

THÈSE

En vue de l'obtention du Diplôme de Doctorat en Sciences

Présentée par : *Wahiba HAMZI*

Intitulé

Étude expérimentale et *in-silico* de l'activité biologique de certains dérivés de la molécule du Camphre et son activité antivirale

Faculté : *Sciences de la Nature et de la Vie*

Département : *Biotechnologie*

Spécialité : *Biotechnologie*

Option: *Biotechnologie*

Devant le Jury Composé de

| <i>Membres de Jury</i> | <i>Grade</i> | <i>Qualité</i> | <i>Domiciliation</i> |
|------------------------------|--------------|---------------------|--|
| <i>Mr. BOUDJEMA Abdellah</i> | <i>Prof.</i> | <i>Président</i> | <i>USTO -MB</i> |
| <i>Mr. TCHOUAR Nouredine</i> | <i>Prof.</i> | <i>Encadreur</i> | <i>USTO -MB</i> |
| <i>Mr. STUART Jones</i> | <i>Prof.</i> | <i>Co-Encadreur</i> | <i>KNG'S COLLEGE.L-UK</i> |
| <i>Mr. NABTI EL Hafid</i> | <i>Prof.</i> | <i>Examineur</i> | <i>Univ-Abderhamen Mira-Bejaia</i> |
| <i>Mr. HOUALI Karim</i> | <i>Prof.</i> | <i>Examineur</i> | <i>Univ-Mouloud Mammeri-Tizzi-Ouzzou</i> |
| <i>Mme. ABDEDDAIM Katia</i> | <i>MCA</i> | <i>Examinatrice</i> | <i>USTO -MB</i> |

Année Universitaire : 2019-2020

Remerciement

L'élaboration de cette thèse ainsi que sa réussite ont été rendus possible grâce à de nombreuses personnes à qui je souhaite adresser mes remerciements les plus chaleureux.

Ces remerciements s'adressent en particulier à mon directeur de thèse, Monsieur le Professeur **Tchouar Nouredine**, pour m'avoir donné l'opportunité d'intégrer une équipe de recherche dans le domaine de la simulation et de la modélisation moléculaire, aussi pour sa disponibilité et les précieux conseils qu'il m'a prodigués tout au long de ces années de recherches.

Je remercie vivement Monsieur le Docteur **Stuart Jones**, d'avoir accepté de me co-encadrer et de m'avoir accueilli et aidé dans son laboratoire de King's College of London.

Mes remerciements à Monsieur le Professeur **BOUDJEMA Abdellah**, Professeur à l'université des Sciences et de la Technologie d'Oran-Mohamed Boudiaf-, qui m'a fait l'honneur d'accepter de présider le jury de cette thèse.

J'exprime aussi mes plus sincères remerciements et ma très grande gratitude à Monsieur le Professeur **NABTI EL Hafid** de l'université de Bejaia, d'avoir accepté la lourde charge d'être rapporteurs de cette thèse malgré les empêchements et ses lourdes tâches

Je tiens à témoigner toute ma reconnaissance à Monsieur le Professeur **HOUALI Karim** de l'université de Tizi -ouzzou d'avoir bien voulu consacrer du temps pour examiner ce travail malgré les imprévus de dernières minutes.

Ma reconnaissance va aussi à Madame le Docteur **ABDEDDAIM Katia**, Maître de conférences A de l'université des Sciences et de la Technologie d'Oran--Mohamed Boudiaf-, pour avoir accepté d'examiner ce travail et d'être membre du jury.

Mes sincères remerciements s'adressent aussi à Monsieur le Professeur **BELAIDI Salah** de l'université de Biskra, pour m'avoir acceptée comme collaboratrice.

Mes remerciements les plus sincères s'adressent également à Monsieur le Docteur **CHAA Lahouari** pour ses précieux conseils et orientations ainsi que pour sa disponibilité.

Je tiens également à exprimer mes remerciements les plus sincères à Monsieur le Professeur **DJABEUR Abderrezak**, pour son aide si précieuse et sa disponibilité.

Toute ma gratitude s'adresse enfin à :

- Monsieur le Docteur **Fawzi DERRAR** directeur de l'institut Pasteur d'Alger ainsi que sa collaboratrice Madame le Docteur **Baya HADJAL**, pour leurs très précieuse aide et leurs disponibilités et leur patience et ce, malgré leurs lourdes charges.
 - Monsieur le Docteur **Kamel BENTAYEB** (USTO-MB-) pour m'avoir toujours orienté et conseillé.
 - Monsieur **Nassim EZZIANE** (Service ADM) pour ses précieux conseils et ses encouragements lors de la réalisation de cette thèse.
 - Monsieur **Zoheir BENMEZIANE** (AUDIT), pour son aide et sa disponibilité.
 - Madame le Docteur **Faiza BENAOUA** (KCL) de m'avoir orienté, assisté et aidé au niveau du laboratoire de recherche.
 - Monsieur le Docteur **BRAHIM ERRAHMANI** (USDB –Faculté des Sciences), pour son aide et ses orientations.
 - Monsieur **YACINE LAICHI** (CRAPC) pour sa disponibilité et son professionnalisme, ainsi que Monsieur **LARABAA** (CRAPC).
 - Monsieur le Docteur **HAMADOUCHE** (Université d'Oran- Ahmed Benbella-) et son doctorant Mohamed pour leur aide.
 - Aux personnels de l'administration de la FSNV surtout **Mme Rahmouna**, et **Mme Hassnia** département de Biotechnologie (USTO) et ceux de la bibliothèque centrale de l'USTO-MB-.
- Enfin, j'adresse mes plus sincères remerciements à mes amies les plus chers, **Nabila AOUMEUR** et **OUNS BENHADID** qui m'ont encouragées au cours de la réalisation de cette thèse, ainsi que : **Walid, Rahim, Oussama** .

Dédicaces

Je dédie ce travail à

-Mes chers parents qui m'ont soutenu et encourager en permanence,

-Mon frère, mon beau-frère et mes sœurs auxquels je suis particulièrement reconnaissante pour leur précieuse aide et leurs encouragements et soutiens infailibles.

Résumé

En raison de la capacité du virus de la grippe à développer une résistance aux médicaments, la mise au point de nouveaux antiviraux est un objectif important de la science médicale et des systèmes de soins de santé. Le but de cette thèse est d'étudier l'activité antivirale *in vitro* et *in silico* de la molécule du Camphre 1,7,7-triméthylbicyclo,heptan-2-one. Nous avons évalué l'activité antivirale *in vitro* avec trois différentes concentrations, le calcul de la DCIT₅₀ à donner les valeurs suivantes $10^{4,83}$, 10^4 pour les concentrations choisies, un faible pourcentage d'effet cytopathogène de 5% a révélé l'absence de l'effet antiviral du Camphre sur les cellules MDCK inoculées avec le virus de la grippe (G243/12AH1N1pdm09). Dans le but de réaliser une étude *in-silico*, on a utilisé des méthodes de modélisation moléculaire dans notre travail Hartree-Fock et la théorie de la densité Fonctionnelle afin de déterminer les paramètres structuraux, électroniques et énergétiques associés aux molécules étudiées. La nature de type du substituant influe sur les paramètres électroniques et énergétiques de la molécule du Camphre. En effet, cette étude nous permet de prédire la réactivité chimique des dérivés du Camphre, nous concluons aussi que la méthode DFT (B3LYP) avec la base 6-311G+(d,p) est la meilleure méthode pour approfondir notre recherche.

Nous avons également effectué une analyse des relations structure-activité(RSA) appliquée à vingt-cinq molécules de diimines symétriques à base de camphre, un modèle de régression linéaire multiple a été utilisé pour corrélérer les relations entre l'activité biologique des dérivés de diimines symétriques à base de camphre, la prédiction du modèle est estimée par validation croisée avec la méthode d'exclusion.

Les résultats que nous avons obtenus suggèrent un modèle relation quantitative structure-activité (RQSA) basé sur différents les descripteurs parmi eux le volume moléculaire (VM), l'énergie d'hydratation (EH) la polarisabilité (POL), réfractivité molaire (RM), énergie totale (Et) pour l'inhibition de la reproduction du virus de la grippe afin de confirmer le pouvoir prédictif des modèles. La forte corrélation entre les données expérimentales et les données prévues a été observée, ce qui indique la bonne qualité du modèle RQSA.

Mots-clés : Virus de la grippe, Antivirale, Camphre, Dérivés de diimines, DFT, RSA, RQSA.

Summary

Due to the influenza virus ability to improve resistance to drugs, the development of new antivirals is an important goal of medical science and health care systems. The aim of this thesis is to study the antiviral activity *in vitro* and *in silico* of the molecule of Camphor 1,7,7-trimethylbicyclo, heptan-2-one. We evaluated the antiviral activity *in vitro* with three different concentrations, the calculation of the DCIT₅₀ to give the following values $10^{4.83}$, 10^4 for the selected concentrations, a low percentage of cytopathogenic effect of 5% revealed the absence of the antiviral effect of Camphor on MDCK cells inoculated with influenza virus (G243 / 12AH1N1pdm09). In order to carry out an *in-silico* study, we used molecular modeling methods used in our work are: Hartree-Fock and Functional density theory in order to determine the structural, electronic and energy parameters associated with the molecules studied. The nature of the type of substituent influences the electronic and energetic parameters of the Camphor molecule. Indeed, this study allows us to predict the chemical reactivity of camphor derivatives, we have also concluded that the DFT method (B3LYP) with the base 6-311G + (d, p) is the best method to deepen our research. We also performed a structure-activity relationship (SAR) analysis applied to twenty-five symmetrical camphor-based diimine molecules, a multiple linear regression model was used to correlate the relationships between the biological activity of diimine derivatives symmetrical based on camphor, the model prediction is estimated by cross-validation with the exclusion method.

The results we obtained suggest a quantitative structure-activity relationship (QSAR) model based on different descriptors among them molecular volume (MV), energy of hydration (EH) polarizability (POL), molar refractivity (MR), total energy (Et) for inhibition of influenza virus reproduction in order to confirm the predictive power of the models. The strong correlation between the experimental data and the predicted data was observed, indicating the good quality of the QSAR model.

Keywords: antiviral, Camphor, diimine derivatives, *in vitro*, influenza virus, *in silico*, SAR, QSAR.

الملخص

بسبب قدرة فيروس الإنفلونزا على تطوير مقاومة قوية للأدوية ، فإن تطوير مضادات الفيروسات الجديدة يعد هدفاً مهماً لأنظمة العلوم الطبية والرعاية الصحية نظرًا لقدرة فيروس الإنفلونزا على تطوير مقاومة الأدوية.

ان هدف هاته الأطروحة يتمثل في دراسة النشاط المضاد للفيروسات في المخبر وفي السليكو ، لجزيئة الكافور 1،7،7- ثلاثي ميثيل ثنائي سيكلو- هيبتان -2- ون ، وتعتبر جزيئة وفيرة أحادية بيتيرويد مع هيكل إطار ثنائي الحلقات و قمنا بتقييم النشاط المضاد للفيروسات في المختبر بتركيزات مختلفة. كشفت حسابات الجرعة المعدية بنسبة 50% القيم التالية $10^{4.83}$ ، 10^4 للتركيزات المختارة، وكشفت نسبة منخفضة من التأثير المسبب للخلايا بنسبة 5% عن غياب التأثير المضاد للفيروسات خلايا كلية مدين داربي للكلاب الملقحة بفيروس الانفلوزا (H1N1pdm09 G243 / A12).

تشير النتائج التي حصلنا عليها إلى نموذج العلاقة الكمية بين البنية والنشاط (QSAR) بناءً على واصفات مختلفة من بينها الحجم الجزيئي (MV) ، واستقطاب طاقة الترطيب (EH) ، والانكسار المولي (RM) . ، إجمالي الطاقة (Et) لتثبيط تكاثر فيروس الإنفلونزا من أجل تأكيد القدرة التنبؤية للنماذج. ولوحظ وجود علاقة ارتباط قوية بين البيانات التجريبية والبيانات المتوقعة مما يدل على جودة نموذج QSAR .

الكلمات الأساسية:

مضاد الفيروسات، الكافور، مشتقات ثنائي امين، SAR، QSAR ، فيروس الإنفلونزا.

| | | |
|--------------------------------|--|------------------|
| I.3.3. | Activité antitussive..... | 16 |
| I.3.4. | Activité anti-nociceptive | 16 |
| I.3.5. | Activité antimutagène et anticancéreuse | 17 |
| I.3.6. | Activité insecticide | 17 |
| I.3.7. | Effets cardiovasculaires..... | 18 |
| I.3.8. | Le camphre en tant qu'améliorant potentiel de pénétration cutanée | 18 |
| I.3.9. | Toxicité du camphre | 18 |
| I.4. | Conclusion..... | 19 |
| CHAPITRE II.GÉNÉRALITÉS | SUR | LES |
| | | VIRUS |
| | | INFLUENZA |
| | | 20 |
| II.1. | Les pandémies d'influenza dans l'histoire | 21 |
| II.2. | Surveillance de la grippe en Algérie | 22 |
| II.3. | Généralités sur les virus influenza, symptômes cliniques et modes de transmissions. | 23 |
| II.4. | Taxonomie du virus de la grippe | 24 |
| II.4.1. | Les Influenzavirus A | 24 |
| II.4.2. | Structure des virus influenza ;..... | 26 |
| II.5. | Cycle de réplication des virus influenza | 29 |
| II.5.1. | Attachement du virus à la cellule hôte et entrée du virus | 29 |
| II.5.2. | Libération et entrée dans le noyau des RNPv | 29 |
| II.5.3. | Transcription et réplication du génome viral..... | 30 |
| II.5.4. | Traduction des protéines virales | 30 |
| II.5.5. | Export des RNPv du noyau vers le cytoplasme | 31 |
| II.5.6. | Assemblage et bourgeonnement du virus | 31 |
| II.6. | Modes de transmission du virus | 32 |
| II.6.1. | Par voie aérienne | 32 |
| II.6.2. | La transmission aérienne | 33 |
| II.7. | Modèles animaux pour l'étude du virus de l'influenza | 33 |
| II.8. | Médicaments et traitements pharmacologiques anti-influenza | 34 |
| II.8.1. | Les bloqueurs de canaux ioniques..... | 34 |
| II.8.2. | Les inhibiteurs de neuraminidase..... | 35 |
| II.8.3. | Autres traitements en voie de développement | 35 |
| II.9. | Diagnostic..... | 35 |
| II.9.1. | Isolement du virus | 36 |
| II.9.2. | Test d'hémagglutination : test HA..... | 37 |

| | | |
|----------------------|---|-----------|
| II.9.3. | Test d'infectivité | 37 |
| II.9.4. | Traitements et résistances | 37 |
| CHAPITRE III. | ASPECTS THEORIQUES DE LA MODELISATION MOLECULAIRE. | 39 |
| III.1. | Méthodes de la modélisation moléculaire | 40 |
| III.1.1. | La mécanique quantique (MQ)..... | 41 |
| III.2. | Caractérisations spectrales | 47 |
| III.2.1. | Analyse IR | 47 |
| III.2.2. | Modes de vibrations moléculaires | 48 |
| III.2.3. | Analyse RMN | 48 |
| III.3. | Corrélations qualitatives (SAR) et quantitatives (QSAR) structure activité..... | 50 |
| III.3.1. | Introduction..... | 50 |
| III.3.2. | Développement QSAR..... | 51 |
| III.3.3. | Outils et techniques de QSAR..... | 54 |
| III.3.4. | Méthodes de validation statistique du modèle QSAR..... | 62 |
| III.3.5. | Validations des modèles | 64 |
| III.3.6. | Applications de la methode du QSAR | 65 |
| PARTIE II : | RESULTATS ET DISSCUSSION | 66 |
| CHAPITRE IV. | ACTIVITÉ ANTIVIRALE | 66 |
| IV.1. | Préparation des cultures cellulaires et virales | 67 |
| IV.1.1. | Titrage du virus et détermination de la dose infectieuse de culture tissulaire (DICT ₅₀) | 67 |
| IV.2. | Matériels | 68 |
| IV.3. | Méthode | 68 |
| IV.3.1. | Entretien des cellules | 68 |
| IV.3.2. | Inoculation des suspensions virales | 68 |
| IV.4. | Mode opératoire | 69 |
| IV.4.1. | Préparation des plaques | 69 |
| IV.4.2. | Inoculation des suspensions virales à titrer (Protocole de l'institut Pasetur) | 69 |
| IV.4.3. | Lecture et interprétation :..... | 70 |
| IV.5. | Résultats et discussion..... | 70 |
| IV.5.1. | Incubation des cellules MDCK avec différentes concentrations de la molécule | 70 |

| | | |
|---|--|------------|
| IV.5.2. | Lecture et interprétation de l'effet cytopathique (ECP) | 72 |
| IV.6. | Discussion | 77 |
| CHAPITRE V.ETUDE DES PROPRIÉTÉS STRUCTURALES, ÉLECTRONIQUES ET SPECTROSCOPIQUES DU CAMPBRE | | 78 |
| V.1. | Méthodes de calcul utilisées..... | 79 |
| V.2. | Etude des propriétés structurales et électroniques du Camphre | 79 |
| V.3. | Etude de l'effet de MESP sur le squelette de noyau de base du Camphre | 84 |
| V.4. | Étude des propriétés spectroscopiques par IR et RMN | 85 |
| V.4.1. | Spectroscopie Infra -Rouge | 85 |
| V.4.2. | Modes de vibration de la molécule du camphre..... | 85 |
| V.4.3. | Spectroscopie ¹ H-RMN | 87 |
| V.4.4. | Spectroscopie ¹³ C-RMN..... | 90 |
| V.5. | Conclusion..... | 91 |
| CHAPITRE VI.ETUDE QUALITATIVE (SAR) ET QUANTITATIVE (QSAR) DES RELATIONS STRUCTURE-ACTIVITÉ DES DERIVES DU CAMPBRE | | 92 |
| VI.1. | Etude de la relation structure-propriétés d'une série bioactive de dérivés du 1,7,7 trimethylbicyclo [2,2,1] heptan-2-one | 93 |
| VI.1.1. | Sélection d'une série bioactive des dérivés du camphre | 93 |
| VI.1.2. | Interprétations des résultats..... | 95 |
| VI.1.3. | Application de la règle de cinq ou règle de Lipinski | 98 |
| VI.2. | Etude des relations quantitatives structure/activité (QSAR) de dérivés du camphre. | 100 |
| VI.2.1. | Sélection des descripteurs et méthodes de calcul | 100 |
| VI.2.2. | Le modèle QSAR | 101 |
| VI.2.3. | Interprétation du modèle | 102 |
| VI.2.4. | Validation de modèle..... | 103 |
| VI.3. | Conclusion..... | 105 |
| CONCLUSION GENERALE | | 107 |
| RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES | | 110 |
| ANNEXE | | 130 |
| Annexe 1 | | 131 |
| Annexe 2 | | 132 |
| Annexe 3 | | 133 |

Liste des figures

| | |
|---|----|
| Figure I.1 : Dénomination botanique du Camphrier. | 8 |
| Figure I.2 : Schéma représentant le camphrier (Trimen et Bentley, 1880). | 8 |
| Figure I.3 : Photos d'arbre fruits et feuilles du Camphrier (Ritter et Reimer, 2015). | 9 |
| Figure I.4 : Grands arbre de camphre de longévité et tombeau de shinto Japon. | 9 |
| Figure I.5 : a : Structure chimique développée du Camphre (Croteau et <i>al.</i> , 1978) | 12 |
| Figure I.6 : La biosynthèse du camphre adapté par Croteau et <i>al.</i> (Croteau et <i>al.</i> , 1978). | 13 |
| Figure I.7 : Synthèse industrielle du camphre à partir de l' α -pinène (Stevens et Gaeta, 1977). | 14 |
| Figure II.1: Arbre phylogenetique de la famille des Orthomyxoviridae (ICTV, 9ème rapport, 2011). | 25 |
| Figure II.2: Nomenclature des virus influenza A, (CIDRAP, 2011). | 26 |
| Figure II.3: Représentation schématique du virus influenza A (KARLSSON et al ., 2008). | 27 |
| Figure II.4: Représentation schématique d'une RNP. Les NP et les polymérases sont respectivement représentées sous forme de sphères bleues ou jaunes. L'ARNv est représenté par le brin coloré en vert, rouge et noir (Hutchinson et al., 2010). | 28 |
| Figure II.5: Cycle de réplication des virus grippaux A. (Arias et al., 2009). | 30 |
| Figure II.7: Mécanismes d'émergence d'un nouveau sous-type de virus influenza par réassortiment génétique (A) ou transmission directe (B) (Bouscambert, 2010). | 33 |
| Figure II.8: Test d'hémagglutination, (Eisfeld, 2014). | 36 |
| Figure II.9: Images microscopiques des effets cytopathiques (CPE) induits par des virus influenza sur des cellules MDCK. (Eisfeld, 2014). | 38 |
| Figure III.1: Domaines spectraux du rayonnement électromagnétique (Dalibart, 2012). | 48 |
| Figure III.2 : Étapes du processus de découverte des médicaments. | 53 |
| Figure III.3: Principes d'une génération de modèle QSAR en 2D et 3D. | 58 |
| Figure IV.1: Cellules MDCK en absence du virus grippal (G243/12). | 71 |
| Figure IV.2: Début d'un effet cytopathique du virus grippale (G243 /12) sur MDCK. | 73 |
| Figure IV.3: Effet Cytopathique entre [50 -75] % du virus grippale G243/12 sur les cellules MDCK. | 74 |
| Figure IV.3: Effet Cytopathique à 100% par le virus grippale G243/12 sur les cellules MDCK. | 74 |
| Figure V.1 : Conformation 3D du camphre (GaussView 05). | 80 |
| Figure V.2: Distribution de charge de la molécule du Camphre | 82 |

| | |
|--|-----|
| Figure V.3 : Représentation des orbitales frontières HOMO et LUMO du noyau de base de la molécule du camphre..... | 83 |
| Figure V.4 : Carte de surface 3D MESP et carte de contour 2D MESP pour le noyau de base de la molécule du Camphre..... | 84 |
| Figure V.5 : Spectre IR expérimentale du Camphre. | 86 |
| Figure V.6 : Spectre IR théorique du Camphre..... | 86 |
| Figure V.7 : Spectres RMN ¹ H expérimentaux (a,b) et théorique (c) du camphre | 89 |
| Figure V.8 : Spectres RMN ¹³ C expérimentale (a) théorique (b) du camphre..... | 91 |
| Figure VI.1 : Structures chimiques des dérivés du camphre. | 94 |
| Figure VI.2: Corrélation entre l'activité biologique expérimentale et prédite..... | 104 |
| Figure VI.3 : Corrélation entre l'activité biologique entre expérimentale et résiduelle. | 105 |

Liste des tableaux

| | |
|---|-----|
| Tableau I-1 : Classification de Cronquist (Cronquist, 1981) du camphrier..... | 5 |
| Tableau I-2 : Classification APG III (2009) du genre Cinammomum. | 5 |
| Tableau I-3 : Classification du genre Cinammomum (Rohde, 2017). | 6 |
| Tableau III-2 : Paramètres physico-chimiques et intrinsèques. | 56 |
| Tableau IV.1 : Incubation des cellules MDCK avec le camphre à différentes concentrations. | 71 |
| Tableau V-1 : Résultats de calcul des longueurs des liaisons, les angles de valence du camphre..... | 80 |
| Tableau V.2 : Résultats de calculs des charges Mulliken du camphre..... | 82 |
| Tableau V.3 : Résultats de calcul des paramètres énergétiques et le moment dipolaire du camphre par la méthode DFT/ B3LYP 6-311G+ (d, p)..... | 83 |
| Tableau VI-1 : Structures chimiques, activités expérimentales et prédites avec les résidus des molécules étudiées..... | 94 |
| Tableau VI-2 : Propriétés physicochimiques des dérivés du camphre..... | 96 |
| Tableau VI-3 : Règle de cinq de Lipinski pour les dérivés du camphre. | 98 |
| Tableau VI-4 : Descripteurs physico chimiques et quantiques utilisés dans l'étude QSAR. . | 101 |
| Tableau VI-5 : Paramètres de validation croisée. | 103 |

Liste des abréviations

| | |
|-------|--|
| MA | Model de Austrin |
| ANOVA | Analyses de variances |
| PBS | Solution saline tamponnée au phosphate |
| CLOA | Combinaison Linéaire d'Orbitales Atomiques |
| NCCD | Négligence Complète du Chevauchement Differential |
| ECP | Effet Cytopathique |
| TFD | Théorie de la Fonctionnelle de la Densité |
| EH | Energie d'Hydratation |
| Et | Energie Totale |
| HOMO | Orbitale moléculaire la plus occupée (Highest Occupied Molecular Orbital) |
| ICTV | Comité international sur la taxonomie des virus (International Committee on Taxonomy of Viruses) |
| IFITM | Protéine transmembranaire inductible par l'interféron |
| INDO | Négligence intermédiaire du chevauchement differential |
| IR | Infrarouge |
| LOO | Leave-One-Out |
| LUMO | La plus basse Orbitale moléculaire inoccupée (Lowest Unoccupied Molecular Orbital) |
| MDCK | Madin-Darby Canine Kidney |
| MESP | Potentiel Electrostatique Moléculaire (Molecular Electrostatic Potential) |
| MINDO | Négligence intermédiaire modifiée du chevauchement differential (Modified Intermediate Neglect of Differential Overlap) |
| MM | Masse Moléculaire |
| MNDO | Négligence modifiée du chevauchement diatomique (Modified Neglect of Diatomic Overlap) |
| MQ | Mécanique Quantique |
| NA | Neuraminidase |
| NAI | Inhibiteurs de Neuraminidase |
| OM | Orbitale Moléculaire |
| EP | Erreur de Prédiction |
| MP | Methodes parametriques |
| PRESS | Somme des Carrées Résiduels |
| RSAQ | Relation Structure-Activité Quantitative |

| | |
|--------|--|
| RM | Réfractivité Molaire |
| RMN | Résonance Magnétique Nucléaire |
| RNP | Ribonucléoprotéines |
| RNPv | Ribonucléoprotéines Virales |
| SAM | Model Semi- <i>ab initio</i> |
| RSA | Relations Structure-Activité |
| SCE | Echanges de Chromatides Sœurs |
| SPRESS | Erreur de prédiction régression linéaire |
| TSS | Somme des Carrés Totaux |
| μ | Moment Dipolaire |

INTRODUCTION

Les infections des voies respiratoires constituent l'un des problèmes cliniques et de santé publique les plus importants à l'échelle mondiale. Leur prise en charge est généralement inadéquate compte tenu de l'administration parfois inappropriée d'antibiotiques associée à un mauvais pronostic médical. Les infections respiratoires aiguës, notamment les pneumonies, peuvent être fatales en particulier pour les enfants âgés de moins de 5 ans (en 2017, 1,9 millions d'enfants sont décédés à la suite d'infections pulmonaires aiguës dans le monde, dont 70% en Afrique et en Asie) (Cox et al., 2017).

