *Acc Chem Res* **2011**, *44* (11), 1156–1171. <https://doi.org/10.1021/ar2000343>.
- (12) Santos, C.; Silva, V. L.; Silva, A. Synthesis of Chromone-Related Pyrazole Compounds. *Molecules* **2017**, *22*, 1665. <https://doi.org/10.3390/molecules22101665>.
- (13) Obulesu, O.; Babu, K. H.; Nanubolu, J. B.; Suresh, S. Copper-Catalyzed Tandem O-Arylation-Oxidative Cross Coupling: Synthesis of Chromone Fused Pyrazoles. *J Org Chem* **2017**, *82* (6), 2926–2934. <https://doi.org/10.1021/acs.joc.6b02890>.
- (14) Nayak, N.; Ramprasad, J.; Dalimba, U. New INH-Pyrazole Analogs: Design, Synthesis and Evaluation of Antitubercular and Antibacterial Activity. *Bioorg Med Chem Lett* **2015**, *25* (23), 5540–5545. <https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2015.10.057>.
- (15) Kumar, R. S.; Arif, I. A.; Ahamed, A.; Idhayadhulla, A. Anti-Inflammatory and Antimicrobial Activities of Novel Pyrazole Analogues. *Saudi Journal of Biological Sciences* **2016**, *23* (5), 614. <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2015.07.005>.

REFERENCES

- (16) Abrigach, F.; Khoutoul, M.; Benchat, N.; Radi, S.; Draoui, N.; Feron, O.; Riant, O.; Touzani, R. Library of Synthetic Compounds Based on Pyrazole Unit: Design and Screening Against Breast and Colorectal Cancer. *Letters in Drug Design & Discovery* **2014**, *11*. <https://doi.org/10.2174/1570180811666140512220842>.
- (17) El-Youbi, M.; Benabbes, R.; Lahmassi, I.; Abrigach, F.; Khoutoul, M.; Benchat, N.; Touzani, R.; Saalaoui, E. Antibacterial and Antifungal Activities of New Pyrazolic Compounds. **2015**.
- (18) Khoutoul, M.; Abrigach, F.; Zarrouk, A.; Benchat, N.-E.; Lamsayah, M.; Touzani, R. New Nitrogen-Donor Pyrazole Ligands for Excellent Liquid–Liquid Extraction of Fe²⁺ Ions from Aqueous Solution, with Theoretical Study. *Research on Chemical Intermediates* **2013**, *41*. <https://doi.org/10.1007/s11164-013-1435-2>.
- (19) Mouadili, A.; Abrigach, F.; Khoutoul, M.; Zarrouk, A.; Benchat, N.; Touzani, R. Biomimetic Oxidation of Catechol Employing Complexes Formed In-Situ with NH-Pyrazole Ligands and Transition Metallic Salts. *Journal of Chemical and Pharmaceutical Research* **2015**, *7*, 968–979.
- (20) Abd El-Karim, S. S.; Anwar, M. M.; Mohamed, N. A.; Nasr, T.; Elseginy, S. A. Design, Synthesis, Biological Evaluation and Molecular Docking Studies of Novel Benzofuran–Pyrazole Derivatives as Anticancer Agents. *Bioorganic Chemistry* **2015**, *63*, 1–12. <https://doi.org/10.1016/j.bioorg.2015.08.006>.
- (21) Salem, M.; El-Helw, E.; Derbala, H. Development of Chromone–Pyrazole-Based Anticancer Agents. *Russian Journal of Bioorganic Chemistry* **2020**, *46*, 77–84. <https://doi.org/10.1134/S1068162020010094>.
- (22) Kumar, R.; Sharma, V. P. CHROMONES: THE HEALTH FRIENDLY MOLECULES. **2019**.
- (23) Ashok, D.; Kumar, R.; Gandhi, D.; Anireddy, J. Solvent-Free Microwave-Assisted Synthesis and Biological Evaluation of Aurones and Flavanones Based on 2,2-Dimethylchroman-4-One. *Chemistry of Heterocyclic Compounds* **2016**, *52*. <https://doi.org/10.1007/s10593-016-1917-4>.

REFERENCES

- (24) Lakhdari, H.; Talhi, O.; Hassaine, R.; Taibi, N.; Mendes, R. F.; Paz, F. A. A.; Bennamane, N.; Nedjar-Kolli, B.; Bachari, K.; Silva, A. M. S. Catalyst-Free One-Pot Synthesis of Chromeno-Imidazo-Pyridinones by an Aza-Michael Addition/Rearrangement/Heterocyclization Tandem Reaction. *Synlett* **2018**, 29 (11), 1437–1440. <https://doi.org/10.1055/s-0037-1609684>.
- (25) Hassaine, R.; Talhi, O.; Taibi, N.; Paz, F. A. A.; Bensaid, O.; Bachari, K.; Silva, A. M. S. Actions of Bisnucleophiles on (E)-3-[3-(2-Hydroxyarylyl)-3-Oxoprop-1-En-1-Yl]Chromones: Versatile Transformations into Oxygen- and Nitrogen-Containing Heterocycles. *Synlett* **2016**, 27 (3), 465–470. <https://doi.org/10.1055/s-0035-1560829>.
- (26) Gordon, A.; Ramaite, I.; Mnyakeni Moleele, S. Synthesis and Biological Evaluation of Chromone-3-Carboxamides. *Arkivoc* **2020**, 2020. <https://doi.org/10.24820/ark.5550190.p011.356>.
- (27) Talhi, O.; Brodziak-Jarosz, L.; Panning, J.; Orlikova, B.; Zwergel, C.; Tzanova, T.; Philippot, S.; Pinto, D. C. G. A.; Paz, F. A. A.; Gerhäuser, C.; Dick, T. P.; Jacob, C.; Diederich, M.; Bagrel, D.; Kirsch, G.; Silva, A. M. S. One-Pot Synthesis of Benzopyran-4-Ones with Cancer Preventive and Therapeutic Potential. *European Journal of Organic Chemistry* **2016**, 2016 (5), 965–975. <https://doi.org/10.1002/ejoc.201501278>.
- (28) Varinder K. Aggarwal, *; Amjad Ali, and; Coogan, M. P. A Novel Procedure for the Synthesis of Epoxides: Application of Simmons–Smith Reagents toward Epoxidation. *ACS Publications* **1997**, <https://doi.org/10.1021/jo971773h>.
- (29) Pellissier, H. Recent Developments in Asymmetric Cyclopropanation. *Tetrahedron* **2008**, 64 (30), 7041–7095. <https://doi.org/10.1016/j.tet.2008.04.079>.
- (30) Salaün, J. Cyclopropane Derivatives and Their Diverse Biological Activities. Topics in Current Chemistry; Springer Berlin Heidelberg: Berlin, Heidelberg, **2000**; Vol. 207, pp 1–67. https://doi.org/10.1007/3-540-48255-5_1.

REFERENCES

- (31) Ota, R.; Karasawa, D.; Oshima, M.; Watashi, K.; Shimasaki, N.; Nishii, Y. Asymmetric Total Synthesis of Four Bioactive Lignans Using Donor–Acceptor Cyclopropanes and Bioassay of (–)- and (+)-Niranthin against Hepatitis B and Influenza Viruses. *RSC Adv* 12 (8), 4635–4639. <https://doi.org/10.1039/d2ra00499b>.
- (32) Szumilak, M.; Wiktorowska-Owczarek, A.; Stanczak, A. Hybrid Drugs-A Strategy for Overcoming Anticancer Drug Resistance? *Molecules* 2021, 26 (9), 2601. <https://doi.org/10.3390/molecules26092601>.
- (33) Margolis, R. N.; Moore, D. D.; Willson, T. M.; Guy, R. K. Chemical Approaches to Nuclear Receptors in Metabolism. *Sci Signal* 2009, 2 (82), mr5. <https://doi.org/10.1126/scisignal.282mr5>.
- (34) Lee, Y. T.; Tan, Y. J.; Oon, C. E. Benzimidazole and Its Derivatives as Cancer Therapeutics: The Potential Role from Traditional to Precision Medicine. *Acta Pharmaceutica Sinica B* 2023, 13 (2), 478–497. <https://doi.org/10.1016/j.apsb.2022.09.010>.
- (35) Alkhzem, A. H.; Woodman, T. J.; Blagbrough, I. S. Design and Synthesis of Hybrid Compounds as Novel Drugs and Medicines. *RSC Adv* 12 (30), 19470–19484. <https://doi.org/10.1039/d2ra03281c>.
- (36) 2009_Montpellier_Vercauteren_Pharmacognosie.pdf. http://unt-ori2.crihan.fr/unspf/2009_Montpellier_Vercauteren_Pharmacognosie.pdf.
- (37) Frih, B. *Recueil Des Résumés : " Séminaire National Sur La Recherche Agronomique Au Cœur de La Sécurité Alimentaire et Au Service de l'Environnement "*; 2021.
- (38) *Options Méditerranéennes en ligne - Collection numérique - Cadre référentiel de l'étude [Préface]*. <https://om.ciheam.org/article.php?IDPDF=00007153>.
- (39) Albrecht Kossel. *A Biographical Sketch - PMC*. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2599350/> (accessed 2023-07-01).

REFERENCES

- (40) Bourgaud, F.; Gravot, A.; Milesi, S.; Gontier, E. Production of Plant Secondary Metabolites: A Historical Perspective. *Plant Science* **2001**, *161* (5), 839–851.
[https://doi.org/10.1016/S0168-9452\(01\)00490-3](https://doi.org/10.1016/S0168-9452(01)00490-3).
- (41) Goławska, S.; Sprawka, I.; Łukasik, I.; Goławski, A. Are Naringenin and Quercetin Useful Chemicals in Pest-Management Strategies? *J Pest Sci* **2014**, *87* (1), 173–180.
<https://doi.org/10.1007/s10340-013-0535-5>.
- (42) Aniszewski, T. *Alkaloids: Chemistry, Biology, Ecology, and Applications*, 2nd edition.; Elsevier Science: Waltham, MA, 2015.
- (43) *Plant Secondary Metabolism*. David S. Seigler.
https://www.researchgate.net/publication/225934852_Plant_Secondary_Metabolism_David_S_Seigler.
- (44) Hoffmann, D. *Medical Herbalism: The Science and Practice of Herbal Medicine*; Healing Arts Press: Rochester, Vt, 2003.
- (45) Güçlü-Ustündağ, O.; Mazza, G. Saponins: Properties, Applications and Processing. *Crit Rev Food Sci Nutr* **2007**, *47* (3), 231–258.
<https://doi.org/10.1080/10408390600698197>.
- (46) Belghiti, A. A.; Yafout, M.; Bennis, S.; Said, A. A. H. Survey on Aromatherapy Among Healthcare Professionals in Morocco. *Pharmacogn J.* **2022**, *14* (5), 666–670.
<https://doi.org/10.5530/pj.2022.14.151>.
- (47) *Pharm3an Pharmacognosie19-Saponosides | PDF | Stéroïde | Chimie*.
<https://fr.scribd.com/document/545103785/pharm3an-pharmacognosie19-saponosides>.
- (48) Kushwah, R.; Gupta, M. Anti-Inflammatory Potential of Some Essential Oils: A Review. *Asian Journal of Pharmaceutical Research and Development* **2019**, *7*, 68–71.
<https://doi.org/10.22270/ajprd.v7i6.618>.

REFERENCES

(49) *A Review of the Application and Pharmacological Properties of α -Bisabolol and α -Bisabolol-Rich Oils.*

[https://www.researchgate.net/publication/225389970 A Review of the Application and Pharmacological Properties of a-Bisabolol and a-Bisabolol-Rich Oils](https://www.researchgate.net/publication/225389970_A_Review_of_the_Application_and_Pharmacological_Properties_of_a-Bisabolol_and_a-Bisabolol-Rich_Oils) (accessed 2023-07-01).

(50) Mulyaningsih, S.; Sporer, F.; Reichling, J.; Wink, M. Antibacterial Activity of Essential Oils from Eucalyptus and of Selected Components against Multidrug-Resistant Bacterial Pathogens. *Pharm Biol* **2011**, *49* (9), 893–899. <https://doi.org/10.3109/13880209.2011.553625>.

(51) Essawi, T.; Srour, M. Screening of Some Palestinian Medicinal Plants for Antibacterial Activity. *J Ethnopharmacol* **2000**, *70* (3), 343–349. [https://doi.org/10.1016/s0378-8741\(99\)00187-7](https://doi.org/10.1016/s0378-8741(99)00187-7).

(52) El Ouali Lalami, A.; el-akhal, F.; Oudrhiri, W.; Ouazzani, C. F.; Guemmouh, R.; Grech, H. Thymus Essential Oils (Thymus Vulagris and Thymus Satureioidis) from Center of Morocco: Chemical Composition and Antimicrobial Activity. *Les Technologies de Laboratoire* **2013**, *8*.

(53) Batish, D. R.; Singh, H. P.; Kohli, R. K.; Kaur, S. Eucalyptus Essential Oil as a Natural Pesticide. *Forest Ecology and Management* **2008**, *256* (12), 2166–2174. <https://doi.org/10.1016/j.foreco.2008.08.008>.

(54) Nazzaro, F.; Fratianni, F.; De Martino, L.; Coppola, R.; De Feo, V. Effect of Essential Oils on Pathogenic Bacteria. *Pharmaceuticals* **2013**, *6*, 1451–1474. <https://doi.org/10.3390/ph6121451>.

(55) Chand, R.; Jokhan, A.; Gopalan, R. A Mini-Review of Essential Oils in the South Pacific and Their Insecticidal Properties. *Advances in Horticultural Science* **2017**, *31*, 295–310. <https://doi.org/10.13128/ahs-20833>.

REFERENCES

- (56) Kaushik, D.; Tripathi, A.; Tripathi, R.; Ganachari, M. S.; Khan, S. Anticonvulsant Activity of Bacopa Monnieri in Rodents. *Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences* **2009**, *45*, 643–649. <https://doi.org/10.1590/S1984-82502009000400006>.
- (57) Nerio, L. S.; Olivero-Verbel, J.; Stashenko, E. Repellent Activity of Essential Oils: A Review. *Bioresour Technol* **2010**, *101* (1), 372–378. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2009.07.048>.
- (58) Shin, S.; Kim, J. H. In Vitro Inhibitory Activities of Essential Oils from Two Korean Thymus Species against Antibiotic-Resistant Pathogens. *Arch Pharm Res* **2005**, *28* (8), 897–901. <https://doi.org/10.1007/BF02973874>.
- (59) Fadil, M.; Farah, A.; Haloui, T.; Rachiq, S. Étude ethnobotanique des plantes exploitées par les coopératives et les associations de la région Meknès-Tafilalet au Maroc. *Phytothérapie* **2015**, *13* (1), 19–30. <https://doi.org/10.1007/s10298-014-0902-2>.
- (60) *Plantes aromatiques* TEUSCHER Eberhard, ANTON Robert, LOBSTEIN Annelise. Librairie Lavoisier. <https://www.lavoisier.fr/livre/agro-alimentaire/plantes-aromatiques/teuscher/descriptif-9782743007201>
- (61) *Plantes thérapeutiques* WICHTL Max, ANTON Robert. Librairie Lavoisier. <https://www.lavoisier.fr/livre/sciences-de-la-vie/plantes-therapeutiques-2-ed/wichtl/descriptif-9782743006310> .
- (62) Filliat, P. Les plantes de la famille des Apiacées dans les troubles digestifs. Sciences pharmaceutiques. 2012. ffdumas-00740660.
- (63) Ramawat, K.; Mérillon, J.-M. *Natural Products: Phytochemistry, Botany and Metabolism of Alkaloids, Phenolics and Terpenes*; 2013; p 4242. <https://doi.org/10.1007/978-3-642-22144-6>
- (64) M.Fechtal; Bouayoun, T. INFLUENCE DE LA DUREE ET DE LA TECHNIQUE D'EXTRACTION SUR LE RENDEMENT ET LA QUALITE DES HUILES ESSENTIELLES DU CEDRE DE L'ATLAS (Cedrus Atlantica Manetti). **2019**.

REFERENCES

- (65) Clevenger, J. Apparatus for the Determination of Volatile Oil. *Journal of the American Pharmaceutical Association* **2006**, *17*, 345–349. <https://doi.org/10.1002/jps.3080170407>.
- (66) 56417.pdf. <https://dergipark.org.tr/en/download/issue-full-file/56417>
- (67) Gyrdymova, Y.; Rubtsova, S. Caryophyllene and Caryophyllene Oxide: A Variety of Chemical Transformations and Biological Activities. *Chemical Papers* **2021**, *76*. <https://doi.org/10.1007/s11696-021-01865-8>.
- (68) Chiarlo, B. [On the constituents of *Inula viscosa* Ait. I. Essential oil content of azulenes]. *Boll Chim Farm* **1968**, *107* (6), 370–382.
- (69) *larousse-des-plantes-medicinales.pdf*. <https://assomaleva.files.wordpress.com/2016/02/larousse-des-plantes-medicinales.pdf>
- (70) Fourasté, M. I.; Marzouk, M. B.; Menut, M. C.; Raynaud, M. C.; Talou, M. T.; Vehr , M. R.; Venskutonis, M. P. R. Caract risations chimiques et biologiques d'extraits de plantes aromatiques oubli es de Midi-Pyr n es.
- (71) Meliani, N.; Dib, M. E. A.; Djabou, N.; Costa, J.; Allali, H.; Tabti, B.; Muselli, A. Chemical Composition and Antimicrobial Activity of *Daucus Aureus* Essential Oils from Algeria. *Natural Product Communications* **2013**, *8* (6), 1934578X1300800639. <https://doi.org/10.1177/1934578X1300800639>.
- (72) Benyelles, B.; Allali, H.; Dib, M.; Nassim, D.; Paolini, J.; Costa, J. Chemical Composition Variability of Essential Oils of *Daucus Gracilis* Steinh. from Algeria. *Chemistry & Biodiversity* **2017**, *14*. <https://doi.org/10.1002/cbdv.201600490>.

REFERENCES

- (73) El Kolli, M.; Laouer, H.; El Kolli, H.; Akkal, S.; Sahli, F. Chemical Analysis, Antimicrobial and Anti-Oxidative Properties of *Daucus Gracilis* Essential Oil and Its Mechanism of Action. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine* **2016**, 6 (1), 8–15. <https://doi.org/10.1016/j.apjtb.2015.08.004>.
- (74) *Handbook of Essential Oils: Science, Technology, and Applications, Second Edition*, 2nd ed.; Buchbauer, K. H. C. B., Gerhard, Ed.; CRC Press: Boca Raton, 2015. <https://doi.org/10.1201/b19393>.
- (75) Svendsen, A. B.; Scheffer, J. J. C. *Essential Oils and Aromatic Plants: Proceedings of the 15th International Symposium on Essential Oils, Held in Noordwijkerhout, The Netherlands, July 19–21, 1984*; Springer Netherlands, 1985.
- (76) *Qualitative Analysis of Flavor and Fragrance Volatiles by Glass Capillary Gas Chromatography - 1st Edition*. <https://shop.elsevier.com/books/qualitative-analysis-of-flavor-and-fragrance-volatiles-by-glass-capillary-gas-chromatography/jennings/978-0-12-384250-3>
- (77) Rodionova, O. Brereton, R.G., *Chemometrics: Data Analysis for the Laboratory and Chemical Plant*, Chichester: Wiley, 2003, 489 Pp. *Journal of Analytical Chemistry - J ANAL CHEM-ENGL TR* **2005**, 60, 994–996. <https://doi.org/10.1007/s10809-005-0223-6>.
- (78) Cserhati, T. *Multivariate Methods in Chromatography: A Practical Guide*, 1st edition.; Wiley: Chichester, England ; Hoboken, NJ, 2008.
- (79) 20211011140445728.pdf.<http://course.sdu.edu.cn/Download2/20211011140445728.pdf>
- (80) *Introduction to Computational Chemistry, 2nd Edition* | Wiley. Wiley.com. <https://www.wiley.com/enus/Introduction+to+Computational+Chemistry%2C+2nd+Edition-p-9780470058046>

REFERENCES

- (81) *Machine learning for quantum mechanics in a nutshell - Rupp - 2015 - International Journal of Quantum Chemistry - Wiley Online Library.*
<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1002/qua.24954>
- (82) Kitchen, D. B.; Decornez, H.; Furr, J. R.; Bajorath, J. Docking and Scoring in Virtual Screening for Drug Discovery: Methods and Applications. *Nat Rev Drug Discov* **2004**, 3 (11), 935–949. <https://doi.org/10.1038/nrd1549>.
- (83) Gilson, M. K.; Zhou, H.-X. Calculation of Protein-Ligand Binding Affinities. *Annu Rev Biophys Biomol Struct* **2007**, 36, 21–42.
<https://doi.org/10.1146/annurev.biophys.36.040306.132550>.
- (84) *Molecular Modeling of Proteins | SpringerLink.*
<https://link.springer.com/book/10.1007/978-1-4939-1465-4>
- (85) Biscay, F.; Chizallet, C.; Creton, B.; Fecant, A.; Ferrando, N.; Malfreyt, P.; Nieto-Draghi, C.; Raybaud, P.; Rousseau, B.; Ungerer, P. Molecular Modeling Finds Its Place in the Industry: Examples of Research Aiming at the Development of New Materials, Processes and Chemical Products in the Field of Energy and Environment. *Actualite Chimique* **2011**, 66–73.
- (86) Monari, A.; Rivail, J.-L.; Assfeld, X. Theoretical Modeling of Large Molecular Systems. Advances in the Local Self Consistent Field Method for Mixed Quantum Mechanics/Molecular Mechanics Calculations. *Acc Chem Res* **2013**, 46 (2), 596–603.
<https://doi.org/10.1021/ar300278j>.
- (87) Schneidman, D.; Nussinov, R.; Wolfson, H. *Efficient Unbound Docking of Rigid Molecules*; 2002; Vol. 2452, p 200. https://doi.org/10.1007/3-540-45784-4_14

REFERENCES

- (88) Warren, G. L.; Andrews, C. W.; Capelli, A.-M.; Clarke, B.; LaLonde, J.; Lambert, M. H.; Lindvall, M.; Nevins, N.; Semus, S. F.; Senger, S.; Tedesco, G.; Wall, I. D.; Woolven, J. M.; Peishoff, C. E.; Head, M. S. A Critical Assessment of Docking Programs and Scoring Functions. *J. Med. Chem.* **2006**, *49* (20), 5912–5931. <https://doi.org/10.1021/jm050362n>.
- (89) Davies, S. G.; Mobbs, B. E.; Goodwin, C. J. Substituted 4H-1-Benzopyran-4-Ones (Chromones): Synthesis via Palladium-Catalysed Coupling of Their Halogeno Derivatives with Alkenes. *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1* **1987**, No. 0, 2597–2604. <https://doi.org/10.1039/P19870002597>.
- (90) Bourque, J.; Poulin, N.; Cleaver, A. Évaluation de l'utilisation et de la présentation des résultats d'analyses factorielles et d'analyses en composantes principales en éducation. *rse* **2006**, *32* (2), 325–344. <https://doi.org/10.7202/014411ar>.
- (91) Bruynooghe, M. Classification ascendante hiérarchique des grands ensembles de données: un algorithme rapide fondé sur la construction des voisinages réductibles. *CAD_1978__3_1_7_0.pdf*. http://www.numdam.org/item/CAD_1978__3_1_7_0.pdf
- (92) Bakkali, F.; Averbeck, S.; Averbeck, D.; Idaomar, M. Biological Effects of Essential Oils – A Review. *Food and Chemical Toxicology* **2008**, *46* (2), 446–475. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2007.09.106>.
- (93) Arruebo, M.; Vilaboa, N.; Sáez-Gutierrez, B.; Lambea, J.; Tres, A.; Valladares, M.; González-Fernández, A. Assessment of the Evolution of Cancer Treatment Therapies. *Cancers (Basel)* **2011**, *3* (3), 3279–3330. <https://doi.org/10.3390/cancers3033279>.

REFERENCES

- (94) Warren, G. L.; Andrews, C. W.; Capelli, A.-M.; Clarke, B.; LaLonde, J.; Lambert, M. H.; Lindvall, M.; Nevins, N.; Semus, S. F.; Senger, S.; Tedesco, G.; Wall, I. D.; Woolven, J. M.; Peishoff, C. E.; Head, M. S. A Critical Assessment of Docking Programs and Scoring Functions. *J Med Chem* **2006**, *49* (20), 5912–5931. <https://doi.org/10.1021/jm050362n>.
- (95) Walker-Daniels, J.; Coffman, K.; Azimi, M.; Rhim, J. S.; Bostwick, D. G.; Snyder, P.; Kerns, B. J.; Waters, D. J.; Kinch, M. S. Overexpression of the EphA2 Tyrosine Kinase in Prostate Cancer. *Prostate* **1999**, *41* (4), 275–280. [https://doi.org/10.1002/\(sici\)1097-0045\(19991201\)41:4<275::aid-pros8>3.0.co;2-t](https://doi.org/10.1002/(sici)1097-0045(19991201)41:4<275::aid-pros8>3.0.co;2-t).
- (96) Hong, H. K.; Park, Y. J.; Kim, D. K.; Ryoo, N.-K.; Ko, Y.-J.; Park, K. H.; Kim, H. M.; Woo, S. J. Preclinical Efficacy and Safety of VEGF-Grab, a Novel Anti-VEGF Drug, and Its Comparison to Aflibercept. *Invest Ophthalmol Vis Sci* **2020**, *61* (13), 22. <https://doi.org/10.1167/iovs.61.13.22>.
- (97) Markovic-Mueller, S.; Stutfeld, E.; Asthana, M.; Weinert, T.; Bliven, S.; Goldie, K. N.; Kisko, K.; Capitani, G.; Ballmer-Hofer, K. Structure of the Full-Length VEGFR-1 Extracellular Domain in Complex with VEGF-A. *Structure* **2017**, *25* (2), 341–352. <https://doi.org/10.1016/j.str.2016.12.012>.
- (98) RCSB PDB - 3HNG: Crystal structure of VEGFR1 in complex with N-(4-Chlorophenyl)-2-((pyridin-4-ylmethyl)amino)benzamide. <https://www.rcsb.org/structure/3HNG>.
- (99) Raval, K.; Ganatra, T. Basics, Types and Applications of Molecular Docking: A Review. *IP International Journal of Comprehensive and Advanced Pharmacology* **2022**, *7*, 12–16. <https://doi.org/10.18231/j.ijcaap.2022.003>.

REFERENCES

- (100) Salhi, K. *Mesure de Risque : Détection Du Régime de Crise et Calcul de La Value-at-Risk*, 2013.
- (101) Salim, S. Oxidative Stress and the Central Nervous System. *J Pharmacol Exp Ther* **2017**, *360* (1), 201–205. <https://doi.org/10.1124/jpet.116.237503>.
- (102) Rani, S.; Ramamoorthy, L.; Pillai, A.; Nisha, Sa. The Risk Factors Associated with Complications of Coronary Angiogram: A Cross-Sectional Observational Study. *International Journal of Advanced Medical and Health Research* **2016**, *3*, 11. <https://doi.org/10.4103/2350-0298.184677>.
- (103) *Chemistry of Phenolic Compounds: State of the Art (Chemistry Research and Applications): Jubaraj Bikash Baruah, Jubaraj Bikash Baruah: 9781617613357: Amazon.com: Books.* <https://www.amazon.com/Chemistry-Phenolic-Compounds-Research-Applications/dp/1617613355>
- (104) *Principles of Anticancer Drug Development*; Garrett-Mayer, E., Ed.; Springer: New York, NY, 2011. <https://doi.org/10.1007/978-1-4419-7358-0>.
- (105) H., R.; Farzaei, M. H.; Khodarahmi, R. Polyphenols and Their Benefits: A Review. *International Journal of Food Properties* **2017**, *20*. <https://doi.org/10.1080/10942912.2017.1354017>.
- (106) *Recent advances in the total synthesis of cyclopropane-containing natural products* - *Chemical Society Reviews (RSC Publishing)*. <https://pubs.rsc.org/en/content/articlelanding/2012/cs/c2cs35067j>
- (107) Armin de Meijere, Sergei I. Kozhushkov, « *The Chemistry of Highly Strained Oligospirocyclopropane Systems* », *Chemical Reviews*, *100*, 93–142, **2000**.
- (108) Rüdiger Faust, « *Fascinating Natural and Artificial Cyclopropane Architectures* », *Angew. Chem. Int. Ed*, *40*, 12, **2001**.

REFERENCES

- (109) Matsuo, N. Discovery and Development of Pyrethroid Insecticides. *Proceedings of the Japan Academy, Series B* **2019**, 95, 378–400. <https://doi.org/10.2183/pjab.95.027>.
- (110) Matsui, M.; Yoshioka, H.; Yamada, Y.; Sakamoto, H.; Kitahara, T. Selective Synthesis of Optically Pure (+) and (–)-Trans-Chrysanthemic Acids from (+) Δ^3 -Carene. *Agricultural and Biological Chemistry* **1965**, 29 (8), 784–786. <https://doi.org/10.1080/00021369.1965.10858467>.
- (111) Raison-Peyron, N. Hypersensibilité/Intolérance aux AINS : multiples aspects cliniques? *Revue Française d'Allergologie et d'Immunologie Clinique* **2007**, 47, S55–S59. [https://doi.org/10.1016/S0335-7457\(07\)80015-3](https://doi.org/10.1016/S0335-7457(07)80015-3).
- (112) Gasmi, S.; Kebieche, M.; Rouabhi, R.; Touahria, C.; Lahouel, A.; Lakroun, Z.; Henine, S.; Soulimani, R. Alteration of Membrane Integrity and Respiratory Function of Brain Mitochondria in the Rats Chronically Exposed to a Low Dose of Acetamidrid. *Environ Sci Pollut Res Int* **2017**, 24 (28), 22258–22264. <https://doi.org/10.1007/s11356-017-9901-9>.
- (113) Haoui, I. E. Extraction of Essential Oil from *Inula Viscosa* (L.) Leaves: Composition, Antifungal Activity and Kinetic Data. *Journal of essential oil-bearing plants JEOP* **2016**, 19, 108–118. <https://doi.org/10.1080/0972060X.2015.1010598>.
- (114) Danino, O.; Gottlieb, H.; Grossman, S.; Bergman, M. Antioxidant Activity of 1,3-Dicaffeoylquinic Acid Isolated from *Inula Viscosa*. *Food Research International - FOOD RES INT* **2009**, 42, 1273–1280. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2009.03.023>.
- (115) Lauro, L.; Rolih, C. [Observations and research on an extract of *Inula viscosa* Ait]. *Boll Soc Ital Biol Sper* **1990**, 66 (9), 829–834.
- (116) *Quezel et Santa*, « *Plantes potentiellement dangereuses pour les ruminants en Algérie (nomenclature, répartition, habitat et abondance)* », *researchgate, annexes*, 1962-1963.

REFERENCES

- (117) Talib, W. H.; Mahasneh, A. M. Antiproliferative Activity of Plant Extracts Used against Cancer in Traditional Medicine. *Sci Pharm* **2010**, *78* (1), 33–45. <https://doi.org/10.3797/scipharm.0912-11>.
- (118) Rozenblat, S.; Grossman, S.; Bergman, M.; Gottlieb, H.; Cohen, Y.; Dovrat, S. Induction of G2/M Arrest and Apoptosis by Sesquiterpene Lactones in Human Melanoma Cell Lines. *Biochem Pharmacol* **2008**, *75* (2), 369–382. <https://doi.org/10.1016/j.bcp.2007.08.024>.
- (119) Pérez-Alonso, M. J.; Velasco-Negueruela, A.; Emin Duru, M.; Harmandar, M.; García Vallejo, M. C. Composition of the Volatile Oil from the Aerial Parts of *Inula Viscosa* (L.) Aiton. **1996**.
- (120) Blanc, M.-C.; Bradesi, P.; Gonçalves, M.; Salgueiro, L.; Casanova, J. Essential Oil of *Dittrichia Viscosa* Sp. *Viscosa*: Analysis by ¹³C-NMR and Antimicrobial Activity. *Flavour and Fragrance Journal* **2006**, *21*, 324–332. <https://doi.org/10.1002/ffj.1605>.
- (121) Camacho, A.; Fernández, A.; Fernández, C.; Altarejos, J.; Laurent, R. Composition of the Essential Oil of *Dittrichia Viscosa* (L.) W. Greuter. *Rivista Italiana EPPOS* **2000**, No. No. 29, 3–8.
- (122) Al-Qudah, M. Chemical Compositions of the Essential Oil from the Jordanian Medicinal Plant *Dittrichia Viscosa*. *Jordan Journal of Chemistry (JJC)* **2010**, *5* (4), 343–348.
- (123) Aissa, I.; Nimbarte, V. D.; Zardi-Bergaoui, A.; Znati, M.; Flamini, G.; Ascrizzi, R.; Jannet, H. B. Isocostic Acid, a Promising Bioactive Agent from the Essential Oil of *Inula Viscosa* (L.): Insights from Drug Likeness Properties, Molecular Docking and SAR Analysis. *Chem Biodivers* **2019**, *16* (4), e1800648. <https://doi.org/10.1002/cbdv.201800648>.
- (124) Belabbes, R.; Dib, M. E. A.; Djabou, N.; Ilias, F.; Tabti, B.; Costa, J.; Muselli, A. Chemical Variability, Antioxidant and Antifungal Activities of Essential Oils and

REFERENCES

- Hydrosol Extract of *Calendula Arvensis* L. from Western Algeria. *Chem Biodivers* **2017**, *14* (5). <https://doi.org/10.1002/cbdv.201600482>.
- (125) Ma, G.-H.; Chen, K.-X.; Zhang, L.; Li, Y.-M. Advance in Biological Activities of Natural Guaiane-Type Sesquiterpenes. *Medicinal Chemistry Research* **2019**, *28*. <https://doi.org/10.1007/s00044-019-02385-7>.
- (126) Hou, C.; Kulka, M.; Zhang, J.; Li, Y.; Guo, F. Occurrence and Biological Activities of Eremophilane-Type Sesquiterpenes. *Mini Rev Med Chem* **2014**, *14* (8), 664–677. <https://doi.org/10.2174/1389557514666140820105422>.
- (127) Khan, A. L.; Khan, H.; Hussain, J.; Adnan, M.; Hussain, I.; Khan, T.; Khan, A. Sesquiterpenes: The Potent Antioxidants. *Pakistan Journal of Scientific and Industrial Research* **2008**, *51*, 343–350.
- (128) Su, Y.-C.; Hsu, K.-P.; Wang, E. I.-C.; Ho, C.-L. Composition, in Vitro Cytotoxic, and Antimicrobial Activities of the Flower Essential Oil of *Diospyros Discolor* from Taiwan. *Nat Prod Commun* **2015**, *10* (7), 1311–1314.
- (129) Cavalieri, E.; Mariotto, S.; Fabrizi, C.; de Prati, A. C.; Gottardo, R.; Leone, S.; Berra, L. V.; Lauro, G. M.; Ciampa, A. R.; Suzuki, H. Alpha-Bisabolol, a Nontoxic Natural Compound, Strongly Induces Apoptosis in Glioma Cells. *Biochem Biophys Res Commun* **2004**, *315* (3), 589–594. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2004.01.088>.
- (130) Lněničková, K.; Skálová, L.; Stuchlíková, L.; Szotakova, B.; Matouskova, P. Induction of Xenobiotic-Metabolizing Enzymes in Hepatocytes by Beta-Naphthoflavone: Time-Dependent Changes in Activities, Protein and MRNA Levels. *Acta pharmaceutica (Zagreb, Croatia)* **2018**, *68*, 75–85. <https://doi.org/10.2478/acph-2018-0005>.
- (131) Bouyahya, A.; Et-Touys, A.; Khouchlaa, A.; El-Baaboua, A.; Benjouad, A.; Amzazi, S.; Dakka, N.; Bakri, Y. Notes Ethnobotaniques et Phytopharmacologiques Sur *Inula Viscosa*. *Phytothérapie* **2018**, *16*, S263–S268. <https://doi.org/10.3166/phyto-2019-0157>.

REFERENCES

- (132) *Botanique | Livre | 9782294741173*. <https://www.elsevier-masson.fr/botanique-9782294741173.html>
- (133) Fauron, R.; Moatti, R.; Donadieu, Y. *Guide pratique de phytothérapie: encyclopédie médicale de prescription phytothérapique*; Maloine: Paris, France, 1984.
- (134) P. Fournier. — *Le livre des plantes médicinales et vénéneuses de France, tome I. Paul Lechevallier, éditeur, 12, rue de Tournon, Paris VI — (1947) - Persée*. https://www.persee.fr/doc/linly_0366-1326_1948_num_17_5_8459_t1_0079_0000_4.
- (135) *Plantes d'intérêt médicinale et écologique dans la région d'Ouanougha (M'sila, Algérie) | SpringerLink*. <https://link.springer.com/article/10.1007/s10298-012-0701-6>.
- (136) Lahmadi, S.; Guesmia, H.; Zeguerrou, R. *Flore de La Plaine d'El Outaya (Ziban)*; 2018.
- (137) Chatelain, C.; Boumediene, M.; Benhouhou, S. EFlore Du Maghreb, Une Flore Électronique Basée Sur La Nouvelle Flore d'Algérie de P. Quézel et S. Santa. *Ecologia mediterranea* **2018**, *44*, 131–136. <https://doi.org/10.3406/ecmed.2018.2053>.
- (138) Bousmaha, L.; Bekkara, F.; Tomi, F.; Casanova, J. Advances in the Chemical Composition of Lavandula Dentata L. Essential Oil from Algeria. *Journal of Essential Oil Research - J ESSENT OIL RES* **2005**, *17*, 292–295. <https://doi.org/10.1080/10412905.2005.9698907>.
- (139) Lynda, B.-T. Etude in vitro de l'effet antibactérien et antifongique de. **2017**.
- (140) Bssaibis, F., Gmira N. and Meziane, M. (2009) *Activite antibacterienne de Dittrichia viscosa (L.) W. Greuter. Revue de Microbiologie Industrielle, Santé et environnement*, *3*, 44-55. - *References - Scientific Research Publishing*. <https://scirp.org/reference/referencespapers.aspx?referenceid=624770> .

REFERENCES

- (141) Bekkara, F.; Belyagoubi-Benhammou, N.; Kadifkova Panovska, T. BIOLOGICAL ACTIVITIES OF THE ESSENTIAL OIL AND ETHANOLIC EXTRACT OF *Inula Viscosa* FROM THE TLEMCEM REGION OF ALGERIA. **2007**.
- (142) Haoui, I. E.; Derriche, R.; Madani, L.; Oukali, Z. Analysis of the Chemical Composition of Essential Oil from Algerian *Inula Viscosa* (L.) Aiton. *Arabian Journal of Chemistry* **2015**, 8 (4), 587–590. <https://doi.org/10.1016/j.arabjc.2011.05.005>.
- (143) *Flore forestière française Tome 3, ... - Forêt Privée Française*. <https://www.foretpriveefrancaise.com/publications/voir/494>.
- (144) Madani, L.; Derriche, R.; Haoui, I. E. Essential Oil of Algerian *Inula Viscosa* Leaves. *Journal of Essential Oil Bearing Plants* **2014**, 17, 164–168. <https://doi.org/10.1080/0972060X.2014.884778>.
- (145) Cafarchia, C.; De Laurentis, N.; Milillo, M. A.; Losacco, V.; Puccini, V. Antifungal Activity of Essential Oils from Leaves and Flowers of *Inula Viscosa* (Asteraceae) by Apulian Region. *Parassitologia* **2002**, 44 (3–4), 153–156.
- (146) Gökbulut, A.; Günal, S.; Sarer, E. Antioxidant and Antimicrobial Activities, and Phenolic Compounds of *Inula Thapsoides* Ssp. *Thapsoides*. *Planta Medica* **2013**, 79. <https://doi.org/10.1055/s-0033-1352223>.
- (147) Bachir, R.; Halima, N. Advances in Pharmacognosy and Phytomedicine Antibacterial and Antioxidant Activities of Essential Oil of *Inula Viscosa* L. from Northwest of Algeria ARTICLE INFO ABSTRACT. *Advances in Pharmacognosy and Phytomedicine* **2015**, 1, 10–16.
- (148) Mami, I. R.; Amina, T. Z.; Pérard, J.; Arrar, Z.; Dib, M. E. A. Hemisyntheses and In-Silico Study of New Analogues of *Carlina Oxide* from *Carthamus Caeruleus* Roots. *Comb Chem High Throughput Screen* **2021**, 24 (9), 1503–1513. <https://doi.org/10.2174/1386207323999201103214141>.

REFERENCES

- (149) Zahar, J.-R.; Lesprit, P. Management of Multidrug Resistant Bacterial Endemic. *Médecine et Maladies Infectieuses* **2014**, *44* (9), 405–411. <https://doi.org/10.1016/j.medmal.2014.07.006>.
- (150) Gachkar, L.; Yadegari, D.; Rezaei, M. B.; Taghizadeh, M.; Astaneh, S. A.; Rasooli, I. Chemical and Biological Characteristics of Cuminum Cyminum and Rosmarinus Officinalis Essential Oils. *Food Chemistry* **2007**, *102* (3), 898–904. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2006.06.035>.
- (151) Rasooli, I.; Fakoor, M. H.; Yadegarinia, D.; Gachkar, L.; Allameh, A.; Rezaei, M. B. Antimycotoxigenic Characteristics of Rosmarinus Officinalis and Trachyspermum Copticum L. Essential Oils. *Int J Food Microbiol* **2008**, *122* (1–2), 135–139. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2007.11.048>.
- (152) Saad, H.-E. A.; El-Sharkawy, S. H.; Halim, A. F. Essential Oils of Daucus Carota Ssp. Maximus. *Pharmaceutica Acta Helvetiae* **1995**, *70* (1), 79–84. [https://doi.org/10.1016/0031-6865\(94\)00054-Y](https://doi.org/10.1016/0031-6865(94)00054-Y).
- (153) Pinilla, M. G.; Pérez-Alonso, M. J.; Velasco-Negueruela, A. Volatile Constituents from Fruits of Daucus Carota L., Subsp. Gummifer Hooker Fil. *Journal of Essential Oil Research* **1995**, *7* (4), 433–435. <https://doi.org/10.1080/10412905.1995.9698556>.
- (154) Tavares, A. C.; Gonçalves, M. J.; Cavaleiro, C.; Cruz, M. T.; Lopes, M. C.; Canhoto, J.; Salgueiro, L. R. Essential Oil of Daucus Carota Subsp. Halophilus: Composition, Antifungal Activity and Cytotoxicity. *J Ethnopharmacol* **2008**, *119* (1), 129–134. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2008.06.012>.
- (155) Imamu, X.; Yili, A.; Aisa, H.; Maksimov, V.; Veshkurova, O.; Salikhov, S. Chemical Composition and Antimicrobial Activity of Essential Oil from Daucus Carota Sativa Seeds. *Chemistry of Natural Compounds - CHEM NAT COMPD* **2007**, *43*, 495–496. <https://doi.org/10.1007/s10600-007-0174-2>.

REFERENCES

- (156) El Amine Dib, M.; Djabou, N.; Desjobert, J.-M.; Allali, H.; Tabti, B.; Muselli, A.; Costa, J. Characterization of Volatile Compounds of *Daucus Crinitus* Desf. Headspace Solid Phase Microextraction as Alternative Technique to Hydrodistillation. *Chem Cent J* **2010**, *4*, 16. <https://doi.org/10.1186/1752-153X-4-16>.
- (157) Bendiabdellah, A.; El Amine Dib, M.; Djabou, N.; Allali, H.; Tabti, B.; Muselli, A.; Costa, J. Biological Activities and Volatile Constituents of *Daucus Muricatus* L. from Algeria. *Chem Cent J* **2012**, *6*, 48. <https://doi.org/10.1186/1752-153X-6-4>
- (158) Kushwah, R.; Gupta, M. K. Anti-Inflammatory Potential of Some Essential Oils: A Review. *Asian Journal of Pharmaceutical Research and Development* **2019**, *7* (6), 68–71. <https://doi.org/10.22270/ajprd.v7i6.618>.
- (159) Quintans-Júnior, L.; Moreira, J. C. F.; Pasquali, M. A. B.; Rabie, S. M. S.; Pires, A. S.; Schröder, R.; Rabelo, T. K.; Santos, J. P. A.; Lima, P. S. S.; Cavalcanti, S. C. H.; Araújo, A. A. S.; Quintans, J. S. S.; Gelain, D. P. Antinociceptive Activity and Redox Profile of the Monoterpenes (+)-Camphene, p-Cymene, and Geranyl Acetate in Experimental Models. *ISRN Toxicol* **2013**, *2013*, 459530. <https://doi.org/10.1155/2013/459530>.
- (160) Peana, A. T.; D'Aquila, P. S.; Panin, F.; Serra, G.; Pippia, P.; Moretti, M. D. L. Anti-Inflammatory Activity of Linalool and Linalyl Acetate Constituents of Essential Oils. *Phytomedicine* **2002**, *9* (8), 721–726. <https://doi.org/10.1078/094471102321621322>.
- (161) Marchand, M. La place des médicaments biologiques similaires des érythropoïétines sur le marché en France et en Midi-Pyrénées. *Revue d'Épidémiologie et de Santé Publique* **2015**, *63* (2), 145–146. <https://doi.org/10.1016/j.respe.2015.02.014>.
- (162) Wiesmann, C.; Fuh, G.; Christinger, H. W.; Eigenbrot, C.; Wells, J. A.; de Vos, A. M. Crystal Structure at 1.7 Å Resolution of VEGF in Complex with Domain 2 of the Flt-1 Receptor. *Cell* **1997**, *91* (5), 695–704. [https://doi.org/10.1016/s0092-8674\(00\)80456-0](https://doi.org/10.1016/s0092-8674(00)80456-0).

REFERENCES

- (163) Franco, D.; Steiner, M. Classification of Abandoned Areas for Solar Energy Projects Using Artificial Intelligence and Quantum Mechanics. *Journal of Geographic Information System* **2021**, *13*, 318–339. <https://doi.org/10.4236/jgis.2021.133018>.
- (164) Bouchentouf, S.; Mesli, F. PREDICTION OF STRUCTURAL AND THERMODYNAMIC PROPERTIES OF CHROMEN USING NUMERICAL METHODS. *Pharmacophore* **2018**, *9*, 14–20.
- (165) Fatima, B.; Dib, M.; Boufeldja, T.; Arrar, Z.; Costa, J.; Muselli, A. Essential Oils of *Ammoides Verticillata* and *Satureja Candidissima* as AntiInfective Agents Against Many Pathogenic Microorganisms. *Anti-Infective Agents* **2019**, *17*. <https://doi.org/10.2174/2211352517666190227161811>.
- (166) Wahyuni, D.; Wacharasindhu, S.; Bankeeree, W.; Punnapayak, H.; Purnobasuki, H.; Junairiah; Arif, N.; Ansori; Kharisma, V.; Parikesit, A. A.; Suhargo, L.; Prasongsuk, S. Molecular Simulation of Compounds from N-Hexane Fraction of *Sonchus Arvensis* L. Leaves as SARS-CoV-2 Antiviral through Inhibitor Activity Targeting Strategic Viral Protein. *Journal of Pharmacy & Pharmacognosy Research* **2022**, *10*, 1126–1138. https://doi.org/10.56499/jppres22.1489_10.6.1126.
- (167) Milte, C.; Mcnaughton, S. Dietary Patterns and Successful Ageing: A Systematic Review. *European Journal of Nutrition* **2016**, *55*. <https://doi.org/10.1007/s00394-015-1123-7>.
- (168) Torabi, E.; Asgari, S.; Khalaj, V.; Behdani, M.; Kazemi-Lomedasht, F.; Bagheri, K. P.; Shahbazzadeh, D. Corrigendum to “The First Report on Transcriptome Analysis of the Venom Gland of Iranian Scorpion, *Hemiscorpius Lepturus*” [Toxicon 125 (2017) 123–130]. *Toxicon* **2017**, *128*, 60. <https://doi.org/10.1016/j.toxicon.2017.01.012>.
- (169) Seca, A. M. L.; Grigore, A.; Pinto, D. C. G. A.; Silva, A. M. S. The Genus *Inula* and Their Metabolites: From Ethnopharmacological to Medicinal Uses. *Journal of Ethnopharmacology* **2014**, *154* (2), 286–310. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2014.04.010>.

REFERENCES

- (170) Wang, Y.; Chen, J.; Zhang, K.; Wu, W.; Ge, L.; Wan, H.; Li, J.; Tian, J.; Zeng, X. Chemical Composition, Proapoptotic and Antiosteoporosis Activities of the Essential Oil from the Aerial Part of *Alpinia Officinarum* Hance. *Chinese Medicine* **2018**, *09*, 144–164. <https://doi.org/10.4236/cm.2018.93009>.
- (171) Máñez, S.; Hernández, V.; Giner, R.; Rios, J.-L.; Recio, M. Inhibition of Pro-Inflammatory Enzymes by Inuviscolide, a Sesquiterpene Lactone from *Inula Viscosa*. *Fitoterapia* **2007**, *78*, 329–331. <https://doi.org/10.1016/j.fitote.2007.03.005>.
- (172) Nerio, L. S.; Olivero-Verbel, J.; Stashenko, E. Repellent Activity of Essential Oils: A Review. *Bioresour Technol* **2010**, *101* (1), 372–378. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2009.07.048>.
- (173) Mazzi, E. A.; Soliman, K. F. A. In Vitro Screening for the Tumoricidal Properties of International Medicinal Herbs. *Phytother Res* **2009**, *23* (3), 385–398. <https://doi.org/10.1002/ptr.2636>.

Annexes

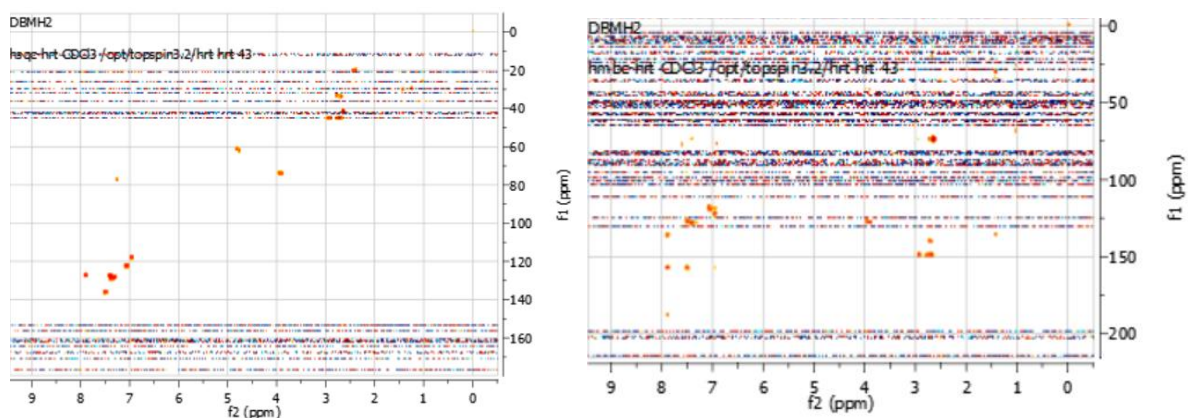


Figure 44: Corrélations HSQC/HMBC 1-(1-méthyl-5-phényle-4,5-dihydro-*1H*-pyrazol-3-yl)-1a,7a-dihydrocyclopropa[b]chromen-7(1H)-one.

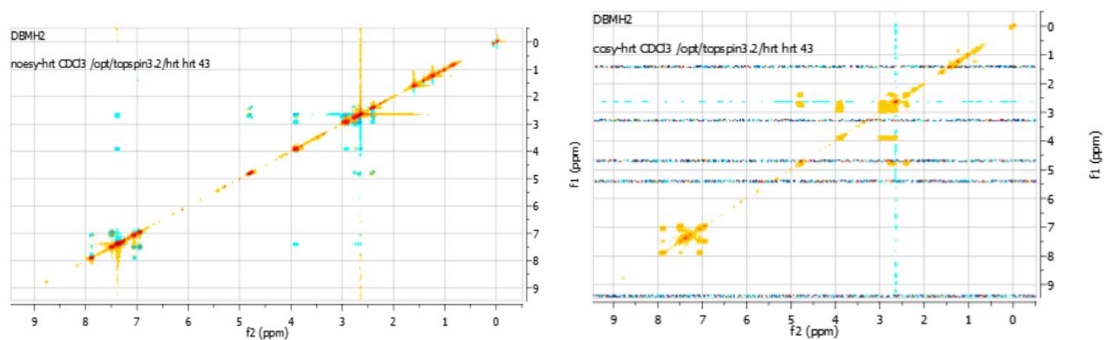


Figure 45: Attributions COSY/NOESY 1-(1-méthyl-5-phényle-4,5-dihydro-*1H*-pyrazol-3-yl)-1a,7a-dihydrocyclopropa[b]chromen-7(1H)-one

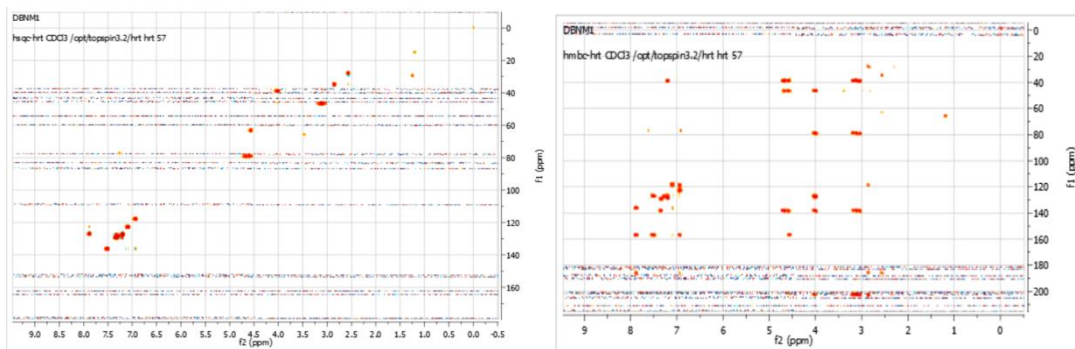


Figure 46: Corrélations HSQC/ HMBC de 1-(4-Nitro-3-phénylbutanoyl)-1a,7a-dihydrocyclopropa[b]chromen-7(1H)-one.

Annexes

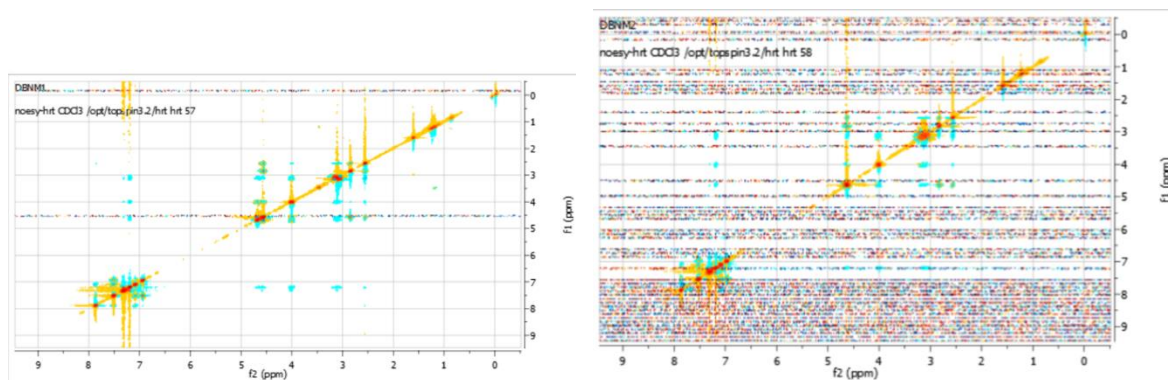


Figure 47: Attribution Noesy des deux diastéréoisomères de 1-(4-Nitro-3-phénylbutanoyl)-1a,7a-dihydrocyclopropa[b]chromen-7(1H)-one.

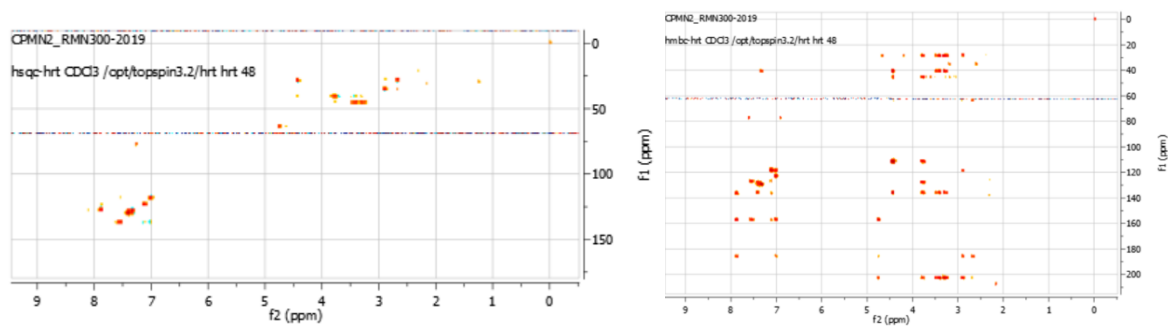


Figure 48: Correlations HSQC/HMBC de 1-(4,4-Dicyano-3-phénylbutanoyl)-1a,7a-dihydrocyclopropa[b]chromen-7(1H)-one.