Les infections du tractus respiratoire supérieur sont majoritairement d'origine virale (*Rhinovirus*, *Coronavirus*, *Parainfluenza*, *Influenza*) et ne nécessitent donc pas de traitement par des antibiotiques (Cotton et al., 2008). À l'inverse, les infections respiratoires d'origine bactérienne, qui résultent de l'infection par *Streptococcus pneumoniae*, *Haemophilus influenzae*, *Staphylococcus aureus* et *Streptococcus pyrogenes*, sont responsables des formes sévères de la maladie (pneumonie, bronchites) et nécessitent une antibiothérapie (Jain et al., 2001).

La grippe est une affection virale due à un virus respiratoire : le virus influenza. Il appartient à la famille des Orthomyxoviridae (Myxovirus A, B et C), sa cible anatomique est l'arbre trachéo-bronchique et il touche plusieurs espèces entre autres l'être humain.

Parmi les objectifs principaux dans le domaine de la recherche pharmaceutique, c'est l'identification et la découverte de nouvelles molécules susceptibles de devenir des médicaments, qui constituent un enjeu majeur pour les années à venir. Vu la pandémie de l'année 2020 causée par le virus COVID-19, l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) travaille en étroite collaboration avec les experts mondiaux, les gouvernements et les partenaires pour élargir rapidement les connaissances scientifiques sur ce nouveau virus, suivre la propagation et la virulence du virus, et donner des conseils aux pays et aux individus sur les mesures à prendre pour protéger la santé et empêcher la propagation de cette flambée.

Le coût, le temps nécessaire et même la disponibilité des laboratoires équipés pour la réalisation des synthèses et des tests rendent le processus particulièrement difficile. Ainsi, l'amplification spectaculaire des nouveaux composés par l'industrie chimique en général et en particulier par l'agrochimie, la pétrochimie et la pharmaco-chimie est accompagnée d'une augmentation de la charge toxique dans l'environnement. Pour cette raison, le développement d'outils capables d'évaluer les effets dangereux sur les espèces vivantes devrait recevoir une

attention particulière, c'est pourquoi l'outil informatique a été mis en œuvre dans le domaine chimique dans le but de modéliser les structures moléculaires, les informations extraites à partir des résultats d'étude de relation quantitative structure-activité (RQSA/ QSAR) peuvent être utilisées pour obtenir une meilleure connaissance des structures moléculaires et probablement le mode d'action au niveau moléculaire.

Ces informations peuvent alors être utilisées pour prévoir les propriétés physicochimiques et les activités biologiques de nouveaux composés ainsi que pour concevoir de nouvelles structures en raison du temps et des coûts liés à la mise sur le marché d'un nouveau médicament et du taux d'attrition élevé, l'industrie pharmaceutique s'efforce de mettre en œuvre des technologies permettant d'optimiser le processus. L'application des méthodes *in silico* pour le criblage virtuel sont devenues un outil de routine dans les phases de conception et de découverte de médicaments dans certaines sociétés pharmaceutiques, ses méthodes sont également utilisées pour identifier les caractéristiques chimiques impliquées dans l'activité du médicament cible et cette information peut être utilisée pour optimiser et isoler les candidats-médicaments.

Les objectifs de notre travail visait à étudier expérimentalement l'activité antivirale de la molécule 1,7,7-triméthylbicyclo [2,2,1] heptan-2-one * Camphre * cette étude est une continuité d'un travail déjà réalisé sur la plante du Romarin d'Algérie *Rosmarinus officinalis L.* et de pouvoir effectuer une étude *in-silico* de la molécule du Camphre grâce à la simulation et à la modélisation de cette molécule et de ses dérivées diimines .Pour atteindre ces objectifs, nous avons obtenu la molécule chimique du Camphre synthétisée au niveau du laboratoire de phytopharmacie HOLLAND BARETT « Royaume-Unis», par conséquent nous avons effectué une expérimentation pour évaluer l'activité antivirale de la molécule du Camphre sur le virus de l'influenza au niveau du service de Virologie Humaine « Centre National de Références pour la Grippe » Institut Pasteur - Sidi Fredj- Alger. Aussi, nous avons réalisé des analyses spectroscopiques Infra Rouge (IR) et de résonance magnétique nucléaire (RMN) au niveau du Centre de Recherche Physico-Chimique (CRAPC) - Bousmail -Tipaza.

Nous avons effectué l'étude théorique par la modélisation et la simulation moléculaire au niveau du laboratoire de recherche de l'ingénierie et des procédés et l'environnement (LIPE) de l'université des Sciences et de la Technologie d'Oran- Mohamed Boudiaf-USTO- MB.

Ce travail a été réalisé en collaboration avec les laboratoires de King's College of London* Royaume-Uni* et le laboratoire de Chimie Moléculaire et Environnement (LCME) de l'Université Mohamed Kheider Biskra.

Dans ce projet de thèse, nous avons utilisé des logiciels de calculs « HyperChem 8.08 » et « Gaussien 09 » avec différentes méthodes de calculs de la mécanique moléculaire choisis et à l'aide d'un algorithme « Fletcher Reves » en utilisant un champ de force adéquat. Nous avons également réalisé une étude théorique axée sur la détermination des propriétés structurales, électroniques et spectroscopiques sur les relations qualitatives et quantitatives structure-propriété (RQSA) d'une série de 25 dérivés de la molécule de camphre, avec la réalisation d'une étude statistique par la méthode de régression linéaire (RLM) en vue d'une élaboration d'un modèle statistique de l'étude de l'activité antivirale.

Le manuscrit de cette thèse est articulé en deux parties, la première partie est une synthèse bibliographique. La deuxième partie comprend les résultats expérimentaux et théoriques des recherches menées dans le cadre de cette thèse. La première partie est structurée en quatre chapitres, le premier traitant des généralités sur l'étude de la molécule Camphor, le second sur les virus de la grippe, le troisième sur la modélisation moléculaire et les corrélations qualitatives et quantitatives, tandis que la deuxième partie contiendra le chapitre quatre sur les résultats et la discussion de l'activité antivirale, le cinquième chapitre sera consacré à une étude sur les propriétés structurales, électroniques et spectroscopiques du camphre tandis que le sixième chapitre sera consacré à une étude qualitative (RSA) et quantitative (RQSA) des relations structure-activité des dérivés du camphre, cet article a été publié dans : Journal of Fundamental and Applied Sciences (J Fundam Appl Sci. 2020, 12(1), 475-496). Enfin, nous terminerons par une conclusion générale et les perspectives envisagées pour ce travail.

PARTIE I : PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE

CHAPITRE I. GENERALITES SUR LE CAMPHRE et le CAMPHRIER

Le camphrier est l'arbre emblématique de la ville d'Hiroshima car il fut le premier avec le Ginkgo biloba à avoir repoussé après le bombardement atomique de la Seconde Guerre Mondiale. C'est une tradition pour ses utilisations étendues et diverses en Orient : les Chinois utilisaient le camphre comme stimulant circulatoire et analeptique, tandis que les Japonais l'utilisaient dans un matériau à la lumière d'une torche et ajoutaient de petites quantités à des feux d'artifice pour les rendre plus brillants (**Hattori, A, 2001**). Le camphre a été utilisé comme fumigeant pendant la peste noire, une peste qui s'est répandue en Europe au 14ème siècle, ainsi que lors d'épidémies de variole et de choléra. De l'eau de rose et du camphre en tant qu'ingrédient de parfum ont été répandus sur les cadavres avant d'être enveloppés (**Donkin, 1999**). En Inde, le camphre est généralement brûlé dans les temples lors de rituels religieux car, contrairement à toute autre fumée aromatique, les émanations de camphorique ne sont pas irritantes pour les yeux (**Kumar et Ando, 2003**). Le camphre a été largement utilisé comme parfum dans les cosmétiques, comme additif alimentaire aromatisant et comme conservateur dans les produits de confiserie ; à la maison, il est couramment utilisé comme insectifuge, plastifiant et intermédiaire dans la synthèse de produits chimiques aromatiques (**Kumar et Ando, 2003**). Le camphre est l'un des produits chimiques aromatiques les plus connus et les plus répandus sur le marché, avec une valeur marchande annuelle de 80 à 100 millions de dollars US (**Liu, 2005**).

Le camphre présente plusieurs propriétés biologiques telles que des effets antimicrobiens, antiviraux et antitussifs (**Juteau et al., 2002 ; Viljoen et al., 2003**), c'est un ingrédient courant de la médecine moderne dans les analgésiques et les rubéfiants appliqués localement pour le traitement des douleurs musculaires mineures. Il a été appliqué comme anti-infectieux et antiprurigineux et en interne comme stimulant et carminatif (**Van Wyk et al., 2009**).

Cependant, le camphre est toxique lorsqu'il est ingéré et peut provoquer des convulsions, de la confusion, une irritabilité et une hyperactivité neuromusculaire, la dose létale chez l'homme serait de 50 à 500 mg par kg de poids corporel (**Liebelt, 1993**).

I.1. Etude et description Botanique

I.1.1. Classification

Cinnamomum camphora appartient à la famille des Lauraceae, de l'ordre des Laurales, de la sous-classe des Magnoliidae et de la classe des Angiospermes (Tableau I-1). Selon la classification APG (Angiosperm Phylogeny Group) de 1998, modifiée en 2009 selon Mark W. Chase and James L. Reveal (APG III), le genre *Cinnamomum* appartient à l'ordre des Laurales, qui appartient au clade des Magniolidées. Ce ne sont donc pas des dicotylédones vraies ou Eudicotylédones (Tableau I-2), une récente classification a été mentionner par Rohde et collaborateurs (**Rohde, 2017**) (Tableau I-3).

Tableau I-1 : Classification de Cronquist (Cronquist, 1981) du camphrier.

| | |
|---------------------|----------------|
| Règne | Plantae |
| Sous-règne | Tracheobionta |
| Division | Magnoliophyta |
| Classe | Magnoliopsida |
| Sous -classe | Magnoliidae |
| Ordre | Lurales |
| Famille | Lauraceae |

Tableau I-2 : Classification APG III (2009) du genre Cinammomum.

| | |
|----------------|--------------|
| Clade | Angiospermes |
| Clade | Magniolidées |
| Ordre | Lurales |
| Famille | Lauracées |

Tableau I-3 : Classification du genre *Cinnamomum* (Rohde, 2017).

| Domaine | Biota |
|--------------------|--|
| Règne | Plantae Haeckel, 1866 |
| Sous-Règne | Viridaeplantae |
| Infra-Règne | Streptophyta John, Williamson & Guiry, 2011 |
| Classe | Equisetopsida C.Agardh, 1825 |
| Clade | Tracheophyta Sinnott ex Cavalier-Smith, 1998 |
| Clade | Spermatophyta |
| Sous-Classe | Magnoliidae Novák ex Takht., 1967 |
| Super-Ordre | Magnolianaes Takht., 1967 |
| Ordre | Laurales Juss. ex Bercht. & J.Presl, 1820 |
| Famille | Lauraceae Juss., 1789 |
| Genre | <i>Cinnamomum</i> Schaeff., 1760 |
| Espèce | <i>Cinnamomum camphora</i> (L.) J.Presl, 1825 |

I.1.2. Généralités sur la famille des Lauracées

L'ordre des Laurales comporte environ 3000 espèces réparties en neuf familles. L'une des principales est celle des Lauracées qui contient 50 genres et 2500 espèces, répandues dans les régions tropicales et subtropicales, de l'Asie du Sud-Est, aux États-Unis en passant par Madagascar et le Nord de l'Amérique du Sud (**Walter et al., 2002**).

Les Lauracées sont principalement des arbres ou des arbustes à feuilles et écorce odorantes. Plus rarement, il peut s'agir d'une liane parasite, dépourvue de feuilles. Ce caractère est notamment retrouvé dans le genre *Cassytha*. Les branches sont parfois verticillées et ne présentent pas d'exsudat. Les jeunes rameaux ont un caractère anguleux. Les feuilles sont alternes, rarement opposées, simples, entières, et parfois paucinervurées. Elles sont dépourvues de stipules (**Botineau et Pelt, 2010**), de nombreuses espèces produisent des épices et des huiles essentielles. Entre autres, *Persea americana* (avocatier) est utilisé pour ses fruits comestibles, l'écorce de *Cinnamomum zeylanicum* (cannelier) et les feuilles de *Laurus nobilis* (laurier) sont utilisées comme aromates. Le benjoin (*Lindera benzoin*) et le bois de rose (*Aniba rosaeodora*) sont utilisés en aromathérapie et dans l'industrie cosmétique. Certaines espèces de *Ocotea*, *Listea* et *Beilschmiedia* sont utilisées en menuiserie sur le continent sud-américain. Enfin, diverses huiles essentielles sont extraites de l'écorce et des feuilles, notamment de *Cinnamomum camphora* (camphrier) (**Rinaldo, 2012**).

I.1.3. Généralités sur le genre Cinnamomum

Ce sont des arbres ou arbrisseaux, toujours verts, presque tous remarquables par des feuilles et une écorce aromatique. Le genre *Cinnamomum* contient plus de 300 espèces distribuées dans les régions tropicales et subtropicales de l'Asie, de l'Océanie, de l'Australie, de l'Amérique du Nord, de l'Amérique Centrale et de l'Amérique du Sud. Le genre est très recherché pour ses écorces et son bois (**Ravindran et al., 2003**).

I.1.4. Cinnamomum camphora

La dénomination internationale du camphrier comporte le nom de deux botanistes Carl von Linné (L.) et Jan Svatopluk Presl (J. Presl). Il est convenu, historiquement qu'un botaniste (J. Presl) considère que le genre choisi (*Laurus*) n'est pas le plus judicieux pour une espèce (*Laurus camphora* L.) (figure I.1). Il peut alors décider de transférer l'espèce dans un autre genre (*Cinnamomum*). Ainsi, le nom de l'auteur de la dénomination binomiale initiale (Linné) demeure, mais il est placé entre parenthèses. Ces transferts ont généralement lieu lors de la création de nouveaux genres (**Paquereau, 2013**).

Cinnamomum camphora (L.) J. Presl

↓ ↓ ↓
Genre Espèce Botanistes

Figure I.1 : Dénomination botanique du Camphrier.

I.1.5. Description botanique

I.1.5.1 L'arbre

L'arbre peut atteindre 15 à 40 mètres de haut, bien qu'il ne dépasse rarement 20 mètres en Europe. Sa longévité est de l'ordre du millier d'années (**Botineau et Pelt, 2010**). Le tronc est ramifié à la base, et présente une écorce rugueuse et gercée. La couronne de l'arbre est dense, de forme arrondie et étalée chez les sujets âgés. Les jeunes rameaux ont une section quadrangulaire. Les racines de l'arbre, très sensibles aux perturbations, peuvent s'étendre loin du tronc de l'arbre et sont reconnaissables par leur odeur caractéristique (**Conway, 2000**). Le camphrier parfumé, *Cinnamomum camphora* (L.) J. Presl (Lauraceae), est naturellement présent dans les pays asiatiques, notamment au Japon, à Taiwan et en Chine, mais a été naturalisé dans d'autres parties du monde, l'arbre est grand avec une écorce brune pâle, des feuilles vertes foncées à jaunâtre (figure I.2) et de petites fleurs blanches suivies de petites baies pourpres. Toutes les parties de la plante dégagent une odeur de camphoracée distinctive



Figure I.2 : Schéma représentant le camphrier (**Trimen et Bentley, 1880**).

et facilement reconnaissable. L'huile essentielle est distillée à partir du bois (figure I.3.b), ce qui donne l'ingrédient actif (1R) - (+) - camphre, c'est-à-dire du camphre naturel (U.S. National Plant Germplasm System, 2013).



a : Arbre

b : Fruits a maturités fleurs

c : Jeunes feuilles

Figure I.3 : Photos d'arbre fruits et feuilles du Camphrier (Ritter et Reimer, 2015).



Figure I.4 : Grands arbre de camphre de longévité et tombeau de shinto Japon.

I.1.6. Répartition géographique et habitat

I.1.6.1 Répartition géographique, écologie

Il est naturellement distribué dans les régions subtropicales du sud de la Chine ainsi que Taiwan, la Corée, le Vietnam (Chen et *al.*, 2004) et le Japon. Il a été introduit dans de nombreux autres pays, notamment en Australie (Frizzo et *al.*, 2007 ; U.S. National Plant

Germplasm System, 2013), en Californie aux États-Unis, Argentine, Inde (**Huergo et Retamar, 1978**), Malaisie (**Jantan et Goh, 1992**) et Sri Lanka, Égypte, Europe méridionale et îles Canaries (**Schenk, 2009**). *Cinnamomum camphora* pousse sur des sols de préférence sablonneux, de pH variant de 4,3 à 8. Il croît dans des zones en plein soleil ou mi-ombre, il tolère les sols salins et les vents salés. (**Rivière et al., 2005 ; Brickell, Zuk, 1997**). Avec une altitude jusqu'à 1350-1800 m, température annuelle moyenne : 14-27 degrés. C, précipitations annuelles moyennes : 640-4030 mm, il supporte la sécheresse mais pas les sols engorgés d'eau. Il peut résister à de courtes périodes de froid en dessous de 0°C (**Conway, 2000**).

I.1.6.2 Propagation

Un arbre à maturité peut produire environ 100 000 fruits par an. De nombreux oiseaux frugivores indigènes dispersent les graines dures. Les graines sont également dispersées par l'eau, ces graines germent facilement et restent viables jusqu'à trois ans (**Csurhes et Edwards, 1998**).

I.1.6.3 La culture

La question de la culture du camphrier s'est posée, après la découverte du celluloïd (1870), matière plastique composée de camphre. En à peine dix ans et en particulier au début du XXe siècle, l'industrie du celluloïd s'est développée. En 1900, 70% de la production était destinée aux usages médicaux et aux pratiques d'embaumement aux Indes. Dans les années 1920, 80% de la production était orientée vers le celluloïd (**Kopp, 2012**). Actuellement, le celluloïd est utilisé dans la fabrication des balles de tennis de table (**Applebaum et DiSorbo, 2012**). La culture utilise généralement les graines et est aussi envisageable à partir des racines et des tiges. De nombreux pays se sont lancés avec succès dans la culture : l'Inde, le Sri Lanka (Ceylan), l'Algérie (1892), l'Asie du Sud-Est (1904), les États-Unis (1904) (**Schenk, 2009**).

I.2. Etude chimique du Camphre

I.2.1. Chémotypes

Les composés aromatiques d'une plante varient en fonction de nombreux facteurs comme l'ensoleillement, la nature et les composants du sol. C'est pourquoi une même espèce peut sécréter des huiles de compositions différentes. Pour différencier les huiles essentielles extraites de chacune de ces plantes, on utilise le terme « chémotype », (**Mansard, 2016**). WanYang et collaborateurs (**Wanyang et al., 1989**) ont mené une étude détaillée sur la

composition chimique des huiles essentielles de *Cinnamomum camphora* (L.) J.Presl de 164 arbres en provenance de Chine (**Patri et al., 2006**). Les auteurs ont analysé 363 échantillons d'huiles essentielles issus de différents organes après récolte et entraînement à la vapeur d'eau. Trente-quatre composants ont été identifiés (**Mansard, 2016**). En fonction de la prédominance de certains composés chimiques présents dans les feuilles, cinq chémotypes ont été déterminés (**Mansard, 2016**) :

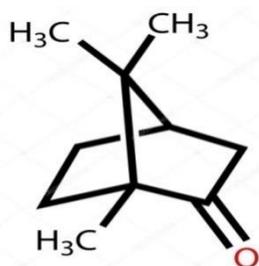
- Cinnamomum camphora* CT cinéole
- *Cinnamomum camphora* CT linalol
- *Cinnamomum camphora* CT camphre
- *Cinnamomum camphora* CT isonérolidole
- *Cinnamomum camphora* CT bornéole

I.2.2. Propriétés physiques et sources de camphre

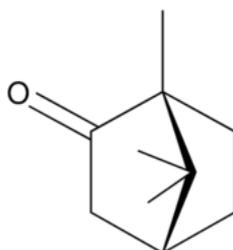
C'est Julius Brecht (1885-1937) qui proposa en 1893 une formule constituée de deux cycles "en pont". A citer aussi Otto Wallach (1847-1931) Prix Nobel de chimie en 1910 qui a particulièrement fait progresser la chimie du camphre et des terpènes, en 1903 la synthèse partielle par Albin Haller, Professeur à la Sorbonne (1849-1925), en 1948 la synthèse du Camphre, par Niilo Toivonen Professeur à Helsinki, sur le modèle des synthèses de l'acide camphorique et de l' α -pinène qui avaient été menées en 1903 par Gustav Komppa (1867-1949) Professeur à Helsinki.

Le camphre est une cétone terpénique bicyclique. Sa dénomination selon la norme IUPAC est 1,7,7-triméthylbicyclo [2,2,1] heptan-2-one et sa formule chimique est la suivante : $C_{10}H_{16}O$. Cette cétone a une masse moléculaire de 152,23 g/mol, une température de fusion de 178,8°C et se sublime à 204°C. Sa densité varie de 0,986 à 0,996. Le camphre est insoluble dans l'eau et est soluble dans l'éthanol à 95°, dans l'acétone, dans l'éther, dans le benzène et dans une majeure partie des solvants organiques (**Patri, 2006**). Il se présente comme un solide blanc cristallin, semi transparent, onctueux au toucher, cassant, avec une saveur amère et âcre, et possède une forte odeur aromatique caractéristique (**Mansard, 2016 ; Patri, 2006**), il se présente sous deux formes énantiomères: (1*S*) - (-) - et (1*R*) - (+) - camphre (Figure I.5). Ces deux énantiomères ont une odeur de camphoracée similaire, mais l'impact de la stéréochimie sur l'activité biologique reste inconnu (**Patri, 2006**).