Annexes

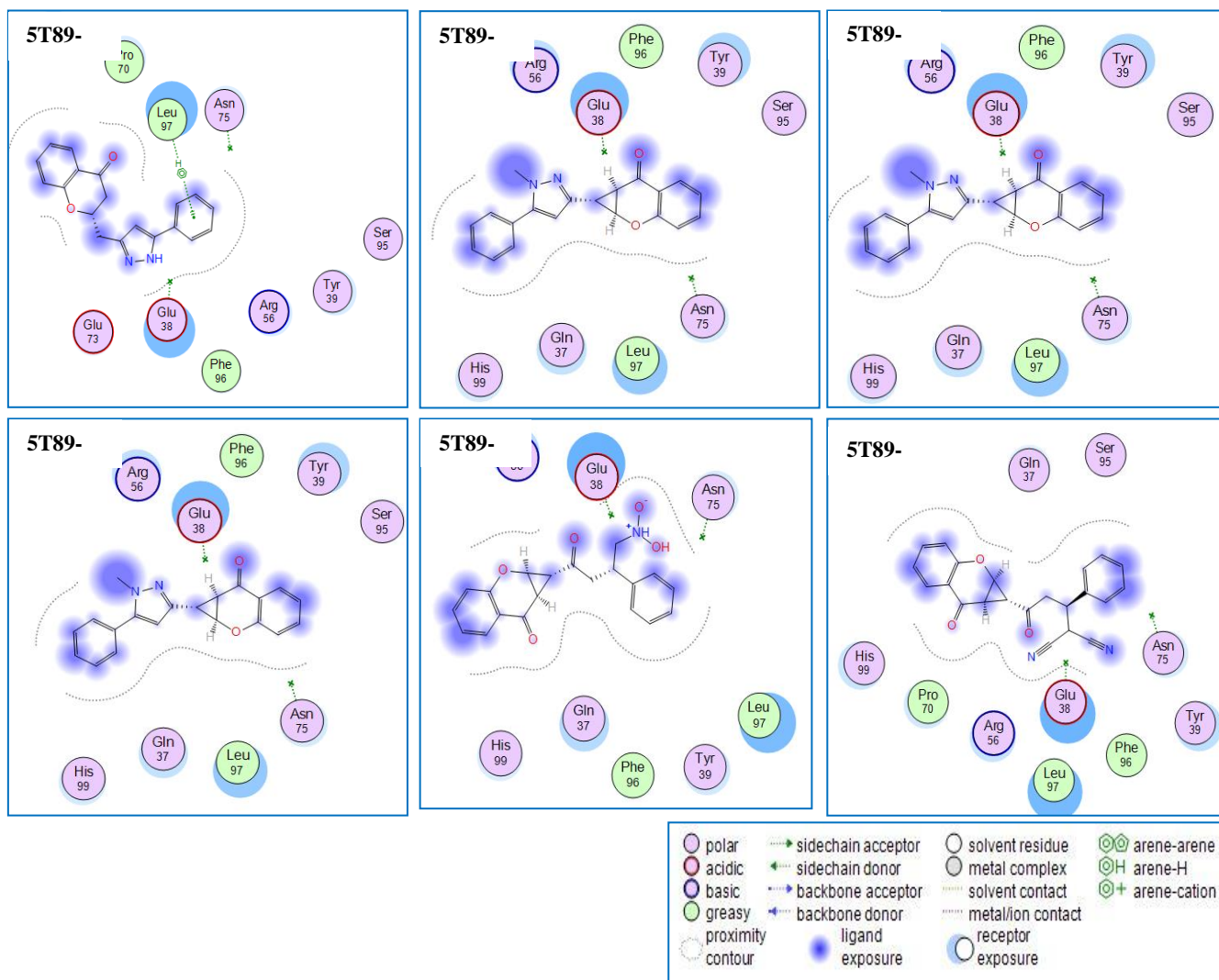


Figure 49 : Diagramme 2D des interactions entre les composés L2, L3, L4, L5, L6 et L9 et le site actif de VEGF (PDB ID: 5T89).

Annexes

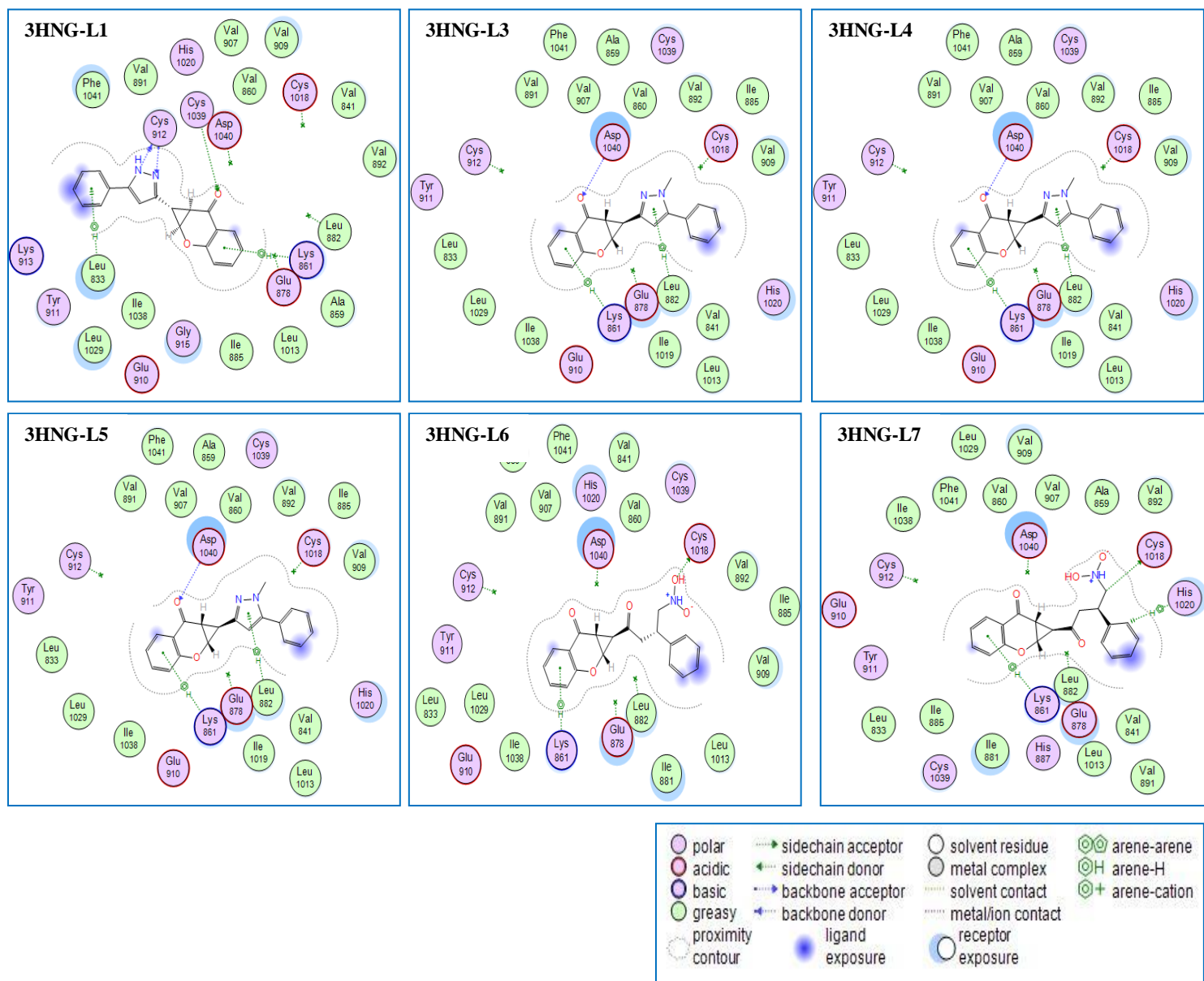


Figure 50 : Diagramme 2D des interactions entre les composés L1, L3, L4, L5, L6, et L7 et le site actif de VEGFR-1 (PDB ID: 3HNG).

Annexes

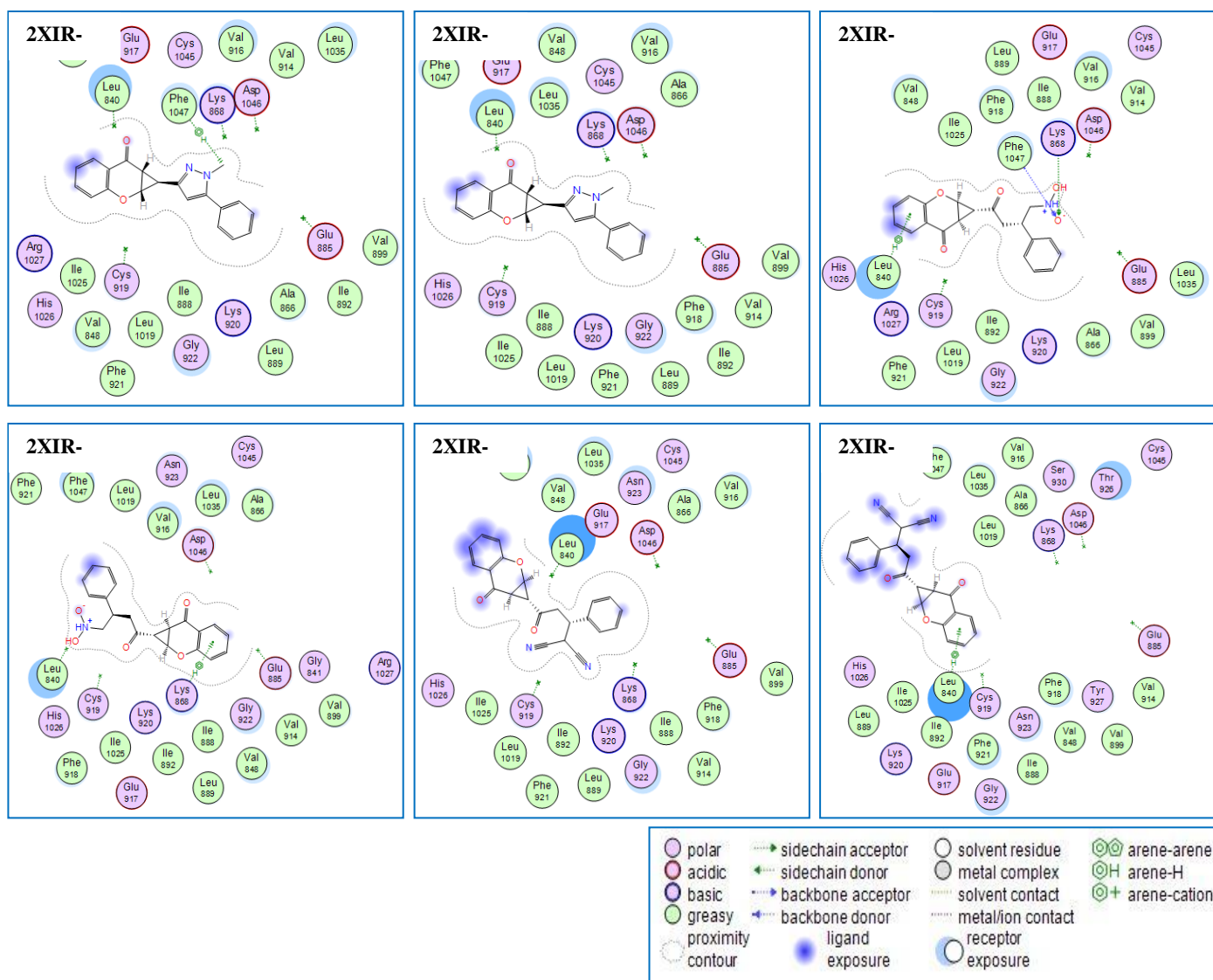
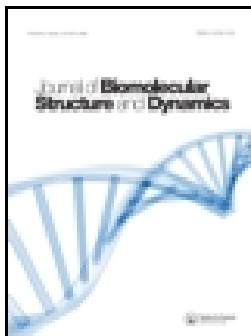


Figure 51 : Diagramme 2D des interactions entre les composés L3, L5, L6, L7, L8 et L9 le site actif de VEGFR-1 (PDB ID: 2XIR).




Chemical composition variability and vascular endothelial growth factor receptors inhibitory activity of *Inulaviscosa* essential oils from Algeria

Bouhassane Nadia , Fouzia Mesli , Benomari Fatima Zahra , Nouria Merad-Boussalah , Achiri Radja , Alain Muselli , Nassim Djabou & Mohammed El Amine Dib


To cite this article: Bouhassane Nadia , Fouzia Mesli , Benomari Fatima Zahra , Nouria Merad-Boussalah , Achiri Radja , Alain Muselli , Nassim Djabou & Mohammed El Amine Dib (2020): Chemical composition variability and vascular endothelial growth factor receptors inhibitory activity of *Inulaviscosa* essential oils from Algeria, Journal of Biomolecular Structure and Dynamics, DOI: [10.1080/07391102.2020.1847686](https://doi.org/10.1080/07391102.2020.1847686)

To link to this article: <https://doi.org/10.1080/07391102.2020.1847686>

 View supplementary material 

 Published online: 23 Nov 2020.

 Submit your article to this journal 

 View related articles 

 View Crossmark data 



Chemical composition variability and vascular endothelial growth factor receptors inhibitory activity of *Inulaviscosa* essential oils from Algeria

Bouhassane Nadia^a, Fouzia Mesli^a, Benomari Fatima Zahra^a, Nouria Merad-Boussalah^a, Achiri Radja^a, Alain Muselli^b, Nassim Djabou^c and Mohammed El Amine Dib^a

^aLaboratoire des Substances Naturelles & Bioactives (LASNABIO), Département de Chimie, Faculté des Sciences, Université Abou BekrBelkaid, Tlemcen, Algeria; ^bLaboratoire Chimie des Produits Naturels, Université de Corse, Corté, France; ^cLaboratoire de Chimie Organique, Substances Naturelles et Analyses (COSNA), Faculté des Sciences, Université Abou BekrBelkaid, Tlemcen, Algeria

Communicated by Ramaswamy H. Sarma

ABSTRACT

Angiogenesis therefore appears to be a complex phenomenon, finely regulated by various activators (pro-angiogenic factors) and inhibitors (anti-angiogenic factors). Among the pro-angiogenic factors, VEGF (Vascular Endothelial Growth Factor) seems to be one of the main players in tumor angiogenesis. It exerts its pro-angiogenic activity by attaching to the surface of receptors with tyrosine kinase activity (VEGFR). The aim of this research was the bioinformatical study of VEGFR inhibition by essential oils of the *Inula viscosa*.

Analyses of essential oils obtained by hydrodistillation from the aerial parts of the plant were performed using GC and GC/MS analysis. We used molecular modeling approaches as molecular mechanics to theoretical investigation VEGF receptors by natural inhibitors.

Nineteen compounds were identified, constituting 90.1–98.8% of the total essential oils. The main components of the plants were (E)-nerolidol (15.5–20.2%), caryophyllene oxide (10.6–18.1%), (E)-Z-farnesyl acetone (13.2–25.1%) and (E)-β-farnesene (1.5–5.6%). Essential oil samples were clustered into two groups according to their chemical compositions. The molecular dynamics study was conducted for the best inhibitors. A few key residues were identified at the binding site of VEGFR. The Pharmacokinetics was justified by means of lipophilicity and high coefficient of skin permeability. The *in silico* evaluation of ADME revealed that L19 has high absorption. The essential oil of *I. viscosa* presents a significant variability. This study revealed that (E)-Z-Farnesylacetone is a functional inhibitor of VEGF activities and subsequently can be the best inhibitors candidate to be scrutinized *in vivo* and *in vitro*.

ARTICLE HISTORY

Received 17 June 2020
Accepted 3 November 2020

KEYWORDS

Inulaviscosa; cancer cells; pharmaco-informatics; molecular dynamic; MOE (molecular operating environment)

1. Introduction

Cancer is a complex disease whose generic term covers different pathologies: There are around 200 types of tumors that can affect all the tissues of the body. In recent years, we have witnessed considerable growth in cancer therapies. Radiotherapy and chemotherapy act mainly against cancer by triggering an overproduction of free radicals in cells (Arruebo et al., 2011). These free radicals constitute reactive oxygen species (ROS). ROS are a family of chemical entities grouping together non-radical derivatives whose toxicity is significant (anion peroxide (O₂²⁻), hydrogen peroxide (H₂O₂), peroxy nitrite (ONOO⁻)) and free radicals oxygenate which interests our subject (superoxide anion (O₂•⁻), hydroxyl radical (OH•), alkoxy radical (RO•), peroxy radical (ROO•), nitrogen monoxide (NO•), nitric oxide (NO•) and nitrogen dioxide (NO₂•)) (Novelli, 1997). These are aggressive molecules, 'carnivores' you could say, which damage cells and can cause their death. But it is an advantage when it comes to cancer cells, which we try to destroy. This is how chemotherapy and

radiotherapy act, at least in part, to shrink the size of tumors. The problem is that these therapies do not just target cancer cells. They destroy all the rapidly dividing cells (Lesgards et al., 2014). The study of natural products is one of the strategies for the discovery of new drugs that can be used in cancer therapy. Essential oils have the advantage of being well absorbed by the body. They can be administered in different ways: oral, respiratory (inhalation, olfaction, diffusion), rectal and cutaneous (massage), which gives them great bio-availability (Salim et al., 2017). Numerous *in vitro* studies in mice, rats and hamsters have been carried out to study the effect of essential oils on cancer. A very large number of studies suggest that natural terpenoids like limonene are a new class of anticancer drugs with the ability to cause tumor regression with low toxicity (Lesgards et al., 2014). In addition, numerous studies have also shown that the terpenoids of essential oils could act in synergy with conventional chemotherapy. Antitumor effects have been observed in combination with chemotherapy (Balusamy et al., 2018). For example, the combination of geraniol (essential oil extract)

with 5-fluorouracil (chemotherapy product) reduces the volume of colon cancer in mice by 53%, while chemo alone has no effect and that geraniol alone reduces it by only 26% (Arruebo et al., 2011). *Inulaviscosa* or *Dittrichia viscosa* belongs to the Asteraceae family. The genus includes more than 90 species distributed in the Mediterranean regions, Spain, France, Asia, Turkey and Africa (Morocco, Egypt and Algeria) (Bouyahya et al., 2018). The viscous inule (*I. viscosa*) contains several secondary metabolites in the aerial parts. It is very rich in volatile compounds (terpenoids) (Bouyahya et al., 2018). The pharmacological properties of *I. viscosa* have been extensively studied. The extracts and essential oils of this plant have shown different pharmacological activities such as anti-inflammatory, antiviral and antitumor activity (Bouyahya et al., 2018). Isocostic acid isolated from the essential oil of *I. viscosa* exhibited an antityrosinase activity comparable to the positive control (kojic acid). Moreover, the calculated bioactivity and drug likeness scores showed also significant binding interaction proven with molecular docking analysis (Aissa et al., 2019). The essential oils from leaves and flowers of *I. viscosa* showed a significant antifungal activity against dermatophytes even at low concentrations (0.01 mg/mL). However, the leaf essential oil exhibited the greatest antifungal efficacy (Cafarchia et al., 2002). The therapeutic effects of this plant have been very diverse and have been known for a long time in traditional medications. It is a plant that is widely used in traditional medicine for its inflammatory, antipyretic and antimicrobial properties (Talib & Mahasneh, 2010). *I. viscosa* is also used to treat gastroduodenal disorders (Al-Dissi et al., 2001; Chahmi et al., 2015) and intestinal disorders. The essential oils are extracted from it for the treatment of various diseases such as bronchitis, diabetes, rheumatism, wounds and diseases of the urinary and digestive system (Al-Dissi et al., 2001; Talib et al., 2012). The study by Rozenblat et al. (2008) revealed the presence of different biologically active sesquiterpenes in *I. viscosa* and their ability to induce apoptosis in cancer cells. Furthermore, modeling and simulation have become standard practices in many scientific and technical fields and in particular in Chemistry. They are often necessary when the real experience is too difficult, too dangerous and too expensive. Computational and theoretical chemistry subsidizes to better comprehension of medicinal plants action against diseases and is being important and crucial to wet laboratory experiment, permitting studying structures and functions of bimolecular (Mesli et al., 2019). To our knowledge, this is the first study that describes the intraspecific variations of essential oils of *I. viscosa* from Algeria from 10 locations using statistical analysis and the structure–activity relationship (SAR). The second objective of this work was to study the essential oils of *I. viscosa* as an inhibitor for VEGF receptors in order to study their mechanism of enzymatic inhibition. Given that vascular endothelial growth factor (VEGF) increases the phosphorylation of tyrosine kinase FAK (Walker, 1996), we set ourselves the goal of inhibiting it in order to decrease phosphorylation. The essential oils of the aerial parts of the *Inulaviscosa* inhibitors were the subject of our investigation. These were used to target the intracellular part of the VEGF receptors (the tyrosine

kinase domain), knowing that the two receptors (VEGFR1 and VEGFR2) have different affinities for VEGF and induce different cellular and biological effects. The main interest was to develop new potential inhibitors of the VEGF/VEGFR interaction and finally discuss with the bioactivity scores, drug likeness, pharmacokinetics, medicinal chemistry, molecular docking and molecular dynamics (MD) analysis of major components. The more we know about these interactions, the more we can do with that knowledge. However, many efforts have been made to produce the natural and reliable treatment during the first stage of cancerous cells.

2. Material and methods

2.1. Experimental procedures

2.1.1. Plant material and essential oil extraction

Plant material used (Aerial parts) of *I. viscosa* was collected at the flowering stage in May 2019 from 10 locations (S1–S10) widespread in the regions of Tlemcen (Algeria) (Table 1). The plant material was botanically authenticated by the Laboratory of Ecology and Ecosystem Management of University of Tlemcen, Algeria. Voucher specimens (see Table 1) were deposited in the herbarium of the Natural and Bioactive Substances Laboratory, Tlemcen University. To obtain essential oils, 400–500 g to aerial parts was subjected to hydrodistillation for a period of 5 h using a Clevenger-type apparatus according to the European Pharmacopoeia. For the chemical analysis, essential oils were stored in dark glass bottles at 4 °C. The essential oil yields were expressed in percent (w/dw) through the weight of dried plant material. The geographical origin, yields and the voucher number of each sample are presented in Table 1.

2.1.2. Analysis conditions

2.1.2.1. Gas chromatography (GC). GC analyses were carried out using a Perkin Elmer Autosystem Clarus 600 GC apparatus (Germany) equipped with a dual flame ionization detection system and fused Rtx-1 silica capillary columns (60 m × 0.22 mm i.d., 0.25- μ m film thickness; polydimethylsiloxane). The oven temperature was programmed to increase from 60–230 °C at 2 °C/min and was then held isothermally at 230 °C for 35 min. Injector and detector temperatures were maintained at 280 °C. The essential oils were injected in the split mode (1/50), and the injection volume was 0.2 μ L. The retention indices (RI) of the compounds were determined from Perkin Elmer software.

2.1.2.2. Gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS).

Essential oils were analyzed using a Perkin Elmer Turbo mass detector (quadrupole) coupled to a Perkin Elmer Autosystem XL equipped with Rtx-1 fused silica capillary columns and Rtx-Wax (poly-ethyleneglycol) (ion source temperature, 150 °C; ionization energy, 70 eV). Ionization energy MS were seized over a mass range of 35–350 Da (scan time, 1 s). Other GC conditions were the same as interpreted for GC, except the split was 1/80.

Table 1. Data relative to harvest locations of *I. viscosa* from Algeria.

Samples	Locations	GPS coordinates	N°. Voucher codes	Yields	Altitudes (m)
S1	SidnaYoucha	35°7'0"N; 1°46'60"O	I.V-0518-DMA7	0.06	5
S2	Beni saf	35°18'8" N;1°23'1"O	I.V-0518-DMA9	0.08	25
S3	Rachgoun	35°19'26"N; 1°28'47"O	I.V-0518-DMA10	0.06	36
S4	Ghazaouet	35°05'38"N;1°51'37"O	I.V-0518-DMA6	0.05	118
S5	Souahlia	35°1'60" N; 1°52'60"O	I.V-0518-DMA8	0.1	318
S6	Terny	4°47'45"N; 1°21'29"O	I.V-0518-DMA4	0.09	854
S7	Tlemcen	34°52'41"N; 1°18'53"O	I.V-0518-DMA3	0.08	811
S8	Beni snous	34°38'35"N; 1°33'41"O	I.V-0518-DMA1	0.16	1500
S9	Tafna	34°52'38"N; 1°14'07"O	I.V-0518-DMA2	0.2	1600
S10	EL Aricha	34°13'22"N; 1°15'21"O	I.V-0518-DMA9	0.2	1148

2.1.2.3. Component identification and quantification.

Identification of individual components was accomplished by comparing their GC retention indices (RIs) on nonpolar and polar columns, determined relative to the retention time of a series of n-alkanes with linear interpolation, with those of authentic compounds or literature data (Jennings & Shibamoto, 1980; Joulain & König, 1998; König et al., 2001) and through computer matching with commercial mass spectral libraries (Mc Lafferty & Stauffer, 1988; National Institute of Standards and Technology, 2008) and also by comparing the spectra obtained with those of the in-house laboratory library. The quantification of essential oils and blend was performed using peak normalization (%) abundances calculated by integrating FID response factors relative to tridecane (0.7 g/100 g), used as an internal standard.

3. Theoretical background and computational details

3.1. Selection of receptor and ligand

In this study, the interactions of essential oils of the aerial parts of *I. viscosa* from compounds as described in Table 2 were investigated. The structures of inhibitors were downloaded from the PubChem database (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov>).

The PDB database (<https://www.rcsb.org/>) were used to obtain the complete structure of VEGF receptors (VEGFR-1) (PDB ID: **3HNG** [Tresaugues et al., 2013]), VEGFR-2 (PDB ID: **2XIR**), VEGF (PDB ID: **5t89** was obtained by X-ray diffraction).

3.2. Molecular docking

Virtual screening is advised as an alternative method for experimental screening and has a marked up success rate in the drug discovery process. It is a computational analogue of biological screening and has become increasingly popular in the pharmaceutical industry for lead identification (Rasouli et al., 2017). Here, the docking procedure provides specification of the ligand binding site in a receptor and then the docked ligands in the specified site (Rasouli et al., 2017).

3.3. Drug-likeness prediction

Properties analyzed are TPSA, clogP calculation, logS calculation, molecular weight, fragment based drug-likeness, and drug score (Nisha et al., 2016).

3.4. ADME prediction

ADMET, which constitutes the pharmacokinetic profile of a drug molecule, is very essential in evaluating its pharmacodynamic activities (Nisha et al., 2016). In this study, we have used the SwissADME online property calculation from all these parameters for the best scoring lead compounds (Daina et al., 2017).

3.5. MD simulation

MD aims to numerically simulate condensed phases of a molecular system in order to understand, predict and calculate the properties of a studying system (Champagnat et al., 2013).

The best conformer of VEGF receptors with ligands was subjected to MD simulations was performed for both the complexes (3HNG, 2XIR, 5t89) using the MOE software (Al-Hader et al., 1993). MOE dynamics simulation uses the Nose Poincare-Andersen (NPA) equations of motion (Bond et al., 1999; Sturgeon & Laird, 2000). The Berendsen thermostat is an algorithm to rescale the velocities of particles in MD simulations to control the simulation temperature (Berendsen et al., 1984). The coordinates were stored every 0.2 ps to get an accurate view of molecular movement. In all simulations, the van der Waals cutout distance was set to 8 Å. Energy minimization process was applied by using MMFF94x force field (Parikesit et al., 2015). We have shown the detailed analysis of MD simulation results of only compound L19 with target VEGF receptors (Figures 13–15) because this compound showed better binding affinity for both VEGF receptors. In the end and according to the MD simulation analysis among these two compounds, the most active compounds were L4 and L19 in VEGF receptors.

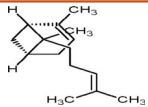
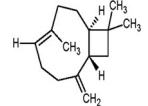
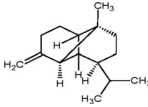
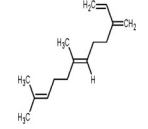
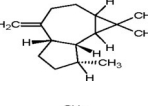
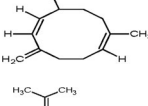
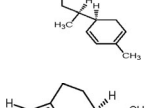
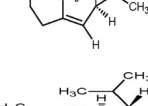
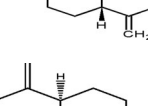
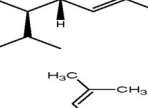
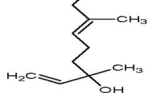
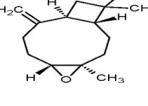
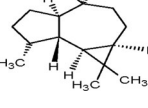
4. Results and discussion

4.1. Experimental

4.1.1. Yields and chemical compositions of *I. viscosa* essential oils

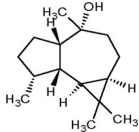
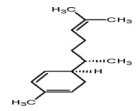
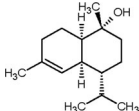
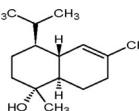
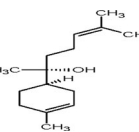
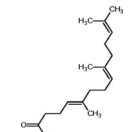
The hydrodistillation of dry leaves of *I. viscosa* of different stations led to the isolation of yellowish oils. The essential oil yields of populations, collected from study areas, are shown in Table 1. Essential oil yields varied from 0.05% to 0.2% (w/w), among stations. The highest yields of essential oils were obtained in the stations of Tafna (0.2%) (S9), EL Aricha (0.2%) (S10) and Beni snous (0.16%) (S8), with altitudes above 1000 m, while the lowest (0.05%–0.1%) were observed in the

Table 2. Various drugs used in the *in silico* docking studies. 'Adopted from online PubChem database (accessed on 07.01.2014). Adopted from online CHEMBL database (accessed on 13.11.2013)'.

No.	Anti-angiogenic drug	IUPAC Name	CID/ N ^o	M.W. (g/mol)	Molecular Formula	Structure
1	cis- α -Bergamotene	(1S,5S,6S)-2,6-dimethyl-6-(4-methylpent-3-enyl)bicyclo[3.1.1]hept-2-ene	6429303	204.35	C ₁₅ H ₂₄	
2	(E)- β -Caryophyllene	[(5Z)-6,10-dimethyl-2-methylidene-10-bicyclo[7.2.0]undec-5-enyl]methanol	5352484	220.35	C ₁₅ H ₂₄ O	
3	β -Copaene	1,3-dimethyl-8-propan-2-yltricyclo[4.4.0.0.2,7]dec-3-ene	19725	204.35	C ₁₅ H ₂₄	
4		(3E,6E)-3,7,11-trimethyldodeca-1,3,6,10-tetraene	5281516	204.35	C ₁₅ H ₂₄	
5	allo-Aromadendrene	(4aS,7R,7aR)-1,1,7-trimethyl-4-methylidene-2,3,4a,5,6,7,7a,7b-octahydro-1aH-cyclopropa[e]azulene	42608158	204.35	C ₁₅ H ₂₄	
6	Germacrene-D	(1Z,6Z,8S)-1-methyl-5-methylidene-8-propan-2-ylcyclodeca-1,6-diene	91723653	204.35	C ₁₅ H ₂₄	
7	Zingibrene	(5R)-2-methyl-5-[(2S)-6-methylhept-5-en-2-yl]cyclohexa-1,3-diene	92776	204.35	C ₁₅ H ₂₄	
8	Bicyclgermacrene	(1R,2E,6E,10S)-3,7,11,11-tetramethylbicyclo[8.1.0]undeca-2,6-diene	11820258	204.35	C ₁₅ H ₂₄	
9	γ -Cadinene	(1S,8aR)-4,7-dimethyl-1-propan-2-yl-1,2,3,5,6,8a-hexahydronaphthalene	441005	204.35	C ₁₅ H ₂₄	
10	δ -Cadinene	(1S,4aR,8aR)-7-methyl-4-methylidene-1-propan-2-yl-2,3,4a,5,6,8a-hexahydro-1H-naphthalene	6432404	204.35	C ₁₅ H ₂₄	
11	(E)-Nerolidol	(6E)-3,7,11-trimethyldodeca-1,6,10-trien-3-ol	5284507	222.37	C ₁₅ H ₂₆ O	
12	Caryophyllene oxide	(1R,4R,6R,10S)-4,12,12-trimethyl-9-methylidene-5-oxatricyclo[8.2.0.0.4,6]dodecane	1742210	220.35	C ₁₅ H ₂₄ O	
13	Globulol	(1aR,4R,4aR,7R,7aS,7bS)-1,1,4,7-tetramethyl-2,3,4a,5,6,7,7a,7b-octahydro-1aH-cyclopropa[e]azulene-4-ol	12304985	222.37	C ₁₅ H ₂₆ O	

(continued)

Table 2. Continued.

No.	Anti-angiogenic drug	IUPAC Name	CID/ N°	M.W. (g/mol)	Molecular Formula	Structure
14	Ledol	(1aR,4R,4aS,7R,7aS,7bS)-1,1,4,7-tetramethyl-2,3,4a,5,6,7,7a,7b-octahydro-1aH-cyclopropa[e]azulen-4-ol	92812	222.37	C ₁₅ H ₂₆ O	
15	Zingibereol	1-methyl-4-(6-methylhept-5-en-2-yl)cyclohex-2-en-1-ol	13213649	222.37	C ₁₅ H ₂₆ O	
16	τ-Muurolol	(1S,4S,4aR,8aS)-1,6-dimethyl-4-propan-2-yl-3,4,4a,7,8,8a-hexahydro-2H-naphthalen-1-ol	3084331	222.37	C ₁₅ H ₂₆ O	
17	α-Cadinol	(1R,4S,4aS,8aS)-1,6-dimethyl-4-propan-2-yl-3,4,4a,7,8,8a-hexahydro-2H-naphthalen-1-ol	12302222	222.37	C ₁₅ H ₂₆ O	
18	α-Bisabolol	(2R)-6-methyl-2-[(1R)-4-methylcyclohex-3-en-1-yl]hept-5-en-2-ol	1549992	222.37	C ₁₅ H ₂₆ O	
19	Farnesylacetone	(5E,9E)-6,10,14-trimethylpentadeca-5,9,13-trien-2-one	1711945	222.37	C ₁₈ H ₃₀ O	

stations S1 to S7 with altitudes varying from 5 to 854 m. The chemical composition analysis *I. viscosa* essential oils of 10 stations (Table 3) allowed the identification of 19 compounds, accounting for 90.1%–98.8% of oils.

All components were identified by comparing their mass spectra (EI-MS) and retention indices (RIs) with those of mass spectral library, 10 sesquiterpene hydrocarbons and 9 oxygenated sesquiterpenes were identified (Table 3). The EO Coll of *I. viscosa* showed only the presence of sesquiterpenes compounds (97.2%). The oxygenated sesquiterpenes were the most dominant with a percentage of 87.3%. The major components were α-bisabolol (16.0%), (*E*)-Z-farnesylacetone (13.2%), (*E*)-nerolidol (15.5%), α-cadinol (11.6%), caryophyllene oxide (10.6%) and τ-muurolol (9.8%), while the sesquiterpene hydrocarbons were represented by small amounts of (*E*)-β-farnesene (2.6%), allo-aromadendrene (1.8%) and δ-cadinene (1.5%) (Table 3). When we compare our data, with those in the literature, it appears that the chemical composition of our oil is markedly different from other regions of the world. Indeed, the major components of essential oil of Turkey were borneol (25.2%), isobornylacetate (22.5%) and bornyl acetate (19.5%) (Pérez-Alonso et al., 1996), that of France and Spain was fokienol (21.1% and 38.8%, respectively) (Blanc et al., 2006; Camacho et al., 2000), while that of Jordan were fokienol (20.9%) and (*E*)-nerolidol (19.8%) (Al-Qudah et al., 2010). While Eudesma-3,11(13)-dien-12-oic acid was detected as main constituent in *I. viscosa* essential oil from the East

Algeria (56.8%) and southern Italy (62.4%) (De Laurentis et al., 2002; Haoui et al., 2015), on the other hand, δ-terpinène (35.9%) and α-pinène (18.9%) were the major components of essential oil of Sidi Bel Abbes (Algeria) (Benchohra et al., 2011). 3-methoxy cumylnisobutyrate (12%) and α-cadinol (6.3%) dominate the composition of Portugal *I. viscosa* essential oils. The composition of the Tunisian *I. viscosa* leaves essential oil was characterized by high oxygenated sesquiterpenes (92.7%) dominated by isocostic acid (70.8%) (Aissa et al., 2019). Various studies on the essential oil of *I. viscosa* reported the presence of globulol (26, 15.0%), chamazulene (27, 49.6%) and 1,4-dimethylazulene (28, 32.1%) in high percentage (Chiarlo, 1968). On the other hand, the leaves contained the eucalyptol (Lauro & Rolih, 1990).

4.2. Chemical variability of essential oils

However, quantitative differences were greatly observed in the major essential oil constituents of different stations (S1–S10) due their geographic location. Indeed, the cluster analysis according to (CA) (Figure 1) the main compounds (N° 11,12, 16–19 of Table 3) showed significant differences. The dendrogram (CA) was obtained using the nearest neighbor method; it suggests that there were two main groups of *I. viscosa* oils (Figure 1). The first group (I) included oil samples from five localities (S1–S5). The second group (II) constituted of samples from five localities (S6–S10). The second

Table 3. Chemical composition of essential oils of the aerial parts of *I. viscosa* collected in 10 stations in the North West of Algeria.

No. ^a	Components	RI ^b	RI ^c	RI _p ^d	EO Coll	S1	S2	S3	S4	S5	S6	S7	S8	S9	S10	Identification ^e
1	cis- α -Bergamotene	1411	1409	1560	0.9	1.2	1.2	0.6	0.2	0.1	1.2	1.1	0.1	1.5	1.6	RI, MS
2	(<i>E</i>)- β -Caryophyllene	1421	1418	1590	0.3	0.3	0.2	0.6	1.5	1.8	0.3	0.2	0.6	1.2	0.3	RI, MS
3	β -Copaene	1431	1430	1579	0.8	0.4	0.5	0.1	0.6	0.3	0.1	0.1	0.4	0.3	0.1	RI, MS
4	(<i>E</i>)- β -Farnesene	1448	1444	1660	2.6	1.6	3.2	4.8	5.6	2.6	0.3	0.5	0.6	0.3	0.5	RI, MS
5	allo-Aromadendrene	1462	1459	1637	1.8	1.3	0.8	2.3	3.3	0.3	0.5	0.6	1.3	1.1	0.9	RI, MS
6	Germacrene-D	1480	1477	1700	0.5	0.8	1.5	1.1	0.6	0.9	0.5	0.3	0.1	0.1	0.1	RI, MS
7	Zingibrene	1489	1486	1715	0.1	0.4	0.5	0.1	0.1	0.3	0.8	0.2	0.1	0.1	0.1	RI, MS
8	Bicyclgermacrene	1494	1492	1720	0.5	0.3	0.6	0.2	0.1	0.5	1.3	0.2	0.3	0.2	0.1	RI, MS
9	γ -Cadinene	1507	1509	1752	0.9	1.1	0.9	2.1	0.1	0.6	1.4	0.2	0.1	0.8	0.2	RI, MS
10	δ -Cadinene	1516	1522	1785	1.5	0.8	0.2	0.6	0.3	1.3	6.3	0.3	0.1	0.7	0.1	RI, MS
11	(<i>E</i>)-Nerolidol	1546	1551	2036	15.5	30.2	20.5	19.5	20.5	18.3	5.3	4.2	4.8	3.2	5.2	RI, MS
12	Caryophyllene oxide	1576	1569	1985	10.6	13.6	12.3	15.6	18.1	11.8	5.8	5.1	6.5	3.5	7.3	RI, MS
13	Globulol	1589	1581	2066	2.9	2.3	1.3	2.3	2.9	5.3	5.3	6.9	7.2	9.1	7.3	RI, MS
14	Ledol	1600	1605	2023	4.5	2.5	7.6	7.5	1.5	3.9	3.5	3.1	5.4	3.7	0.7	RI, MS
15	Zingiberenol	1613	1612	2169	3.2	7.3	1.8	2.6	2.3	6.5	1.6	8.5	4.3	3.5	0.5	RI, MS
16	τ -Muurolol	1634	1631	2142	9.8	0.3	5.7	0.6	0.2	0.1	10.5	14.5	25.3	29.5	33.2	RI, MS
17	α -Cadinol	1645	1641	2108	11.6	8.1	9.2	7.5	5.5	10.3	25.3	26.3	19.5	20.1	18.6	RI, MS
18	α -Bisabolol	1672	1671	2216	16.0	3.1	5.6	4.1	1.6	6.6	26.2	22.3	15.3	17.3	16.3	RI, MS
19	(<i>E</i>)-Z-Farnesylacetone	1871	1879	2331	13.2	23.2	19.6	18.5	25.1	21.6	2.6	2.2	1.1	0.6	2.3	RI, MS
% Identification					97.2	98.8	93.2	90.7	90.1	93.1	98.8	96.8	93.1	96.8	95.4	
Sesquiterpene hydrocarbons					9.9	8.2	9.6	12.5	12.4	8.7	12.7	3.7	3.7	6.3	4.0	
Oxygenated sesquiterpenes					87.3	90.6	83.6	78.2	77.7	84.4	86.1	93.1	89.4	90.5	91.4	

^aOrder of elution is given on apolar column (Rtx-1).

^bRetention indices of literature on the apolar column (RILit).

^cRetention indices on the apolar Rtx-1 column (RIa).

^dRetention indices on the polar Rtx-wax column (RIp).

^eRI: Retention Indices; MS: Mass Spectra in EI mode.

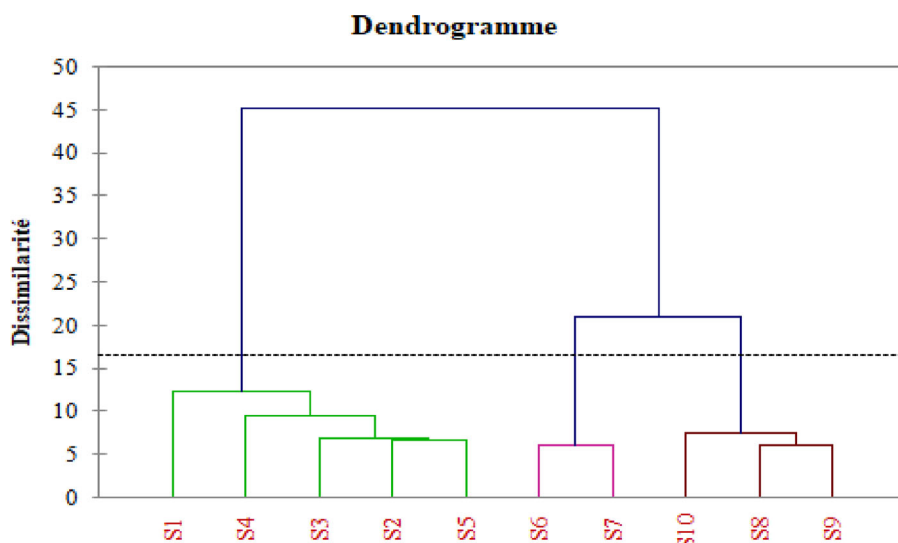


Figure 1. Cluster analysis (CA) of chemical compositions of essential oil of *I. viscosa* from the North West of Algeria.

group was characterized by two subgroups. The subgroup (I1) contained the stations S6 and S7 and the subgroup (I2), the stations S8–S10.

Principle component analysis (PCA) (Figure 2) shows the relationships between family of compounds and geographic location. The first two PCA axes accounted for 82.96% and 8.5% of the total variance, respectively.

The results of PCA highly confirmed the existence of two main groups. Group I (S1–S5) at low altitude was mainly discriminated by the contents of (*E*)-nerolidol (15.5%–20.2%), caryophyllene oxide (10.6%–18.1%), (*E*)-Z-farnesylacetone (13.2%–25.1%) and (*E*)- β -farnesene (1.5%–5.6%). On the other hand, stations S6 and S7 (subgroup I1) were characterized by

the presence of a higher percentage of α -bisabolol (25.3% and 26.3%, respectively) and α -cadinol (25.3% and 26.3%, respectively), compared to other stations, while the subgroup I2 (S8–S10) with higher altitudes (1148–1600 m) was richer by τ -muurolol (25.3%–33.2%) and globulol (7.2%–9.1%) (Figure 2, Table 3). However, the observed differences in the chemical composition of essential oils can be justified by many factors such as abiotic stresses (Belabbes et al., 2017), the cultivation area, collected material, altitude and age of the plant (Ma et al., 2019). Sesquiterpenes were the most distinct group in terms of the structure of the terpenoids, most of which exert biological activities (Hou et al., 2014; Khana et al., 2008) and have been reported to be active against the

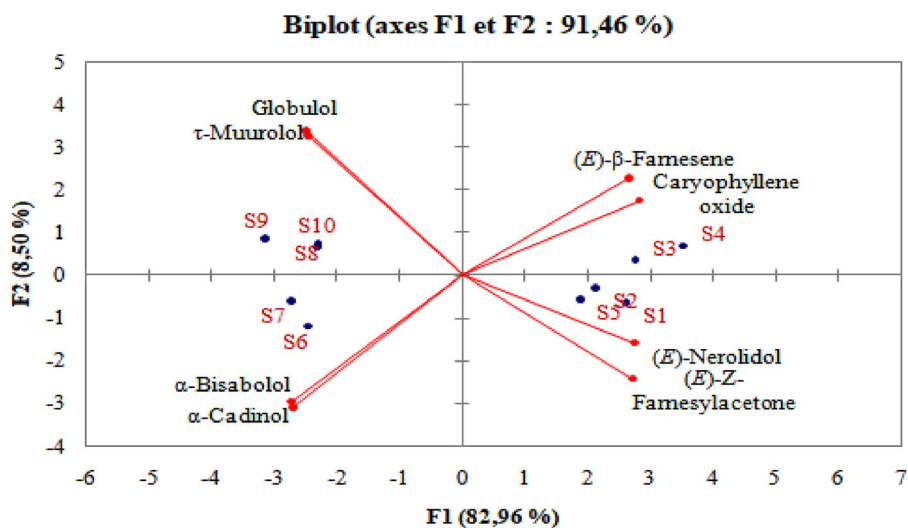


Figure 2. PCA of chemical compositions of essential oils of *I. viscosa*. Distribution of variables.

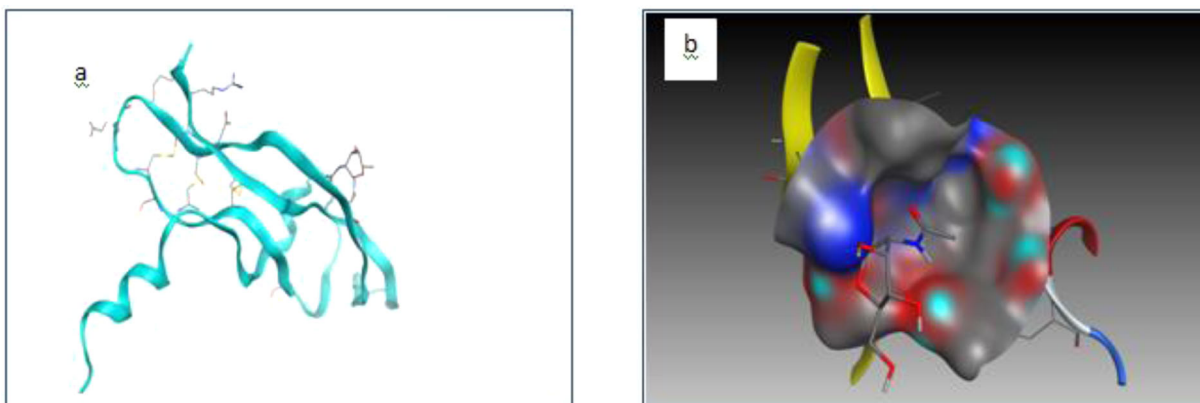


Figure 3. (a) Simplified model of (VEGF). (b) The active site of the isolated VEGF.

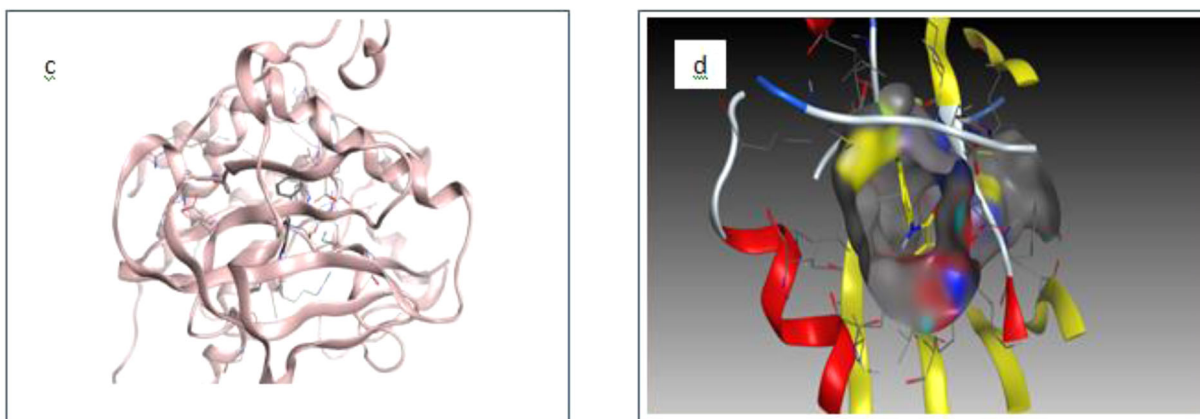


Figure 4. (c) Simplified model of (VEGFR-1 receptor). (d) The active site of the isolated VEGFR-1.

oxidative stress (Su et al., 2015), β -caryophyllene, τ -muurolol, α -cadinol and (2Z,6E)-farnesol exhibit cytotoxic activity against human colon, liver and lung cancer cells (Cavalieri et al., 2004). α -bisabolol was found to have a strong time- and dose-dependent cytotoxic effect on human and rat glioma cells (Cavalieri et al., 2004).

4.2.1. Theoretical

The enzyme's active sites with co-crystallization molecule are shown in Figures 3–5.

The ligands of essential oils of the aerial parts of *I. viscosa* minimized toxicity, and energy obtained by MOE software is shown in Table 4.

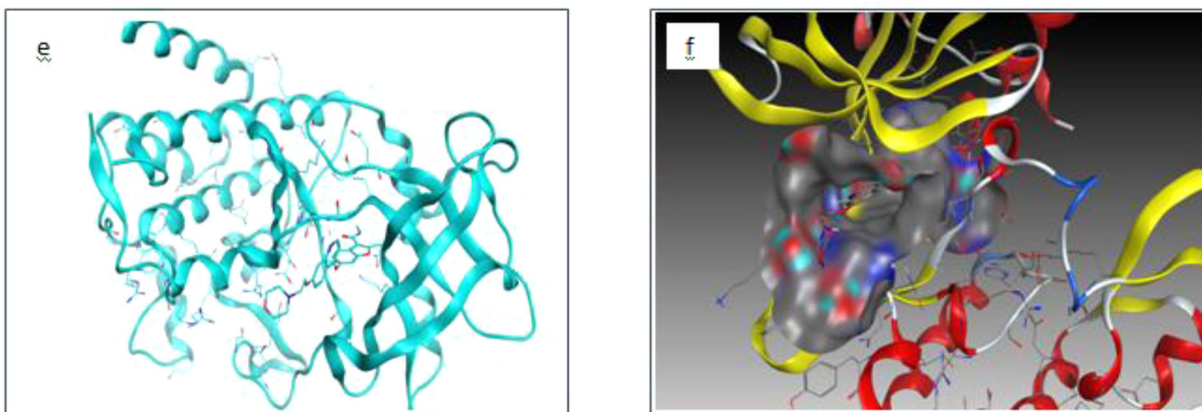


Figure 5. (e) Simplified model of (VEGFR-2 receptor). (f) The active site of the isolated VEGFR-2.

Table 4. Minimization energy of molecules natural for anti-angiogenic drug (kcal/mol).

Ligand	Molecules	Energies(Kcal/mol)	LogP	LogS	Toxicity
1	cis- α -Bergamotene	3.91656e + 001	4.73	-5.29	No
2	(<i>E</i>)- β -Caryophyllene	4.00404e + 001	3.70	-3.07	No
3	β -Copaene	4.34100e + 001	4.27	-5.91	No
4	(<i>E</i>)- β -Farnesene	2.18401e + 001	5.20	-6.01	No
5	allo-Aromadendrene	5.36129e + 001	4.27	-6.41	No
6	Germacrene-D	3.17611e + 001	4.89	-4.74	No
7	Zingibrene	2.59488e + 001	4.89	-4.87	No
8	Bicyclogermacrene	4.80650e + 001	4.73	-4.67	No
9	γ -Cadinene	2.61312e + 001	4.73	-4.80	No
10	δ -Cadinene	2.95608e + 001	4.58	-5.17	No
11	(<i>E</i>)-Nerolidol	2.19630e + 001	4.40	-3.93	No
12	Caryophyllene oxide	4.51752e + 001	3.94	-4.39	Yes
13	Globulol	5.49887e + 001	3.47	-4.79	No
14	Ledol	5.91711e + 001	3.47	-4.79	No
15	Zingibereol	2.38235e + 001	4.09	-4.37	No
16	τ -Muurolol	3.54879e + 001	3.78	-3.54	No
17	α -Cadinol	3.89123e + 001	3.78	-3.54	No
18	α -Bisabolol	2.58813e + 001	4.23	-2.92	No
19	(<i>E</i>)-Z-Farnesylacetone	2.17939e + 001	5.77	-5.18	No

These ligands are capable of providing crucial biological activities in accordance with the principle of Lipinski et al. (1997) (Pettersson et al., 1988).

As stated in the table above, we find that the molecules L19 and L4 have a high value of Log P and Log S compared to other molecules and also, the results obtained show that these ligands (L19 and L4) have a high value of torsion angle relative to other compounds. This shows that these compounds are more flexible. In addition, it is noted that the growth of the torsion angle depends on the binding number of the molecule. The information of all compounds was obtained from MOE software (Molecular Operating Environment (MOE), 2013.08, 2016).

4.3. Molecular docking

4.3.1. Natural inhibitor approach

4.3.1.1. VEGF. We note that the result obtained (Table 5), out of the best compounds studied, Farnesylacetone (Ligand 19) (Figure 6) was predicted to be the strongest VEGF receptor binder that forms a complex with the most stability with the lowest energy -4.52469969 Kcal/mol. The ligands that interacted with VEGFR-1 were as follows: Ligand L2 interacted with two amino acids (GLU 93 and GLU 93) at a distance of

2.51, 2.82 Å strong with energy of 1.2 and -1.0 , respectively, and ligand L11 interacts with one amino acid GLU 38H – donor at a distance of 2.58 Å strong and energy binding of -1.4 ; similarly, the ligand L12 interacted with one amino acid LEU 97H-acceptor at a distance of 2.96 Å. It is noted that the interactions between the residue of the active site of 5t89 and Farnesylacetone ligand formed a stable complex.

The second best binder was (*E*)- β -Farnesene (Ligand 4) (Figure 7) with the energy of -4.01963854 Kcal/mol. This suggests that (*E*)- β -Farnesene can inhibit VEGF receptors.

4.3.1.2. VEGFR-1. We note that Farnesyl acetone (Ligand 19) (Figure 8) was predicted to be the strongest VEGF receptor binder that formed a complex with the most stability and the lowest energy (-4.52469969 Kcal/mol) that interacted with two amino acids (ARG 1021 and ARG 1021) H-acceptor at a distance of interaction of 3.00 and 2.94 Å, respectively, with the existence of eight electric forces (GLU910, GLU 878, CYS 912, VAL 891, LEU 882, ASP1040, LYS861 and ARG1021). The existence of electric force suggests that Farnesylacetone can inhibit VEGF receptors. It is noted that the interactions between the residues of the active site of 3HNG and the Farnesylacetone ligand form a stable complex with a strong interaction.

The second best binder was (*E*)- β -Farnesene(Ligand 4) (Figure 9) with the energy of -7.55429745 Kcal/mol. The ligands that interacted with VEGFR-1 were as follows: Ligand L3 interacted with a one amino acid PHE 1041 H-pi at a distance of 4.08 Å, low interaction with energy binding of -0.7 , and then, Ligand L14 interacted with two amino acids GLU910 and CYS912 H-donor and H-acceptor, respectively, with energy of 1.8 and 1.7, respectively. Lastly, the ligand L19 interacted with same amino acids ARG 1021 H-acceptor with energy between receptor and amino acids were -4.5 and -1.6 , respectively (See supplementary Figures 16–18).

4.3.1.3. VEGFR-2. We note that Farnesylacetone (Ligand 19) (Figure 10) was predicted to be the strongest VEGF receptor binder that formed a complex with the most stability with the lowest energy -8.10823059 Kcal/mol) with the existence of four electric force (GLU 917, CYS 919, ASP 1024 and LEU 840). This suggests that Farnesylacetone can inhibit VEGF receptors. It is noted that the interactions between the

Table 5. Energy balance of complexes formed with anti-angiogenic drug without water molecules (Kcal/mol).