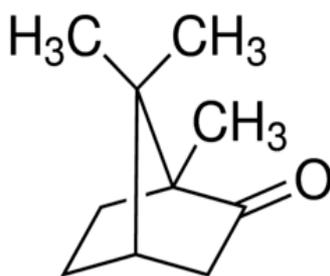
Le camphre synthétique est synthétisé principalement à partir d' α -pinène obtenu à partir d'essence de térébenthine, tandis que le camphre naturel, c'est-à-dire le (+) - camphre, est obtenu par distillation du bois provenant du laurier camphré (*Cinnamomum camphora*), trouvé notamment à Bornéo et à Taïwan ; il est également présent en tant que composant essentiel d'huile essentielle dans de nombreuses espèces de plantes aromatiques (Damjanoviæ-Vratnica et al., 2008).



a) Structure chimique développée du Camphre



b) (1R)- (+) Camphre



c) -(1S)-(-) Camphre

Figure I.5 : a : Structure chimique développée du Camphre (Croteau et al., 1978)
Structure chimique des énantiomères du camphre b : (1R) - (+) , c (1S) - (-).

I.2.3. Biosynthèse et synthèse chimique du camphre

La biosynthèse du camphre a été étudiée et élucidée de manière approfondie par Croteau et *al* dans leur travail sur la *Salvia officinalis* (Croteau et *al.*, 1978), ils ont déterminé la biosynthèse de base du camphre (Figure I.5) et les enzymes impliquées : Le camphre est produit par synthèse biosynthétique chez les plantes par bio-transformation du géranyl diphosphate (GPP), son matériau de départ. La cyclisation du géranyl diphosphate par l'enzyme (+) - bornyl diphosphate synthase donne des (+) - bornyl diphosphate. Le (+) - bornyl diphosphate est ensuite hydrolysé en (+) - bornéol par l'action de la bornyl diphosphate diphosphatase. La dernière étape est catalysée par la (+) - bornéol déshydrogénase, puisqu'elle oxyde le (+) - bornéol en (+) - camphre (Croteau et *al.*, 1978).

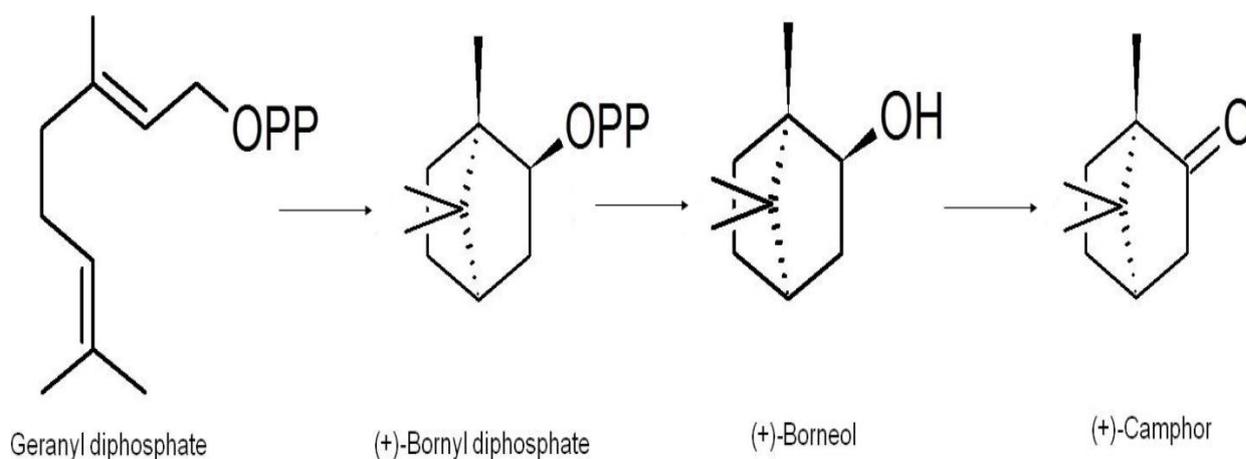


Figure I.6 : La biosynthèse du camphre adapté par Croteau et *al.* (Croteau et *al.*, 1978).

La production synthétique de camphre implique l'utilisation de l'essence de térébenthine comme matériau de départ. La térébenthine est utilisée comme source d' α -pinène par un procédé de distillation. L' α -pinène est converti en camphène par la catalyse d'un acide fort avec l'acide acétique comme solvant ; le camphène subit ensuite un réarrangement de Wagner-Meerwein en le cation isobornyle, qui est capturé par l'acétate ; l'acétate d'isobornyle formé par la suite est hydrolysé en isobornéol, qui est finalement converti en camphre par déshydrogénation (Rebound Health) (Figure I.6). La voie de synthèse à partir d' α -pinène produit un mélange racémique, c'est-à-dire un rapport 1: 1 de (-) et (+) – camphre (Rebound Health.).

I.2.4. Le camphre comme matière première chirale et auxiliaire

Les mono-terpènes sont idéaux pour une utilisation en tant que synthons chiraux, pour la synthèse d'autres composés en raison de leur faible coût et de leur disponibilité abondante.

Le camphre et les analogues dérivés du camphre sont utilisés dans une myriade de réactions chimiques, comme auxiliaires chiraux en synthèse asymétrique ou comme catalyseurs. Il existe de nombreux rapports sur l'utilisation du camphre imine comme gabarit pour diriger les réactions pour la synthèse d'acides α -aminés, d'acides α -amino phosphoniques, de benzyl amines α -substituées et d' α -amino alcool. L'acide camphène sulfonique, un acide organique dérivé du camphre, est utile pour les réductions chirales telles que la résolution des bases racémiques (Liu, 2005). D'autres analogues du camphre, où le groupe méthyle en C-8 est remplacé par des groupes plus volumineux, peuvent augmenter considérablement la stéréosélectivité par alkylation, ce qui permet d'obtenir une pureté énantiomérique beaucoup plus élevée (Jiang et al., 1990).

Le camphre peut être utilisé comme un matériau de départ pour la synthèse de stéroïdes aromatiques, le camphre et ses analogues sont des molécules polyvalentes pouvant être utilisées soit comme matrices, soit comme produits de départ dans la synthèse de nouvelles molécules, ou comme catalyseurs dans diverses réactions chimiques (Stevens et Gaeta, 1977).

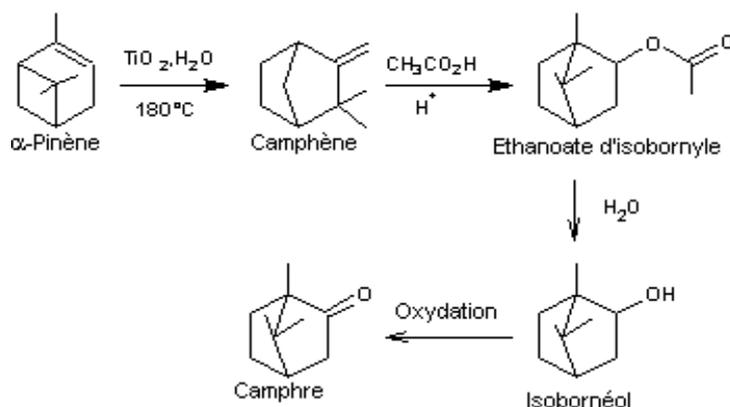


Figure I.7 : Synthèse industrielle du camphre à partir de l' α -pinène (Stevens et Gaeta, 1977).

I.3. Les propriétés biologiques du Camphre

L'huile essentielle qui est extraite de cet arbre, obtenue à partir des feuilles et du bois par distillation à la vapeur, est utilisée par les Malgaches comme stimulant circulatoire ou comme anti-inflammatoire. Elle est aussi utilisée dans les états d'anxiété et de troubles nerveux et contre l'insomnie. En usage interne, elle permet de lutter contre les maladies infectieuses des voies digestives, contre la dysenterie, le typhus ou le choléra (Cavalli, 2002). Elle possède également des propriétés antibactériennes (De Medici et al., 1992). En Inde, c'est un ingrédient qui entre dans la fabrication d'un remède local constitué de plusieurs

autres plantes (Sivropoulou et al., 1997). *Cinnamomum camphora* présente également des propriétés insecticides (Zhou et al., 2000) et les feuilles ont des propriétés fébrifuges (Cavalli, 2002).

I.3.1. Activités antibactériennes et antifongiques

Les plantes constituent une source précieuse de produits naturels pour le maintien de la santé humaine. L'utilisation de composés végétaux pour leur activité antimicrobienne a progressivement augmenté dans le monde entier. De nombreuses études ont montré que diverses huiles essentielles de plusieurs espèces contenant du camphre, constituant le principal composant, manifestaient une activité antimicrobienne (Kotan et al., 2008).

La composition de l'huile essentielle des parties aériennes de l'absinthe douce (*Artemisia annua*) comprend le camphre (44%), le germacrene D (16%), le trans-pinocarveol (11%), le β -sélinène (9%), le β -caryophyllène (9%) et de l'artémisia cétone (3%). Une activité significative de l'huile essentielle a été observée contre la bactérie à Gram positif, *Enterococcus hirae*, ainsi que contre les champignons *Candida albicans* et *Saccharomyces cerevisiae* en utilisant la méthode de diffusion liquide (Juteau et al., 2002). Certaines études ont montré que le camphre en tant que composé unique ne présentait qu'une faible activité antimicrobienne (Soković et al., 2006).

L'activité antimicrobienne du romarin (*Rosmarinus officinalis*) et de plusieurs autres huiles contre des organismes impliqués dans la détérioration de la viande a été étudiée par Ouattara et al. (Ouattara et al., 1997). Dans une dilution au 1/100, l'huile de romarin (*Rosmarinus officinalis*), contenant principalement du camphre, est l'une des huiles antibactériennes les plus efficaces ayant une activité antibactérienne contre deux Gram négatif (*Pseudomonas fluorescens* et *Serratia liquefaciens*) et quatre Gram positif (*Brochothrix thermosphacta*, *Carnobacterium piscicola*, *Lactobacillus curvatus* et *Lactobacillus*) bactéries (Sivropoulou et al., 1997).

I.3.2. Activité antivirale

Les maladies virales constituent un problème de santé de plus en plus préoccupant dans le monde et des antiviraux plus efficaces mais moins toxiques que ceux actuellement utilisés ont été intensivement recherchés. Sivropoulou et al., (1997) ont étudié les activités antimicrobiennes, cytotoxiques et antivirales de l'huile essentielle de sauge grecque (*Salvia fruticosa*). Les résultats ont montré que l'huile essentielle de sauge grecque (*S. fruticosa*) et

ses quatre composants principaux (1,8-cinéole, α - β -thujone et camphre) présentaient des niveaux élevés d'activité virucide contre le virus Herpes simplex-1, mais, cet effet positif s'est accompagné d'une activité cytotoxique sur les cellules de rein (Vero) de singe vert d'Afrique.

I.3.3. Activité antitussive

La toux est un symptôme clinique très commun avec des thérapies actuelles largement inefficaces. Les vapeurs aromatiques ont été largement utilisées dans le traitement symptomatique des infections des voies respiratoires supérieures en raison de leurs effets antitussifs connus. Burrow et ses collaborateurs (1983) ont étudié les effets de la vapeur de camphre sur la résistance nasale à l'écoulement d'air et la sensation nasale d'écoulement d'air. L'inhalation de camphre n'a eu aucun effet sur la résistance nasale à la circulation d'air, mais une sensation de froid dans le nez accompagnée d'une sensation de circulation d'air améliorée a été décrite. Les résultats ont montré que le camphre stimule les récepteurs du froid dans le nez (Burrow et al., 1983).

Laude et ses collaborateurs (1994) ont rapporté l'action du camphre sur le réflexe de toux chez des cobayes conscients. Dans une autre étude, le camphre a été utilisé pour synthétiser du camphre lactame (α -camphidone) par traitement à l'acide hydroxylamine-O-sulfonique et à l'acide acétique glacial avec un réarrangement de type Beckmann. Le camphre et le camphre lactame ont été testés pour leur activité antitussive chez des cobayes souffrant de toux induite par l'acide citrique. Il a été noté que cette modification mineure de la structure chimique augmentait considérablement le temps de latence de la toux tout en réduisant la fréquence de la toux. En outre, une exposition antérieure au camphre lactame à des concentrations de 125, 250 et 500 $\mu\text{g} / \text{L}$ avait une réponse inhibitrice de la toux par rapport au camphre (Kumar et Ando, 2003).

I.3.4. Activité anti-nociceptive

Le camphre a une longue histoire d'utilisation dans les baumes comme analgésique topique. En 1990, Green et al., (1990) ont découvert que le camphre était un irritant sensoriel relativement faible, ayant un effet excitateur modeste sur les fibres cutanées thermosensibles (et peut-être nociceptives). Xu et al., (2005) ont également étudié le mécanisme de l'activité anti-nociceptive du camphre et ont rapporté que celui-ci activait et désensibilisait le récepteur de la capsaïcine (TRPV1) tout en inhibant le récepteur de l'ail (TRPA1). Les deux font partie de la superfamille du potentiel de récepteur transitoire (TRP) récemment élucidée, un groupe de canaux ioniques structurellement similaires, fortement exprimés dans les neurones

sensoriels nociceptifs. Par conséquent, il est possible que les effets analgésiques du camphre soient dus à une désensibilisation de TRPV1 et à un blocage de TRPA1 (**Xu et al., 2005**).

I.3.5. Activité antimutagène et anticancéreuse

Peu d'études animales démontrant le potentiel du camphre dans le traitement du cancer ont été menées, mais celles-ci comprenaient l'amélioration de la fonction immunitaire (**Ghanta et al., 1987**), l'amélioration de la dégradation enzymatique des carcinogènes (**Banerjee, 1995**) et la susceptibilité accrue des cellules cancéreuses aux radiations. Goel et al. (**1989**) ont démontré que le camphre avait un effet radio modifiant, une augmentation de la fréquence des échanges de chromatides soeurs (SCE) dans les cellules de la moelle osseuse de souris se produit après une exposition à un rayonnement gamma, mais après une dose unique de camphre, administrée à 0,5 µM / g de poids corporel, cette fréquence était significativement faible. Kanematsu et Shibata (**1990**) ont signalé des dommages possibles à l'ADN, comme en témoigne un résultat positif du rec-dosage utilisant deux souches de *Bacillus subtilis*. Le camphre, souvent utilisé dans les formulations endodontiques, a donné un résultat positif lors du «rec-assay», montrant que le camphre peut provoquer une toxicité génétique dans les cellules. Cependant, les médicaments montrant des résultats positifs ne provoquent pas nécessairement la formation de tumeurs. Cela montre que d'autres études sur la génotoxicité du camphre sont nécessaires et que le camphre doit être utilisé avec précaution (**Kanematsu et Shibata,1990**).

I.3.6. Activité insecticide

Certains pesticides synthétiques actuellement utilisés menacent l'intégrité de la couche d'ozone et d'autres tampons de l'environnement. Il est donc urgent de trouver des solutions de remplacement à ces produits chimiques commerciaux (**Methyl bromide technical options committee**). Les huiles essentielles sont considérées comme de bons candidats en raison de leur faible toxicité pour les mammifères, de leur grande volatilité, de leur disponibilité immédiate dans les pays tropicaux et de leur viabilité économique (**Li et Zou, 2001**). Les monoterpénoïdes censés aider les plantes dans leur défense chimique contre les insectes phytophages sont capables d'interférer de manière toxique avec les fonctions biochimiques et physiologiques des insectes herbivores (**Brattsten, 1983**). Bekele et Hassanali (**2001**) ont révélé l'activité insecticide du camphre basilic (*O.kilimandscharicum*) contre *Rhyzopertha dominica* et *S. zeamais* en raison du camphre et des effets combinés de différents composants,

mais le camphre n'a aucun effet sur le charançon du riz (*Sitophilus oryzae*), avec une CL50 supérieure à 100 µL / L.

I.3.7. Effets cardiovasculaires

Le camphre est utilisé depuis des siècles pour stimuler le cœur et la circulation périphérique. Osborne (**Seyoum et al., 2003**) a rapporté que, dans les cas d'insuffisance cardiaque et d'effondrements cardiaques caractérisés par une peau froide, un pouls faible et un cœur défaillant, l'injection sous-cutanée de camphre dans de l'huile stérile provoquait un rougissement de la surface de la peau, une dilatation des vaisseaux sanguins périphériques et une amélioration de la circulation entière.

I.3.8. Le camphre en tant qu'améliorant potentiel de pénétration cutanée

L'efficacité de certains terpènes sur la perméation cutanée des catéchines et de la théophylline de thé a été évaluée de manière systémique à l'aide d'une série de méthodes in vitro et in vivo (**Fang et al., 2007**). Il a été constaté que tous les terpènes évalués avaient des effets significatifs sur l'administration de la (+) -céchéchine par rapport au témoin, le camphre et le fenchone présentaient la plus faible augmentation parmi les monoterpènes contenant de l'oxygène, ce qui peut être lié à leur structure bicyclique (**Fang et al., 2007**). Par ailleurs, Ramesh et al (**2007**), ont rapporté que le flux de carvédilol obtenu à partir de solutions contenant du camphre, et une autre étude a montré que la molécule du camphre empêchait nettement la pénétration de benzocaïne sur la peau tout en favorisant l'accumulation cutanée par la suite (**Li et Zou, 2001**).

I.3.9. Toxicité du camphre

La toxicité du camphre a été bien documentée. L'ingestion de 3,5 g de camphre peut entraîner la mort, tandis que 2,0 g ont des effets toxiques chez les adultes, entraînant une congestion du tractus gastro-intestinal, des reins et du cerveau. L'effondrement immédiat d'un nourrisson a été rapporté après l'application d'une petite dose aux narines (**Arena, 1979**). Chez l'homme, les symptômes caractéristiques de l'intoxication au camphre après l'ingestion sont les suivants: nausée, vomissements, maux de tête, vertiges, excitabilité musculaire provoquant des tremblements et des contractions musculaires, des convulsions et du délire, selon la posologie. Dans les cas de surdosage grave, un état de mal épileptique persistant pendant plusieurs heures survient, provoquant finalement le coma et la mort par asphyxie ou épuisement (**Love et al., 2003 ; International program on chemical safety**).

I.4. Conclusion

Le camphre est une molécule polyvalente ayant une gamme d'applications très variée, allant du traitement de conditions médicales chez l'homme à l'utilisation en tant que poison naturel pour tuer les insectes, ce qui semble divergent. En fait, la toxicité du camphre chez l'homme reste un sujet de préoccupation, car de nombreux cas d'intoxication accidentelle accompagnés de symptômes graves se sont produits. Cependant, non seulement le camphre pur doit être pris en compte, il est important de se rappeler que de nombreux produits, plantes et huiles essentielles contiennent du camphre. L'arôme extrêmement distinct du camphre a conduit à son utilisation répandue dans les pommades et les inhalants, en particulier en complément du traitement du rhume. Scientifiquement, de nombreuses activités biologiques ont été attribuées au camphre, notamment des propriétés antibactériennes, antifongiques, antimutagènes, antitussives et insecticides, mais il est important de noter que la bioactivité a été déterminée dans de nombreux cas en utilisant une huile essentielle riche en camphre et non en camphre pur. En raison du pourcentage élevé de camphre, ces activités peuvent être incorrectement attribuées au camphre, alors que la synergie semble beaucoup plus probable, comme le montre l'exemple de 1,8-cinéole et de (-) - camphre. D'autres études ont montré que le camphre pur ne possédait pas la même activité que l'huile essentielle pure. Il est clair que si ces propriétés doivent être confirmées, il convient de poursuivre les recherches sur le camphre seul pour poursuivre ces études sur les huiles essentielles. En plus de ses nombreuses utilisations médicales, le camphre est une molécule utile dans les réactions chimiques, où il est utilisé de manière intensive en tant que catalyseur et a servi de matériau de départ et d'auxiliaire chiral. Il ressort clairement que le camphre est une molécule extrêmement polyvalente avec une multitude d'applications.

CHAPITRE II. GÉNÉRALITÉS SUR LES VIRUS INFLUENZA

II.1. Les pandémies d'influenza dans l'histoire

L'influenza communément abrégé «flu» semble provenir de l'expression italienne «influenza di freddo». Des sources écrites documentent des épidémies de grippe depuis plusieurs centaines d'années, mais il existe des rapports écrits sur une éventuelle grippe remontant à 412 av. J.-C. (**Potter, 2001**). Les épidémies de grippe saisonnière affectent de 3 à 5 millions de personnes et sont responsables de 250000 à 500000 décès annuels dans le monde. La transmission du virus influenza se fait le plus souvent en hiver (dans les régions tempérées de l'hémisphère nord), les pandémies surviennent à un intervalle de 10 à 50 ans et se produisent lorsqu'une nouvelle hémagglutinine (HA) ou une neuraminidase (NA) de la grippe aviaire se mélangent par réassortiment avec des virus de la grippe humaine préexistants ou par un virus aviaire s'adaptant à une transmission humaine efficace. On pense que les porcs peuvent servir de vases de mélange car ils possèdent des récepteurs pour les virus humains et aviaires dans leurs cellules épithéliales (**Peiris, 2009**).

Trois pandémies de grippe ont été reconnues au 20^{ème} siècle : en 1918-19, 1957 et 1968. La pandémie de grippe H1N1 de 1918-19, également appelée «grippe espagnole», avait un taux de mortalité de 2 à 3% et causait entre 40 et 50 millions de décès dus au nombre élevé d'infectés (**Potter, 2001**). Près de la moitié des décès liés à la grippe durant la grippe espagnole ont eu lieu dans le groupe d'âge des 20 à 40 ans et chez des personnes par ailleurs en bonne santé (**Simonsen, 1998**). Le virus (ou l'agent) responsable fut baptisé : grippe espagnole. L'origine de cette appellation provient de la neutralité de l'Espagne durant la Première Guerre mondiale. Cette neutralité a permis à la presse espagnole de pouvoir couvrir l'évolution du virus en publiant quotidiennement des rapports sur l'avancée de la maladie (**Philipps, 2003**).

La raison de la mortalité élevée chez les jeunes n'est pas entièrement comprise. Le déplacement des taux de mortalité des pandémies vers les plus jeunes par rapport aux épidémies saisonnières serait dû à l'exposition à des virus apparentés au cours de pandémies précédentes, épargnant ainsi les personnes plus âgées (**Miller, 2009**). La « grippe asiatique » de 1957-1958 était de sous-type H2N2 et touchait principalement les enfants. Un taux de mortalité inférieur à 0,2% (1 à 4 millions de décès) a été calculé. Cependant, les taux de mortalité élevés chez les enfants ne se sont pas produits (**Webster, 2013**).

Lors de la pandémie de 1968-1969, la « grippe de Hong Kong » appartenait au sous-type H3N2 et touchait tous les groupes d'âge, elle était relativement modérée, probablement à cause des anticorps préexistants de la souche saisonnière H2N2 qui offraient une certaine

protection aux personnes âgées (**Simonsen, 1998**). La réémergence du virus A (H1N1) en 1977, à l'origine de la «grippe russe», n'a pas été considérée comme une véritable pandémie, car le virus a probablement été introduit dans la population à partir d'un stock de laboratoire (**Webster 2013**).

La première isolation d'un virus grippal fut réalisée chez le porc par Richard Shope en 1931. Ce dernier fut en effet frappé par la concomitance de la grippe espagnole chez l'homme et d'une maladie similaire chez le porc vers 1918-1919, et ce n'est qu'en 1933 que le virus de la grippe a été isolé pour la première fois chez l'humain par le groupe mené par Patrick Laidlaw dans le Medical Research Council en Grande-Bretagne et ce n'est qu'en 1935 que la nature non cellulaire du virus a été recensée (**Barberis et al., 2016**). La première pandémie du XXI^{ème} siècle a été causée par le virus H1N1, survenue en Avril 2009, entre 46 à 86 millions de personnes ont été infectées et 556 décès ont été dénombrés en Août 2009 (0,056% de mortalité) (**Simonsen et al., 2013**).