Mol	Pose	Score	Rmsd-refine	E-Conf	E- PLACE	E-REFINE	RMSD
Lref1 (Native)	10	-3.78999758	3.80355144	53.460392	-42.1670952	-9.73435974	1.428
VEGF							
L1	3	-3.49325585	1.4171623	49.4205856	-9.02826786	-9.28911781	1.385
L2	6	-3.54622912	4.25287771	45.9673691	-22.3249168	-9.67628956	0.394
L3	2	-3.38240385	1.97325587	49.2433662	-18.0179806	-7.8158865	0.298
L4	5	-4.01963854	1.95341456	34.3210564	-15.5851097	-9.65795422	1.447
L5	5	-3.38378692	2.55735159	71.8157883	-24.9921379	-8.56387329	0.111
L6	7	-3.18338823	1.66500854	40.1790848	-25.3914356	-7.22984791	0.570
L7	2	-3.73947215	1.08847892	37.5174332	-37.0030251	-10.5696306	0.197
L8	3	-3.52705669	2.08294535	61.8202896	-16.5464706	-9.45939064	0.198
L9	4	-3.69257712	2.31939769	43.0718536	-25.7758541	-9.50582314	0.343
L10	4	-3.45229697	3.45120263	11.3685236	-11.34288752	-8.6183157	0.079
L11	8	-3.98458982	1.67662919	32.5299606	-34.1233177	-12.5704956	0.211
L12	5	-3.59765863	3.55976343	13.6160984	5.93009233	-9.25728226	0.215
L13	8	-3.80335522	6.73355961	13.5810099	-22.7992706	-10.0778494	0.263
L14	8	-3.75419545	2.29156828	62.2090683	-20.9349194	-9.60580826	0.139
L15	6	-3.60531759	1.56402004	22.7498188	-24.3484097	-8.58475876	0.081
L16	7	-3.23660111	3.0124259	38.370285	-12.1734447	-7.70761824	0.197
L17	8	-3.55800462	2.01988792	40.3355331	-39.8503456	-9.25317478	0.087
L18	6	-3.71103525	1.1156019	32.8649559	-28.2323246	-10.1320171	0.320
L19	9	-4.52469969	1.46585608	38.5425644	-34.7141495	-12.7509823	0.053
Mol	Pose	Score	Rmsd-refine	E-Conf	E-PLACE	E-REFINE	RMSD
Lref2	6	-10.2159939	1.63261998	47.5232811	-84.9253769	-33.8748169	0.659
RESPTOR1/ VEGFR1							
L1	5	-5.67572975	0.738956094	55.8443031	-58.5605888	-3.56594133	0.814
L2	9	-5.79094362	1.84575272	49.6417389	-62.4633102	-16.9630489	0.673
L3	8	-5.31909132	2.69288158	50.999691	-52.446312	-14.2888889	0.242
L4	8	-7.55429745	1.32448125	39.0443153	-66.0409241	-20.4006729	1.143
L5	8	-5.51163673	3.15417051	72.1863174	-57.3297005	-16.5133209	0.115
L6	7	-5.51596737	1.31669843	42.5609818	-58.9852829	-12.8108568	0.250
L7	10	-6.2743659	1.10227025	36.787323	-54.5825882	-19.3177948	0.035
L8	4	-4.31459522	1.23091698	66.5092773	-45.724987	0.929653227	0.485
L9	7	-5.35120869	2.12681007	46.9883537	-54.7862587	-10.063139	0.433
L10	9	-5.29777861	0.688894331	15.5641155	-51.1675949	-10.7363739	0.420
L11	10	-6.78250837	1.8873719	41.0823135	-52.1711159	-13.4837017	0.502
L12	7	-5.14908934	1.49792802	16.2355289	-53.7675209	-10.9783001	0.356
L13	8	-4.79661131	1.32344747	15.2820148	-59.1631584	-10.7241364	0.366
L14	7	-5.34053659	2.14731693	63.0932159	-51.9754829	-14.3296251	0.268
L15	9	-5.08465052	2.31756425	24.4453144	-60.2406654	-15.4020233	0.444
L16	9	-5.04594994	0.91354239	39.0615311	-49.6845665	-12.8063755	0.023
L17	10	-4.74857521	1.52684665	-52.9785118	-52.9785118	-12.808341	0.416
L18	10	-5.1971302	2.11682534	30.7944088	-69.2757645	-15.7095633	0.413
L19	10	-7.96668291	2.71927118	39.4914207	-58.6933594	-22.9831047	0.492
RECEPTOR2/ VEGFR2							
Mol	Pose	Score	Rmsd-refine	E-Conf	E-PLACE	E-REFINE	RMSD
Lref3	10	-10.4227104	2.93172359	35.6387901	-67.0485001	-16.9801006	0.891
L1	4	-4.71330452	1.21814144	59.5516663	-50.5476265	3.48999476	0.354
L2	8	-5.82724428	1.41441953	61.5446854	-58.9625435	-10.2989044	0.326
L3	9	-5.65643024	2.08355451	50.0475235	-51.9137001	-15.2227755	0.261
L4	5	-7.39465475	1.14210582	44.2986488	-63.8447723	-14.1900234	1.425
L5	7	-4.11897755	1.77988875	84.4658127	-46.6783981	8.42493057	0.232
L6	9	-5.33562517	3.33458853	42.0842743	-51.0991707	-11.4472246	0.160
L7	10	-6.07355309	1.99330485	43.4474983	-53.7330627	-7.46748018	0.489
L8	8	-5.7500782	1.74556887	64.2186813	-48.4922371	-14.2425623	0.360
L9	10	-5.50285721	1.36944818	45.387619	-46.9052887	-14.3059397	0.400
L10	8	-5.40128326	2.46785975	19.8633728	-55.3035316	-9.68788242	0.261
L11	9	-6.50306749	1.21159434	37.4934464	-41.4966698	-4.83200741	0.433
L12	7	-5.50666094	1.6465497	15.9660406	-45.2692986	15.9660406	0.506
L13	9	-5.69354916	1.88015425	14.4716063	-55.745636	-11.8592186	0.264
L14	6	-5.68339872	2.26530838	62.3576508	-59.3398705	-16.6589127	0.240
L15	10	-5.73431635	1.14088261	39.3782997	-51.5355682	-5.62705517	0.429
L16	9	-5.5116353	1.2355634	-55.0190964	-55.0190964	-16.762455	0.278
L17	6	1.13416386	1.97636449	73.7940826	-59.6460381	65.2220993	0.434
L18	8	-6.22930002	0.602132857	43.9919434	-65.4302063	5.66625738	0.395
L19	8	-8.10823059	1.78886366	47.4458733	-87.4332504	-21.52174	0.557

residue of the active site of 2XIR and the Farnesylacetone ligand form a stable complex with a strong interaction.

The second best binder was (*E*)- β -Farnesene (Ligand 4) (Figure 11) with the energy of -7.39465475 Kcal/mol (Table 5), with the existence of four electric force (GLU 917, CYS 919, LEU

840 and ASP 1046). This suggests that (*E*)- β -Farnesene can inhibit VEGF receptors. The ligands that interact with VEGFR-2 were as follows: Ligand 1 interacts with one amino acid PHE 1041 H-pi at a distance of 4.44 Å, low interaction with energy binding of -0.7. Then, Ligand L16 interacts with two amino

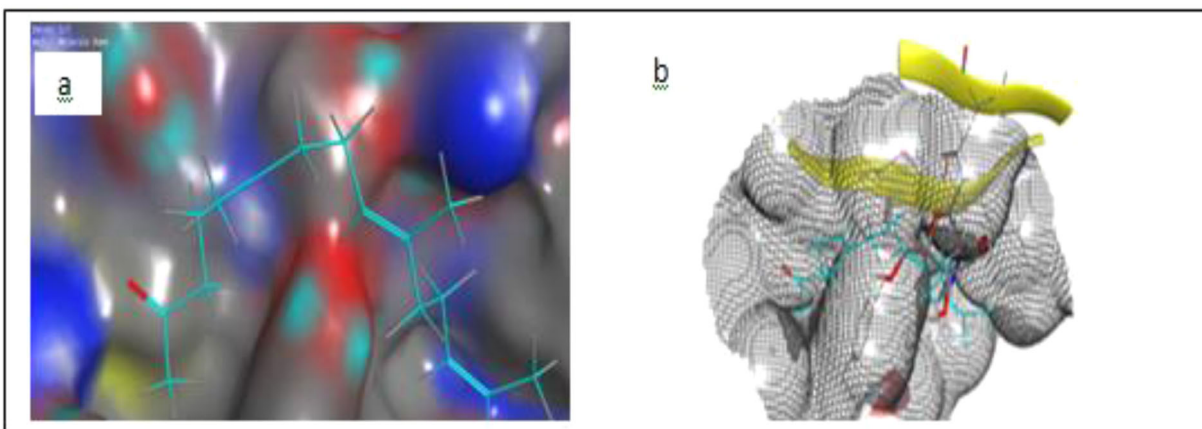


Figure 6. (a) The top scoring compound. (b) A novel inhibitor L-19 identified by molecular docking Farnesylacetone is shown in the active site.

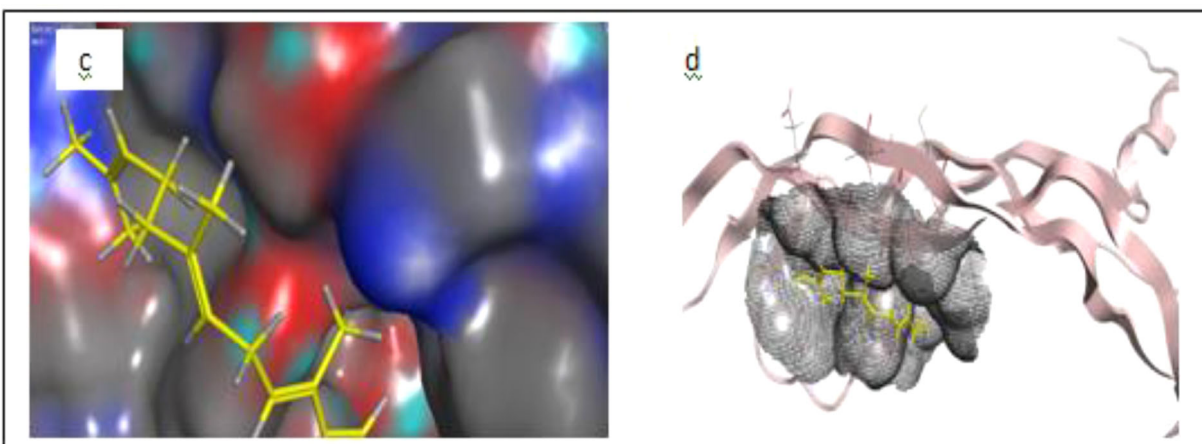


Figure 7. (c) The top scoring compound. (d) A novel inhibitor L-4 identified by molecular docking (E)-β-Farnesene is shown in the active site.

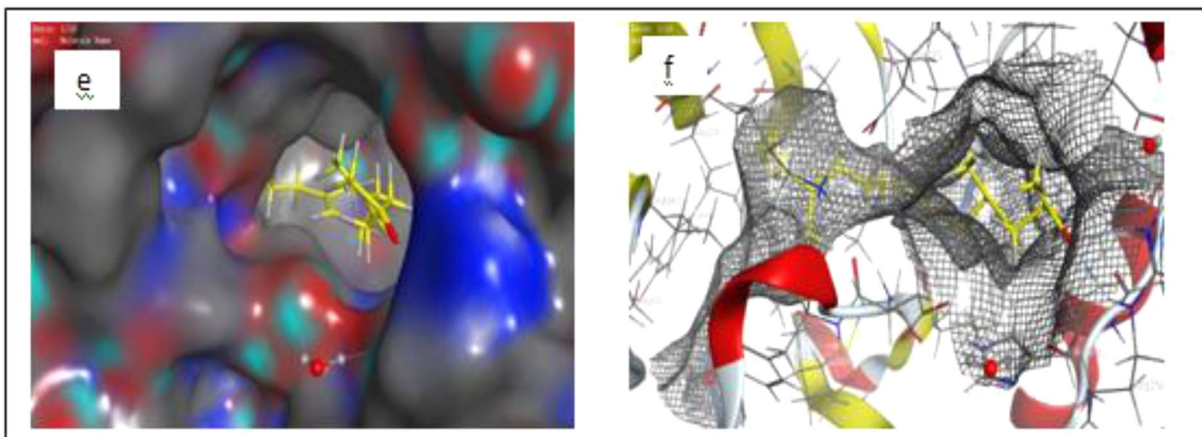


Figure 8. (e) The top scoring compound. (f) A novel inhibitor L-19 identified by molecular docking Farnesylacetone is shown in the active site.

acids HOH 3159 and ASN 923H-donor and H-acceptor, respectively, with energy of 0.5 and -0.5 at distance of 2.51 and 3.26, respectively. Also quote, Ligand L11 defined by strong interaction at distance of 2.95 Å and interaction binding energy of -0.8 with one amino acid ASP 1046 H-donor. Lastly, the Ligand L18 interacts with one amino acid PHE 1047H- π with energy between receptor and amino acids is -0.6 . Results of 19 compound bonds between atoms of compounds and residues of the active site are given in Table 6.

4.3.2. VEGF-VEGFR interaction

The two VEGF monomers participate in the interaction with the d2 domain of VEGFR1 (Figure 12). The results of docking energies of VEGF/VEGFR inhibitors are shown in Table 7.

Treatments targeting VEGF can have direct effects on the tumor cell (strain). The ligand is designated as the best inhibitor and forms a stable complex. The ligand (E)-Z-Farnesylacetone L19 was able to replace ATP, thereby preventing phosphorylation activity. We can conclude that for

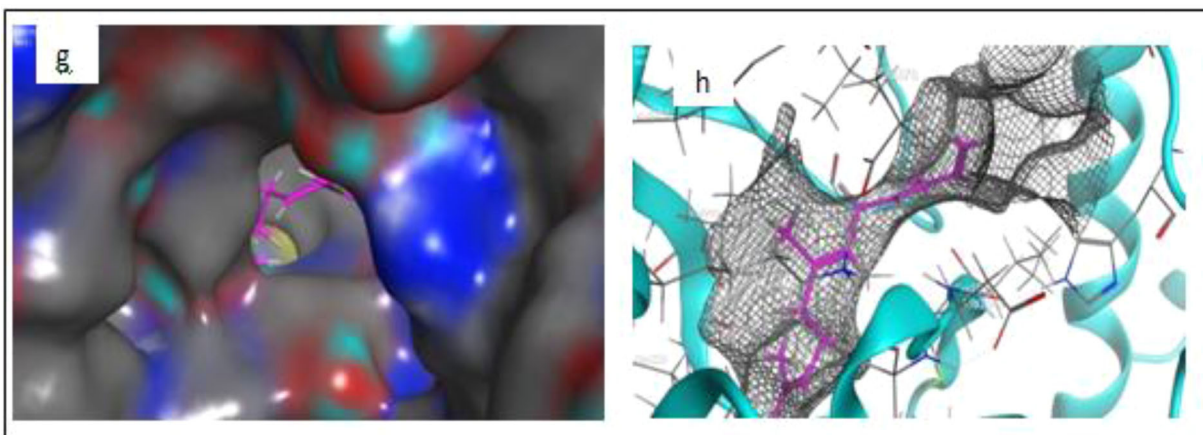


Figure 9. (g) The top scoring compound. (h) A novel inhibitor L-4 identified by molecular docking (*E*- β -Farnesene) is shown in the active site.

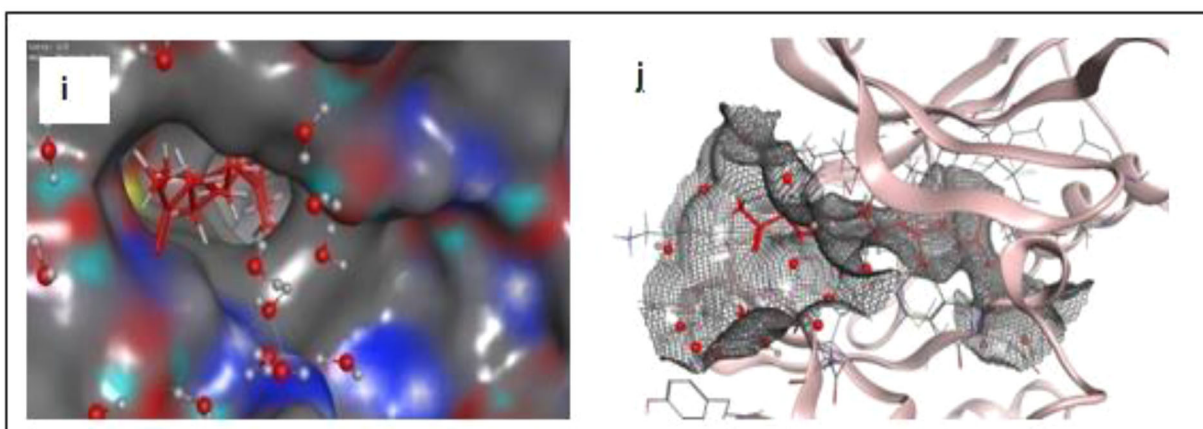


Figure 10. (i) The top scoring compound. (j) A novel inhibitor L-19 identified by molecular docking Farnesylacetone is shown in the active site.

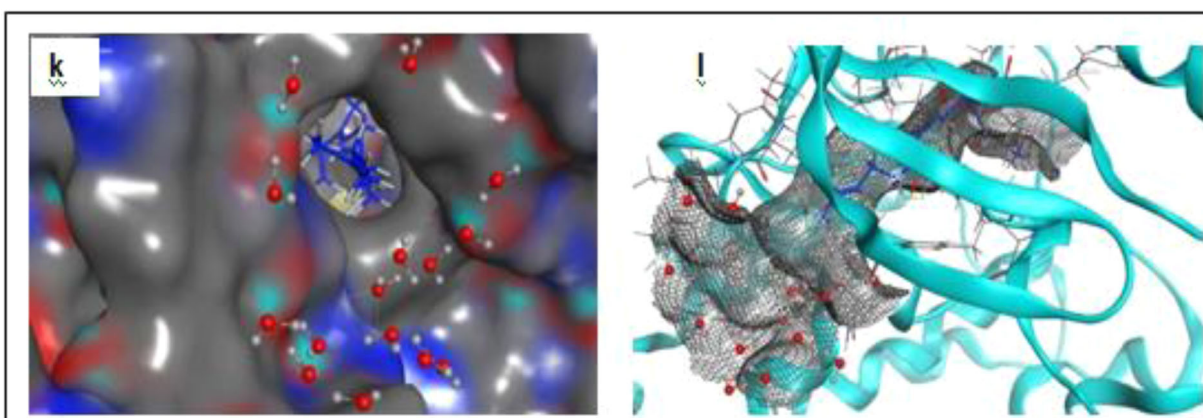


Figure 11. (k) The top scoring compound. (l) A novel inhibitor L4 identified by molecular docking (*E*- β -Farnesene) is shown in the active site.

the ligand L19, the amino acid residues NE and NH₂ at the N-terminal level of the α 1 helix of VEGF were strongly involved in the interaction with the d2 domain of VEGFR1 (see Table 7).

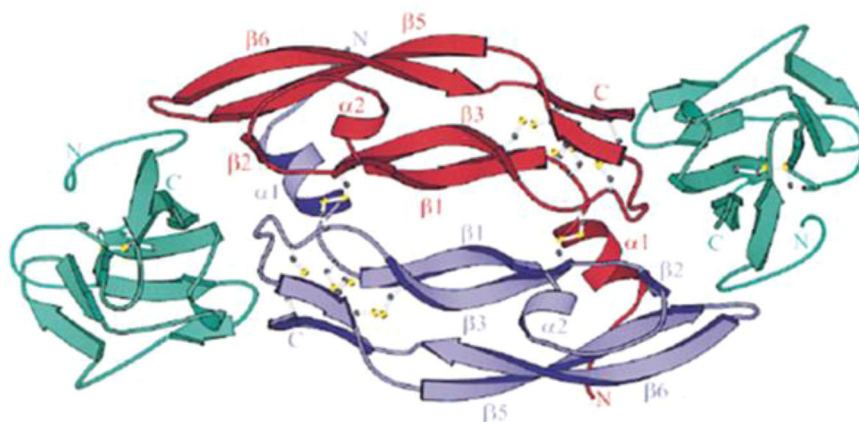
4.4. MD

Using the MD simulation approach, we have studied the evolution thermodynamic properties of the ligand of complex 19 in NVT ensemble (Table 8).

For the ligand L19 in the VEGF enzyme and the VEGFR1 receptor, the kinetic energies of translation and the internal energy were low compared to the VEGFR2 receptors and the fluctuation in pressure for the VEGFR2 receptor was significant. In contrast to the complex formed by L19 for the VEGF enzyme, the VEGFR1 receptor was low. Canonical ensemble (NVT): moles (N), volume (V) and temperature (T) are conserved in simulation by molecular dynamic. Therefore, L19 was predicted to be the most interactive system. These results are in total agreement with the Docking prediction results (see Tables 5–7). We have shown the

Table 6. Results of bonds without water between atoms of best compounds and residues of the active site.

Compounds	S-score (kcal/mol)	Bonds between atoms of compounds and residues of the active site					Distances (Å)	Energies (kcal/mol)
		Atom of compound	Involved Receptor Atoms	Involved Receptor residues	Type of interaction bond			
VEGF								
Lref1	-3.78999758	O3 21	ND2	ASN 75	H-acceptor	2.95	-0.7	
L2	-3.54622912	O1 1	O	GLU 93 GLU 93	H-donor	2.51	1.2	
		O1 1	N		H-acceptor	2.82	-1.0	
L11	-3.98458982	O1 1	O	GLU 38	H-donor	2.58	-1.4	
L12	-3.59765863	O1 1	N	LEU 97	H-acceptor	2.96	-1.3	
VEGFR1								
Lref2	-10.2159939	N9 12	OE2	GLU 878	H-donor H-acceptor H-acceptor pi-H	2.88 2.79 2.81 3.86	-4.3	
		O8 15	N	ASP 1040			-3.9	
		N22 36	N	CYS 912 LYS 861			-4.9	
		6-ring	CE				-0.8	
L3	-5.31909132	C10 10	6-ring	PHE 1041	H-pi	4.08	-0.7	
L14	-5.34053659	O1 1	O	GLU 910 CYS 912	H-donor	2.49	1.8	
					H-acceptor	2.49		
L19	-7.96668291	O1 1	N				1.7	
		O1 1	NE	ARG 1021	H-acceptor	3.00	-4.5	
		O1 1	NH2	ARG 1021	H-acceptor	2.94	-1.6	
VEGFR2								
Lref3	-10.4227104	N28 3	OE2	GLU 885 HOH	H-donor H-donor	2.74	-4.2	
		N29 50		3334 ASP 1046		2.62		
		O30				2.66		
		N27 35	O	CYS 919	H-acceptor	3.24	-6.1	
			N		H-acceptor		-1.9	
			N				-3.3	
L1	-4.71330452	C2 2	6-ring	PHE 1047	H-pi	4.44	-0.7	
L16	-5.5116353	O1 1	O	HOH	H-donor	2.51	0.5	
				3159ASN 923	H-acceptor	3.26		
L11	-6.22930002	O1 1	N				-0.5	
L18	-6.22930002	O1 1	O	ASP 1046	H-donor	2.95	-0.8	
		C6 6	6-ring	PHE 1047	H-pi	4.44	-0.6	

**Figure 12.** Structure of the VEGF / VEGFR1-d2 complex determined by X-ray crystallography. The VEGF dimer is represented in red and blue and the two VEGFR1-d2 domains in green (Ma et al., 2019).

detailed analysis of MD simulation results of only compound L19 with target VEGF receptors (Figures 13–15).

4.5. In silico assessment of the ADME

A computational study of two top scoring lead compounds was performed for the assessment of ADME properties and the obtained value is depicted in Table 9.

The results presented in Table 9 revealed that compound L19 has high absorption but compound L4 has low absorption. In addition, we can note that these compounds comply with Lipinski's rule of 5, Veber's rule and Egan's rule (Wiesmann et al., 1997), where $\log P$ values ranged between 4.50 and 4.84 (<5), MW range 204.35 – 262.43 (<500), HBA range 0–0 (≤ 10) and HBD range 0–0 (<5), suggesting that these compounds would

Table 7. The docking energies of VEGF/VEGFR inhibitors.

Compound	Receptor	DE (kcal/mol)	ETOR (kT)	EVDW(kcal/mol)	EIE (kcal/mol)
Lref1 (Native)	VEGF	-3.78999758	446.407	1047540	-1737.84
Lref2 (Native)	VEGFR-1	-10.2159939	1368.097	2080.669	-5387.31
Lref3 (Native)	VEGFR-2	-10.4227104	1390.209	3828.302	-12968.3
cis- α -Bergamotene	VEGF	-3.49325585	1335.02	3562.36	-5425.32
	VEGFR-1	-5.67572975	1393.038	4147.532	-7697.59
	VEGFR-2	-4.71330452	1432.478	7939.513	-16668.8
(E)- β -Caryophyllene	VEGF	-3.54622912	433.400	1139.926	-2146.11
	VEGFR-1	-5.79094362	1385.513	4149.818	-7881.64
	VEGFR-2	-5.82724428	1410.691	7362.473	-16633.5
β -Copaene	VEGF	-3.38240385	427.554	1158.022	-2143.96
	VEGFR-1	-5.31909132	1389.996	5010.046	-7878.19
	VEGFR-2	-5.65643024	1407.077	532379.7	-16614.5
(E)- β -Farnesene	VEGF	-4.01963854	414.741	2090.109	-2145.24
	VEGFR-1	-7.5542974	1359.000	4145.776	-7902.41
	VEGFR-2	-7.3946547	1392.285	6897.438	-16714.3
allo-Aromadendrene	VEGF	-3.38378692	430.065	1145.375	-2153.00
	VEGFR-1	-5.51163673	1371.339	231553.0	-7920.27
	VEGFR-2	-4.1189775	1443.131	6965.071	-16707.4
Germacrene-D	VEGF	-3.18338823	422.577	1307.654	-2170.70
	VEGFR-1	-5.51596737	1351.486	876706.2	-8017.91
	VEGFR-2	-5.33562517	1413.735	6276.327	-16765.2
Zingibrene	VEGF	-3.73947215	419.629	1557.475	-2169.54
	VEGFR-1	-6.2743659	1361.151	3623.325	-7950.19
	VEGFR-2	-6.0735530	1418.436	6344.492	-16807.0
Bicyclogermacrene	VEGF	-3.52705669	435.838	1161.354	-2167.69
	VEGFR-1	-4.31459522	1425.992	4574.672	-8036.23
	VEGFR-2	-5.7500782	1433.365	6378.849	-16813.3
γ -Cadinene	VEGF	-3.69257712	418.943	1173.223	-2176.87
	VEGFR-1	-5.35120869	1346.747	3704.720	-8035.35
	VEGFR-2	-5.50285721	1418.794	6395.554	-16875.6
δ -Cadinene	VEGF	-3.45229697	417.317	1176.686	-2181.88
	VEGFR-1	-5.29777861	1361.461	3664.779	-8029.96
	VEGFR-2	-5.40128326	1439.985	7144.735	-16887.5
(E)-Nerolidol	VEGF	-3.98458982	422.134	1164.999	-2186.37
	VEGFR-1	-6.78250837	1344.803	3657.513	-8052.21
	VEGFR-2	-6.5030674	1415.265	6451.999	-16925.8
Caryophyllene oxide	VEGF	-3.59765863	440.442	1168.931	-2181.25
	VEGFR-1	-5.14908934	1367.995	3668.767	-8032.72
	VEGFR-2	-5.5066609	1432.530	6516.935	-17038.0
Globulol	VEGF	-3.80335522	434.962	1154.406	-2180.96
	VEGFR-1	-4.79661131	1372.607	3671.807	-8054.30
	VEGFR-2	-5.6935491	1419.371	6517.878	-17007.6
Ledol	VEGF	-3.75419545	447.435	1172.155	-2193.51
	VEGFR-1	-5.34053659	1370.180	3672.611	-8060.27
	VEGFR-2	-5.68339872	1426.335	6473.761	-16958.5
Zingibereol	VEGF	-3.60531759	422.277	120516.4	-2201.03
	VEGFR-1	-5.08465052	1355.302	3664.348	-8048.25
	VEGFR-2	-5.73431635	1420.350	7133.076	-17031.6
τ -Muurolol	VEGF	-3.23660111	429.610	1175.279	-2180.06
	VEGFR-1	-5.04594994	1364.183	3653.479	-8038.35
	VEGFR-2	-5.5116353	1384.837	6176.431	-16669.6
α -Cadinol	VEGF	-3.55800462	428.868	1497.248	-2185.07
	VEGFR-1	-4.74857521	1360.631	3667.001	-8025.35
	VEGFR-2	-1.13416386	1403.009	6226.658	-16646.7
α -Bisabolol	VEGF	-3.71103525	424.113	1168.157	-2185.81
	VEGFR-1	-5.1971302	1350.979	3664.608	-8020.31
	VEGFR-2	-6.22930002	1389.838	6244.659	-16740.6
cis- α -Bergamotene	VEGF	-4.52469969	413.838	1568.082	-2164.04
	VEGFR-1	-7.96668291	1353.882	4156.540	-8033.24
	VEGFR-2	-8.10823059	1386.549	6252.439	-16605.2

DE: docking energy; ETOR: torsion energy; VDW: Van der Waals; EIE: electrostatic interaction energy.

not be expected to cause problems with oral bioavailability and thus showing possible utility of both compounds for developing the compound with good drug-like properties and in the meantime, we propose Ligand L19 Farnesylacetone present in essential oils of the aerial parts of *I. viscosa* with its proven activity score (-4.52469969, -7.96668291, -8.10823059), respectively, for VEGF, VEGFR-1, VEGFR-2 as a *new oral ligand* despite obeying Lipinski's rule.

4.6. Pharmacokinetics and medicinal chemistry properties

The results of Medicinal Chemistry and Pharmacokinetics showed that compound L19 has high GI absorptions but compound L4 has low GI absorptions. We notice that there is a correlation between our results for assessment of ADME properties (Table 9) and the predicted results in medicinal chemistry and pharmacokinetics (Table 10).

Table 8. Thermodynamic properties calculated in real units. Pressure $P = P^* \epsilon/\sigma^{-3}$, energy of configuration $U = U^* N\epsilon$, translation kinetic energy $EKT = EKT^* N\epsilon$ and enthalpy $H = H^* N\epsilon$.