II.2. Surveillance de la grippe en Algérie

Dr Derrar et collaborateurs (**Derrar et al.,2019**), du centre national de surveillance de la grippe de l'institut Pasteur Algérie, ont rapporté que les premières données épidémiologiques de la grippe en Algérie entre 2009 et 2013. Ces données recueillies par un réseau national de surveillance de la grippe, qui complètent la récente étude menée par Dr Ait-Aissa et collaborateurs (**Ait-Aissa et al.,2018**), qui ont constaté que les virus grippaux touchent tous les groupes d'âge avec les taux de SG les plus élevés (58%) enregistrés chez les enfants ≤ 15 ans (**Pariani et al., 2014**). Le virus de la grippe est conforme au grand nombre de publications signalant que les enfants courent un risque accru d'infection respiratoire, y compris la grippe (**Brooks et al., 2011**). Les données ont montré que les virus grippaux circulaient principalement pendant les mois octobre à avril, semblable aux tendances décrites ailleurs en Afrique du Nord (**Barakat et al., 2011**).

Un programme de vaccination existe en Algérie ainsi que des recommandations du Ministère de la Santé, cependant le système de suivi du taux de couverture vaccinale fait défaut (**Al Awaidy et al., 2018**).

Des vaccins contre la grippe et des antiviraux sont disponibles en Afrique bien que la couverture de la population soit très faible (**Al Awaidy et al., 2018**). Le fardeau de la grippe est largement non documenté en Algérie et les stratégies pour étendre cette surveillance continue à travers le pays sont cruciales pour la mise en place et le ciblage des politiques de

vaccination. Le réseau algérien de surveillance sentinelle de la grippe a été officiellement lancé en décembre 2016 et générera plus de données ultérieurement. Des stratégies visant à accroître la couverture vaccinale sont justifiées pour contrôler et prévenir la grippe chez les personnes à risque de complications (**Derrar et al.,2019**).

II.3. Généralités sur les virus influenza, symptômes cliniques et modes de transmissions.

La grippe saisonnière est une maladie aiguë caractérisée principalement par la toux, le malaise et la fièvre, frissons, maux de tête, anorexie, rhinite et maux de gorge (50 à 79% des cas confirmés), crachats, vertiges, enrouement et douleur à la poitrine et symptômes gastro-intestinaux (vomissements, diarrhée, nausée, pain d'estomac) (<10% cas confirmés) (**Van-Tam, 2009**). La présence d'enfants âgés de 12 à 25 ans a eu une incidence significative sur les signes et symptômes cliniques de l'influenza pandémique, ainsi que sur celle du virus A (H1N1) pdm09, dans la mesure où seulement 2% des cas confirmés en laboratoire étaient âgés de moins de 65 ans (**Belongia, 2010**). Des études sur les premiers cas de grippe pandémique aux États-Unis et au Royaume-Uni et des données de surveillance de la première vague en Europe ont montré que jusqu'à 1/4 des patients atteints de grippe confirmée présentaient des symptômes gastro-intestinaux (diarrhée, vomissements, maux d'estomac et nausées), en particulier chez les jeunes enfants (**McLean 2010**). Dans les cas les plus sérieux, la maladie peut dégénérer en pneumonie et être fatale, particulièrement pour les personnes des groupes à risques (personnes âgées, jeunes enfants, immunodéprimés, malades chroniques, femmes enceintes...) (**Eccles, 2005**). Le temps d'incubation du virus est de 1 à 3 jours et la période de contagion débute 24 heures avant l'apparition des premiers symptômes et se poursuit jusqu'à 7 jours après le début de la maladie. Une personne atteinte de la grippe ne peut généralement pas quitter son lit pendant 3 jours et peut mettre de quelques jours à 6 à plusieurs semaines à se rétablir. Cette maladie est souvent confondue avec le rhume commun, qui n'est qu'une infection moyenne du système respiratoire supérieur, causé par des virus respiratoires tels les rhinovirus ou les coronavirus (**Eccles, 2005**). La grippe se transmet facilement dans l'air par éternuements ou reniflements, via les aérosols contenant des particules virales. Le virus peut également être transmis par contact direct via des sécrétions ou des surfaces contaminées (**Brankston, 2007**). Le temps de survie du virus varie en fonction de la surface : allant de 1-2 jours sur une surface dure et non poreuse (plastique, métal...), 15 minutes sur un tissu sec (manteau, draps...) à 5 minutes sur la peau. Son temps

de survie peut être considérablement rallongé si le virus se retrouve protégé dans un film tel du mucus (jusqu'à 17 jours sur un billet), ou pratiquement infini si congelé (**Lowen, 2007**).

Le virus influenza est cependant relativement fragile et peut donc être inactivé facilement par la chaleur (60 minutes à 56°C) et par la plupart des produits chimiques usuels (désinfectants, détergents...) (**Suarez, 2003**).

II.4. Taxonomie du virus de la grippe

II.4.1. Les Influenzavirus A

II.4.1.1 Généralités

Les virus influenza sont des virus enveloppés, de 80-120 nm de diamètre, appartenant à la famille des Orthomyxoviridae (ortho = droit, myxo = mucus), nommés ainsi parce qu'ils se fixent aux résidus sialiques des mucoprotéines des cellules épithéliales. Ils présentent tous une organisation structurale et un mode de réplication similaires (**le Ru, 2010**).

Les virus de la famille des Orthomyxoviridae sont caractérisés par un génome segmenté composé de six à huit molécules d'ARN simple brin de polarité négative (ARNv(-)). Les Orthomyxoviridae sont capables d'infecter une panoplie d'hôtes, que ce soient les mammifères, les oiseaux ou les tiques. Les pathologies associées sont également très variables, allant de la fièvre à l'encéphalite. À ce jour, six genres ont été référencés dans cette famille : les Influenzavirus (IV) de type A (IVA), les Influenzavirus de type B (IVB), les Influenzavirus de type C (IVC), les Thogotovirus, les Isavirus et les Quaranjavirus (**Fields, 2013**).

Récemment, un septième genre d'Influenzavirus, de type D, a été proposé suite à l'étude de virus isolés chez des porcs et des bovins (**Miranda, 2017**). Le virus Influenza D, très distinct avec seulement 50% d'identité de nucléotide par rapport à IVC, a été confirmé dans cette famille (**Fields, 2013**). Les bovins ont été proposés comme réservoir naturel d'un nouveau membre de la famille des virus Orthomyxoviridae, qui a été provisoirement classé comme virus de la grippe D (IDV). Bien qu'il soit isolé chez des animaux malades, il n'est pas clair si la IDV provoque une quelconque maladie clinique (**Ferguson et al., 2016**).

II.4.1.2 Classification des virus grippaux

Les virus influenza sont des virus à ARN simple brin de polarité négative, appartenant à la famille des Orthomyxoviridae. Il existe trois types sérologiques de virus influenza (A, B

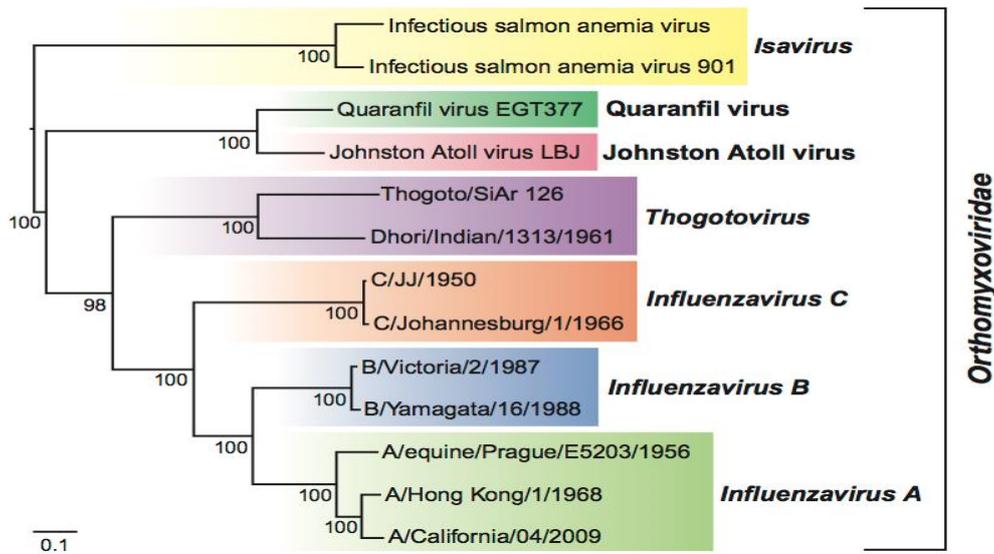


Figure II.1: Arbre phylogénétique de la famille des Orthomyxoviridae (ICTV, 9ème rapport, 2011).

et C) (**Figure II.1**) classés selon la spécificité antigénique des protéines virales internes, la nucléoprotéine NP et la protéine interne de matrice M1 (**Hong-Hai, 2011**). Parmi ces trois types, seuls les virus de type A sont subdivisés en fonction des deux glycoprotéines de surface, l'hémagglutinine (HA) et la neuraminidase (NA), permettant la définition de 16 sous-types de HA (H1 à H16) et de 9 sous-types de NA (N1 à N9) (**Fouchier et al., 2005**). Alors que les virus de type A ont un large spectre d'hôte (tels que l'homme, plusieurs espèces de mammifères, les oiseaux aquatiques sauvages, les espèces de volailles), les virus de type B et C infectent principalement l'homme. Les virus de type A et B sont responsables des épidémies saisonnières mais seuls les virus de type A sont capables de provoquer des pandémies grippales à intervalles imprévisibles. Les virus C sont liés à des cas sporadiques corrélés à des maladies bénignes. Les virus de type A responsables d'épidémie sont depuis 1977 de sous-types H3N2 et H1N1, avec dans les années 2000 l'incursion durant 2 saisons du sous-type H1N2 (**Lin et al., 2004**).

Récemment, deux nouveaux sous-types H17 et H18 et N10 et N11 ont été identifiés chez les chauves-souris (**Tong et al., 2012**). Seuls les sous-types H1, H3, N1 et N2 circulent chez le porc (**Grgic et al., 2015**). Pour les virus de type B, deux lignées antigéniquement distinctes ont co-évolué depuis les années 1980. Ces deux lignées sont apparentées à la souche B/Victoria/2/87 (la lignée B/Victoria) ou à la souche B/Yamagata/16/88 (la lignée B/Yamagata) (**Rota et al., 1990**). Contrairement aux autres virus de la famille des Orthomyxoviridae, chaque souche d'IV est répertoriée selon une nomenclature établie par

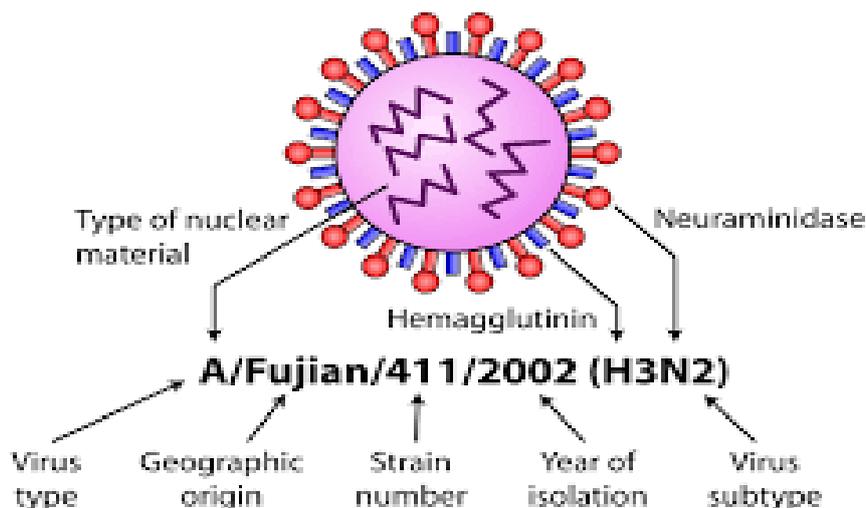


Figure II.2: Nomenclature des virus influenza A, (CIDRAP, 2011).

l'OMS. La nomenclature officielle d'un isolat du virus influenza contient les renseignements suivants : le type du virus, l'hôte d'origine (pour toutes les souches isolées de l'hôte différent de l'homme), le lieu d'isolement, le code de l'isolement, l'année de l'isolement (**Figure II.2**), l'indication des sous-types d'hémagglutinine et de neuraminidase (notée HxNy) uniquement pour le type A (**WHO, 1980**).

Par exemple : A/Brisbane/10/07 (H3N2) signifie virus de type A, de sous-type H3N2, isolé chez l'homme à Brisbane en 2007 dont le numéro d'ordre est 10 ; B/Florida/4/06 (lignée B/Yamagata) signifie virus de type B, isolé chez l'homme à Florida en 2006 dont le numéro d'ordre est 4 (**Hong-Hai, 2011**). Enfin, les sous-types d'hémagglutinine A (HA) et neuraminidase (NA) serviront à nommer plus précisément les virus (**Lowen et al., 2017**).

La classification des virus se base sur le type de génome viral (ADN ou ARN, simple ou double brin) et son mode d'expression dans la synthèse de l'ARN messager viral, ainsi que le procédé de réplication de l'ADN (**Baltimore, 1971**).

II.4.2. Structure des virus influenza ;

Les virus influenza peuvent être de forme sphérique ou filamenteuse (**Figure II.3**), les virus filamenteux présentent le même diamètre que les virus sphériques (~100 nm), cependant leur longueur peut atteindre 30 µm (**Bruce et al., 2009**). A la surface de l'enveloppe virale sont enchâssées deux glycoprotéines : l'hémagglutinine (HA) et la neuraminidase (NA). L'enveloppe et la membrane sont traversées de part en part par des protéines virales M2, qui

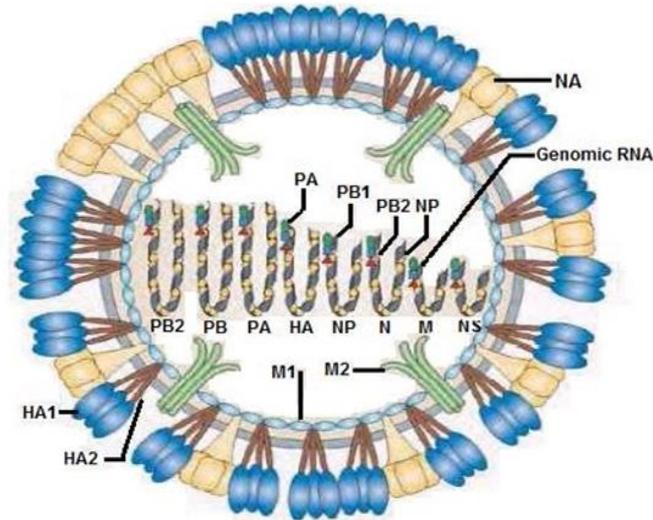


Figure II.3: Représentation schématique du virus influenza A (KARLSSON et al., 2008).

forment des canaux ioniques) (Rossman et Lamb, 2011 ; Sayari, 2018). Comme mentionné précédemment, la classification des différents sous-types de virus se fait en se basant sur la nature des deux glycoprotéines de surface (HA et NA) (Lowen et al., 2017).

La figure II.3 schématise la structure du virus influenza. La glycoprotéine HA est un homo-trimère inséré dans l'enveloppe virale par son extrémité C terminale tandis que son extrémité N-terminale est extracellulaire. La glycoprotéine HA permet l'ancrage du virus à la membrane cellulaire en s'attachant aux acides sialiques de surface (récepteurs cellulaires) et son internalisation dans la cellule hôte. La neuraminidase (NA) est un homo-tetramère inséré dans la membrane du virus par son extrémité N-terminale tandis que son extrémité C-terminale est extracellulaire. La neuraminidase intervient en fin de cycle, via son activité sialidase, pour éliminer l'acide sialique des sialyl-oligosaccharide libérant ainsi les nouveaux virions tout en évitant leur auto-agrégation (Medina et García-Sastre, 2011). En dessous de la membrane, la protéine structurale majeure est la protéine de matrice M1. La protéine M1 est homo-oligomérisée pour former une superstructure hélicoïdale recouvrant l'intérieur de l'enveloppe virale. La protéine M1 intervient dans la phase d'assemblage en se liant d'une part à la partie cytoplasmique des glycoprotéines de surface HA et NA et, d'autre part, avec les ribonucléoprotéines virales (RNPv) présentes dans le virion (Zhao et al., 2017). Le génome du virus influenza est fractionné en 8 segments indépendants d'ARN simple brin négatif, codant dans leur ensemble 10 protéines essentielles, et pour des protéines accessoires en nombre variable selon les virus. Ainsi, le virion renferme en son sein le matériel génétique

du virus présent sous forme de 8 ribonucléoprotéines virales (RNPv). Chaque RNPv est composée du génome viral, de la nucléoprotéine (NP) et du complexe ARN-polymérase-ARN dépendante lui-même constitué de 2 enzymes basiques (appelées PB1 et PB2 (Polymerase Basic Proteins)) et d'une enzyme acide (appelée PA (Polymerase acidic protein)).

La protéine **NS1** est pléiotrope, en effet, elle permet de contrer la réponse interféron déclenchée par l'infection dans la cellule hôte et elle agit également pour contrôler d'autres aspects de la réplication virale comme la réplication de l'ARN et la synthèse des protéines virales (**Hale et al., 2008**). La protéine **NS2**, régule la transcription et la réplication virale (**Robb et al., 2009**) et assure l'exportation, à partir du noyau, de la RNPv grâce au signal NEP (nuclear export protein) qu'elle porte (**Shimisu et al., 2011**).

La protéine **PB1-F2** semble jouer un rôle dans la pathogénicité virale en augmentant l'activité de NF- κ B (**Le Goffic et al., 2011**) et montre une activité pro-apoptotique (**Watanabe et al., 2010**). Au sein de la ribonucléoprotéine virale (RNPv), la protéine NP est une protéine basique qui recouvre l'ARN viral. La protéine NP est capable d'interagir avec plusieurs protéines de l'hôte et du virus (figure II.4). Elle est essentielle pour assurer la réplication du génome viral, puisque quand elle est liée à l'ARN, elle le maintient dans une conformation adéquate lui permettant d'être transcrit par la polymérase et empaqueté dans de nouveaux virions (**Turrell et al., 2013**). Mise à part sa fonction structurale, la protéine NP joue également un rôle important dans l'importation (impliquant l'importin α) de la RNPv à

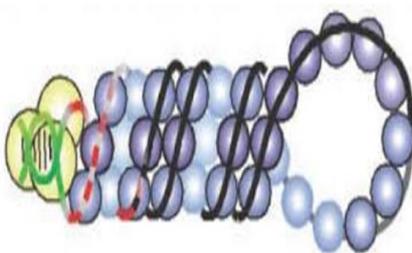


Figure II.4: Représentation schématique d'une RNP. Les NP et les polymérases sont respectivement représentées sous forme de sphères bleues ou jaunes. L'ARNv est représenté par le brin coloré en vert, rouge et noir (**Hutchinson et al., 2010**).

travers le signal NLS (nuclear localization signal) (**Hu et al., 2017**).

Trois protéines virales sont exposées à l'extérieur des particules de virus : la protéine trimérique HA (contenant deux sous-unités HA1 et HA2 activées par le clivage protéolytique), la protéine tétramérique NA et la protéine de canal ionique M2. Les protéines

de matrice M1 tapissent une couche à l'intérieur de la membrane virale. Le génome viral est constitué de 8 segments d'ARN. Chaque segment ARN est associé avec les protéines de nucléocapside NP et les protéines de complexe polymérasique (PA, PB1, PB2) pour former 8 composés de ribonucléoprotéines (**Karlson Hedestam et al., 2008**).

II.5. Cycle de réplication des virus influenza

Le cycle réplcatif du virus influenza comporte 6 étapes principales : (1) Attachement du virus à la cellule hôte et entrée du virus, (2) fusion membranaire, libération du génome et entrée du génome dans le noyau, (3) Expression du génome et réplication des RNPv, (4) Transcription des ARNv en ARNm et traduction en protéines virales, (5) Exportation des RNPv à partir du noyau et (6) Assemblage et bourgeonnement des nouveaux virions (Figure II.5).

II.5.1. Attachement du virus à la cellule hôte et entrée du virus

Les glycoprotéines HA, qui se présentent sous forme de spicules à la surface de la membrane virale, sont très importantes à ce stade puisqu'elles se lient aux acides sialiques exprimés à la surface de la cellule hôte. Le virus pénètre alors dans la cellule par endocytose (essentiellement médiée par des molécules de clathrine) et se retrouve dans un endosome (**Matlin et al., 1981**). Il a également été rapporté que les virus filamenteux pourraient entrer par micropinocytose (**Rossman et al., 2011**). Les facteurs de l'hôte Rab 5 et Rab 7 (**Sieczkarsky et Whittaker, 2003**) et IFITM (interferon-inducible transmembrane protein) (**Feeley et al., 2011**) interviennent durant la phase d'internalisation virale.

II.5.2. Libération et entrée dans le noyau des RNPv

Le canal ionique M2 présent dans l'enveloppe virale permet l'influx de protons de l'endosome vers l'intérieur de la particule virale. Cette acidification de l'intérieur du virus aboutit à la dissociation entre les protéines M1 et la RNPv (**Bouvier et Palese, 2008**). Les membranes de l'endosome et du virus vont également fusionner pour former des pores de fusion par lesquels les RNPv, préalablement dissociés des protéines de la matrice, seront libérées dans le cytosol. Le processus est initié par un changement conformationnel qui aboutit à l'exposition d'un peptide fusogène de la HA. Enfin, les RNPv ainsi libérés dans le cytoplasme seront transportés vers le noyau par les facteurs d'import nucléaire cellulaires, les importines α et β (**Cros et al., 2005**).

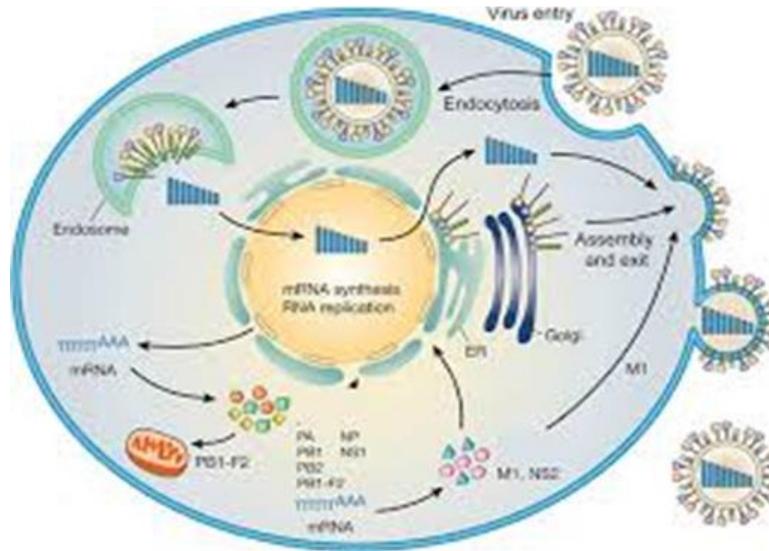


Figure II.5: Cycle de réplication des virus grippaux A. (Arias et al., 2009).

II.5.3. Transcription et réplication du génome viral

La transcription et la réplication du génome viral se font dans le noyau et font intervenir le complexe polymérase formé par les protéines virales PB1, PB2 et PA. La réplication du génome viral consiste en la synthèse d'ARN complémentaire simple brin positif (ARNc) qui servira de matrice pour la synthèse de l'ARN génomique viral (ARNv) (Hu et al., 2017).

II.5.4. Traduction des protéines virales

L'ARN messager (ARNm) viral synthétisé est transporté vers le cytoplasme où il sera traduit par la machinerie cellulaire en protéines virales. Les ARNm viraux générés lors de l'infection grippale présentent une terminaison 5' en coiffe et une queue polyA à l'extrémité 3'. La traduction des protéines virales fait intervenir les facteurs eIF4F (eukaryotic initiation factor-4A) composé de trois sous-unités (eIF4A, eIF4E et eIF4G) qui interagit avec l'ARNm assurant le recrutement des ribosomes qui vont former le complexe 48S et ainsi initier la traduction de l'ARNm une fois le codon d'initiation détecté (Yangüez et al., 2011). Le virus influenza, via la protéine non-structurale NS1, bloque la traduction de l'ARNm cellulaire en altérant l'export des ARNm cellulaires du noyau vers le cytoplasme (Walsh et al., 2013).

La synthèse des protéines virales se fait par le détournement de la machinerie cellulaire, limitant ainsi la traduction des protéines de l'hôte en faveur des protéines virales (Matsuoka et al., 2013).

II.5.5. Export des RNPv du noyau vers le cytoplasme

L'export nucléaire des RNPv nouvellement synthétisés nécessite l'intervention des protéines NS2/NEP (**Iwatsuki-Horimoto et al., 2004**), de la protéine M1 (**Bui et al., 2000**) et de l'exportin 1 de l'hôte (CRM1 ou Xpo1) (**Neumann et al., 2000**). La partie C-terminale de la protéine M1 interagit directement avec la RNPv, alors que la partie N-terminale se lie à NS2/NEP. Ainsi, la RNPv est exportée du noyau vers le cytoplasme sous forme d'un complexe M1-NEP-CRM1 (**Hu et al., 2017**).

II.5.6. Assemblage et bourgeonnement du virus

Suite à la synthèse de son génome viral et des protéines qui lui sont indispensables, le virus entre dans une phase d'assemblage et de bourgeonnement au niveau de la membrane plasmique de la cellule hôte. Le bourgeonnement au niveau des cellules épithéliales polarisées s'effectue au niveau de la région apicale (**Matsuoka et al., 2013**). Ainsi, les protéines de surface du virus sont transportées et insérées au niveau de la membrane plasmique de l'hôte. Deux modèles hypothétiques ont été suggérés pour expliquer le processus d'assemblage et de bourgeonnement du virus :

1. Le modèle d'assemblage au hasard (random packaging model) (**Nayak et al., 2009**).
2. Le modèle d'assemblage spécifique (specific packaging model). Selon ce modèle, les signaux portés par les segments viraux contrôlent l'assemblage du virus (**Gerber et al., 2014**).

La protéine M2 joue un rôle essentiel durant la formation des nouvelles particules virales. La protéine M1 intervient en dernière phase pour le bourgeonnement de la particule virale. De plus, M1 et NP interagissent avec les composants du cytosquelette de la cellule hôte, tels que l'actine, stimulant ainsi le transport des RNPv vers le site de bourgeonnement. La libération des nouvelles particules virales par la cellule hôte est finalisée par l'action de la NA qui va cliver le résidu de l'acide sialique (**Shim et al., 2017**).

Cycle de réplication des virus grippaux A. Après endocytose, les complexes ribonucléoprotéiques viraux (RNPv) sont libérés dans le cytoplasme et transportés ensuite vers le noyau où la réplication et la transcription ont lieu. Les ARN messagers sont exportés vers le cytoplasme pour être traduits. Les protéines virales précoces nécessaires à la réplication et à la transcription, sont renvoyées vers le noyau. Plus tard dans le cycle d'infection, les protéines M1 et NS2 facilitent l'exportation nucléaire des RNPv nouvellement

synthétisés. PB1-F2 s'associe aux mitochondries. L'assemblage et le bourgeonnement des virions de la progéniture se produisent au niveau de la membrane plasmique.

II.6. Modes de transmission du virus

II.6.1. Par voie aérienne

Le virus diffuse par voie aérienne, dans les gouttelettes provoquées par la toux, les éternuements ou les postillons chez une personne infectée, dans un périmètre d'au moins d'un mètre et reste vivant de 8 à 48 heures à l'air libre. Il s'agit soit de grosses particules ($> 5\mu$), soit de microparticules mesurant moins de 10μ et qui constituent de véritables aérosols infectieux, c'est une contamination directe (**Gallaher et al., 2009**). Par contact rapproché (embrassade, poignée de mains): cette transmission de personne à personne se fait par contamination manuportée et la personne qui a les mains contaminées s'infecte habituellement en se touchant les yeux, le nez ou la bouche, si elle ne met pas en œuvre les mesures élémentaires d'hygiène des mains. Par contact avec des objets contaminés par un malade (toilettes, poignée de porte, boutons d'ascenseurs, etc.). Il s'agit d'une contamination indirecte (**Gallaher et al., 2009**). La figure II. 6 montre les mécanismes d'émergence d'un nouveau sous-type de virus influenza. (A) Le réassortiment génétique s'explique par l'échange de segments de gène entre deux virus influenza A, lors de la co-infection d'une même cellule donc d'un même hôte (aviaire, porcine ou humaine). Ce mécanisme est l'hypothèse expliquant l'émergence des virus responsables des pandémies de 1957 (Grippe Asiatique) et de 1968 (Grippe de Hong Kong). En 1957, le virus émergent A(H2N2) est le résultat de l'acquisition sur le fond génétique du virus A(H1N1) humain circulant depuis 1918, des segments HA, NA et PB1 d'un virus aviaire A(H2N2). En 1968, après acquisition par ce virus A(H2N2) d'une HA et du segment PB1 d'un virus aviaire A(H3N2), émergea le virus A(H3N2) circulant encore aujourd'hui. (B) L'hypothèse de l'émergence du virus A(H1N1), responsable de la pandémie de 1918, serait celle de l'adaptation à l'homme d'un virus d'origine aviaire par accumulation de mutations, principalement au niveau des segments de gène HA et PB1. Cette hypothèse est controversée.

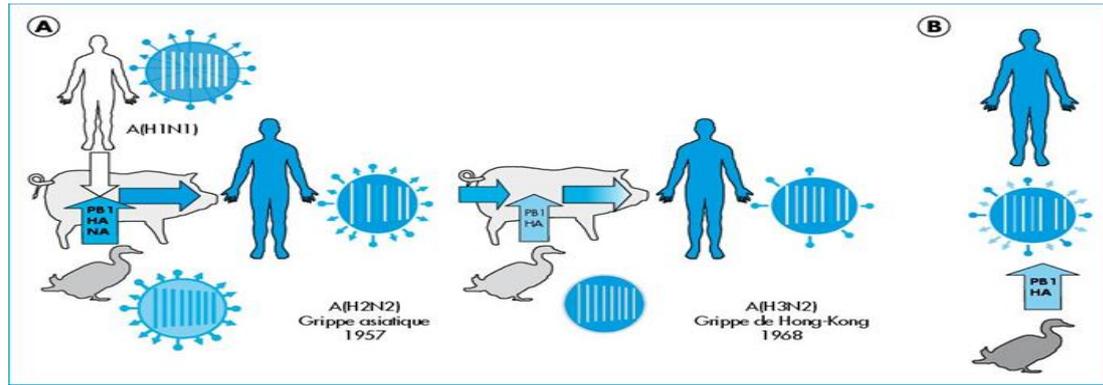


Figure II.7: Mécanismes d'émergence d'un nouveau sous-type de virus influenza par réassortiment génétique (A) ou transmission directe (B) (Bouscambert, 2010).

II.6.2. La transmission aérienne

Chez les patients exposés aux aérosols ou lors des techniques instrumentales en réanimation (intubation et ventilation assistée) est possible (**Jain et al., 2009**). Au Royaume-Uni et aux États-Unis, les taux de cas secondaires dans les ménages étaient de 7 et 13 %, respectivement, avec un risque accru d'infection chez les enfants (**Gallaher et al., 2009**). La transmission du virus de la grippe A(H1N1)2009 est facile et rendue encore plus efficace dans les lieux clos ou confinés, très fréquentés (les transports communs, les collectivités comme les écoles, casernes...) favorisant l'extension de la pandémie. En effet, de nombreuses épidémies ont eu lieu dans les écoles, les garderies et les hôpitaux de façon superposable à celle de la grippe saisonnière. La diffusion mondiale rapide a été favorisée par le transport aérien (**Epelboin et Macey., 2009**). La transmission est aussi observée entre les porcs et les humains et de la volaille aux humains ou aux chats. Les virus influenza équins peuvent aussi être transmis aux chiens (**Knipe et Howley, 2007**).

II.7. Modèles animaux pour l'étude du virus de l'influenza

Les hôtes naturels du virus d'influenza sont les oiseaux aquatiques chez lesquels on retrouve tous les sous types d'influenza répertoriés. Toutefois, le spectre d'hôtes du virus influenza est large et certains sous-types du virus peuvent affecter des oiseaux non-aquatiques ou des mammifères tels que les chiens, chevaux, porcs et furets. La capacité du virus à passer la barrière des espèces est due au fait que le virus de l'influenza cible des récepteurs cellulaires présents chez une grande variété d'animaux (**Suzuki, 2005**). Ce large éventail

d'hôtes susceptibles permet d'avoir un vaste choix de modèles animaux bien que cela nécessite parfois une adaptation de la souche virale à l'hôte.

a) Le modèle souris

Le modèle souris est le modèle animal le plus fréquemment utilisé dans l'étude du virus influenza (**Barnard 2009**). Cependant, la souris n'est pas un hôte naturel et l'utilisation d'une nouvelle souche nécessite généralement une adaptation tel que ce fut le cas pour la souche A/H1N1/PR8/34 (**Narasaraju et al., 2009**). Toutefois, il a été observé que des souches de virus d'influenza de type H5N1 d'isolats humains (**Lu et al., 1999**) ou de souches hautement pathogènes tels que les souches pandémiques de 1918 (**Medina et al., 2010**) ou 2009 (**Manicassamy et al., 2010**) étaient naturellement pathogènes chez la souris. En revanche, la pathologie et la transmission du virus ne sont pas comparables à ce que l'on observe chez l'humain. Malgré tout, de par l'abondance des réactifs pour ce modèle, la souris reste le choix de prédilection pour l'étude des différents acteurs de la réponse immunitaire et le développement de traitements antiviraux.

b) Le modèle furet

Le furet (*Mustela putorius furo*) est naturellement susceptible aux souches influenza humaines, notamment dû à la distribution similaire des récepteurs dans les tractus respiratoires des deux espèces (**Van Riel et al., 2007**). Ainsi, contrairement au modèle souris, une adaptation au virus n'est pas nécessaire (**Maher et DeStefano, 2004**). De ce fait, le modèle furet a largement été étudié en ce qui concerne la transmission (**Maines et al., 2009**), la pathogenèse (**Govorkova et al., 2005**) et le développement de nouveaux traitements anti-grippaux (**Mishin et al., 2005**).

II.8. Médicaments et traitements pharmacologiques anti-influenza

Il existe plusieurs médicaments et traitement d'anti-influenza, mais nous allons citer dans ce qui suit que quelques-uns.

II.8.1. Les bloqueurs de canaux ioniques

Les premiers traitements anti-influenza ont été développés dans les années 1960. Il s'agit de composés chimiques de type adamantanes (e.g. Amantadine, Rimantadine) ayant la capacité de bloquer les canaux ioniques M2 du virus (**Moss et al., 2010**) l'obstruction du

canal ionique bloque l'acidification de la particule virale ce qui empêche l'entrée du génome viral dans la cellule hôte et donc l'initialisation de la réplication.

II.8.2. Les inhibiteurs de neuraminidase

Une autre classe de médicaments efficace contre le virus influenza sont les inhibiteurs de neuraminidase (NAI) tels que le Zanamivir et l'Oseltamivir. Les NAI inhibent le détachement du virion depuis la cellule infectée (**Moss et al., 2010**). Les NAI limitent donc la propagation du virus et diminuent la durée de l'infection mais ces médicaments ne bloquent pas l'initiation de l'infection. Comme pour les adamantanes, des souches résistantes à ces médicaments ont émergé et ont diffusé de manière prépondérante dans la population (**Dharan et al., 2009**).

II.8.3. Autres traitements en voie de développement

De nombreux autres médicaments anti-influenza sont en développement et en essais cliniques. Certains visent à améliorer l'efficacité des traitements actuels par exemple en prolongeant la demi-vie des réactifs, alors que d'autres visent à inhiber d'autres voies de la réplication du virus tels que les inhibiteurs de ARN-polymérase ou l'utilisation de sialidases capables de cliver les récepteurs du virus influenza à la surface des cellules cibles (**Moss et al., 2010**). Il existe deux approches vaccinales contre le virus de l'influenza, les vaccins inactivés et les vaccins vivants atténués. Ces vaccins sont trivalents, constitués de trois souches circulantes de virus influenza : une souche A/H1N1, une souche A/H3N2 et une souche d'influenza de type B (**Couch, 2008**). Les variants qui constituent les vaccins sont sélectionnés selon les recommandations de l'organisation mondiale de la santé (OMS) qui se réunit deux fois par an afin d'anticiper les futures souches circulantes (**Barr et al., 2010**). La composition des vaccins est renouvelée chaque année pour s'adapter aux modifications du virus, mais en cas d'écart de prédiction entre les anticipations de l'OMS et les souches circulantes, ou en cas d'émergence de nouvelles variantes ou de nouveaux sous-types, l'efficacité de la protection peut s'en trouver amoindrie (**Monto et al., 2009**).

II.9. Diagnostic

De façon générale, le diagnostic d'une infection virale repose sur le diagnostic direct qui permet de mettre en évidence le virus (microscopie électronique, culture cellulaire) ou un de ses constituants (antigènes viraux, ARN viral) et le diagnostic sérologique réalisé sur une paire de sérums prélevés à deux semaines d'intervalle. Nous avons le diagnostic moléculaire qui comporte : Les méthodes de biologie moléculaire par PCR. (La PCR en temps

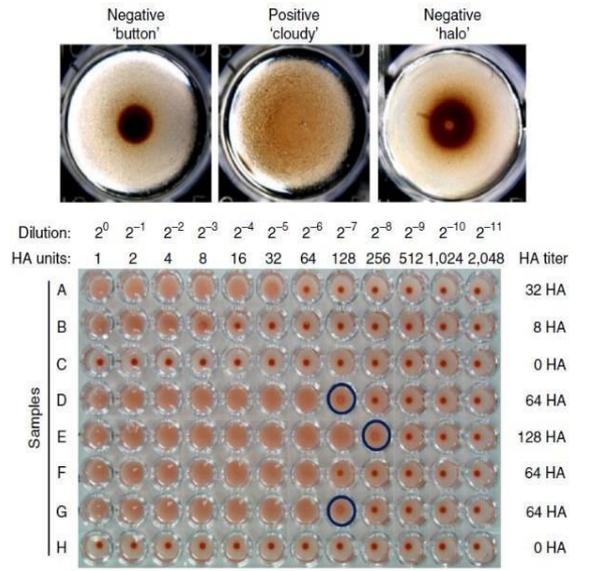


Figure II.6: Test d'hémagglutination, (Eisfeld, 2014).

réel utilise le principe de base de la PCR classique, amplification cyclique d'un fragment d'ADN, basée sur une réaction enzymatique), Diagnostic immunologique (Tests rapides immunochromatographiques et immunoenzymatiques et les méthodes d'immunofluorescence) - Diagnostic par isolement en culture cellulaire, s'agissant du diagnostic indirect nous avons le diagnostic sérologique. Dans ce travail, les méthodes des diagnostics n'ont pas étaient détailler ni toutes citer.

II.9.1. Isolement du virus

L'isolement viral peut être conduit sur des lignées cellulaires de type MDCK (Madin-Darby canine kidney) et/ou sur des œufs embryonnés de 10 jours d'âge. Les œufs embryonnés sont considérés comme la méthode de référence pour l'isolement et la propagation (Clavijo et al., 2002). Plusieurs lignées cellulaires sont appropriées pour la propagation des virus influenza telles que les cellules Vero, les MRC-5, les BHK-21 et les MDCK. Cependant, depuis 1966, les cellules MDCK sont les plus souvent utilisées pour la propagation et la réplication (Gaush et al., 1966). Plus tard, d'autres études ont mentionné l'importance de l'addition de la trypsine pour l'obtention de résultats d'isolement et de propagation plus efficaces (Meguro et al., 1979). La trypsine est une enzyme qui facilite la propagation des VIs sur les MDCK en clivant le précurseur HA0 en deux sous-unités fonctionnelles (HA1 et HA2) (Meguro et al., 1979). Les virus influenza peuvent se répliquer dans les MDCK pendant 24 à 48 h. La durée de réplication pourra aller jusqu'à 3 à 4 jours si la concentration initiale du virus est faible, la croissance dans les MDCK induit la production d'effets

cytopathiques (CPE), libérant ainsi le virus et permettant le titrage du virus à partir du surnageant cellulaire.

II.9.2. Test d'hémagglutination : test HA

L'agglutination se produit en présence de la glycoprotéine de surface 'HA' qui se lie spécifiquement aux récepteurs cellulaires des globules rouges (GRs). Le test HA est une méthode peu coûteuse rapide et simple à pratiquer (**Francis et al., 1944**). La lecture de la plaque est alors effectuée à l'œil nu après une période d'incubation par détermination de la dernière dilution présentant une réaction d'hémagglutination (**Figure II.8**) (**Eisfeld et al., 2014**).

HA positif = agglutination des GRs (une nappe au fond du puits). HA négatif = les GRs migrent au fond du puits pour former une pastille rouge ou "bouton". (a) Puits de gauche = HA négatif. Puits du milieu = HA positif et le puits de droite = HA partiel. (b) Image d'une plaque à fond conique durant un test HA.

II.9.3. Test d'infectivité

Reed et al. (1938), ont décrit le principe du test TCID₅₀. Le test d'infectivité TCID₅₀ est une mesure quantitative directe du nombre de puits dans lesquels 50% des cellules présentent des effets cytopathiques (CPE). En bref, les cellules MDCK sont mises en culture la veille (**Eisfeld et al., 2014**). Par la suite, une dilution en série de l'échantillon viral est effectuée dans du milieu de culture. Les plaques sont ensuite mises à incuber à 37°C avec 5% de CO₂. La lecture microscopique des plaques consiste à déterminer la dernière dilution où l'on peut observer des effets cytopathiques (**Figure II.9**) (**Smither et al., 2013**).

II.9.4. Traitements et résistances

L'oseltamivir, commercialisé sous le nom de Tamiflu est l'antiviral le plus utilisé présentement. Il est synthétisé à partir de l'acide shikimique, un composé ne présentant aucune activité antivirale. L'acide shikimique est présent, entre autres, dans les aiguilles de *Pinus banksiana* (pin gris) (**Sarkar et Malhotra, 1979**) et de *Abies balsamea* (Sapin baumier) (**Li et al., 2007**). On retrouve aussi ce composé dans la pelure, la pulpe et les feuilles de *Ficus carica* (Figuier commun) (**Oliveira et al., 2009**).

Actuellement, le meilleur traitement contre l'influenza est un moyen préventif : les vaccins, ils permettent de réduire le nombre de cas d'infections mais aussi de diminuer les complications qui peuvent nuire grandement à la santé des personnes à risques. Cependant, ils

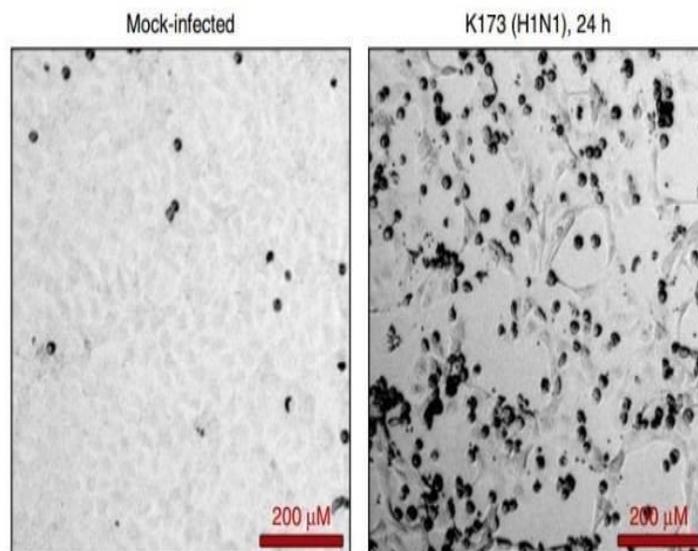


Figure II.7: Images microscopiques des effets cytopathiques (CPE) induits par des virus influenza sur des cellules MDCK. À gauche, le contrôle négatif = absence des virus influenza. À droite, présence des effets cytopathiques après infection par VI K173 de sous-type H1N1. (Eisfeld, 2014).

ne peuvent contrer 100% des infections. Lorsque l'infection survient, un traitement antiviral peut parfois être nécessaire si les symptômes sont trop importants.

Quatre agents anti viraux ont été approuvés par la FDA pour lutter contre l'influenza : l'amantadine, la rimantadine, Poseltamivir et le zanamivir (Sugrue *et al.*, 2008) (voir ANNEXE 2). L'amantadine a été approuvée en 1976 et est active contre le type A. Cet antiviral se lie à la protéine M2, ce qui bloque l'ouverture du canal ionique et empêche ainsi la décapsidation des virus. Il entraîne par contre plusieurs effets secondaires comme des étourdissements, de l'insomnie et des nausées. Des études démontrent aussi que le virus développe rapidement une résistance à cette drogue. Pour cette raison, il est suggéré de faire usage de celle-ci en cas de pandémie seulement. La rimantadine agit de la même façon sauf qu'elle engendre moins d'effets secondaires. L'oseltamivir et le zanamivir sont deux inhibiteurs de la NA. En ciblant le site actif de cette protéine, ils empêchent celle-ci de cliver l'acide sialique et interfèrent donc dans le relâchement des virus (lors du bourgeonnement).

**CHAPITRE III. ASPECTS THEORIQUES DE LA
MODELISATION MOLECULAIRE.**

La modélisation d'un système consiste en l'établissement d'un modèle mathématique décrivant ce système, dans le but de trouver une solution analytique permettant de prévoir son comportement dans certaines conditions par l'introduction de paramètres. La simulation informatique utilise à cette fin des algorithmes de programmation, basés sur des relations arithmétiques et logiques, écrits dans des langages définis. Elle est aujourd'hui présente dans tous les domaines de recherche : physique, chimie, biologie, économie et autres. La modélisation à l'échelle atomique et moléculaire permet d'explorer la matière, sa réactivité, ses propriétés thermodynamiques, structurales et mécaniques. Elle vise la compréhension et la prédiction du comportement de la matière sous différentes conditions de pression ou de température par exemple. Elle peut ainsi éviter de lourds travaux expérimentaux, apporter des éléments nouveaux de compréhension ou d'orientation de l'expérience. Elle trouve particulièrement bien sa place en biologie, à une période où l'abondance de données impose un rythme de calcul effréné, elle met en jeu des méthodes de calcul théorique dont les principales font appel à la mécanique moléculaire, la dynamique moléculaire et à la mécanique quantique afin de déterminer la géométrie des atomes d'une molécule ainsi que ses propriétés physicochimiques (**Gubbins, 2004**).

Les méthodes de chimie computationnelle jouent un rôle important dans l'obtention des géométries moléculaires et de la prédiction de diverses propriétés, dont les chercheurs ne sont pas capables d'obtenir autrement (**Hehere,1995**). Les méthodes de corrélation ab-initio coûteuses sont requises pour l'obtention des propriétés physiques et chimiques hautement précises pour les molécules construites à partir d'éléments électronégatifs, la méthode de la théorie de la densité fonctionnelle (DFT) offre une alternative de méthodes computationnelles moins coûteuses qui pourrait relativement gérer des molécules larges (**Davidson E.,1991**).

III.1. Méthodes de la modélisation moléculaire

La modélisation moléculaire s'avère indispensable pour l'interprétation et la compréhension des observations expérimentales. Dans le domaine moléculaire, toutes les propriétés sont reliées à la nature et la forme de la molécule. Pouvoir optimiser la géométrie d'une molécule par un modèle théorique (méthodes de chimie quantique) c'est approcher sa conformation moléculaire observée expérimentalement (**Humbel et al., 1996 ; Lerbet-Sereni, 2004**).

Ces méthodes peuvent être relativement simples et utilisables rapidement ou au contraire elles peuvent être extrêmement complexes et demander des centaines d'heures de temps

d'ordinateur, même sur un super-ordinateur. En plus, ces méthodes utilisent souvent des moyens infographiques très sophistiqués qui facilitent grandement la transformation de quantités impressionnantes de nombres en quelques représentations graphiques facilement interprétables (**Cancè et al., 2006**).