SP _i	Method	H	U	EKT	P	V	T
SP ₁	VEGF-Lig-19	-96.0353775	1507.44727	1388.18652	160.447647	12775.3398	357.959808
	VEGR1-Lig-19	-292.459259	3246.96533	4352.19336	-36.4663124	37559.7031	370.825592
	VEGR2-Lig-19	-346.652924	-1199.86816	4999.32471	-55.1730194	44492.7852	363.23175
	VEGR-Lig-19	-0.186085999	937.379517	1097.74744	-40.0676231	12775.3398	283.066742
	VEGR1-Lig-19	-7.79605532	2488.10181	4052.91699	183.276642	37559.7031	345.325989
	VEGR2-Lig-19	-0.443735003	-2920.92236	4110.30371	-254.836838	44492.7852	298.638916
	VEGR-Lig-19	0.175413504	959.181213	1135.01062	-58.5749931	12775.3398	292.675476
	VEGR1-Lig-19	0.186976507	1493.63403	3423.13843	93.5603485	37559.7031	291.666138
	VEGR2-Lig-19	1.34591353	-3326.87671	4023.22656	86.2301178	44492.7852	292.312225
	VEGR-Lig-19	0.323196739	926.048157	1186.59265	167.378677	12775.3398	305.976501
SP ₂	VEGR1-Lig-19	0.186976507	1493.63403	3423.13843	93.5603485	37559.7031	291.666138
	VEGR2-Lig-19	1.34591353	-3326.87671	4023.22656	86.2301178	44492.7852	292.312225
	VEGR-Lig-19	-0.609911978	803.180115	1162.90198	-276.769501	12775.3398	299.867584
	VEGR1-Lig-19	-0.533955097	-0.805478334	3475.16797	39.4337997	37559.7031	296.099274
	VEGR2-Lig-19	-0.431310326	-3345.53491	4122.03809	43.8750153	44492.7852	299.491516
	VEGR-Lig-19	0.588058352	808.855286	1155.84644	132.805405	37559.7031	298.048248
	VEGR1-Lig-19	-0.527443051	1390.62939	3412.94312	-188.243103	37559.7031	290.797455
	VEGR2-Lig-19	1.69389367	-3485.01563	4041.8418	-1.55086923	44492.7852	293.664734
	VEGR-Lig-19	-0.239414528	832.668152	1137.39722	-119.197212	12775.3398	293.290924
	VEGR1-Lig-19	1.1400882	1405.06104	3494.96069	41.3016739	37559.7031	297.785706
SP ₃	VEGR2-Lig-19	1.69389367	-3485.01563	4041.8418	-1.55086923	44492.7852	293.664734
	VEGR-Lig-19	0.697540104	853.860718	1097.72119	168.965363	12775.3398	283.059998
	VEGR1-Lig-19	1.57997549	1337.56262	3379.97607	117.144455	37559.7031	287.988525
	VEGR2-Lig-19	-1.35737085	-3514.72388	4062.38794	-46.1831398	44492.7852	295.157532
	VEGR-Lig-19	-0.016821704	1133.17383	1133.17383	124.116997	12775.3398	292.201874
	VEGR1-Lig-19	3.1954596	1367.98035	3419.4978	-95.8944092	37559.7031	291.355927
	VEGR2-Lig-19	1.8799262	-3460.46631	3998.78369	-149.61528	44492.7852	290.536285

Table 9. ADME properties for two top scoring lead compounds.

Entry	ABS	TPSA (Å ²)	n-ROTB	MW	MLog P	n-ON acceptors	n-OHND donors	Lipinski's violations	Veber violations	Egan violations
Rule	-	-	-	<500	≤5	<10	<5	≤1	≤1	≤1
L4	Low	00.00	6	204.35	4.84	0	0	1	1	1
L19	High	17.07	9	262.43	4.50	1	0	1	1	1

ABS: absorption, TPSA: topological polar surface area, n-ROTB: number of rotatable bonds, MW: molecular weight, MLogP: logarithm of partition coefficient of compound between n-octanol and water, n-ON acceptors: number of hydrogen bond acceptors, n-OHND donors: number of hydrogen bonds donors.

Table 10. Pharmacokinetics and medicinal chemistry properties for molecule scoring lead compounds.

N	Compounds	Pharmacokinetics		Medicinal chemistry		
		GI absorption	Log K _p (skin permeation)	Lipophilicity Log P _{o/w} (MLOGP)	Lead-likeness	Synthetic accessibility
1	cis- α -Bergamotene	Low	-2.97 cm/s	4.63	No; 2 violations: MW < 250, XLOGP3 > 3.5	5.07
2	(E)- β -Caryophyllene	High	5.53 cm/s	3.56	No; 1 violation: MW < 250	4.48
3	β -Copaene	Low	5.65 cm/s	-4.37 cm/s	No; 2 violations: MW < 250, XLOGP3 > 3.5	4.62
4	(E)- β -Farnesene	Low	-3.20 cm/s	4.84	No; 2 violations: MW < 250, XLOGP3 > 3.5	3.72
5	allo-Aromadendrene	Low	-4.20 cm/s	5.65	No; 2 violations: MW < 250, XLOGP3 > 3.5	3.70
6	Germacrene-D	Low	-4.18 cm/s	4.53	No; 2 violations: MW < 250, XLOGP3 > 3.5	4.55
7	Zingibrene	Low	-3.88 cm/s	4.53	No; 2 violations: MW < 250, XLOGP3 > 3.5	4.81
8	Bicyclogermacrene	Low	-4.61 cm/s	4.63	No; 2 violations: MW < 250, XLOGP3 > 3.5	4.34
9	γ -Cadinene	Low	-4.85 cm/s	4.63	No; 2 violations: MW < 250, XLOGP3 > 3.5	4.14
10	δ -Cadinene	Low	-4.49 cm/s	4.63	No; 2 violations: MW < 250, XLOGP3 > 3.5	4.35
11	(E)-Nerolidol	High	-4.23 cm/s	3.86	No; 2 violations: MW < 250, XLOGP3 > 3.5	3.53
12	Caryophyllene oxide	High	-5.12 cm/s	3.67	No; 2 violations: MW < 250, XLOGP3 > 3.5	4.35
13	Globulol	High	-5.00 cm/s	3.81	No; 2 violations: MW < 250, XLOGP3 > 3.5	3.58
14	Ledol	High	-5.00 cm/s	3.81	No; 2 violations: MW < 250, XLOGP3 > 3.5	3.58
15	Zingibereol	High	-4.63 cm/s	3.56	No; 2 violations: MW < 250, XLOGP3 > 3.5	4.15
16	τ -Muurolol	High	-5.29 cm/s	3.67	No; 1 violation: MW < 250	4.29
17	α -Cadinol	High	-5.29 cm/s	3.67	No; 1 violation: MW < 250	4.29
18	α -Bisabolol	High	-4.97 cm/s	3.56	No; 2 violations: MW < 250, XLOGP3 > 3.5	3.95
19	(E)-Z-Farnesylacetone	High	-3.95 cm/s	4.50	No; 2 violations: Rotors > 7, XLOGP3 > 3.5 MW < 350	3.47

(E)-Z-Farnesylacetone essential oils of the aerial parts of *I. viscosa* (oxygenated sesquiterpenes) (Ligand 19) was predicted to be characterized by a high lipophilicity and high coefficient of skin permeability log K_p by providing (E)-

β -Farnesene (Ligand 4). We can resolve that the more negative the log K_p (with K_p in cm/s), the less the molecule is absorptive to the skin (Kacprzyk & Pedrycz, 2015), which explains the reliability of our results. We cite the works that

Table 11. Energy balance of complexes formed with VEGF under other experiments and our results for essential oils of *I. viscosa*.

Majority Molecule	Score	Reference
VEGF was received in the PDB database https://www.rcsb.org/ PDB ID: 5t89		
Lref (Native)	-3.78999758	
Other experiments		
(E)-nerolidol(19.8%) Jordan	-3.98458982	(Al-Qudah et al., 2010; Parikesit et al., 2015).
L-Bornéol (25.2%) Bornylacetate(19.5%) Turkey	-3.23326421 -3.47815251	(Berendsen et al., 1984; Pérez-Alonso & Velasco-Negueruela, 1996).
Fokienol (21.1% et 38.8%, respectively) France and Spain	-4.01069689	(Blanc et al., 2006; Camacho et al., 2000; Parikesit et al., 2015; Pérez-Alonso & Velasco-Negueruela, 1996).
Acid Eudesma-3,11 (13) -dien-12-oïque (56.8%) and (62.4%, respectively) Eastern Algeria and southern Italy	-3.50546718	(Al-Qudah et al., 2010; Blanc et al., 2006; De Laurentis et al., 2002; Haoui et al., 2015).
δ -terpinene(35.9%) and α -pinene (18.9%) Sidi Bel Abbes (Algeria)	-3.20504832 -3.30435085	(Benchohra et al., 2011).
Acide isocostique (70.8%) Tunisian	-3.62129688	(Aissa et al., 2019; Benchohra et al., 2011).
isobutyrate de 3-méthoxy cuminyle(12%) Portugal	-4.26027393	(Mesli et al., 2019; Miguel et al., 2008).
Our Results		
(E)-Z-Farnesylacetone L19 (13.2%) Algeria	-4.52469969	(Oxygenated sesquiterpenes)
(E)- β -Farnesene L4 (2.6%) Algeria	-4.01963854	(Hydrocarbonsesquiterpene)

have proved the stability of complexes and their affinities by MOE software (Mesli et al., 2019; Mesli & Bouchentouf, 2018). $\text{Log } P_{o/w}L19 > \text{Log } P_{o/w}L4 > \text{Log } P_{o/w}L11$.

So Ligand L19 represents high affinity with VEGF receptors. Synthetic accessibility (SA) was a major factor to take into account in this selection process an acceptable value between 3.27 and 3.47 for the ligands L19 and L4, respectively, and these are more promising molecules that can be synthesized or subjected to bioassays or other experiments. Our previous research has shown that oils from our region have better biological activities (Benyoucef et al., 2020; Miguel et al., 2008). Validation of our results, for essential oils of *I. viscosa*, in different region is mentioned in Table 11.

Our molecular docking results coincide with our experimental results; the oxygenated sesquiterpenes were the most dominant with a percentage of 87.3%.

Our ligand (E)-Z-Farnesylacetone (13.2%) better stabilizes the system with its energy of -4.52469969 Kcal/mol we compare with the components of other regions of the world (see Table 11). The latter allows good stabilization and complementarity of the complex. It is validated as a major ligand against cell cancer. The present molecular docking analysis MD simulations used to investigate new oxygenated sesquiterpene compound inhibitor of VEGF receptors. Previous studies have shown that (2Z,6E)-farnesol exhibited cytotoxic activity against human colon, liver and lung cancer cells (Cavalieri et al., 2004).

The ligands (E)-Z-Farnesylacetone inhibitor 19 and (E)- β -Farnesene (Ligand 4) we found are from the same family as (2Z,6E)-farnesol. The latter has good affinities to the VEGF receptors, which brings us back to the conclusion that the family oxygenated sesquiterpene was effective VEGF anti-angiogenic drugs.

In vitro, many studies were focused on the inhibitory effect of *I. viscosa* and nanobodies, on key enzymes linked to cancer therapy, VEGF receptors. Anti-VEGF NB strongly inhibits the migration of human endothelial cells ($p=0.045$) (Kazemi-Lomedasht et al., 2017). Anti-VEGF NB significantly inhibits tumor growth in tumor-bearing mice ($p=0.001$). Results indicate that NBs that are a novel class of antibodies derived from the camel can develop as a promising candidate for cancer drugs. The cross-reactive cross-linked NB showed high specificity and binding affinity in the nanomolar range for both human and mouse VEGF. In the case of anticancer activity, the American National Cancer Institute assigns a significant cytotoxic effect of promising anticancer products for future bioguided studies if IC_{50} value is lower than $30 \mu\text{g/mL}$ (Seca et al., 2014). According to Merghoub et al. (2009), the IC_{50} value greater than $54 \mu\text{g/mL}$ 'identifies a tumor effect'. For the same anticancer activity, IC_{50} values greater than $200 \mu\text{g/mL}$ (Mazzio & Soliman, 2009) are unacceptable. Talib and Mahasneh (2010) and Ferrara et al. (2004) found that *I. viscosa* flower extracts present low toxicity toward normal human cells (Vero cell line IC_{50} $202.43 \pm 73.70 \mu\text{g/mL}$). For *Inulaviscosa*, the IC_{50} values

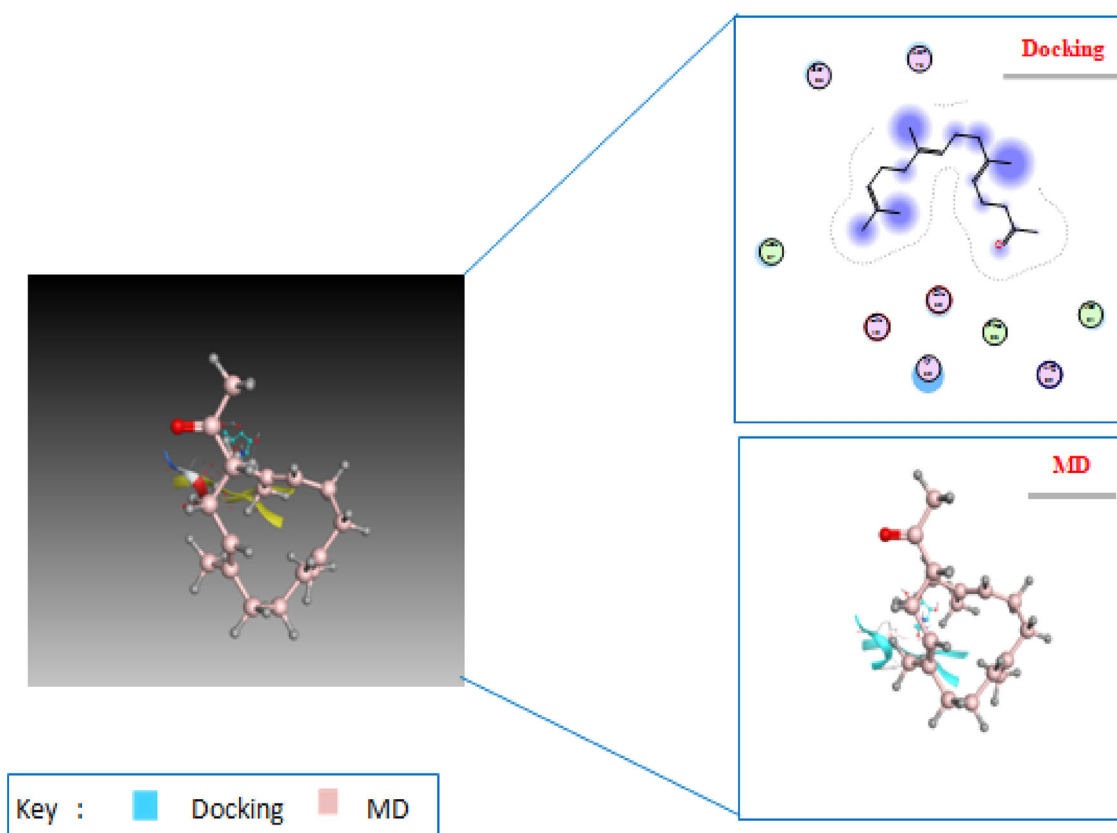


Figure 13. The compound – 19 Farnesylacetone is docked without water well into the binding site of VEGF and has the highest dock score; there is also a clear difference between the final ligand pose and the docking pose after a molecular dynamics (MD) simulation.

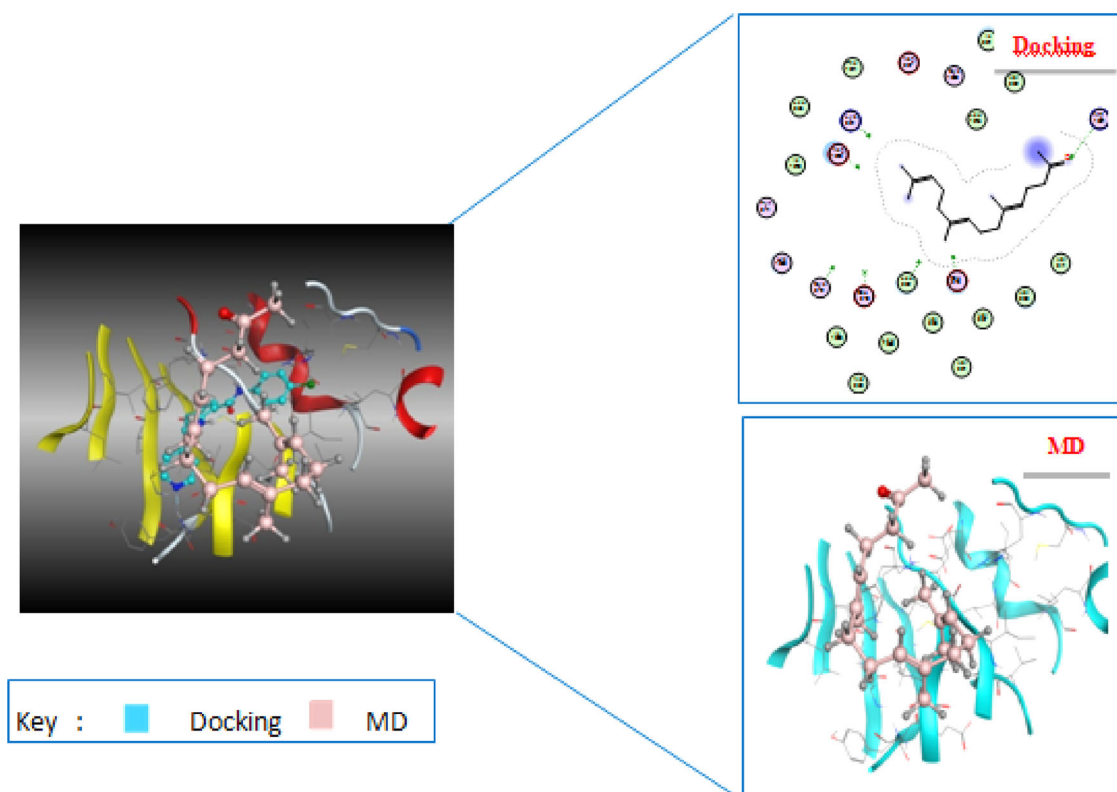


Figure 14. The compound – 19 Farnesylacetone is docked without water well into the binding site of VEGFR-1 and has the highest dock score; there is also a clear difference between the final ligand pose and the docking pose after a molecular dynamics (MD) simulation.

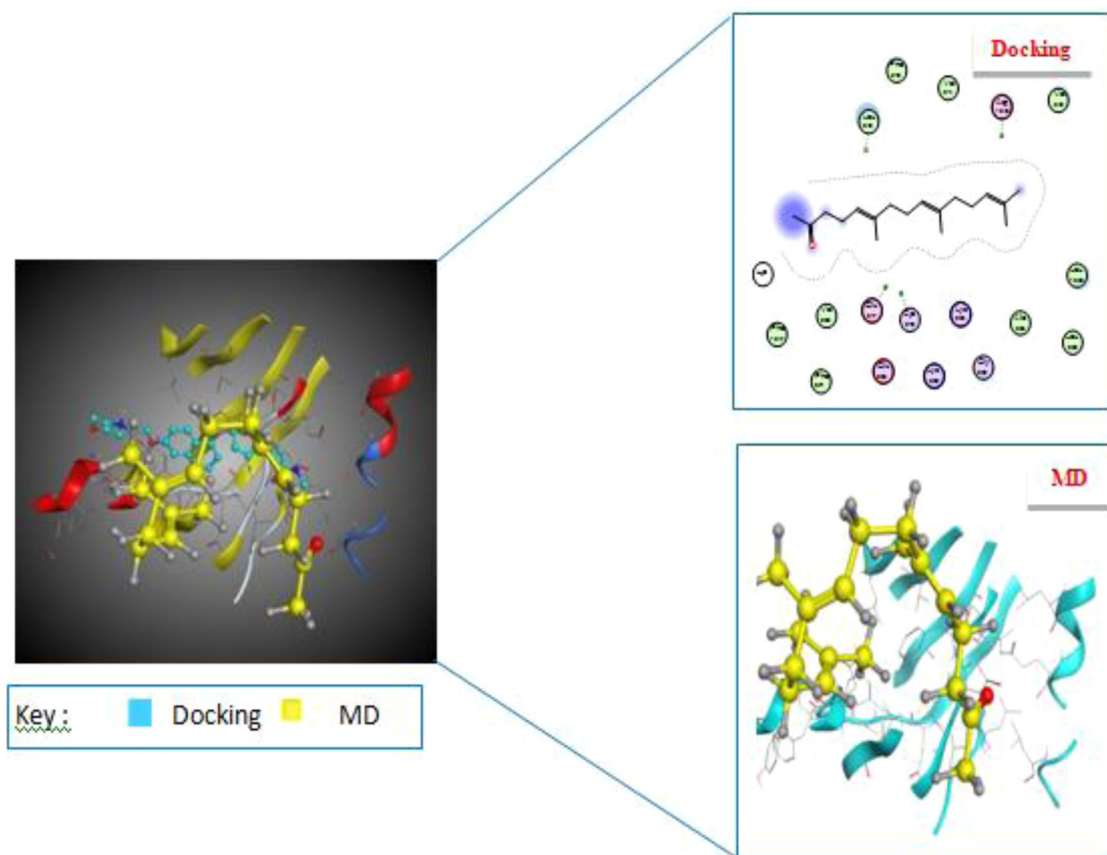


Figure 15. The compound – 19 Farnesylacetone is docked without water well into the binding site of VEGF-2 and has the highest dock score; there is also a clear difference between the final ligand pose and the docking pose after a molecular dynamics (MD) simulation.

recorded were in most cases 30 $\mu\text{g}/\text{mL}$. In addition, this sesquiterpene lactone from *Inulaviscosa* has anti-inflammatory activity according to several researchers (Hernández et al., 2001; Mániz et al., 2007;). In our case, the software package (MOE) does not identify any trace of the hydrophobic interactions between (*E*-Z-Farnesylacetone and both the VEGF receptors, which may be related to the large size of this ligand and the high number of torsion angles (flexibility). The results are identified to have inhibitory activities against novel VEGF receptors. Of these compounds, (*E*-Z-Farnesylacetone has a stronger bond and high affinity with VEGF. Therefore, the results obtained in this research honor ancestral know-how and provide real scientific support for the use of these plants by herbalists and traditional healers, while offering an imminent starting point for several studies to come.

5. Conclusion

The essential oil yield of *I. viscosa* showed a significant variability. Results showed the positive correlations between essential oil oxygenated sesquiterpene components and geographical locations. These compounds have been widely studied as VEGF inhibitors, which is of potential alternative drugs for the treatment of cancerous cells. Molecular docking used to study interaction between new compounds and VEGF receptors with score energy investigation and druglikeness properties experiments, ADME/T tests, Molecular

dynamics simulation have been performed to verify in silico the drug properties of the top ligand (of essential oils of the aerial parts of the *I. viscosa*). The best ligand (*E*-Z-Farnesylacetone which is the major component, in of essential oils of the aerial parts of the *I. viscosa*) has high binding affinity (Score) and good substitution for ATP, thus preventing phosphorylation activity. The natural inhibitor – (*E*-Z-Farnesylacetone – established different interactions between H- π and H-acceptor with key residues for active site of targets. These results allow us to propose (*E*-Z-Farnesylacetone natural and reliable treatment during the first stage of cancerous cells. Further *in vivo* and clinical studies regarding oxygenated sesquiterpenes to use as a useful supplementary agent in the pre-treatment of cancer are highly recommended.

Disclosure statement

The authors declare no conflict of interest.

Funding

Algerian Ministry of Higher Education and Scientific ResearchThe authors thanks the Algerian Ministry of Higher Education and Scientific Research for the support under the PRFU project (approval No. B00L01UN130120190009) and (approval No. B00L01UN130120180004). The authors thank director of Laboratory -LASNABIO for his financial support. This research received no external funding.

References

- Aissa, I., Nimbarte, V. D., Zardi-Bergaoui, A., Znati, M., Flamini, G., Ascrizzi, R., & Jannet, H. B. (2019). Isocostic acid, a promising bioactive agent from the essential oil of *Inula viscosa* (L.): Insights from drug likeness properties, molecular docking and SAR analysis. *Chemistry & Biodiversity*, 16(4), e1800648. <https://doi.org/10.1002/cbdv.201800648>
- Al-Dissi, N. M., Salhab, A. S., & Al-Hajj, H. A. (2001). Effects of *Inula viscosa* leaf extracts on abortion and implantation in rats. *Journal of Ethnopharmacology*, 77(1), 117–121. [https://doi.org/10.1016/S0378-8741\(01\)00261-6](https://doi.org/10.1016/S0378-8741(01)00261-6)
- Al-Hader, A., Aqel, M., & Hasan, Z. (1993). Hypoglycemic effects of the volatile oil of *Nigella sativa* seeds. *International Journal of Pharmacognosy*, 31(2), 96–100. <https://doi.org/10.3109/13880209309082925>
- Al-Qudah, M. A., Al-Jaber, H. I., Mayyas, A. S., Abu-Orabi, S. T., & Abu Zarga, M. H. (2010). Chemical compositions of the essential oil from the Jordanian medicinal plant *Dittrichia viscosa*. *Jordan Journal of Chemistry*, 5, 343–348.
- Arruebo, M., Vilaboa, N., Sáez-Gutierrez, B., Lambea, J., Tres, A., Valladares, M., & González-Fernández, Á. (2011). Assessment of the evolution of cancer treatment therapies. *Cancers*, 3(3), 3279–3330. <https://doi.org/10.3390/cancers3033279>
- Balusamy, S. R., Perumalsamy, H., Huq, M. A., & Balasubramanian, B. (2018). Anti-proliferative activity of *Origanum vulgare* inhibited lipogenesis and induced mitochondrial mediated apoptosis in human stomach cancer cell lines. *Biomedicine & Pharmacotherapy = Biomedecine & Pharmacotherapie*, 108, 1835–1844. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2018.10.028>
- Belabbes, R., Dib, M. E. A., Djabou, N., Ilias, F., Tabti, B., Costa, J., & Muselli, A. (2017). Chemical variability, antioxidant and antifungal activities of essential oils and hydrosol extract of *Calendula arvensis* L. from western Algeria. *Chemistry & Biodiversity*, 14(5), e1600482. <https://doi.org/10.1002/cbdv.201600482>
- Benchohra, H. A., Hamel, L., Bendimered, F. Z., & Benchohra, M. (2011). Chemical composition of essential oil of *Inula viscosa*. *Science Lib*, 3, 1–6.
- Benyoucef, F., Dib, M. E., Tabti, B., Zoheir, A., Costa, J., & Muselli, A. (2020). Synergistic effects of essential oils of *Ammoides verticillata* and *Satureja candidissima* against many pathogenic microorganisms. *Anti-Infective Agents*, 18(1), 72–78. <https://doi.org/10.2174/2211352517666190227161811>
- Berendsen, H. J., Postma, J. V., van Gunsteren, W. F., DiNola, A. R. H. J., & Haak, J. R. (1984). Molecular dynamics with coupling to an external bath. *The Journal of Chemical Physics*, 81(8), 3684–3690. <https://doi.org/10.1063/1.448118>
- Blanc, M. C., Bradesi, P., Gonc, Alves, M. J., Salgueiro, L., & Casanova, J. (2006). Essential oil of *Dittrichia viscosa* spp. *viscosa*: Analysis by ¹³C-NMR and antimicrobial activity. *Flavour and Fragrance Journal*, 21(2), 324–332.
- Bond, S. D., Leimkuhler, B. J., & Laird, B. B. (1999). The Nosé–Poincaré method for constant temperature molecular dynamics. *Journal of Computational Physics*, 151(1), 114–134. <https://doi.org/10.1006/jcph.1998.6171>
- Bouyahya, A., Et-Touys, A., Khouchlaa, A., El-Baaboua, A., Benjouad, A., Amzazi, S., Dakka, N., & Bakri, Y. (2018). Notes ethnobotaniques et phytopharmacologiques sur *Inula viscosa*. *Phytothérapie*. <https://doi.org/10.1007/s10298-017-1176-2>
- Cafarchia, C., De Laurentis, N., Milillo, M. A., Losacco, V., & Puccini, V. (2002). Antifungal activity of essential oils from leaves and flowers of *Inula viscosa* (Asteraceae) by Apulian region. *Parassitologia*, 44(3–4), 153–156.
- Camacho, A., Fernandez, A., Fernandez, C., Altarejos, J., & Laurent, R. (2000). Composition of the essential oil of *Dittrichia viscosa* (L.) W. Greuter. *Rivista Italiana*, 29, 3–8. <https://www.cabdirect.org/cabdirect/abstract/20000312872>
- Cavaliere, E., Mariotto, S., Fabrizi, C., de Prati, A. C., Gottardo, R., Leone, S., Berra, L. V., Lauro, G. M., Ciampa, A. R., & Suzuki, H. (2004). alpha-Bisabolol, a nontoxic natural compound, strongly induces apoptosis in glioma cells. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 315(3), 589–594. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2004.01.088>
- Chahmi, N., Anissi, J., Jennan, S., Farah, A., Sendide, K., & El Hassouni, M. (2015). Antioxidant activities and total phenol content of *Inulaviscosa* extracts selected from three regions of Morocco. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 5(3), 228–233. [https://doi.org/10.1016/S2221-1691\(15\)30010-1](https://doi.org/10.1016/S2221-1691(15)30010-1)
- Champagnat, M. N., Talay, M. D., & Perrin, N. (2013). Méthodes stochastiques en dynamique moléculaire. Université Nice-Sophia Antipolis.
- Chiario, B. (1968). On the constituents of *Inula viscosa* Ait. I. Essential oil content of azulenes. *Bollettino Chimico Farmaceutico*, 107(6), 370. PMID: 4182546
- Daina, A., Michielin, O., & Zoete, V. (2017). SwissADME: A free web tool to evaluate pharmacokinetics, drug-likeness and medicinal chemistry friendliness of small molecules. *Scientific Reports*, 7, 42717. <https://doi.org/10.1038/srep42717>
- De Laurentis, N., Losacco, V., Milillo, M. A., & Lai, O. (2002). Chemical investigations of volatile constituents of *Inulaviscosa* (L) Aiton (Asteraceae) from different areas of Apulia, Southern Italy. *Delpino*, n.s, 44, 115–119.
- Haoui, I. E., Derriche, R., Madani, L., & Oukali, Z. (2015). Analysis of the chemical composition of essential oil from Algerian *Inula viscosa* (L.) Aiton. *Arabian Journal of Chemistry*, 8(4), 587–590. <https://doi.org/10.1016/j.arabjc.2011.05.005>
- Hernández, V., del Carmen Recio, M., Mániz, S., Prieto, J. M., Giner, R. M., & Ríos, J. L. (2001). A mechanistic approach to the in vivo anti-inflammatory activity of sesquiterpenoid compounds isolated from *Inula viscosa*. *Planta Medica*, 67(8), 726–731. <https://doi.org/10.1055/s-2001-18342>
- Hou, C. J., Kulka, M., Zhang, J. Z., Li, Y. M., & Guo, F. J. (2014). Occurrence and biological activities of eremophilane-type sesquiterpenes. *Mini Reviews in Medicinal Chemistry*, 14(8), 664–677. <https://doi.org/10.2174/1389557514666140820105422>
- Jennings, W., & Shibamoto, T. (1980). *Qualitative analysis of flavour and fragrance volatiles by glass-capillary gas chromatography*. H. B. Jovanovich (Ed.) (1st ed.). Academic Press.
- Joulain, D., & König, W. A. J. (1998). *The atlas of spectra data of sesquiterpene hydrocarbone*. EB-Verlag.
- König, W. A., Hochmuth, D. H., & Joulain, D. (2001). *Terpenoids and related constituents of essential oils, library of mass finder 2.1*. Hamburg: Institute of Organic Chemistry, University of Hamburg.
- Kacprzyk, J., & Pedrycz, W. (Eds.). (2015). *Springer handbook of computational intelligence*. Springer.
- Kazemi-Lomedasht, F., Pooshang-Bagheri, K., Habibi-Anbouhi, M., Hajizadeh-Safar, E., Shahbazzadeh, D., Mirzahosseini, H., & Behdani, M. (2017). In vivo immunotherapy of lung cancer using cross-species reactive vasculer endothelial growth factor nanobodies. *Iranian Journal of Basic Medical Sciences*, 20(5), 489–496. <https://doi.org/10.22038/IJBMS.2017.8672>
- Khana, A., Khana, H., & Hussaina, J. (2008). Sesquiterpenes: The potent antioxidants. *Pakistan Journal of Scientific and Industrial Research*, 51(6), 343–350. <https://v2.pjsir.org/index.php/biological-sciences/article/view/711>
- Lauro, L., & Rolih, C. (1990). Observations and research on an extract of *Inula viscosa* Ait. *Bollettino Della Societa Italiana di Biologia Sperimentale*, 66(9), 829. PMID: 2073383
- Lipinski, C. A., Lombardo, F., Dominy, B. W., & Feeney, P. J. (1997). Experimental and computational approaches to estimate solubility and permeability in drug discovery and development settings. *Advanced drug delivery reviews*, 23(1–3), 3–25. <https://doi.org/10.1016/j.addr.2012.09.019>
- Lesgards, J. F., Baldovini, N., Vidal, N., & Pietri, S. (2014). Anticancer activities of essential oils constituents and synergy with conventional therapies: A review. *Phytotherapy Research: Ptr*, 28(10), 1423–1446. <https://doi.org/10.1002/ptr.5165>
- Ma, G.-H., Chen, K.-X., Zhang, L.-Q., & Li, Y.-M. (2019). Advance in biological activities of natural guaiene-type sesquiterpenes. *Medicinal Chemistry Research*, 28(9), 1339–1358. <https://doi.org/10.1007/s00044-019-02385-7>

- Máñez, S., Hernández, V., Giner, R. M., Ríos, J. L., & del Carmen Recio, M. (2007). Inhibition of pro-inflammatory enzymes by inuviscolide, a sesquiterpene lactone from *Inula viscosa*. *Fitoterapia*, 78(4), 329–331. <https://doi.org/10.1016/j.fitote.2007.03.005>
- Mazzio, E. A., & Soliman, K. F. (2009). *In vitro* screening for the tumoricidal properties of international medicinal herbs. *Phytotherapy Research: An International Journal Devoted to Pharmacological and Toxicological Evaluation of Natural Product Derivatives*, 23(3), 385–398. <https://doi.org/10.1002/ptr.2636>
- Mc Lafferty, F. W., & Stauffer, D. B. (1988). *The Wiley/NBS Registry of Mass Spectra Data* (1st ed.). Wiley-Interscience.
- Merghoub, N., Benbacer, L., Amzazi, S., Morjani, H., & El-Mzibri, M. (2009). Cytotoxic effect of some Moroccan medicinal plant extracts on human cervical cell lines. *Journal of Medicinal Plants Research*, 3(12), 1045–1050. <https://doi.org/10.5897/JMPR.9000424>
- Mesli, F., & Bouchentouf, S. (2018). PREDICTION OF STRUCTURAL AND THERMODYNAMIC PROPERTIES OF CHROMEN USING NUMERICAL METHODS. *Pharmacophore*, 9(4), 14–20. <https://orcid.org/10.7324/JAPS.2019.90104>
- Mesli, F., Daoud, I., & Ghalem, S. (2019). ANTIDIABETIC ACTIVITY OF NIGELLA SATIVA (BLACK SEED)-BY MOLECULAR MODELING ELUCIDATION, MOLECULAR DYNAMIC, AND CONCEPTUAL DFT INVESTIGATION. *Ene*, 17868(136.2380), C10H16. <http://www.pharmacophorejournal.com>
- Miguel, G., Faleiro, L., Cavaleiro, C., Salgueiro, L., & Casanova, J. (2008). Susceptibility of *Helicobacter pylori* to essential oil of *Dittrichia viscosa* subsp. *revoluta*. *Phytotherapy Research: Ptr*, 22(2), 259–263. <https://doi.org/10.1002/ptr.2284>
- Molecular Operating Environment (MOE), 2013.08. (2016). Chemical Computing Group Inc., 1010 Sherbooke St. West, Suite #910, Montreal, QC, Canada, H3A 2R7, 2019.
- National Institute of Standards and Technology. (2008). NIST ChemistryWebBook, NIST Standard Reference Database, Gaithersburg, MD. <http://webbook.nist.gov/chemistry>
- Nisha, C. M., Kumar, A., Nair, P., Gupta, N., Silakari, C., Tripathi, T., & Kumar, A. (2016). Molecular docking and *in silico* ADMET study reveals acylguanidine 7a as a potential inhibitor of β -secretase. *Advances in Bioinformatics*, 2016, 9258578.
- Novelli, G. P. (1997). Role of free radicals in septic shock. *Journal of Physiology and Pharmacology: An Official Journal of the Polish Physiological Society*, 48(4), 517–527. PMID: 9444605
- Parikesit, A. A., Nugroho, A. S., Hapsari, A., & Tambunan, U. S. F. (2015). The Computation of cyclic peptide with prolin-prolin bond as fusion inhibitor of DENV envelope protein through molecular docking and molecular dynamics simulation. *arXiv preprint arXiv:1511.01388*.
- Pérez-Alonso, M. J., Velasco-Negueruela, A., Duru, M. E., Harmandar, M., & García Vallejo, M. C. (1996). Composition of the volatile oil from the aerial parts of *Inulaviscosa* (L) Aiton. *Flavour and Fragrance Journal*, 11(6), 349–351.
- Petersson, A., Bennett, A., Tensfeldt, T. G., Al, -Laham, M. A., Shirley, W. A., & Mantzaris, J. (1988). A complete basis set model chemistry. I. The total energies of closed-shell atoms and hydrides of the first-row elements. *The Journal of Chemical Physics*, 89(4), 2193–2218. <https://doi.org/10.1063/1.455064>
- Rasouli, H., Hosseini-Ghazvini, S. M.-B., Adibi, H., & Khodarahmi, R. (2017). Differential α -amylase/ α -glucosidase inhibitory activities of plant-derived phenolic compounds: A virtual screening perspective for the treatment of obesity and diabetes. *Food & Function*, 8(5), 1942–1954. <https://doi.org/10.1039/c7fo00220c>
- Rozenblat, S., Grossman, S., Bergman, M., Gottlieb, H., Cohen, Y., & Dovrat, S. (2008). Induction of G2/M arrest and apoptosis by sesquiterpene lactones in human melanoma cell lines. *Biochemical Pharmacology*, 75(2), 369–382. <https://doi.org/10.1016/j.bcp.2007.08.024>
- Salim, B., Hocine, A., & Said, G. (2017). First study on anti-diabetic effect of rosemary and salvia by using molecular docking. *Journal of Pharmaceutical Research International*, 19(4), 1–12. <https://doi.org/10.9734/JPRI/2017/37061>
- Seca, A. M., Grigore, A., Pinto, D. C., & Silva, A. M. (2014). The genus *Inula* and their metabolites: From ethnopharmacological to medicinal uses. *Journal of Ethnopharmacology*, 154(2), 286–310. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2014.04.010>
- Sturgeon, J. B., & Laird, B. B. (2000). Symplectic algorithm for constant-pressure molecular dynamics using a Nosé–Poincaré thermostat. *The Journal of Chemical Physics*, 112(8), 3474–3482. <https://doi.org/10.1063/1.480502>
- Su, Y.-C., Hsu, K.-P., Wang, E. I.-C., & Ho, C.-L. (2015). Composition, *in vitro* cytotoxic, and antimicrobial activities of the flower essential oil of *diospyros discolor* from Taiwan. *Natural Product Communications*, 10(7), 1934578X1501000.
- Talib, W. H., & Mahasneh, A. M. (2010). Antiproliferative activity of plant extracts used against cancer in traditional medicine. *Scientia Pharmaceutica*, 78(1), 33–46. <https://doi.org/10.3797/scipharm.0912-11>
- Talib, W. H., & Mahasneh, A. M., (2010). Antimicrobial, cytotoxicity and phytochemical screening of Jordanian plants used in traditional medicine. *Molecules (Basel, Switzerland)*, 15(3), 1811–1824.33.
- Ferrara, N., Hillan, K. J., Gerber, H. P., & Novotny, W. (2004). Discovery and development of bevacizumab, an anti-VEGF antibody for treating cancer. *Nature Reviews Drug Discovery*, 3, 391–400. <https://doi.org/10.3390/molecules15031811>
- Talib, W. H., Zarga, M. H. A., & Mahasneh, A. M. (2012). Antiproliferative, antimicrobial and apoptosis inducing effects of compounds isolated from *Inula viscosa*. *Molecules (Basel, Switzerland)*, 17(3), 3291–3303. <https://doi.org/10.3390/molecules17033291>
- Tresaugues, L., Roos, A., Arrowsmith, C., Berglund, H., Bountra, C., & Collins, R. (2013). Crystal structure of VEGFR1 in complex with N-(4-chlorophenyl)-2-((pyridin-4-ylmethyl) amino) benzamide. *The RCSB PDB*. <https://doi.org/10.2210/pdb3HNG/pdb>
- Walker, C. B. (1996). The acquisition of antibiotic resistance in the periodontal microflora. *Periodontology 2000*, 10(1), 79–88. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0757.1996.tb00069.x>
- Wiesmann, C., Fuh, G., Christinger, H. W., Eigenbrot, C., Wells, J. A., & deVos, A. M. (1997). Crystal structure at 1.7 Å resolution of VEGF in complex with domain 2 of the Flt-1 receptor. *Cell*, 91, 695–704. [https://doi.org/10.1016/S0092-8674\(00\)80456-0](https://doi.org/10.1016/S0092-8674(00)80456-0)

RESEARCH ARTICLE

Anti-Inflammatory, Antimicrobial and Insecticidal Properties of *Daucus Gracilis Steinh* Flowers Essential Oil

Bouhassane Nadia^{1,*}, Nouria Merad-Boussalah^{1,*}, Fatima Benyoucef², Arrar Zoheir², Alain Muselli³ and Mohammed El Amine Dib¹

¹Laboratoire des Substances Naturelles & Bioactives (LASNABIO), Département de Chimie, Faculté des Sciences, Université Abou Bekr Belkaid, BP 119, Tlemcen 13000, Algeria; ²Laboratory of Organic Chemistry, Natural Substances and Analyses (COSNA), University Aboubekr Belkaid, Tlemcen, Algeria; ³Laboratoire Chimie des Produits Naturels, Université de Corse, UMR CNRS 6134, Campus Grimaldi, BP 52, FR-20250 Corté, France

Abstract: Background: *Daucus gracilis* Steinh belongs to the Apiaceae family. The flowers of this plant have been used by the population of western Algeria for the treatment of mouth ulcers. However, very few studies exist concerning the biological properties of essential oil of *Daucus gracilis* Steinh flowers.

Objectives: The purpose of this work was to study the chemical composition of the essential oil of *Daucus gracilis* flowers and to evaluate their antimicrobial, insecticidal and anti-inflammatory properties.

Methods: The distilled essential oil was analyzed by GC and GC-MS. The antimicrobial activity of the essential oil was evaluated using two methods i) diffusion method, and ii) micro dilution technique. The insecticidal activity of essential oil was evaluated against adults of *Tribolium confusum* by fumigant test. The *in vitro* assessment of the anti-inflammatory property of essential oil was assessed by the protein denaturation method.

Results: *Daucus gracilis* flowers essential oil mainly represented oxygenated monoterpenes such as geranyl acetate (18.3%), lavandulyl acetate (15.2%), lavandulyl isobutyrate (13.6%) and citronellulyl isobutyrate (6.8%). According to the results of antimicrobial activity, the essential oil of flowers presented prominent inhibitory action against *Aspergillus flavus* (0.06 µg/mL), followed by *Staphylococcus aureus*, *Escherichia faecalis*, *Bacillus cereus* and *Candida albicans* with MIC values of 0.125 µg/mL. The *Daucus gracilis* essential oil flowers proved to be very biocidal toward adults of *Tribolium confusum*; mortality of 100% of the population was noted with a dose of 2 µL/L air after 24 hours of exposure. Furthermore, the oil has shown a very strong inhibition of protein denaturation comparable to Diclofenac at a concentration of 30 µL/mL.

Conclusion: *Daucus gracilis* essential oil can be used as a pharmacological tools for inflammatory, antimicrobial and insecticidal properties.

Keywords: Essential oil, flowers, fumigant pesticides, antifungal effect, *Candida albicans*, *Aspergillus flavus*, inhibitory effect.

1. INTRODUCTION

The significant medical advances in the treatment of infectious diseases are largely due to the discovery and development of antibiotics since the pioneering work on penicillin discovered in 1928. The very widespread use of the different families of antibiotics is often inappropriate [1], and

lead to the emergence of bacterial resistance, which is today a real threat of therapeutic failure in modern medicine [2].

Nonsteroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs) are drugs that reduce or eliminate symptoms associated with an inflammatory phenomenon. Excessive use of anti-inflammatory drugs has many side effects, in particular, digestive disorders, heart problems, skin rashes, worsening or appearance of an infection (ENT, lung, skin ...), dizziness, drowsiness, etc. On the other hand, food security and increasing their income are the main goals of most farmers. Among the many factors that affect production are pests and diseases

* Address correspondence to this author at the Laboratoire des Substances Naturelles & Bioactives (LASNABIO), Département de Chimie, Faculté des Sciences, Université Abou Bekr Belkaid, BP 119, Tlemcen 13000, Algeria; Tel/Fax: 0021343411189; E-mail: n.meradboussalah@gmail.com

that can affect the entire crop. Accessibility to synthetic pesticides for pest and disease control is limited for many growers due to their cost. In addition, their improper application can exacerbate the effect of pests and lead to resistance to pesticides [3]. Aromatic, condiment and medicinal plants have been cultivated and harvested for centuries for their scent: they perfume the garden like dishes in the kitchen where they are called “fine herbs”. The leaves, stems, bulbs, roots, seeds, flowers, and bark are used in medicine and herbal medicine due to the aromas and essential oils that they exude in herbal teas and poultices [1, 4]. Plants contain a very large number of molecules that can have various pharmacological modes of action or even synergistic with respect to bacteria in the prevention or treatment of diseases of bacterial, anti-inflammatory etiology, or recognized to have pesticidal activity [5-7]. Essential oils are known to possess antimicrobial, insecticides and anti-inflammatory; some are classified as safe substances and could therefore be used to prevent the growth of pathogenic microorganisms and contaminants [8, 9]. The genus *Daucus* has been subjected to several studies concerning the chemical composition of their essential oils and biological activities [10-17].

However, very little work has been reported for *D. gracilis*. This plant belongs to the Apiaceae family, and is widely distributed in Algeria. It is generally found on the hills and along the sea. There is only one work which reports the antimicrobial activity of essential oil of aerial parts of *D. gracilis* [18]. However, as per our knowledge the flowers of this species have never been studied for their insecticidal and anti-inflammatory activities. For this purpose, this study explored the chemical composition and antimicrobial, insecticidal and anti-inflammatory properties of the essential oil of *D. gracilis* flowers.

2. MATERIALS AND METHODS

2.1. Plant Material and Essential oil Extraction

D. gracilis flowers used in this experiment were harvested from Sidi Abdeli station near Tlemcen city (Algeria) in early June 2018. Voucher specimen (Dgrc.DA.06.2018) was deposited with the Herbarium of the University of Tlemcen. The essential oil of dried *D. gracilis* flowers was produced by distillation for 5 h using a clevenger type apparatus and yielding 0.2% of yellow essential oil.

2.2. Analysis Conditions

The essential oil was examined by GC and GC/MS. GC analyses were carried out using a Perkin Elmer Auto-system GC apparatus equipped with a single injector FID detector and two fused-silica capillary columns (60 m x 0.22 mm, film thickness 0.25 μm) with different stationary phases: Rtx-1 (polydimethylsiloxane) and Rtx-Wax (polyethylene glycol) programmed from 60°-220°C at 2°C/min. For GC/MS analysis, the samples were analyzed using a Perkin Elmer TurboMass detector and the same column and conditions as previously described. Ion source temperature: 150°C; energy ionization: 70 eV; and electron ionization mass spectra were acquired over the mass range 35-350 Da. Split: 1/80., as previously reported [19].

The identification of individual compounds was based on their GC retention indices (RI) on polar and apolar columns, determined relative to the retention time of a series of alkanes with linear interpolation with those of authentic compounds or literature data [20-22] and (ii) also through computer matching with commercial mass spectral libraries [23, 24] and comparison of spectra with those of in-house laboratory library. Relative amounts of individual components were obtained on the basis of their GC peak areas without FID response factor correction, as previously reported [25].

2.3. Antimicrobial Activity

2.3.1. Microbial Strains

The antibacterial activity of *D. gracilis* flower oil was tested against several microorganisms four Gram-positive bacteria: *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923), *Listeria monocytogenes* (ATCC 15313), *Enterococcus faecalis* ATCC 49452 and *Bacillus cereus* (ATCC 10876), as well as three Gram-negative bacteria: *Escherichia coli* (ATCC 25912), *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853), *Klebsiella pneumoniae* (ATCC 700603) and two yeasts: *Candida albicans* (IP444) and *Aspergillus flavus* (ATCC 200026).

2.3.2. Paper-Disc Diffusion Method

The antibacterial activity of the oil was estimated by the agar paper disc diffusion method, according to Rios [26]. The aromatogram consists of depositing discs filter paper 6 mm in diameter, previously sterilized on the surface of the agar inoculated after having been loaded with 10 μl of essential oil. The agars were prepared beforehand in Petri dishes 9 cm in diameter; the thickness of the agar was 4 mm. After 24 hours of incubation at 37 °C, the diameter of inhibition was measured. For fungi, they were incubated at a temperature of 28 °C for 7 days. Other loaded discs with 10 μl of DMSO were used as negative controls in addition to the antibiotic disc as a positive control. All the tests were performed in triplicate.

2.3.3. Microdilution Technique in a Liquid Medium

The essential oils were dissolved in sterile micro-tubes containing DMSO. $\frac{1}{2}$ series dilutions were made in 96-well microplates. 50 μl of each dilution was transferred to the wells of the microplate, which each containing 150 μl of nutritive broth inoculated with 10^6 CFU / ml of cultures of bacteria. After 18 hours of incubation at 37 °C, the MIC of essential oil was determined from the first well in the range devoid of bacterial growth [27]. All the tests were performed in triplicate.

2.4. Insecticidal Activity

2.4.1. Rearing of Test Insects

Tribolium confusum adults were collected from contaminated corn bran and identified by the team of Pr Gaouar N (Laboratory of Ecology and Management of Natural Ecosys-

tems, University of Tlemcen). The adults of *Tribolium confusum* were placed in glass jars containing corn bran and then placed in an oven set at a temperature of 27-28°C and relative humidity of 70% as suggested by Kumar *et al.* [28].

2.4.2. Fumigation Toxicity

To determine the fumigant toxicity of essential oils, appropriate concentrations, viz., 0.5.1 and 2 µL essential oil were applied separately on the filter papers (Whatman No. 1, 2 cm diameter) without using any solvent, and the filter papers were attached to the under-surface of lids of plastic jars with 1 L volumes. These were kept at a temperature of 25-26 °C and 80-85% relative humidity. The control sets received no essential oil. Tests were carried out in triplicate. Mortality was checked after 24 h from the commencement of exposure. The percentage of insect mortality was calculated using the Abbott correction formula, as previously reported [29].

$$\text{Corrected mortality} = (\text{OMT} - \text{OMC}) / (100 - \text{CM}) \times 100$$

Were OMT: Observed mortality in treatment; OMC: Observed mortality in control; CM:

Control mortality Percentage mortality = (Number of dead larvae/Number of larvae introduced) x 100

2.5. In vitro evaluation of anti-inflammatory activity

To evaluate the *in vitro* anti-inflammatory activity of essential oil, the denaturation of the protein method was applied. Diclofenac sodium, a powerful anti-inflammatory was used as a reference. 2 ml of different essential oil concentrations (10, 20 and 30 µL/ml) was mixed with 2.8 ml of a mixed phosphate-buffered solution (pH 6.4) and 0.2 ml of egg albumin (fresh), then the mixture was incubated at 37° C for 15 minutes. Denaturation of albumin was induced in a water bath at 70 °C for 5 min. After cooling, the absorbance was measured at 660 nm as previously reported [30]. The percentage of denaturation inhibition was calculated according to the following formula:

$$\% \text{ inhibition} = (A_{\text{control}} - A_{\text{test}}) / A_{\text{control}} \times 100$$

2.6. Statistical Analysis

Data are expressed as mean ± SD from at least three samples. The differences between experimental conditions and controls were analyzed using test t (p<0.05 was considered statistically significant). Statistical analyses were carried out using analysis of variance (ANOVA).

3. RESULTS and DISCUSSION

3.1. Chemical Composition

Analysis of the constituents of the essential oil of *D. gracilis* allowed the identification of thirty-four compounds with a percentage of 96.8%. (Table 1). The identification of the essential oil was carried out by GC and GC-MS analyses; all the compounds were identified by comparison of their retention indices and mass spectra. Twelve monoterpene hydrocarbons, 7 oxygenated sesquiterpenes, 6 oxygenated monoterpenes, 5 no-terpenic oxygenated compounds and 5 sesquiterpene hydrocarbons were identified. The essential oil was dominated by a high percentage of oxygenated components (81.7%), especially oxygenated monoterpenes (51.4%), followed by a significant amount of oxygenated sesquiterpenes (23.5%). However, oxygenated monoterpenes were present in a highly significant amount in ester components such as GERANYL ACETATE (18.3%), lavandulyl acetate (15.2%), lavandulyl isobutyrate (13.6%), citronellyl isobutyrate (6.8%) and lavandulyl isovalerate (2.2%), followed by alcohol monoterpenes with linalool (12.3%) and linalool oxide thf-cis (5.3%). The monoterpene hydrocarbons (14.6%) were represented by (Z)-β-Ocimene (3.5%), myrcene (3.2%), α-pinene (2.3%), (E)-β-Ocimene (1.2%) and α-thujene (1.1%). (Table 1). There are only two studies on the chemical composition of *D. gracilis* essential oil in the literature. The analysis of essential oil of aerial parts reported by Koli *et al.* [18], revealed the presence of 49 constituents. The major compounds were elemicin (35.3%), geranyl acetate (26.8%), Cedr-8(15)-en-9-a-ol (8.3%), Geraniol (4.7%) and β-Bisabolene (3.2%). The chemical composition of the essential oils obtained from flowers of *D. gracilis* reported by Benyelles *et al.* [17], allowed identifying 44 compounds. The oil was characterized by the presence of linalool (22.7%), ammimajane (10.4%), 3-methyl isovalerate (10.3%), and 2-methyl butyl 2-methyl butyrate (6.2%) as main components. The differences observed between our essential oil and the work reported by Benyelles *et al.* [17], may be due to many factors such as the harvest period (Early flowering or in full bloom), soil types or due to climate change. However, more works are needed to study this variation in chemical composition.

drocarbons, 7 oxygenated sesquiterpenes, 6 oxygenated monoterpenes, 5 no-terpenic oxygenated compounds and 5 sesquiterpene hydrocarbons were identified. The essential oil was dominated by a high percentage of oxygenated components (81.7%), especially oxygenated monoterpenes (51.4%), followed by a significant amount of oxygenated sesquiterpenes (23.5%). However, oxygenated monoterpenes were present in a highly significant amount in ester components such as GERANYL ACETATE (18.3%), lavandulyl acetate (15.2%), lavandulyl isobutyrate (13.6%), citronellyl isobutyrate (6.8%) and lavandulyl isovalerate (2.2%), followed by alcohol monoterpenes with linalool (12.3%) and linalool oxide thf-cis (5.3%). The monoterpene hydrocarbons (14.6%) were represented by (Z)-β-Ocimene (3.5%), myrcene (3.2%), α-pinene (2.3%), (E)-β-Ocimene (1.2%) and α-thujene (1.1%). (Table 1). There are only two studies on the chemical composition of *D. gracilis* essential oil in the literature. The analysis of essential oil of aerial parts reported by Koli *et al.* [18], revealed the presence of 49 constituents. The major compounds were elemicin (35.3%), geranyl acetate (26.8%), Cedr-8(15)-en-9-a-ol (8.3%), Geraniol (4.7%) and β-Bisabolene (3.2%). The chemical composition of the essential oils obtained from flowers of *D. gracilis* reported by Benyelles *et al.* [17], allowed identifying 44 compounds. The oil was characterized by the presence of linalool (22.7%), ammimajane (10.4%), 3-methyl isovalerate (10.3%), and 2-methyl butyl 2-methyl butyrate (6.2%) as main components. The differences observed between our essential oil and the work reported by Benyelles *et al.* [17], may be due to many factors such as the harvest period (Early flowering or in full bloom), soil types or due to climate change. However, more works are needed to study this variation in chemical composition.

3.2. Antimicrobial Activities

The antimicrobial activity of the essential oil of *D. gracilis* flowers from Algeria evaluated by the diffusion method made it possible to reveal interesting activity on the growth of *S. aureus*, *L. monocytogenes*, *E. faecalis* and *K. pneumoniae* with diameters inhibition 30, 20, 21 and 14 mm almost equal to reference antibiotic respectively. However, *E. coli*, *L. monocytogenes* and *P. aeruginosa* have shown resistance to essential oil. On the other hand, *D. gracilis* essential oil displayed an important antifungal effect against *C. albicans* (32 mm) and *A. flavus* (35 mm) which was superior to amphotericin B (30 and 33 mm, respectively) (Table 2). To obtain more precise data about the antibacterial properties of the tested essential oil, the minimum inhibitory concentration (MIC) was determined (Table 3). The most important inhibitory action of essential oil was observed against *A. flavus* (0.06 µg/mL), followed by *S. aureus*, *E. faecalis*, *B. cereus* and *C. albicans* with MIC values of 0.125 µg/mL. The lowest antibacterial activity of essential oil was obtained against *E. coli*, *P. aeruginosa*, *K. pneumoniae* and *L. monocytogenes* with MICs exceeding 1.2 µg/ml. The study of the antimicrobial activity of our essential oil showed more pronounced proprieties against *S. aureus*, *L. monocytogenes*, *E. faecalis*, *K. pneumoniae*, *A. flavus* and *C. albicans*.