Différentes approches sont envisageables dans le cadre des outils de modélisation moléculaire. Si ceux de mécanique classique, économiques en termes de temps de calcul, permettent de traiter des systèmes moléculaires de grande taille, les méthodes quantiques (*ab initio*, semi-empiriques ou théorie de la fonctionnelle de la densité) sont, quant à elles, capables de calculer les propriétés électroniques des systèmes. C'est pour cette raison que ces approches ont été employées dans le cadre de cette étude (**Almi et al., 2015**).

III.1.1. La mécanique quantique (MQ)

La chimie quantique applique les principes de la mécanique quantique aux systèmes moléculaires pour tenter de résoudre l'équation de Schrödinger (**Cancè et al., 2006**). En effet, le comportement électronique et nucléaire des molécules, étant responsable des propriétés chimiques, peut être décrit de façon réaliste à partir de cette équation. Différentes méthodes de résolution ont alors été développées. En particulier, le développement grandissant des moyens informatiques ont permis le développement de ces méthodes (**Hladik et al., 1997**). Nous distinguons trois approches :

- Les méthodes *ab initio* : elles visent à la résolution de l'équation électronique de Schrödinger pour déterminer la fonction d'onde approchée du système étudié ;
- La théorie de la fonctionnelle de la densité (DFT) : elle recherche la densité électronique la plus proche possible en partant du principe que la densité électronique d'un système d'électron détermine toutes les propriétés de ce système ;
- Les méthodes semi-empiriques : elles sont une simplification des méthodes *ab initio* et sont paramétrées de façon à reproduire des résultats expérimentaux. Les méthodes semi-empiriques sont surtout utilisées pour des systèmes moléculaires de très grande dimension ou pour une première optimisation de structures moléculaires (**Hladik et al., 1997**).

III.1.1.1 Bases de la mécanique quantique

Les travaux effectués au début du vingtième siècle par Planck, Einstein, Bohr, De Broglie, Schrödinger et Heisenberg ont abouti à l'élaboration de la mécanique des microsystemes. En 1925, grâce aux efforts de W. Heisenberg et E. Schrödinger et de P. Dirac, J. Von Neumann, N. Bohr, M. Born et d'autres, une nouvelle mécanique a été créée : la mécanique quantique (**Dirac,**

1964 ; Landau et al., 1967), qui a permis déterminer l'état électronique d'un système d'atomes, mais aussi l'ensemble de ses propriétés observables (structurales : géométries, angles, longueurs... ; énergétiques : énergies de liaison, d'excitation... ; spectroscopiques : fréquences de vibration, spectres UV-visible, IR et microonde... ; électroniques, magnétiques et réactionnelles : barrières d'activation...).

Les méthodes de modélisation basées sur la mécanique quantique (Leach, 1996) visent à décrire le système étudié par une fonction d'onde qui peut théoriquement être déterminée par résolution de l'équation de Schrödinger (Schrodinger,1926). Cette équation relie les états stationnaires d'un système moléculaire et les énergies qui y sont associées à un opérateur Hamiltonien et à leur fonction d'onde.

$$\hat{H}\Psi = E\Psi \quad (\text{Gubbins, 2004})\dots(1)$$

où \hat{H} est l'opérateur *hamiltonien* et E est l'énergie du système.

L'hamiltonien \hat{H} total d'une molécule comportant N noyaux et n électrons, est défini par la somme de cinq termes (terme cinétique des électrons, terme cinétique des noyaux, terme de répulsions électrons - électrons, terme de répulsions noyaux-noyaux et terme d'attractions électrons - noyaux) (Loete, 1984).

Dans le cas général des systèmes d'intérêt chimique, qui sont le plus souvent polyatomiques et multi-électroniques, cette équation ne peut être résolue analytiquement. Des approximations ont donc été proposées. L'approximation de Born et Oppenheimer (Born et Oppenheimer, 1927) établit que la grande différence de masse et donc de vitesse qui existe entre noyaux et électrons implique que leurs mouvements peuvent être étudiés séparément. On peut alors considérer le comportement des électrons dans une molécule en supposant que les noyaux occupent les positions fixes dans l'espace. On aboutit alors à l'équation de *l'équation de Schrödinger électronique* :

$$\hat{H}_{el} \Psi_{el} = E_{el} \Psi_{el} \quad (\text{W. Hehere,1995})\dots(2)$$

Ce hamiltonien électronique comprend trois contributions ; la première est relative à l'énergie cinétique des électrons, la seconde à l'attraction entre noyaux et électrons et la dernière correspond à la répulsion coulombienne entre électrons (Loete, 1984). On écrit :

$$\hat{H} = - \sum_{i=1}^n \frac{1}{2} \nabla_i^2 - \sum_{i=1}^n \sum_{A=1}^M \frac{Z_A}{r_{iA}} + \sum_{i=1}^n \sum_{j>1}^n \frac{1}{r_{ij}} \quad (\text{Davidson,1991})\dots(3)$$

où ∇_i est l'opérateur énergie cinétique correspondant à l'électron i , n désigne le nombre d'électrons du système, M est le nombre de noyaux, Z_A est le numéro atomique de l'atome A et r_{ij} est la distance entre les électrons i et j .

L'hamiltonien du système s'obtient en ajoutant à l'hamiltonien électronique le terme de répulsion entre noyaux \hat{U}_{NN} :

$$\hat{H} = \hat{H}_{el} + \hat{U}_{NN} \quad \text{(Humbel et al., 1996)...(4)}$$

..

$$\hat{U}_{NN} = \sum_{A=1}^M \sum_{B>A}^M \frac{Z_A Z_B}{R_{AB}} \quad \text{(Lerbet-Sereni, 2004)...(5)}$$

et R_{AB} désigne la distance entre les noyaux A et B .

Ce dernier terme peut être considéré comme constant. En conséquence, on peut écrire :

$$E = E_{el} + \hat{U}_{NN} \quad \text{(Cancè et al., 2006)...(6)}$$

On peut exprimer l'hamiltonien électronique sous la forme de deux contributions ; un opérateur de cœur \hat{H} et un opérateur de répulsion inter-électronique :

$$\hat{H}_{el} = \hat{H}^e + \sum_{i=1}^n \sum_{j>1}^n \frac{1}{r_{ij}} \quad \text{(Almi et al., 2015)...(7)}$$

Avec :

$$\hat{H}^e = - \sum_{i=1}^n \frac{1}{2} \nabla_i^2 + V_{Ni} \quad \text{(Hladik et al., 1997)...(8)}$$

où i et j se rapportent à 2 électrons du système et où V_{Ni} est l'opérateur associé à l'interaction attractive noyaux-électrons.

Dans l'approximation orbitale, la fonction d'onde électronique Ψ_{el} définie ci-dessus est représentée par un déterminant de Slater Ψ (Slater, 1929 ; Slater, 1974) construit à partir de fonctions monoélectroniques produits d'une orbitale spatiale et d'une fonction de spin : les spins orbitales χ . Une telle fonction a l'avantage de vérifier le principe d'exclusion de Pauli (Pauli, 1925).

L'opérateur \hat{H}^e est une somme de termes monoélectroniques. L'énergie a pour expression :

$$E = \langle \Psi_{el} | E_{el} | \Psi_{el} \rangle = \sum_{K=L}^n \hat{H}_K^e + \sum_{K=1}^n \sum_{K'<1}^n (J_{KL} - K_{KL}) \quad \text{(Dirac, 1964)...(9)}$$

où Ψ est la fonction d'onde multi-électronique (n électrons) dont le déterminant de Slater est construit à partir de n spin orbitales. Les méthodes dites du champ auto-cohérent ou SCF (Self Consistent Field) utilisent le principe variationnel pour résoudre l'équation (**Dirac, 1964**). Le meilleur ensemble de spins orbitales est celui qui minimise l'énergie, tout en vérifiant le principe d'ortho normalité des autres spins orbitales (**Hilico, 1965**).

Cette approche mène à la définition de l'opérateur, ou hamiltonien, de Hartree-Fock qui vérifie la relation :

$$F(1) = \hat{H}^c(1) + \sum_{i=1}^N [J_i(1) - K_i(1)] \quad \text{(Heisenberg,1949)...(10)}$$

Où \hat{H}^c est l'hamiltonien de cœur relatif à un électron, $J_i(1)$ et $K_i(1)$ sont respectivement les opérateurs coulombiens et d'échange.

Les équations de Hartree-Fock :

$$F_{XK} = e_{KXK} \quad \text{(Landau et Lifchitz,1967)...(11)}$$

Définissent un ensemble de fonctions permettant de construire un déterminant de Slater qui approche le mieux la fonction d'onde multiélectronique du système étudié. En pratique, pour résoudre ces équations, il faut connaître les spins orbitales solution de l'équation **Leach, 1996** et qui définissent les opérateurs J et K. C'est donc un processus itératif avec une estimation initiale de la matrice de densité, jusqu'à ce que le système ait atteint sa cohérence interne, d'où le nom de méthode du champ auto-cohérent.

L'application de l'approximation LCAO (Linear Combination of Atomic Orbital) aux fonctions propres de l'opérateur de Hartree-Fock mène aux équations de Roothan (**Roothan, 1951**):

$$FC = SCE \quad \text{(Leach, 1996)...(12)}$$

où F est la matrice de Fock, C est la matrice des coefficients des orbitales atomiques dans les orbitales moléculaires, S est la matrice de recouvrement des orbitales atomiques et E est la matrice diagonale des énergies.

III.1.1.2 Les méthodes *ab initio*

Les méthodes *ab initio* sont des méthodes non empiriques, toutes les intégrales sont rigoureusement calculées et il n'y a pas d'approximation à faire sauf celle de Born Oppenheimer et l'approximation OM-CLOA. Dans les méthodes *ab-initio*, toutes les particules (noyau et

électrons) sont traitées explicitement. On n'utilise aucun paramètre empirique dans le calcul de l'énergie (**Piron, 1998**).

Les méthodes *ab initio* se divisent en deux sous familles : les méthodes Hartree - Fock (HF, RHF, UHF, ROHF) (**Hartree, 1928 ; Fock, 1930**), et les méthodes post Hartree-Fock, (MPn, CAS, ...) (**Moller, 1934**). La principale différence entre ces deux méthodes est que les interactions électroniques sont négligées dans les méthodes HF et réintroduites dans les méthodes post HF. Ces méthodes ne peuvent être appliquées qu'à des systèmes de quelques dizaines d'atomes pour les méthodes HF et d'une dizaine d'atomes seulement pour les méthodes post HF (**Rencher ; Schaalje, 2008**).

III.1.1.3 La théorie de la fonctionnelle de la densité (DFT)

La théorie de la fonctionnelle de la densité est basée sur le postulat proposé par Thomas et Fermi qui dit que les propriétés électroniques peuvent être décrites en terme de fonctionnelles de la densité électronique, en appliquant localement des relations appropriées à un système électronique homogène (**Domingo et al., 2008**).

Hohenberg et Kohn, en 1964 (**Becke, 1993 ; Lee et al., 1988**) ont repris la théorie de Thomas-Fermi et ont montré qu'il existe une fonctionnelle de l'énergie $E[\rho(\mathbf{r})]$ associée à un principe variationnel, ce qui a permis de jeter les bases de la théorie de la fonctionnelle de la densité est basée sur le théorème Hohenberg-Kohn établit que l'énergie d'un système dans son état fondamental est une fonctionnelle de la densité électronique de ce système, $\rho(\mathbf{r})$, et que toute densité, $\rho'(\mathbf{r})$, autre que la densité réelle conduit nécessairement à une énergie supérieure (**Hohenberg et Kohn, 1964**).

Ainsi contrairement aux méthodes précédentes, la théorie de la fonctionnelle de la densité ne consiste pas à chercher une fonction d'onde complexe, ψ , à $3N$ -dimensions décrivant le système à étudier, mais plutôt une simple fonction à trois dimensions : la densité électronique totale ρ . Il existe trois types de fonctionnelles énergies d'échange-corrélation : les fonctionnelles locales, les fonctionnelles à correction du gradient et les fonctionnelles hybrides (**Kohn, 1996**).

III.1.1.4 Les méthodes semi-empiriques

Dans les méthodes *ab-initio*, la quasi-totalité du temps de calcul est consommé par les calculs des intégrales, et dans le but de réduire ce temps de calcul, il est nécessaire de simplifier les équations de Roothaan (**Mateke, 2005**).

Une méthode semi-empirique est une méthode dans laquelle une partie des calculs nécessaires aux calculs Hartree-Fock est remplacé par des paramètres ajustés sur des valeurs expérimentales

(l'hamiltonien est toujours paramétrée par comparaison avec des références). En générale, toutes ces méthodes sont très précises pour des familles de produits données voisines de celles utilisées pour la paramétrisation. Selon la nature des approximations utilisées (**Dugas, 1996**), on distingue plusieurs variantes :

- **CNDO/2** : (Complete Neglect of Differential Overlep) 1^{ère} méthode semi-empirique, elle a été proposée par Pople, Segal et Santry en 1965. Méthode présentant certains défauts entre autres : elle ne tient pas compte de la règle de Hund.

- **INDO**: (Intermediate Neglect of Differential Overlap) Proposée par Pople, Beveridge et Dobosh en 1967. Elle permet de distinguer entre les états singulets et les états triplets d'un système en conservant les intégrales d'échange.

- **Méthode NDDO** (Neglect of Diatomic Differential Overlap): propose par Pople en 1965. Toutes les intégrales biélectroniques bicentrées sont retenues.

- **MINDO/3**: Proposée par Bingham, Dewar et Lo en 1975. Paramétisation effectuée en se référant aux résultats expérimentaux et non pas aux résultats ab-initio, de plus l'algorithme d'optimisation utilisé est très efficace (Davidon- Fletcher-Powel). Cependant, elle surestime la chaleur de la formation des systèmes insaturés et sous-estime celle des molécules contenant des atomes voisins ayant des paires libres.

- **MNDO**: (Modified Neglect of Diatomic Overlap) Proposée par Dewar et Thiel en 1977. Méthodes basées sur l'approximation NDDO (Neglect of Diatomic Differential Overlap) qui consiste à négliger le recouvrement différentiel entre orbitales atomiques sur des atomes différents. Cette méthode ne traite pas les métaux de transition et présente des difficultés pour les systèmes conjugués.

- **AM 1** : (Austrin Model 1) Proposée par Dewar en 1985. Il a tenté de corriger les défauts de MNDO.

- **PM 3** : (Parametric Method 3) Proposée par Stewart en 1989. Présente beaucoup de points en commun avec AM1. D'ailleurs il existe toujours un débat concernant les mérites relatifs de paramétrisation de chacune d'elles.

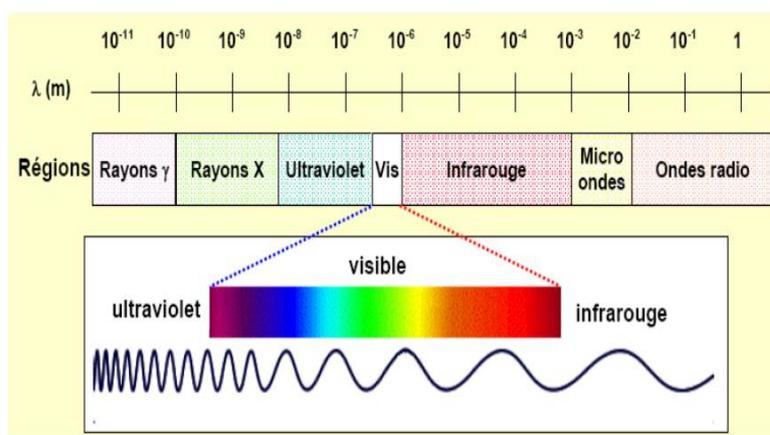
- **SAM 1** : (Semi-*ab initio* Model 1) La méthode la plus récente proposée par Dewar en 1993. Elle inclut la corrélation électronique.

III.2. Caractérisations spectrales

III.2.1. Analyse IR

La spectrométrie infrarouge est l'un des outils les plus utilisés pour la caractérisation et l'identification des molécules organiques. La spectrométrie IR est une méthode de caractérisation rapide et sensible de la plupart des molécules existantes (**Biémont, 2008**). Son utilisation est simple et le coût de son instrumentation en fait un outil accessible à la plupart des laboratoires. La spectrométrie infrarouge est la mesure de la diminution de l'intensité du rayonnement qui traverse un échantillon en fonction de la longueur d'onde λ (**Biémont, 2008**). Le rayonnement infrarouge dispense suffisamment d'énergie pour stimuler les vibrations moléculaires à des niveaux d'énergie supérieurs. La spectrométrie infrarouge s'utilise principalement pour l'analyse qualitative d'une molécule en mettant en évidence la présence de liaisons entre les atomes (fonctions et groupements). La majorité des applications se situe entre 2,5 et 15 μm soit en nombre d'ondes de 4000 cm^{-1} à 670 cm^{-1} (IR moyen) (**Sutour, 2010**). La zone du spectre comprise entre 1500 et 600 cm^{-1} contient plusieurs bandes difficiles à interpréter : on l'appelle la **région d'empreintes** (digitales). Elle est toutefois utile pour déterminer l'identité du composé. Lorsque les bandes de cette zone sont identiques, on a affaire à la même molécule (d'où son nom ...) (**Daher, 2012**).

L'autre région entre 1500 et 4000 cm^{-1} plus facilement exploitable est celle des **groupes fonctionnels**. Suivant ces régions, des phénomènes différents sont observés en spectroscopie IR. Il est arbitrairement divisé en 3 catégories, le proche infrarouge ($0,8$ à $2,5\ \mu\text{m}$), le moyen infrarouge ($2,5$ à $25\ \mu\text{m}$) et le lointain infrarouge (25 à $1000\ \mu\text{m}$) (Figure III.1). (**Daher, 2012**).



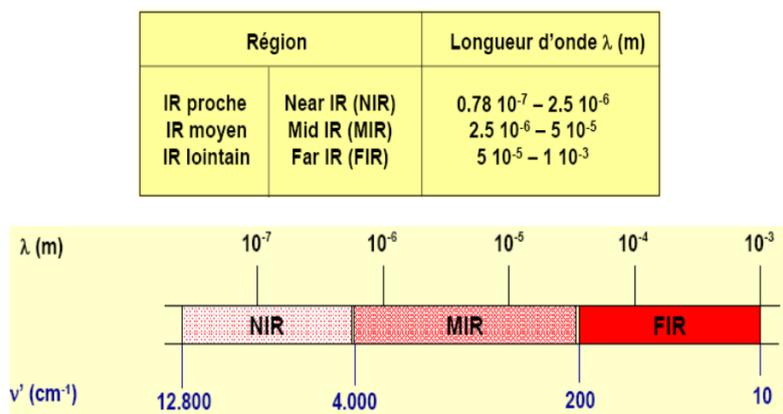


Figure III.1: Domaines spectraux du rayonnement électromagnétique (Dalibart, 2012).

III.2.2. Modes de vibrations moléculaires

Lorsqu'une molécule absorbe de l'énergie sous la forme d'un rayonnement IR, l'amplitude des vibrations des liaisons moléculaires augmente, le retour à l'état normal libère de la chaleur. Plusieurs modes de vibrations sont possibles pour un groupe d'atomes donné. A chacun correspond une fréquence caractéristique. Ces modes fondamentaux sont responsables des principales bandes d'absorption. L'absorption du rayonnement IR par les composés organiques correspond à deux types principaux de vibrations :

- Vibration de valence ou d'élongation
- Vibration de déformation angulaire

Une vibration de valence (**d'allongement ou d'élongation**) est un mouvement des atomes le long de l'axe de la liaison. Ce mouvement implique une variation de la distance interatomique. Les vibrations de valence sont représentées par « ν ». Ces vibrations se situent dans la région du spectre allant de 4000 à 1000 cm^{-1} .

Symétrique (ν_s) : vibration avec conservation de la symétrie moléculaire.

Asymétrique (ν_{as}) : vibration avec perte d'un ou plusieurs éléments de symétrie de la molécule exige plus d'énergie ; $\sigma(\nu_{as}) > \sigma(\nu_s)$. Les vibrations de déformations sont d'intensité plus faible que celle des vibrations de valence. Elles sont nombreuses et beaucoup plus sensibles à l'environnement car elles ont besoin pour se produire d'un volume plus important et risquent donc d'être entravées par la présence d'atomes voisins. Ces vibrations constituent la région du spectre dite « empreinte digitale » (1000 à 600 cm^{-1}). Elles sont souvent difficiles à attribuer.

III.2.3. Analyse RMN

À la différence des spectroscopies IR et UV-visible, la RMN n'est pas une spectroscopie d'absorption mais de résonance.

La Résonance Magnétique Nucléaire (RMN) est une technique puissante pour l'analyse d'objets biologiques à l'échelle atomique. Tout d'abord, elle fournit des informations sur la structure tridimensionnelle des molécules, en menant des expériences indiquant l'organisation spatiale relative des atomes (**Hahn, 1950**).

Les noyaux sont caractérisés par un spin nucléaire et un moment magnétique nucléaire qui sont tous deux quantifiés : ils sont équivalents à de petits aimants (**Hahn, 1950**).

$$\mu = \gamma I \quad (\text{Richet, 1893}) \dots \dots \dots (13)$$

Avec :

I: spin

μ : moment magnétique nucléaire

γ : rapport gyromagnétique du noyau considéré

III.2.3.1 ¹H-RMN

La RMN du proton se limite à l'étude des noyaux d'atomes d'hydrogène qui sont désignés sous terme de « proton » car ils sont constitués d'un seul et unique proton. Elle est particulièrement intéressante en raison de l'abondance d'atomes d'hydrogène dans les molécules organiques (**Dckinson, 1950**).

Un spectre RMN comporte des pics ou séries de pics appelés « signaux » correspondants à la résonance des différents protons présents dans la molécule. Ces signaux sont placés sur un axe horizontal indiquant une grandeur appelée « déplacement chimique » notée δ et exprimée en partie par million (ppm). Le déplacement chimique reflète le décalage entre la fréquence de résonance des protons de la molécule étudiée et une fréquence de résonance prise pour référence. En général la fréquence prise pour référence est la fréquence de résonance des protons de la molécule de tétramethylsylane (TMS) (**Procyor et Yu, 1950; Almanac, 2007**).

III.2.3.2 ¹³C-RMN

Les spectres RMN du carbone ¹³C sont enregistrés le plus souvent sur la gamme 0-185 ppm en découplage proton de manière à ce que chaque carbone apparaisse sous la forme d'un singulet. Les glissements chimiques des carbones étant influencés principalement par leur densité électronique, les carbones présentant de faible densité électronique, de nature carbonyle ou aromatique, résonnent aux champs faibles (130-185 ppm) alors que les autres carbones (aliphatiques par exemple) ont des signaux RMN qui se situent dans la gamme 0-110 ppm.

La RMN du ^{13}C a un certain nombre de complications qui ne sont pas rencontrées en RMN du proton. Notamment, la RMN du ^{13}C est beaucoup moins sensible, puisque l'abondance naturelle est faible (1,1% des carbones au total), c'est une méthode peu sensible. Si la qualité des spectres et la quantité d'information dépend en partie de l'appareillage (300 MHz en routine actuellement). Le nombre quantique de spin (spin) est de 1/2 (comme ^1H) (Corticchiato et Casanova, 1992).

III.3. Corrélations qualitatives (SAR) et quantitatives (QSAR) structure activité

III.3.1. Introduction

Un modèle QSAR est un modèle mathématique qui décrit la relation quantitative entre les structures chimiques et leurs propriétés, par exemple une propriété physico-chimique ou une activité biologique. Les QSAR sont formés aux données expérimentales relatives aux produits chimiques ayant des structures connues, à l'aide de méthodes d'apprentissage automatique et de méthodes statistiques, et peuvent être utilisés pour prédire l'activité des produits chimiques en fonction de leurs structures (ECHA, 2008 ; Cherkasov et al., 2014). Le QSAR quantitatif fait référence à la nature des descripteurs (variables indépendantes) et de la méthode de modélisation et non au critère modélisé (variable de réponse), qui peut être quantitatif / continu (par exemple, IC50) ou qualitatif / catégorique (par exemple actif versus inactif) (ECHA, 2008). La méthode plus simple de la relation structure-activité (SAR), qui relie qualitativement une (sous) structure à une activité, est étroitement liée à la QSAR. Contrairement aux QSAR qui résultent d'analyses statistiques de données expérimentales, les SAR sont généralement basés sur des connaissances expertes et sont codés dans des systèmes experts (Dearden et al., 1997).

Les QSAR sont des approches non expérimentales et d'autres approches connexes non expérimentales incluent des approches de regroupement utilisant par exemple: lectures croisées et systèmes experts, qui peuvent être des combinaisons de SAR, QSAR et bases de données (Rosenberg, 2017). Ensemble, ces approches non expérimentales reposent sur le principe de similarité structurelle, c'est-à-dire l'hypothèse selon laquelle des produits chimiques structurellement similaires présentent un comportement similaire (dans des organismes vivants), et sont utilisés pour faciliter l'évaluation des propriétés des produits chimiques en étendant les informations existantes (Rosenberg, 2017).

L'exemple le plus ancien du SAR remonte à 1868 (Crum-Brown, 1868), lorsque deux scientifiques britanniques, Alexander Crum-Brown et Thomas Fraser, publièrent une étude sur la

réaction entre la structure chimique et l'activité physiologique. Dans les décennies qui suivirent, Richet établit une relation entre la toxicité et les propriétés physicochimiques d'une série de composés organiques polaires (éthers, alcools, cétones), indiquant que « plus ils sont solubles, moins ils sont toxiques » (**Richet, 1893**). De manière indépendante, Meyer et Overton ont décrit une corrélation linéaire entre la lipophilie (coefficient de partage huile – eau) et les effets biologiques (narcotiques), la « théorie lipoïde de la narcose » (**Zur, 1899**). En 1962, Hansch et coll. publièrent leur étude sur la corrélation de l'activité biologique de substances régulatrices de la croissance végétale (acides phénoxyacétiques monosubstitués sur le cycle benzénique) avec les constantes de substitution de Hammett et l'hydrophobicité (**Hansch, 1962; Hansch et al., 1962**).

Le terme de relations structure-activité (R.S.A) décrit la relation existant entre structure chimique et activité pharmacologique pour une série de composés (**Wermuth et al., 1998**), en terminologie anglo-saxonne, on utilise le terme de structure-activity relationship ou SAR.

III.3.2. Développement QSAR

La curation et la préparation de la qualité des données influant fortement sur la qualité et les performances du modèle QSAR construit (**Fourches et al., 2015 ; Gütlein et al., 2013; Ingle et al., 2016**) les étapes de la collecte, de la conservation et de la préparation des données revêtent une grande importance pour l'élaboration des QSAR et doivent respecter certains principes (**Huang et al., 2016**).

Le développement des modèles QSAR suit un flux de travail général commençant par :

- 1) la collecte, la conservation et la préparation des ensembles de données ;
- 2) la génération et la sélection de descripteurs chimiques à utiliser comme variables indépendantes ;
- 3) la phase de construction du modèle ;
- 4) une validation statistique des données ;

Un modèle QSAR est construit à l'aide d'un ensemble d'apprentissage, constitué de structures chimiques et de données expérimentales connexes. Les structures chimiques sont représentées par des descripteurs chimiques (ce qui va suivre dans les points suivants) qui sont utilisés comme variables indépendantes dans le modèle. Le terme validation est défini au sens

large comme “le processus par lequel la fiabilité et la pertinence d'une approche, méthode, processus ou évaluation particulier est établie pour un objectif défini (**Rosenberg, 2017**).

Cependant, cette définition est plutôt abstraite dans un contexte QSAR et une définition plus opérationnelle de la validation a donc été proposée (**Worth et al., 2007**): «La validation d'un (Q) SAR est le processus par lequel la performance et l'interprétation mécanique du modèle sont évaluées pour un but particulier ». L'évaluation de la performance se réfère ici à la validation statistique du modèle (**Rosenberg, 2017**). Le terme AD en tant que terme général est défini comme « l'espace de réponse et de structure chimique dans lequel le modèle établit des prévisions avec une fiabilité donnée » (**Netzeva et al., 2005**).

I.16.2.1 Les propriétés « drug-like »

La découverte de nouveaux médicaments (« drug discovery ») est un processus extrêmement long et fastidieux. Les différentes étapes sont illustrées de façon schématique dans la figure III.2 (**Lamarre, 2016**). Au cours des phases successives, des milliers de molécules doivent être triées et sélectionnées, pour aboutir à un nombre très restreint de candidats. Pour chaque nouveau médicament, le temps passe depuis la première étape, au cours de laquelle une cible biologique pertinente dans un processus pathologique donné est identifiée, jusqu'à la mise sur le marché d'un composé tourne autour d'une moyenne d'environ 12 à 15 ans (**Lamarre, 2016**).

Quelle que soit l'origine des composés cribles, la construction d'une base de molécules implique généralement l'application d'un certain nombre de filtres employés pour s'assurer que les molécules possèdent des propriétés compatibles avec une application biologique.

On parle de propriétés « drug-like ». Les bases de ces caractéristiques ont été établies par Lipinski et al. (**Lipinski et al., 2012**) à travers la « rule-of-five » ou « règle des cinq ». Elles décrivent de façon simple quelques indicateurs de la biodisponibilité que sont la masse moléculaire, la lipophilicité et le nombre de donneurs et d'accepteurs de liaison hydrogène (**Lipinski et al., 1997**).

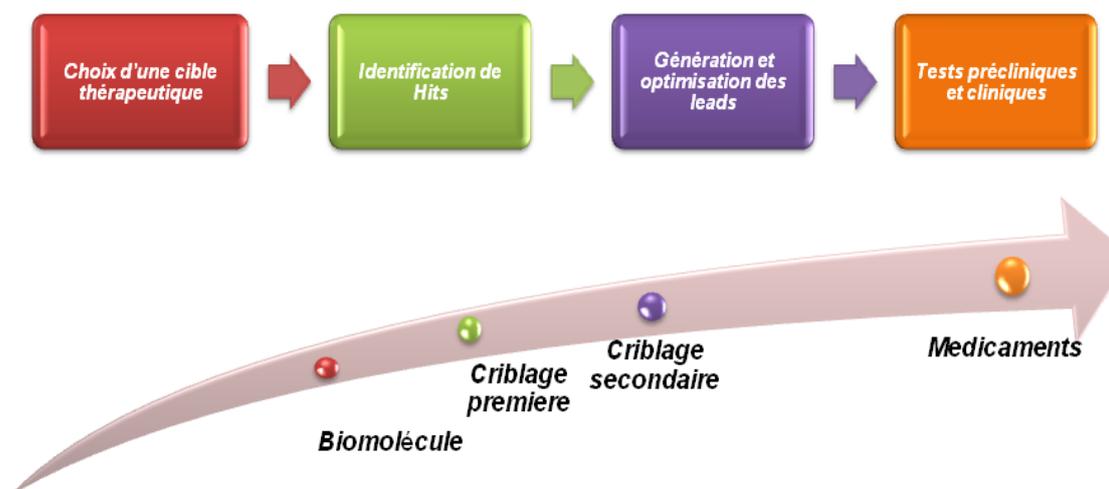


Figure III.2 : Étapes du processus de découverte des médicaments.

Ces règles ont évolué depuis pour répondre aux nouvelles connaissances dans les domaines de la pharmacodynamique et de la pharmacocinétique, mais le principe est resté le même, à savoir établir un certain nombre de critères permettant de réduire la base de ligands à l'essentiel, ce qui revient idéalement à sélectionner uniquement des molécules pertinentes biologiquement, tout en n'en excluant aucune (**Leeson et Springthorpe, 2007; Elkaim, 2011**).

Lipinski a défini un ensemble de règles permettant d'estimer la biodisponibilité d'un composé par voie orale à partir de sa structure bidimensionnelle (2D). Ces règles concernant les propriétés physico-chimiques ont été définies après l'analyse de 2245 médicaments commercialisés ou en phase finale de développement (**Aurélien, 2006**) :

- Le poids moléculaire du composé ne doit pas être supérieur à 500 u.m.a.
- Le logarithme décimal du coefficient de partage eau / 1-octanol, noté log P, doit être inférieur à 5.
- Le nombre de donneurs de liaisons hydrogène doit être inférieur à 5.
- Le nombre d'accepteurs de liaisons hydrogène doit être inférieur à 10.

Les composés dont les propriétés physico-chimiques ne satisfont pas au moins deux des règles sont fortement susceptibles de présenter des problèmes d'absorption ou de perméabilité (**Aurélien, 2006**).

La « règle des 5 » a été mise au point à partir de composés administrables par voie orale ayant passé avec succès la phase II des tests cliniques. Ce n'est donc pas une méthode pour distinguer les composés étant potentiellement des médicaments de ceux n'en étant pas, mais plutôt une méthode pour identifier les composés ayant une faible absorption ou une faible perméabilité (**Harkati, 2016**).

I.1.1.1 I.16.2.2 Les règles de Veber

Les règles Veber suggèrent que la flexibilité moléculaire et la surface polaire (PSA) sont des déterminants importants de la biodisponibilité orale (**Veber et al., 2002**). Il est bien connu qu'une biodisponibilité orale élevée est un facteur important pour le développement de molécules bioactives en tant qu'agents thérapeutiques. La réduction de la flexibilité moléculaire (mesurée par le nombre de liaisons rotatives) et la faible surface polaire sont des prédicateurs importants de la bonne biodisponibilité orale (**Remko, 2006**).

Pour une biodisponibilité orale idéale, il existe deux autres descripteurs identifiés par Veber et al (**Veber et al., 2002**):

- (1) Les liaisons rotatives sont inférieures à 10.
- (2) La surface polaire est inférieure à 140 Å².

Le nombre de liaisons rotatives (NRB) a été défini comme une simple liaison, non pas dans un cycle, liée à un atome non terminal (c'est-à-dire non hydrogène). Sont exclues du compte les liaisons amide C-N en raison de leur barrière à l'énergie de rotation élevée (**Remko, 2006**). D'autre part, la surface polaire (PSA) qui est formée par des atomes polaires d'une molécule. C'est un descripteur qui montre une bonne corrélation avec le transport moléculaire passif à travers les membranes, et permet donc d'estimer les propriétés de transport des médicaments.

III.3.3. Outils et techniques de QSAR

III.3.3.1 Relation structure activité quantitative

Les équations QSAR prennent la forme générale suivante :

$$\text{Activité biologique} = \text{fonction \{paramètre(s)\}}$$

Dans l'équation, l'activité biologique est normalement exprimée comme $\log [1/(\text{symbole de concentration})]$, où c'est généralement la concentration minimum requise pour causer une réponse biologique définie (**Thomas, 2003**). La relation mathématique entre un paramètre ou

plusieurs paramètres physicochimiques et l'activité biologique d'un composé peut être exprimée à travers l'équation de Hansch :

$$\text{Log } 1/C = - K_1 (\log P)^2 + K_2 \log P + K_3 \sigma + K_4 E_s + K_5 \quad (\text{Santiso et Gubbins, 2004})..(14)$$

Où : **Log P**: Coefficient de partition octanol-eau **K₁, K₂, K₃, K₄** : Constantes, **C** : La dose effective minimum, **σ** : Effet électronique (Hammett substituant constant). L'équation de Hansch est utilisée pour prévoir l'activité biologique de composés dont la structure est semblable à ceux utilisés pour former cette équation et peut être également utilisée pour montrer le degré d'importance de différents paramètres sur l'activité biologique (**Bohm, 2000**).

I.16.3.1. Paramètres biologiques

Les données biologiques sont habituellement exprimées sur une échelle logarithmique en raison de la relation linéaire entre la réponse et le logarithme de dose dans la région centrale de la courbe de log dose-réponse (Gonzalez-Diaz et al., 2007). Les logarithmes inverses de l'activité (log 1/C) sont également utilisés pour obtenir des valeurs mathématiques plus élevées lorsque les structures sont biologiquement très efficaces. Des exemples de données biochimiques ou biologiques, utilisés dans l'analyse de QSAR, sont décrits dans le tableau III.1 (Selassie, 2003).

Tableau III.1 : Types de données biologiques utilisées dans l'analyse QSAR.

| Source d'activité | Paramètres biologiques |
|-------------------------------------|------------------------------|
| 1. Récepteurs isolés | |
| Constante de vitesse | Log <i>k</i> |
| Constante de Michaelis-Menten | Log <i>1/K_m</i> |
| Constante d'inhibition | Log <i>1/K_i</i> |
| 2. Systèmes cellulaires | |
| Constante d'inhibition | Log <i>1/IC₅₀</i> |
| | |
| Résistance croisée | Log <i>CR</i> |
| Données biologiques <i>in vitro</i> | Log <i>1/C</i> |
| Mutation de gène | Log <i>TA₉₈</i> |

| 3. Systèmes <i>in vivo</i> | |
|--|---------------------------------|
| Facteur de bioconcentration | Log <i>BCF</i> |
| Vitesses de la réaction <i>in vivo</i> | Log <i>I</i> (induction) |
| Vitesses pharmacodynamiques | Log <i>T</i> (clairance totale) |

III.3.3.2 Propriétés moléculaires et leurs paramètres

Quelques paramètres descriptifs de molécules sont énumérés dans le tableau III.2

Tableau III-1 : Paramètres physico-chimiques et intrinsèques.

| Propriété moléculaire | Interaction correspondante | Paramètres |
|-----------------------|--|---|
| Lipophilie | Interaction hydrophobe | Log <i>P</i> , π , <i>f</i> , <i>R_M</i> |
| Polarisabilité | Interaction de Van-der Waals | <i>MR</i> , <i>MV</i> |
| Densité électronique | Liaisons ioniques, hydrogène, interactions dipole-dipole, liaisons, transfert de charge. | σ , <i>R</i> , <i>F</i> |
| Topologie | Interaction stérique | <i>E_s</i> , <i>r_v</i> , distances, volumes. |

Log *P* : coefficient de partition, π : constante de Hansch (constant de substitut lipoïdique), *f* : constante de fragment hydrophobe, *MR* : réfraction moléculaire, *MV* : volume moléculaire, σ : constante de Hammett, *F*, *R* : paramètres de champ et de résonance, *E_s* : constante de Taft (aspect stérique), *r_v* : rayon moyen (rayons de Van-der-Waals de substituants symétriques).

III.3.3.3 Descripteurs moléculaires

Les descripteurs moléculaires sont des propriétés numériques qui peuvent être calculées à partir de la table de connectivité d'une molécule ou d'une représentation planaire (2D) ou tridimensionnelle (3D) de la structure. Chaque descripteur peut lui-même comporter une ou plusieurs dimensions (Scotti et al., 2007).

III.3.3.3.1 Descripteurs 2D

Les descripteurs 2D sont des propriétés numériques qui peuvent être calculées à partir de la table de connectivité d'une molécule ou d'une représentation planaire (2D) de la structure. Ils

sont basés sur les éléments présents, les charges partielles, la nature des liaisons (**Solomonov et al., 1985**). On peut calculer ainsi :

- des propriétés physiques : polarisabilité, charge totale, réfractivité moléculaire, masse, densité, coefficient de partage eau/octanol (log P) ...
- des approximations d'aires de surfaces : surface de Van der Waals, surface accessible au solvant...
- le dénombrement des atomes, liaisons et pivots ;
- des indices de formes et de connectivité : indices de Kier et Hall (**Hall et Kier, 1991**);
- des descripteurs topologiques : matrices de distance et de connectivité ;
- les dénombrements de fonctions pharmacophoriques : donneurs, accepteurs de liaison hydrogène, polaire (donneur et accepteur), positif, négatif, hydrophobe et autres ... ;
- les descripteurs de charges partielles : charge partielle positive (négative) totale, aire de la surface de Van der Waals positive (négative), aire de la surface de Van der Waals polaire, ... ;
- les indices de Hansch (**Kubinyi, 1993**) : r, s et p ;

III.3.3.2 Descripteurs 3D

Les descripteurs 3D décrivent des objets tridimensionnels et se répartissent en 2 groupes: ceux qui ne dépendent que des coordonnées internes de la molécule et ceux qui dépendent de son orientation absolue (**Hunh, 2007**). Parmi tous ces descripteurs, on peut citer:

- les descripteurs de l'énergie potentielle : valeur de l'énergie potentielle et composante de cette énergie : Van der Waals, électrostatiques, atomes « hors-du-plan », torsion, solvation, etc. ;
- des descripteurs de formes et de volumes : aire et volume de Van der Waals, surface accessible au solvant, moment d'inertie, globularité (molécule sphérique, plane ou linéaire) ;
- des descripteurs du moment dipolaire : orientation et intensité ;
- les champs de potentiel d'interaction moléculaire : stérique, électrostatique, lipophile, donneur ou accepteur d'hydrogène;
- les descripteurs électroniques : densité électronique, distribution de charges ;
- les descripteurs quantiques basés sur les orbitales moléculaires : TQSI (**Robert et al., 1999**), MQSM (**Robert et al., 1999**), QS-SM (**Amat et al., E2003**) ;
- les descripteurs de spectres énergétiques : IR, RAMAN, RMN (**Bursi et al., 1999** ; **Turner et al., 1997**).

Le choix des descripteurs dépend des outils dont on dispose, de la nature des composés décrits et de la propriété ciblée. L'expérience du modélisateur est, ici, mise à contribution (Tuppurainen et al., 2002).

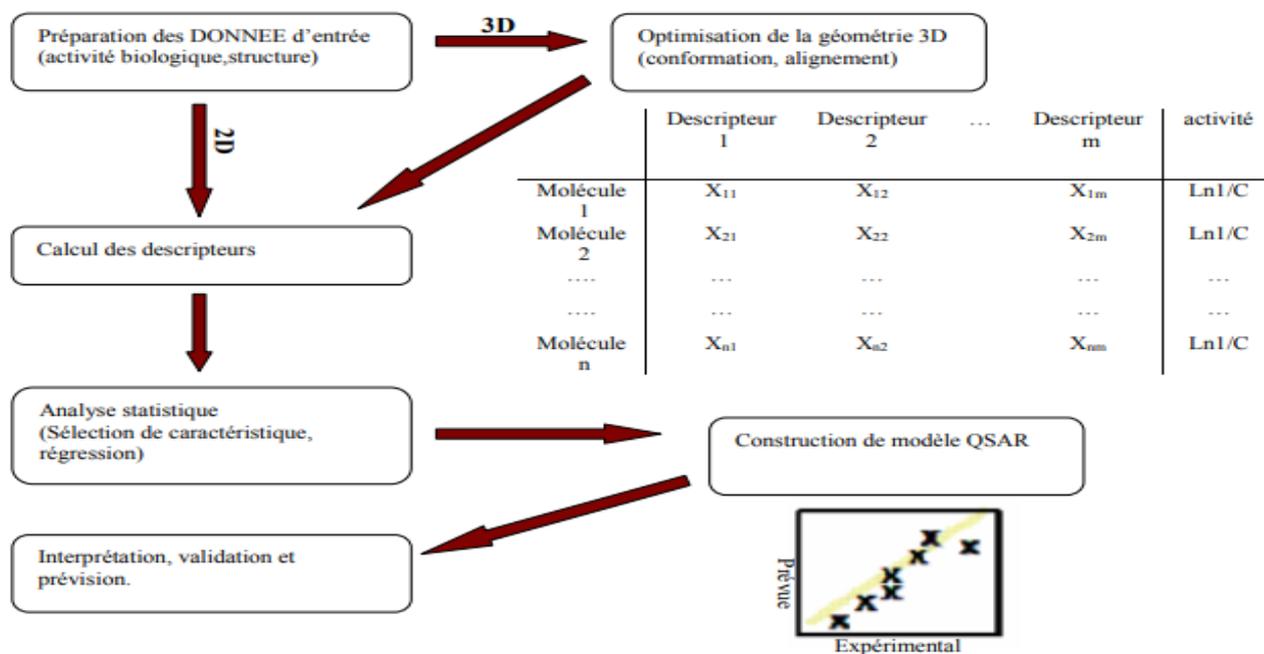


Figure III.3: Principes d'une génération de modèle QSAR en 2D et 3D.

III.3.3.4 Les descripteurs géométriques

Ils sont basés sur l'arrangement spatial des atomes constituant la molécule et sont définis par les coordonnées des noyaux atomiques et la grosseur de la molécule représentée. Ces descripteurs incluent des informations sur la surface moléculaire obtenue par les aires de Van Der Waals et leur superposition (Labute, 2000). Les volumes moléculaires peuvent être obtenus par les volumes de Van Der Waals (Higo et Go, 1989), parmi ses descripteurs on peut trouver : le nombre de liaisons rotatives, la surface de Van Der Waals, noté SVDW, le volume de Van Der Waals, noté VVDW ; nous avons utilisés dans nos travaux, :

- **Le volume moléculaire** : noté MV, en cm³, est défini par la formule suivante :

$$MV = \frac{MW}{d} \quad (\text{Hehere1995}) \dots (15)$$

Avec : MW est le poids moléculaire et d la densité.

III.3.3.5 Les descripteurs physico-chimiques

Les descripteurs physicochimiques, (ou indices physicochimiques) certains d'entre eux reflètent la composition moléculaire du composé (le nombre et le type d'atomes et de liaisons présents dans la molécule, le nombre de cycle, les propriétés donneur/accepteur de liaison H, cation, anion, etc....) (**Bosque et al., 2003**). D'autres représentent le caractère hydrophile ou lipophile de la molécule généralement évalué à partir du coefficient de partage Octanol/eau représenté par le log P (**Viswanadhan et al., 1989**) on trouve :

-Le coefficient de partage Octanol/Eau : Le transport, le passage à travers les membranes et l'activité pharmacologique d'une molécule peuvent être conditionnés par son partage entre une phase lipidique et une phase aqueuse, c'est-à-dire son caractère hydrophile. Celui-ci peut être quantifié par le coefficient de partage Octanol-Eau, noté (log P), qui mesure la solubilité différentielle d'un soluté dans ces deux solvants non miscibles (**Leo et Hansch, Elkins, 1971**). C'est une mesure importante pour l'identification de la similarité médicamenteuse, selon la règle de Lipinski, les médicaments délivrés par voie orale doivent avoir des valeurs de log P supérieures ou égales à -2 et inférieures ou égales à 5) (**Lipinski et al., 1997**).

Il est défini par la formule suivante :

$$\text{Log P} = \log \left[\frac{\text{Octanol}}{\text{H}_2\text{O}} \right] \quad (\text{Davidson, 1991}) \dots (16)$$

[Octanol] et [H₂O] sont les concentrations du soluté dans l'Octanol et l'eau.

Les composés qui ont les valeurs de log P > 0 sont dites lipophiles, et les composés qui ont les valeurs de log P < 0 sont dites hydrophiles. Si le Log P est positif et très élevé, cela exprime le fait que la molécule est plus soluble dans l'Octanol que dans l'eau, ce qui reflète son caractère lipophile, et inversement, si le Log P est négatif cela signifie que la molécule est hydrophile. Un Log P nul signifie que la molécule est aussi soluble dans un solvant que dans l'autre.

-La réfractivité moléculaire : notée (MR), en m³/mol, est le volume de la substance absorbée par mole de cette substance. Elle est définie par -Lorentz (**, 1880**) par la formule suivante :

$$MR = \frac{(n^2 - 1)}{(n^2 + 2)} \cdot \frac{MW}{d} \quad (\text{Humbel et al., 1996}) \dots (17)$$

Où : MW est le poids moléculaire ; d est la densité ; n est l'indice de réfraction ; MW/d: volume.

La réfractivité moléculaire est également proportionnelle à la polarisabilité α_e , par la relation suivante (C. Hansch et al., 1995):

$$MR = 4/3\pi NA \alpha_e \quad (\text{Lerbet-Sereni, 2004}) \dots (19)$$

Où : NA est le nombre d'Avogadro qui est, le nombre de molécules dans une mole de substance, $NA = 6.022 \cdot 10^{23}$.