Table 1. Chemical composition of *D. gracilis* flowers essential oil.

S. No.	Compounds	RI _{Lit} ^b	RI _a ^c	RI _p ^d	(%) ^e	Identification ^f
1	Isobutyl isobutyrate	902	898	1090	tr	RI, MS
2	α -Thujene	922	922	1022	1.1	RI, MS
3	α -Pinene	931	930	1022	2.3	RI, MS
4	Camphene	950	948	1064	0.1	RI, MS
5	Sabinene	964	964	1117	1.5	RI, MS
6	6-Methylhept-5-en-2-one	966	964	1324	0.2	RI, MS
7	β -Pinene	970	970	1107	0.2	RI, MS
8	Myrcene	979	980	1155	3.2	RI, MS
9	Isobutyl 2-methylbutyrate	991	990	1173	tr	RI, MS
10	3-Methylbutyl isobutyrate	1002	998	1194	4.3	RI, MS
11	2-Methylbutyl isobutyrate	1004	1003	1194	2.1	RI, MS
12	α -Terpinene	1008	1012	1269	0.5	RI, MS
13	<i>p</i> -Cymene	1011	1012	1262	0.1	RI, MS
14	Limonene	1020	1021	1196	0.8	RI, MS
15	β -Phellandrene	1021	1021	1206	0.1	RI, MS
16	(<i>Z</i>)- β -Ocimene	1024	1025	1226	3.5	RI, MS
17	(<i>E</i>)- β -Ocimene	1034	1036	1244	1.2	RI, MS
18	Linalool oxyde THF-cis	1073	1073	1460	5.3	RI, MS
19	Linalool	1081	1090	1538	12.3	RI, MS
20	Isopentyl 2-methylbutyrate	1086	1084	1299	tr	RI, MS
21	Terpinen-4-ol	1161	1161	1589	0.1	RI, MS
22	α -Terpineol	1179	1172	1682	0.2	RI, MS
23	cis-3-Hexenyl 3-methylbutyrate	1220	1217	1455	0.1	RI, MS
24	Hexyl 2-methylbutyrate	1226	1228	1420	0.1	RI, MS
25	Lavandulyl acetate	1270	1271	1589	15.2	RI, MS
26	Geranyl acetate	1358	1360	1749	18.3	RI, MS
27	(<i>E</i>)- β -Damascenone	1362	1362	1803	0.1	RI, MS
28	α -Copaene	1379	1380	1476	0.2	RI, MS
29	β -Bourbonene	1385	1383	1509	0.1	RI, MS
30	Lavandulyl isobutyrate	1407	1405	1667	13.6	RI, MS
31	(<i>E</i>)- β -Farnesene	1447	1445	1656	0.1	RI, MS
32	Phenylethyl 2-methylbutyrate	1460	1458	1950	tr	RI, MS
33	Citronellyl isobutyrate	1469	1467	1716	6.8	RI, MS
34	Germacrene D	1480	1473	1694	0.1	RI, MS
35	Lavandulyl isovalerate	1495	1492	1760	2.2	RI, MS
36	Caryophyllene oxide	1578	1572	1935	0.5	RI, MS
37	Geranyl 2-methylbutyrate	1591	1589	1882	tr	RI, MS
38	τ -Muurolol	1633	1630	2140	0.2	RI, MS
39	α -Cadinol	1643	1645	2225	0.1	RI, MS
% Total identification		-	-	-	96.8	-
% Oxygenated monoterpenes		-	-	-	51.4	-
% No-terpenic oxygenated compounds		-	-	-	6.8	-
% Oxygenated sesquiterpenes		-	-	-	23.5	-
% Monoterpene hydrocarbons		-	-	-	14.6	-
% Sesquiterpene hydrocarbons		-	-	-	0.5	-
% Oxygenatad compounds		-	-	-	81.7	-

a: Order of elution is given on apolar column (Rtx-1); b: Retention indices of literature on the apolar column (RILit) reported from König *et al.*, 2001 [19]; c: Retention indices on the apolar Rtx-1 column (RIa); d: Retention indices on the polar Rtx-wax column (RIp); e: Normalized Percentages are given on the apolar column except for components with identical RIa (percentages are given on the polar column); f: RI: Retention Indices; MS: Mass Spectra in electronic impact mode.

Table 2. Inhibition Zones of *D. gracilis* essential oil

Microorganisms		Zones of Inhibition (mm)		
		EO (10 µg /disc)	Gent (10 µg/disc)	Amph B
Gram-positive bacteria	<i>S. aureus</i>	30±0.5	33.1±0.6	-
	<i>L. monocytogenes</i>	5.1±0.6	12.2±0,58	-
	<i>E. faecalis</i>	20.2±0,5	18,5 ± 0,5	-
	<i>B. cereus</i>	21.0±0.5	22.3±0.7	-
Gram-negative bacteria	<i>E. coli</i>	11.6±0.7	23.2±0,5	-
	<i>P. aeruginosa</i>	10.1 ±1.7	25.6±1.5	-
	<i>K. pneumoniae</i>	14.2±1.5	15.4±0.70	-
Yeast	<i>C. albicans IP444</i>	32.5±1.2	-	30.2±0.9
	<i>A. flavus</i>	35.4±1.6	-	33.3±0.3

EO: Essential oil; Gent: Gentamicin; Amph B: Amphotericin B.

Table 3. Minimum inhibitory concentration of *D. gracilis* flowers essential oil

Microorganisms		MIC (µg/mL)		
		EO	Gent	Ampho B
Gram-positive bacteria	<i>S. aureus</i>	0.125±0.0	0.416±0.1	-
	<i>L. monocytogenes</i>	1.25±0.2	0.812±0.1	-
	<i>E. faecalis</i>	0.125±0.0	0.125±0.0	-
	<i>B. cereus</i>	0.125±0.0	0.512±0.0	-
Gram-negative bacteria	<i>E. coli</i>	1.512±0.2	0.650±0.0	-
	<i>P. aeruginosa</i>	1.512±0.1	0.412±0.0	-
	<i>K. pneumoniae</i>	1.410±1.2	0.650±0.1	-
Yeast	<i>C. albicans IP444</i>	0.125±0.0	-	0.310±0.0
	<i>A. flavus</i>	0.060±0.0	-	0.125±0.0

EO: Essential oil; Gent: Gentamicin; Ampho B: Amphotericin B.

It is known that the majority of antimicrobial activities of essential oils are closely related to their chemical composition, where the oxygenated terpenes possess significant activity. For example, it has been proven that linalool has antibacterial activity and it is used as a preservative of food destroying the cell membrane of *Pseudomonas aeruginosa* [31, 32]. The Geranyl acetate has significant insecticidal properties against *Microsporium gypseum*, *Trichophyton verrucosum* and *Candida tropicalis* [33].

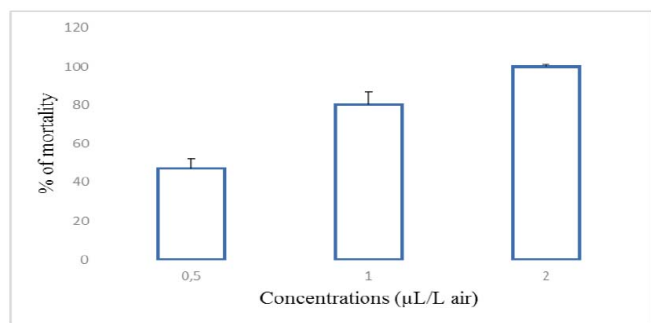


Fig. (1). Insecticidal activity of *D. gracilis* essential oil after 24h of exposure. (A higher resolution / colour version of this figure is available in the electronic copy of the article).

3.3. Insecticidal Activity of *D. Gracilis* Essential Oil

The results of the toxicity test of the essential oil of *D. gracilis* flowers by the fumigant method on *T. confusum* show that the percentage of mortality increases with increasing concentration. At the lowest concentration (0.5 µL/L air), the essential oil caused 47% mortality of *T. confusum* after 24 h of exposure. At the highest concentration (2 µL/L air), the oil caused 100% mortality (Fig. 1). In this study, the essential oil of *D. gracilis* was found to be toxic to the insect *T. confusum*. This effect could depend on its chemical composition and the level of sensitivity of the insects. Indeed, the *D. gracilis* flowers essential oil essentially contains oxygenated monoterpenes (51.4%) such as linalool, lavandulyl acetate and geranyl acetate. Many molecules have been studied for their insecticidal properties; for example, linalool has been shown to have fumigant and repellent properties on various crop-destructive insects [34]. Linalool was also toxic to the rice weevil, *Sitophilus oryzae* [35]. On the other hand, according to the study by Govindarajan and Benelli [36], they showed that lavandulyl acetate exhibited insecticidal activities against the larvae of *Anopheles subpictus*, *Anopheles albopictus* and *Culex tritaeniorhynchus*. To our knowledge, no work has reported the biological activities of geranyl acetate and lavandulyl isobutyrate. Thereby, a study of the insecticidal activity of these molecules is to be ex-

pored. However, it was shown that insecticidal activity of essential oil against pests could not be attributed to the action of their major components only, but also even minor compounds may be involved [25].

3.4. Anti-Inflammatory Activity

The percentage inhibition of protein denaturation shown by the essential oil of *D. gracilis* flowers compared to that of sodium Diclofenac is shown in Table 4. The results have shown that the oil has a very good inhibitory effect, with a percentage of 99.7% at a concentration of 30 ($\mu\text{L} / \text{mL}$) in comparison with diclofenac (100%). The anti-inflammatory activity of the essential oil can be due to their chemical compositions such as linalool, geranyl acetate and Lavandulyl isobutyrate. Indeed, the results obtained by Quintans-Júnior *et al.* [37], suggest that geranyl acetate may present anti-inflammatory properties. On the other hand, it has been shown that all plant species producing a relevant amount of linalool and linalyl acetate are potential anti-inflammatory agents [38].

Table 4. Percentage inhibitions of protein denaturation of *D. gracilis* essential oil

Concentrations ($\mu\text{L}/\text{mL}$)	% Inhibitions	
	Essential Oil	Diclofenac Sodium
10	56.6 \pm 1.2	74.3 \pm 3.3
20	80.2 \pm 3.0	100 \pm 00
30	99.7 \pm 2.2	100 \pm 00

CONCLUSION

This work is a contribution to the knowledge of the biological properties of *D. gracilis* plant. Concerning the plant chemistry, we conclude that the flower oil mainly represents ester and alcohol components especially, geranyl acetate, lavandulyl acetate, lavandulyl isobutyrate, citronellyl isobutyrate and linalool. Bioassay screening of *D. gracilis* flowers essential oil showed good antimicrobial, insecticidal and anti-inflammatory activities. However, other *in vivo* works to know allergenicity of the essential oil must be carried out for the application of this oil on an industrial scale.

ETHICS APPROVAL AND CONSENT TO PARTICIPATE

Not applicable.

HUMAN AND ANIMAL RIGHTS

No animals/humans were used in the study that is the basis of this research.

CONSENT FOR PUBLICATION

Not applicable.

AVAILABILITY OF DATA AND MATERIALS

Not applicable.

FUNDING

None.

CONFLICT OF INTEREST

The authors declare no conflict of interest, financial or otherwise.

ACKNOWLEDGEMENTS

The authors are indebted to Benabadji N from the University of Tlemcen, Laboratory of Ecology and Management of Natural Ecosystems, for botanical identification of plants.

REFERENCES

- [1] Ducrot, C.; Fric, D.; Lalmanach, C.D.; Monnet, V.; Sanders, P.; Schouler, C. Perspectives d'alternatives thérapeutiques antimicrobiennes aux antibiotiques en élevage. *INRA Prod. Anim.*, **2017**, *30*(1), 77-88. [http://dx.doi.org/10.20870/productions-animales.2017.30.1.2234]
- [2] Zahar, J.R.; Lesprit, P. Management of multidrug resistant bacterial endemic. *Med. Mal. Infect.*, **2014**, *44*(9), 405-411. [http://dx.doi.org/10.1016/j.medmal.2014.07.006] [PMID: 25169940]
- [3] Raison-Peyron, N. Hypersensibilité/ Intolérance aux AINS: multiples aspects cliniques? *Rev. Fr. Allergol. Immunol. Clin.*, **2007**, *47*, S55-S59. [http://dx.doi.org/10.1016/S0335-7457(07)80015-3]
- [4] Shin, S.; Kim, J.H. *In vitro* inhibitory activities of essential oils from two Korean thymus species against antibiotic-resistant pathogens. *Arch. Pharm. Res.*, **2005**, *28*(8), 897-901. [http://dx.doi.org/10.1007/BF02973874] [PMID: 16178414]
- [5] Bulfon, C.; Volpatti, D.; Galeotti, M. Current research on the use of plant-derived products in farmed fish. *Aquacult. Res.*, **2015**, *46*, 513-551. [http://dx.doi.org/10.1111/are.12238]
- [6] Anjarwalla, P.; Ofori, D.A.; Jamnadass, R.; Mowo, J.G.; Stevenson, P.C. Proceedings of the training workshop on sustainable production, harvesting and conservation of botanical pesticides. *World Agroforestry Centre (ICRAF), Nairobi, Kenya*, **2013**.
- [7] Anjarwalla, P.; Ofori, D.A.; Belmain, S.; Jamnadass, R.; Stevenson, P.C. Proceedings of the training workshop on Optimisation of Pesticidal plants: Technology, Innovation, Outreach & Networks (OPTIONS). *World Agroforestry Centre (ICRAF), Nairobi, Kenya*, **2015**.
- [8] Gachkar, L.; Yadegari, D. Bagher, Rezaei, M.; Taghizadeh, M.; Aastaneh, S.A.; Rasooli, I. Chemical and biological characteristics of *Cuminum cyminum* and *Rosmarinus officinalis* essential oils. *Food Chem.*, **2007**, *102*, 898-904. [http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2006.06.035]
- [9] Rasooli, I.; Fakoor, M.H.; Yadegarinia, D.; Gachkar, L.; Allameh, A.; Rezaei, M.B. Antimycotoxigenic characteristics of *Rosmarinus officinalis* and *Trachyspermum copticum* L. essential oils. *Int. J. Food Microbiol.*, **2008**, *122*(1-2), 135-139. [http://dx.doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2007.11.048] [PMID: 18190993]
- [10] Saad, H.E.A.; ElSharkawy, S.H.; Halim, A.F. Essential oils of *Daucus carota* ssp. *maximus*. *Pharm. Acta Helv.*, **1995**, *70*, 79-84. [http://dx.doi.org/10.1016/0031-6865(94)00054-Y]
- [11] Pinilla, M.G.; Pérez-Alonso, M.J.; Velasco-Negueruela, A. Volatile constituents from fruits of *Daucus carota* L. *gummifer* Hook. Fil. *J. Essent. Oil Res.*, **1995**, *7*, 433-435. [http://dx.doi.org/10.1080/10412905.1995.9698556]
- [12] Tavares, A.C.; Gonçalves, M.J.; Cavaleiro, C.; Cruz, M.T.; Lopes, M.C.; Canhoto, J.; Salgueiro, L.R. Essential oil of *Daucus carota* subsp. *halophilus*: composition, antifungal activity and cytotoxicity. *J. Ethnopharmacol.*, **2008**, *119*(1), 129-134. [http://dx.doi.org/10.1016/j.jep.2008.06.012] [PMID: 18606215]
- [13] Imamu, X.; Yili, A.; Aisa, H.A.; Maksimov, V.V. Veshkurova, Salikhov, O.N.; Sh, I. Chemical composition and antimicrobial activity

- ty of essential oil from *Daucus carota sativa* seeds. *Chem. Nat. Compd.*, **2007**, *43*, 495-496.
[http://dx.doi.org/10.1007/s10600-007-0174-2]
- [14] El Amine Dib, M.; Djabou, N.; Desjobert, J.M.; Allali, H.; Tabti, B.; Muselli, A.; Costa, J. Characterization of volatile compounds of *Daucus crinitus* Desf. Headspace Solid Phase Microextraction as alternative technique to Hydrodistillation. *Chem. Cent. J.*, **2010**, *4*(16), 16.
[http://dx.doi.org/10.1186/1752-153X-4-16] [PMID: 20858266]
- [15] Bendiabdellah, A.; El Amine Dib, M.; Djabou, N.; Allali, H.; Tabti, B.; Muselli, A.; Costa, J. Biological activities and volatile constituents of *Daucus muricatus* L. from Algeria. *Chem. Cent. J.*, **2012**, *6*(1), 48.
[http://dx.doi.org/10.1186/1752-153X-6-48] [PMID: 22647252]
- [16] Meliani, N.; Dib, M.A.; Djabou, N.; Costa, J.; Allali, H.; Tabti, B.; Muselli, A. Chemical composition and antimicrobial activity of *Daucus aureus* essential oils from Algeria. *Nat. Prod. Commun.*, **2013**, *8*(6), 835-840.
[http://dx.doi.org/10.1177/1934578X1300800639]
- [17] Benyelles, B.; Allali, H.; Dib, M.E.A.; Djabou, N.; Paolini, J.; Costa, J. Chemical Composition Variability of Essential Oils of *Daucus gracilis* Steinh. from Algeria. *Chem. Biodivers.*, **2017**, *14*(6), e1600490.
[http://dx.doi.org/10.1002/cbdv.201600490] [PMID: 28212458]
- [18] El Kolli, M.; Laouer, H.; El Kolli, H.; Akkal, S.; Sahli, F. Chemical analysis, antimicrobial and anti-oxidative properties of *Daucus gracilis* essential oil and its mechanism of action. *Asian Pac. J. Trop. Biomed.*, **2016**, *6*(1), 8-15.
[http://dx.doi.org/10.1016/j.apjtb.2015.08.004]
- [19] Mami, R.I.; Belabbes, R.; Dib, M.A.; Tabti, B.; Costa, J.; Muselli, A. Biological Activities of Carlina Oxide Isolated from the Roots of *Carthamus caeruleus*. *Nat. Prod. J.*, **2020**, *10*, 145-152.
[http://dx.doi.org/10.2174/2210315509666190117152740]
- [20] Jennings, W.; Shibamoto, T. Qualitative analysis of flavour and fragrance volatiles by glass-capillary gas chromatography. *Jovanovich, H.B (Ed.)*, *First ed*; Academic Press: New-York, **1980**.
- [21] König, W.A.; Hochmuth, D.H.; Joulain, D. *Terpenoids and Related Constituents of Essential oils*, first ed.; Library of Mass Finder 2.1: Institute of Organic Chemistry: Hamburg, **2001**.
- [22] Mc Lafferty, F.W.; Stauffer, D.B. *The Wiley/NBS Registry of Mass Spectra Data*, first ed.; Wiley-Interscience: New-York, **1988**.
- [23] Mc Lafferty, F.W.; Stauffer, D.B. *Wiley Registry of Mass Spectral Data*, 6th ed.; Mass Spectrometry Library Search System Bench-Top/PBM, version 3.10d. Palisade: Newfield, **1994**.
- [24] *National Institute of Standards and Technology: PC Version 1.7 of the NIST/EPA/NIH Mass Spectral Library*; Perkin-Elmer Corp, Norwalk, CT, USA, **1999**.
- [25] Belabbes, R.; Dib, M.E.A.; Djabou, N.; Ilias, F.; Tabti, B.; Costa, J.; Muselli, A. Chemical Variability, Antioxidant and Antifungal Activities of Essential Oils and Hydrosol Extract of *Calendula arvensis* L. from Western Algeria. *Chem. Biodivers.*, **2017**, *14*(5), e1600482.
[http://dx.doi.org/10.1002/cbdv.201600482] [PMID: 28109063]
- [26] Rios, J.L.; Recio, M.C.; Villar, A. Antimicrobial activity of selected plants employed in the Spanish Mediterranean area. *J. Ethnopharmacol.*, **1987**, *21*(2), 139-152.
[http://dx.doi.org/10.1016/0378-8741(87)90124-3] [PMID: 3325696]
- [27] Bassole, I.H.N.; Ouattara, A.S.; Nebie, R.; Ouattara, C.A.; Kabore, Z.I.; Traore, S.A.; Kabore, Z.I.; Traore, S.A. Chemical composition and antibacterial activities of the essential oils of Lippia chevalieri and Lippia multiflora from Burkina Faso. *Phytochemistry*, **2003**, *62*(2), 209-212.
[http://dx.doi.org/10.1016/S0031-9422(02)00477-6] [PMID: 12482458]
- [28] Kumar, P.; Mishra, S.; Malik, A.; Satya, S. Biocontrol potential of essential oil monoterpenes against housefly, *Musca domestica* (Diptera: Muscidae). *Ecotoxicol. Environ. Saf.*, **2014**, *100*, 1-6.
[http://dx.doi.org/10.1016/j.ecoenv.2013.11.013] [PMID: 24433784]
- [29] Mejdoub, K.; Mami, R.I.; Belabbes, R.; Dib, M.A. Djabou, N.; Tabti, B.; Gaouar Benyelles, N.; Costa, J.; Muselli. Chemical Variability of *Atractylis gummifera* Essential Oils at Three Developmental Stages and Investigation of Their Antioxidant, Antifungal and Insecticidal Activities. *Curr. Bioact. Compd.*, **2020**, *16*, 489-497.
[http://dx.doi.org/10.2174/1573407215666190126152112]
- [30] Chandra, S.; Chatterjee, P.; Dey, P.; Bhattacharya, S. Evaluation of anti-inflammatory effect of ashwagandha: a preliminary study *in vitro*. *Pharmacogn. J.*, **2012**, *4*, 47-49.
[http://dx.doi.org/10.5530/pj.2012.29.7]
- [31] Klein, G.; Rüben, C.; Upmann, M. Antimicrobial activity of essential oil components against potential food spoilage microorganisms. *Curr. Microbiol.*, **2013**, *67*(2), 200-208.
[http://dx.doi.org/10.1007/s00284-013-0354-1] [PMID: 23503789]
- [32] Liu, X.; Cai, J.; Chen, H.; Zhong, Q.; Hou, Y.; Chen, W.; Chen, W. Antibacterial activity and mechanism of linalool against *Pseudomonas aeruginosa*. *Microb. Pathog.*, **2020**, *141*, 103980.
[http://dx.doi.org/10.1016/j.micpath.2020.103980] [PMID: 31962183]
- [33] Khayyat, S.A.; Sameeh, M.Y. Bioactive epoxides and hydroperoxides derived from naturally monoterpene geranyl acetate. *Saudi Pharm. J.*, **2018**, *26*(1), 14-19.
[http://dx.doi.org/10.1016/j.jsps.2017.11.005] [PMID: 29379328]
- [34] Lee, B.H.; Choi, W.S.; Lee, S.E.; Park, B.S. Fumigant toxicity of essential oils and their constituent compounds towards the rice weevil, *Sitophilus oryzae* (L.). *Crop Prot.*, **2001**, *20*, 317-320.
[http://dx.doi.org/10.1016/S0261-2194(00)00158-7]
- [35] Lee, S.E.; Lee, B.H.; Choi, W.S.; Park, B.S.; Kim, J.G.; Campbell, B.C. Fumigant toxicity of volatile natural products from Korean spices and medicinal plants towards the rice weevil, *Sitophilus oryzae* (L.). *Pest Manag. Sci.*, **2001**, *57*(6), 548-553.
[http://dx.doi.org/10.1002/ps.322] [PMID: 11407032]
- [36] Govindarajan, M.; Benelli, G. Eco-friendly larvicides from Indian plants: Effectiveness of lavender acetate and bicyclogermacrene on malaria, dengue and Japanese encephalitis mosquito vectors. *Ecotoxicol. Environ. Saf.*, **2016**, *133*, 395-402.
[http://dx.doi.org/10.1016/j.ecoenv.2016.07.035] [PMID: 27504617]
- [37] Quintans-Júnior, L.; Moreira, J.C.F.; Pasquali, M.A.B.; Rabie, S.M.S.; Pires, A.S.; Schröder, R.; Rabelo, T.K.; Santos, J.P.A.; Lima, P.S.S.; Cavalcanti, S.C.H.; Araújo, A.A.S.; Quintans, J.S.S.; Gelain, D.P. Antinociceptive Activity and Redox Profile of the Monoterpenes (+)-Camphene, p-Cymene, and Geranyl Acetate in Experimental Models. *ISRN Toxicol.*, **2013**, *2013*, 459530.
[http://dx.doi.org/10.1155/2013/459530] [PMID: 23724298]
- [38] Peana, A.T.; D'Aquila, P.S.; Panin, F.; Serra, G.; Pippia, P.; Moretti, M.D.L. Anti-inflammatory activity of linalool and linalyl acetate constituents of essential oils. *Phytomedicine*, **2002**, *9*(8), 721-726.
[http://dx.doi.org/10.1078/094471102321621322] [PMID: 12587692]

ملخص

يتعلق الجزء الأول من عملنا على توليف المركبات الهجينة على أساس الكرومونات الحلقية، بهدف الحصول على دورات نيتروجين غير متجانسة مرتبطة بالكرومونات الحلقية بهدف البحث إلى الجمع بين الأنشطة البيولوجية المختلفة لتعزيز الفعالية العلاجية وتقليل الآثار الجانبية غير مرغوب فيها. تمت دراسة نباتين اينولا فيسكوزا ، من عائلة الفصيلة النجمية والدوكوس قراسيليس ستان من عائلة الخيميات من أجل فهم تركيبهما الكيميائي وخصائصهما البيولوجية. أظهر الزيت العطري أنشطة واعدة مثل التأثيرات المضادة للالتهابات ومضادات الميكروبات والمبيدات الحشرية، جنباً إلى جنب مع بعض المركبات المركبة. بينما أظهر الزيت الأساسي لاينولا فيسكوزا نشاطاً مثبطاً قوياً ضد عامل نمو البطانة الوعائية

الكلمات المفتاحية: التركيب، البروبان الحلقية [ب] الكرومونات ، اينولا فيسكوزا، الدوكوس قراسيليس ستان، الزيت العطري ، لنمذجة الجزيئية. التوصيف الكيميائي ، النشاط البيولوجي،

Résumé

Notre travail de thèse s'organise en deux parties. En se concentrant dans la première partie sur la synthèse de composés hybrides à base de cyclopropane [b]chromones, visant à obtenir des hétérocycles azotés attachés au cyclopropane [b] chromone par l'addition d'une série de nucléophiles au 1-cinnamoyl-1a,7a-dihydrocyclopropano[b]chromen-7(1H) -one qui est notre précurseur de base. Les molécules synthétisées ont été obtenues avec des rendements allant de 20- 100%. La recherche vise à combiner différentes activités biologiques pour améliorer l'efficacité thérapeutique et réduire les effets secondaires indésirables. Dans la deuxième partie Deux plantes, *Daucus gracilis steinh* appartenant à la famille des *Apiaceae* et *Inula montana* à la famille des *Asteraceae*, ont également été étudiées pour leur composition chimique et leurs propriétés biologiques. L'huile essentielle de *Daucus gracilis* a montré des activités prometteuses telles que l'anti-inflammation, l'antimicrobien et l'insecticide, tandis que l'huile essentielle de *Inula montana*, ainsi que certains composés synthétisés, ont révélé une forte activité inhibitrice du facteur de croissance endothéliale VEGF et de ses récepteurs VEGF-R1 et VEGF-R2. Ces résultats soulignent l'importance des molécules bioactives dans la recherche de nouvelles options thérapeutiques.

Mots clés : Synthèse, chromones cyclopropanes, huile essentielle, caractérisation chimique, *Daucus gracilis steinh*, *Inula montana*, activité biologique, modélisation moléculaire.

Abstract

In the first part of this work we focus on the synthesis of hybrid compounds based on cyclopropane [b]chromones aimed at obtaining nitrogen heterocycles attached to cyclopropane [b] chromone by addition of a series of nucleophiles to 1-cinnamoyl-1a,7a-dihydrocyclopropano[b]chromen-7(1H) -one which is our base precursor. The synthesized molecules were obtained with yields ranging from 20% to 100% The research aims to combine different biological activities to enhance therapeutic efficacy and reduce undesirable side effects. Two plants, *Daucus gracilis steinh* belonging to the *Apiaceae* family and *Inula montana* belonging to the *Asteraceae* family, were also studied for their chemical composition and biological properties. The essential oil of *Daucus gracilis* showed promising activities such as anti-inflammation, antimicrobial, and insecticidal effects, while the essential oil of *Inula montana*, along with certain synthesized compounds, exhibited strong inhibitory activity against the vascular endothelial growth factor (VEGF) and its receptors VEGF-R1 and VEGF-R2. These findings underscore the importance of bioactive molecules in the search for new therapeutic options.

Keywords: Synthesis, cyclopropane [b]chromones, essential oil, chemical characterization, *Daucus gracilis steinh*, *Inula montana*, biological activity, molecular modeling.