- **L'indice de réfraction** ; noté n, est défini par la formule de suivante (Cherkasov et al., 2014) :

$$n = S \sqrt{\frac{RSS}{n-P-1}} \quad (\text{Cancès et Maday, 2006}) \dots (20)$$

- **Dont** : p est le nombre de descripteurs utilisés dans la construction d'un modèle et n le nombre de données d'apprentissage

La polarisabilité (α_e); en (m^3), est l'aptitude à la déformation du nuage électronique de la molécule sous l'influence d'un champ électrique uniforme. C'est l'un des paramètres qui traduisent les propriétés moléculaires liées à l'hydrophobie et par conséquent aux activités biologiques (Cammarata, 1967 ; Hansch et Coats, 1970).

$$\alpha_e = 0,3964308 \times MR \quad (\text{Almi et al., 2015}) \dots (21)$$

- **La densité**, (d) ; en (kg/m^3), est liée à la masse et la taille de la molécule. C'est le rapport du poids moléculaire MW au volume moléculaire MV :

$$d = \frac{MW}{MV} \quad (\text{Hladik et al., 1997}) \dots (22)$$

L'augmentation de la pression augmente la densité, alors que l'augmentation de la température diminue généralement la densité, mais il y a des exceptions ; l'eau.

III.3.3.6 Les descripteurs quantiques/électroniques

Ces descripteurs caractérisent la distribution de charge des molécules (polarité des molécules). Les approches de la chimie quantique nous donnent accès à des informations supplémentaires

telles que des données structurales, énergétiques, électroniques et spectroscopiques des systèmes étudiés (Neese, 2006). Parmi elles on peut trouver :

- **L'énergie totale** : Pour une molécule isolée à l'état fondamental, l'énergie totale calculée, notée E_t , mesurée en eV, peut être utilisée comme descripteur moléculaire quantique.

- **Le moment dipolaire** ; μ , mesuré en debye (D), mesure la polarité nette moléculaire, et décrit la séparation de charge dans une molécule où la densité d'électrons est partagée inégalement entre les atomes. L'existence d'un moment dipolaire dans une molécule a son origine dans la différence d'électronégativité entre les atomes.

La densité électronique ; est plus élevée au voisinage de l'atome le plus électronégatif. Ceci entraîne une dissymétrie dans la répartition des électrons de liaison. Ainsi, plus le moment dipolaire d'une molécule est élevé, plus la dissymétrie dans la molécule est importante.

- **Les énergies des orbitales frontières** : jouent un rôle majeur dans de nombreuses réactions chimiques et dans les mécanismes réactionnels. (Neese, 2006 ; Franke, 1984).

-**L'énergie HOMO (Highest Occupied Molecular Orbital)**; notée EHOMO, mesurée en eV, est le niveau d'énergie le plus élevé dans la molécule qui contient des électrons, il est directement lié au potentiel d'ionisation. Lorsqu'une molécule agit comme une base de Lewis (un doublet d'électrons donneur) dans la formation d'une liaison, les électrons sont alimentés à partir de cette orbitale. Il mesure la nucléophilie d'une molécule et caractérise la susceptibilité de la molécule à l'attaque par des électrophiles (Atkins et de Paula, 2002).

-**L'énergie LUMO (Lowest Unoccupied Molecular Orbital :ELUMO)**, mesurée en eV, est le niveau d'énergie le plus bas dans la molécule qui ne contient pas d'électrons, il est directement lié à l'affinité d'électron. Lorsqu'une molécule agit comme un acide de Lewis (un doublet d'électrons accepteur) dans la formation de liaisons, des doublets d'électrons entrants sont reçus dans cette orbitale. Il mesure l'électrophilicité d'une molécule et caractérise la susceptibilité de la molécule à l'attaque par les nucléophiles (Atkins et de Paula, 2002).

- **Le Gap énergétique** ; ou bien l'écart HOMO-LUMO, noté E_{gap} , mesuré en eV, traduit l'énergie comprise entre l'orbitale moléculaire la plus haute occupée et la plus basse vacante, C'est un indice de stabilité important. Cette différence d'énergie sert de mesure de l'excitabilité d'une molécule. Ainsi, plus l'intervalle d'énergie sera faible et plus la molécule pourra interagir avec l'environnement, un grand écart HOMO-LUMO implique une grande stabilité pour la

molécule dans le sens de sa faible réactivité dans les réactions chimiques, et de même, un faible écart implique une grande réactivité de la molécule (Lewis *et al.*, 1994 ; Zhou et Parr 1990).

III.3.4. Méthodes de validation statistique du modèle QSAR

Une fois qu'un modèle a été développé, il doit être validé sur le plan statistique pour son ajustement, la statistique est « la science dont l'objet est de recueillir, de traiter et d'analyser des données issues de l'observation de phénomènes dans lesquels le hasard intervient (phénomène aléatoire) ». En outre, l'analyse des données est utilisée pour décrire, comprendre et gérer les phénomènes étudiés, faire des prévisions et prendre des décisions utiles dans la plupart des disciplines, le modèle statistique est une équation donnant la valeur de la variable cible en fonction de la somme des valeurs pondérées des descripteurs. Après le recueil des descripteurs, la démarche statistique consiste à traiter et interpréter les informations recueillies sur ces molécules elle comporte deux grandes classes : la statistique descriptive et la statistique décisionnelle ou prédictive.

Le modèle statistique est une équation donnant la valeur de la variable cible en fonction de la somme des valeurs pondérées des descripteurs, les principaux outils statistiques pour obtenir un modèle sont :

PLS = Partial least square (Moindre carré).

IDLS = Iterative double least square (Double moindres carrés itératif).

PM = Priority matrix (Matrice de priorité).

MNN = Multilayer neural networks (Réseaux de neurones multicouches).

MLR = Multiple linear regression (Régression linéaire multiple).

PCA = Principal component analysis (Analyse en composantes principales).

Dans l'ensemble de nos travaux, nous avons utilisé la régression linéaire multiple MLR qui sera développés dans ce qui va suivre.

III.3.4.1 La régression linéaire multiple

La régression linéaire multiple MLR est l'une des méthodes de modélisation les plus populaires grâce à sa simplicité d'utilisation et d'interprétation. L'avantage important de la régression linéaire multiple est qu'elle est très transparente, puisque l'algorithme est disponible,

et que les prédictions peuvent être réalisées facilement, cette méthode a été utilisée aussi pour la sélection des descripteurs (Roy et al., 2015).

La méthode MLR se base sur l'hypothèse que la propriété Y dépend linéairement des différentes variables (les descripteurs) X_1, X_2, \dots, X_i , selon la relation :

$$Y = f(X_1, X_2, \dots, X_j) \quad (\text{Dodge, 2007}) \dots (23)$$

où $f(X_1, X_2, \dots, X_j)$ est une fonction linéaire de X_1, X_2, \dots, X_j .

Le modèle mathématique peut se présenter sous la forme :

$$Y^i = a + \sum_{j=1}^{j=p} b_j X_j^i \quad (\text{Dirac, 1964}) \dots (24)$$

où (b_j) sont les coefficients de régression et (a) la constante de régression.

III.3.4.2 Les Coefficients et tests statistiques standards

Afin de déterminer la qualité d'un modèle, différents paramètres statistiques sont employé, les coefficients de corrélation qui sont régulièrement utilisés dans les études du QSAR, sont décrits dans cette partie.

III.3.4.3 Coefficient de corrélation r et coefficient de détermination r^2

C'est l'indicateur statistique le plus répandu est le coefficient de corrélation qui évalue la part de la variance de l'activité / la propriété cible expliquée par le modèle.

La valeur de r est telle que $-1 < r < +1$. Les signes $+$ et $-$ sont utilisés pour les corrélations linéaires positives et corrélations linéaires négatives, respectivement. Si le prédit et les valeurs observées ont une forte corrélation linéaire r est proche de 1, cependant s'il n'y a pas de corrélation linéaire ou une faible corrélation linéaire, r est proche de 0.

La valeur du coefficient de corrélation peut être fortement influencée par un point éloigné.

Le coefficient de détermination r^2 est la mesure de degré de liaison entre Y_n et X_j .

r^2 est déterminé par différentes relations suivantes (Simon, 1974) (Tableau III.3):

$$r^2 = \frac{ESS}{TSS} = \frac{TSS - RSS}{TSS} = 1 - \frac{RSS}{TSS} \quad (\text{Heisenberg, 1949}) \dots (25)$$

avec $ESS = \sum (Y_{i,cal} - \bar{Y})^2$ et $RSS = \sum (Y_{i,abs} - Y_{i,cal})^2$

Un bon ajustement correspondra à un r^2 proche de l'unité.

III.3.5. Validations des modèles

Quel que soit le but ultime du modèle QSAR, il doit être obligatoirement validé avant d'être interprété ou utilisé à des fins prédictives (**Chemical Computing Group Inc, 2006**). Il existe différentes solutions pour s'assurer de la validité d'un modèle. La validation croisée *LOO* (*leave-one-out*) est un processus qui permet de tester la précision prédictive d'un modèle. Cette méthode est basée sur le calcul de quelques paramètres statistiques tels que : la somme des carrés résiduels PRESS, Somme des carrés totaux TSS, qualité d'ajustement r^2_{adj} , coefficient de corrélation de validation croisée r^2_{CV} , la validation standard des erreurs de prédiction (SPRESS) et l'erreur de prédiction (PE). Ces paramètres statistiques sont calculés à partir des relations suivantes :

$$PRESS = \sum (Y_{abs} - Y_{cal})^2 \quad (\text{Slater, 1974}) \dots (26)$$

$$TSS = \sum (Y_{abs} - \bar{Y})^2 \quad (\text{Pauli, 1925}) \dots (27)$$

$$r^2_{adj} = (n - r^2) \left(\frac{n - 1}{n - p - 1} \right) \quad (\text{Hilico, 1965}) \dots (28)$$

$$r^2_{CV} = 1 - \frac{PRESS}{TSS} \quad (\text{Roothan, 1951}) \dots (29)$$

$$SPRESS = \sqrt{\frac{PRESS}{n}} \quad (\text{Piron, 1998}) \dots (30)$$

$$PE = 0.6745 (1 - r^2) / \sqrt{n} \quad (\text{Rencher et Schaalje, 2008}) \dots (31)$$

Ici, Y_{abs} et, Y_{cal} sont les valeurs expérimentales (observées) et prédictives (calculées) de l'activité respectivement. \bar{Y} est la valeur moyenne de Y_{abs} , n est le nombre de composés utilisés, p est le nombre de paramètres (descripteurs) utilisés dans le modèle. Pour un modèle fiable, les valeurs r^2_{CV} doivent être > 0.6 . Le modèle est considéré comme excellent, si r^2_{CV} est > 0.9 . La performance du modèle (sa capacité prédictive ou sa puissance prédictive) peut être donnée par PSE (ou Spred).

Les SPRESS ainsi que les PSE (Present State Examination) sont de bons paramètres à utiliser pour discuter des incertitudes dans la prédiction. Plus la valeur de ces paramètres est faible, meilleure sera la capacité prédictive du modèle (**Fortuné, 2006**).

On soutient que PRESS est une bonne estimation de l'erreur prédictive réelle du modèle. Si PRESS est plus petit que SSY, le modèle prédit mieux que le hasard et peut être considéré statistiquement significatif. Le rapport PRESS / SSY peut être utilisé pour calculer des intervalles de confiance approximatifs de prédiction de nouvelles observations (composés) (Chemical Computing Group Inc, "MOE", 2006), ou $F = \frac{ESS/p}{.n-p-1/RSS}$, le test de Fischer permet de tester l'hypothèse nulle selon laquelle chaque β est significativement différent de zéro, ce qui est signe d'une relation évidente entre la variable expliquée et les variables explicatives. Intuitivement, nous rejeterons l'hypothèse nulle lorsque la somme des carrés expliquée par la régression est grande. En d'autres termes, la région critique de ce test est de la forme ($F > \text{seuil}$). Si la quantité F observée dépasse le seuil, on rejette l'hypothèse H_0 dans le cas contraire, on accepte H_0 . (Aoumeur et al., 2018).

III.3.6. Applications de la methode du QSAR

QSAR est utilisée dans de nombreux domaines de la recherche sur les produits chimiques, tels que la découverte de médicaments et la toxicologie (Cherkasov et al., 2014), et sont notamment utilisés pour:

- augmenter la quantité d'informations (toxicologiques) sur les produits chimiques
- aider à hiérarchiser et à classer les produits chimiques / médicaments pour des tests plus poussés ou évaluation (Han et al., 2011).
- aider le chimiste (médical) à optimiser les structures en fonction d'une cible donnée (Gutman, 1994).
- aider à concevoir des produits chimiques de substitution plus sûrs.
- contribuer à la réduction et au remplacement des tests sur animaux (Burden et al., 2000).

PARTIE II : Materiel et Methodes

CHAPITRE IV. ACTIVITÉ ANTIVIRALE

Parmi les objectifs de notre travail, nous avons étudié expérimentalement l'activité antivirale de la molécule 1,7,7-triméthylbicyclo [2,2,1] heptan-2-one * Camphre * synthétisée au niveau du laboratoire de phytopharmacie HOLLAND BARETT « Royaume-Uni » . Pour atteindre cet objectif, l'expérimentation de l'activité antivirale de la molécule sur le virus de l'influenza a été réalisée au niveau du service de Virologie Humaine « Centre National de Références pour la Grippe » Institut Pasteur - Sidi Fredj- Alger.

IV.1. Préparation des cultures cellulaires et virales

Pour évaluer l'activité antivirale du Camphre sur le virus de l'influenza, la souche et le protocole expérimentale ont été fournis par le laboratoire de Virologie de l'institut Pasteur « Sidi Fredj » Algérie.

IV.1.1. Titrage du virus et détermination de la dose infectieuse de culture tissulaire (DICT₅₀)

Principe

La dose qui infecte 50% de cellules en culture (**DICT₅₀**) est une méthode pour quantifier l'infectivité virale dans l'échantillon, le test TCID₅₀ (Median Tissue Culture Infective Dose) est utilisé afin de déterminer le titre infectieux d'un échantillon donné, elle se fait par la détermination de la dilution la plus élevée de l'échantillon qui peut infecter 50% des cellules en culture. Dans cette procédure, l'échantillon du virus est dilué de façon croissante dans une plaque de 96 puits contenant une nappe confluente de cellules MDCK. Après détection du virus, nous observons pour chaque dilution le nombre de cupules positives et le nombre de cupules négatives. Ceci permet alors de définir la dose de virus qui infecte la moitié des cupules. (Protocole utiliser au niveau de l'institut Pasteur : WHO Manual on Animal Influenza. Diagnosis and Surveillance).

IV.2. Matériel

- Plaques de 96 puits à fond plat contenant des cellules MDCK.
- Souche de virus a titré (G243/12AH1N1pdm) proviennent de l'institut Pasteur.
- Microscope inversé
- Milieu de croissance virale : (DMEM + TPCK -Trypsine)
- 0,1% TPCK-Trypsine:(L-1Tosylamide-2-Phénylethyl Chloromethyle Ketone) (2mg /ml) fournis par le laboratoire de Pharmacie King's College of London.

IV.3. Méthode

IV.3.1. Entretien des cellules

Les cellules MDCK (Madin Darbin Canine Kidney) cellules de reins de chien qui sont sensibles au virus de la grippe proviennent de l'institut Pasteur. Ces cellules sont cultivées en adhérence dans du milieu EMEM (Eagle's Minimum Essential Medium) complété de sérum fœtal bovin (FBS), leur temps de régénération est d'environ 24h, ce sont des cellules adhérentes polarisées et souvent utilisées comme modèle dans des recherches fondamentales pour étudier les mécanismes de transport et d'adressage de protéines dans les tissus (**Cordat, 2006**).

Trypsinisation des cellules : Après deux lavages au PBS (Solution tampon :Phosphate buffered Saline) pour retirer toute trace de sérum, les cellules sont décollées sous action de 0.25% Trypsine-EDTA à raison de 2-3 mL de trypsine par cupule T-75 (7-15 min). Une fois les cellules décollées, l'action de la trypsine est arrêtée par ajout de 7-8 mL de milieu de culture (EMEM + 10% FBS), et les cellules sont comptées et repiquées à la densité voulue.

IV.3.2. Inoculation des suspensions virales

Le titrage des suspensions de virus grippal avec des concentrations différentes du Camphre, les cellules sont inoculées avec des dilutions croissantes de suspension virale (**G243/12AH1N1pdm**) avec différentes concentrations du Camphre : [1000,2000 ,3000] uM.

IV.4. Mode opératoire

IV.4.1. Préparation des plaques

Utiliser des microplaques pour culture cellulaire à 96 puits à fond plat. Après la trypsination des cellules (se reporter à l'entretien des cellules), les compter à la cellule de Neubauer (hematimetre). Rapporter le nombre de cellules par ml à $1,5 \times 10^5$ cellules/ml puis déposer 200 ul de la suspension cellulaire par cupule. Le milieu à utiliser est le même pour que l'entretien des cellules : il contient 10 % de sérum de veau fœtal. Incuber pendant 24 heures à 37° C jusqu'à ce que le tapis soit confluent.

IV.4.2. Inoculation des suspensions virales à titrer (Protocole de l'institut Pasetur)

IV.4.2.1 Préparation des dilutions des suspensions virales

- 1- Déposer 0,1 ml du VGM (DMEM + 0,1% TPCK-Trypsine (2mg/ml)) dans Protocole chaque puits à l'exception de la première colonne de la plaque à 96 puits.
- 2- Diluer la souche du virus à titrer au 1/100 dans le milieu de croissance virale (VGM).
- 3- Déposer 0,146 ml de suspensions virales diluées au (1/100) dans le premier puits de la 1^{ère} ligne, et de la colonne 1.
- 4- Procéder aux dilutions en séries au 1/10 avec une pipette multicanaux (0,046 ul) de la cupule 1 à la cupule 10.
- 5- Ne pas oublier de faire un témoin négatif avec du VGM dans les deux dernières cupules (colonne 11 et 12).

IV.4.2.2 Inoculation des suspensions virales (Protocole de l'institut Pasetur) .

- Aspirer le milieu de culture dans tous les puits
- Rincer deux fois avec 100 ul de PBS, le premier rinçage se fera avec PBS et le second avec du milieu de culture sans SVF .
- Une fois les dilutions de suspension virale réalisée, transférer 100 ul du contenu de la plaque 96 puits en U vers la plaque ou les cellules ont été cultivée
- Incuber à 37°C pendant 30mn.
- Après incubation aspirer inoculum et ajouter 100 ul de milieu DMEM sans sérum SVF contenant une concentration finale de trypsine TPCK .
- Incuber les plaques à 37° C à 5% de CO₂ .

IV.4.3. Lecture et interprétation :

Examiner quotidiennement au microscope inversé la présence ou l'absence de l'effet cytopathique dans chaque puits, après 4 jours les plaques cellulaires inoculées avec du virus grippal sont lues afin de déterminer si l'effet cytopathogène caractéristique des virus qu'il soit positif ou négatif et calculer la $DICT_{50}$ par la méthode de **REED et MEUNCH (1938)** selon la formule suivante :

$$I = \frac{(\% \text{ des valeurs positives } > 50\%) - 50\%}{(\% \text{ des valeurs positives } > 50\%) - (\% \text{ des valeurs positifs } < 50\%)} \times H$$

H : facteur de dilution/ Le titre est égal à $10 \text{ } DICT_{50} / 0,1 \text{ ml}$.

Le point $DICT_{50}$ correspond au point de dilution pour lequel 50% des puits sont infectés.

IV.5. Résultats et discussion

IV.5.1. Incubation des cellules MDCK avec différentes concentrations de la molécule

Le tableau IV.1 ci-dessous représente l'incubation des cellules MDCK avec la molécule du Camphre à différentes concentrations choisies, afin de tester son éventuelle cytotoxicité sur les cellules, plusieurs essais ont été effectués, on remarque une chute cellulaire d'environ 5% pour les concentrations de [2000-1000] μM dans les deux premières lignes, par contre, dans la troisième, nous remarquons que les cellules restent en bon état pour les deux concentrations. A une concentration de 3000 μM , nous observons également une légère chute cellulaire d'un pourcentage de 5%, pour le reste des concentrations allant de [500 à 0,97] μM les cellules restent en bon état avec l'absence de lyse cellulaire. Dans un autre essai (**Tableau IV.1**), nous remarquons que toutes les cellules restent en bon état à différentes concentrations de [3000 - 0,97] μM . Donc il convient de noter que les cellules MDCK sont apparues plus résistantes à l'action toxique du camphre. Ceci peut s'expliquer par les différentes conditions de culture de ces cellules, ce qui nous permet de conclure que la molécule du camphre n'a pas d'effet cytotoxique sur les cellules MDCK puisqu'elles restent en bon état. (**Figure IV.1**).

Tableau IV.1 : Incubation des cellules MDCK avec le camphre à différentes concentrations.

| | | | | | | | | | | | |
|-------------------|---------------------|----------------|----------------|------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|-------------|-------------|
| 2000u M +/- | 1000u M +/- - | 500u M - | 250u M - | 125uM - | 62,5u M - | 31,25u M - | 15,62u M - | 7,81uM - | 3,90u M - | 1,95uM - | 0,97uM - |
| 2000u M +/- | 1000u M +/- - | 500u M - | 250u M - | 125uM - | 62,5u M - | 31,25u M - | 15,62u M - | 7,81uM - | 3,90u M - | 1,95uM - | 0,97uM - |
| 2000u M - | 1000u M - | 500u M - | 250u M - | 125uM - | 62,5u M - | 31,25u M - | 15,62u M - | 7,81uM - | 3,90u M - | 1,95uM - | 0,97uM - |
| 3000u M +/- | 1500u M - | 750u M - | 375u M - | 187,5u M - | 93,75 uM - | 46,87u M - | 23,43u M - | 11,71u M - | 5,859 uM - | 2,92uM - | 1,46uM - |
| 3000u M +/- | 1500u M - | 750u M - | 375u M - | 187,5u M - | 93,75 uM - | 46,87u M - | 23,43u M - | 11,71u M - | 5,859 uM - | 2,92uM - | 1,46uM - |
| 3000u M +/- | 1500u M - | 750u M - | 375u M - | 187,5u M - | 93,75 uM - | 46,87u M - | 23,43u M - | 11,71u M - | 5,859 uM - | 2,92uM - | 1,46uM - |
| T- | T- | T- | T- | T- | T- | T- | T- | T- | T- | T- | T- |
| T- | T- | T- | T- | T- | T- | T- | T- | T- | T- | T- | T- |

- : Négatif, les cellules restent en bonne états en présence du camphre. +/- : 5% chute cellulaire. T-: 0-5% chute cellulaire.

Cellules intacte de MDCK



Figure IV.1: Cellules MDCK en absence du virus grippal (G243/12).

IV.5.2. Lecture et interprétation de l'effet cytopathique (ECP)

Après l'inoculation des plaques cellulaires avec le virus grippal (G243/12), les plaques sont examinées au microscope photonique (G x100) afin de compter les puits présentant un effet cytopathique, les titres infectieux sont alors calculés par la méthode de REED-MEUNCH (1938), le tableau IV.3 présente les résultats obtenus lors de l'inoculation des cellules MDCK avec le virus G243/12.

- En absence de la molécule du Camphre, nous remarquons que dans les premiers puits de [1-4] avec les différentes dilutions virales, les résultats sont positifs (voir tableau IV.2). Avec un seul effet positif au niveau du 5^{ème} puit, par contre à partir du 6^{ème} puit, nous constatons que les résultats sont négatifs, par examen microscopique de cellules en culture, des indices d'infection virale.

Tableau IV.2 : Inoculation des cellules MDCK avec le virus G243/12 en absence de la molécule du Camphre, $DICT_{50} = 10^{5,83}$.

| | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | 11 | 12 |
|---|---|---|---|----|---|---|---|---|---|----|----|----|
| A | + | + | + | + | + | - | - | - | - | - | - | - |
| B | + | + | + | +- | - | - | - | - | - | - | - | - |
| C | + | + | + | + | - | - | - | - | - | - | - | - |
| D | + | + | + | + | - | - | - | - | - | - | - | - |
| E | | | | | | | | | | | | |
| F | | | | | | | | | | | | |
| G | c | c | c | c | c | c | c | c | c | c | c | c |
| H | c | c | c | c | c | c | c | c | c | c | c | c |

C : contrôle

Détachement de groupes de cellules

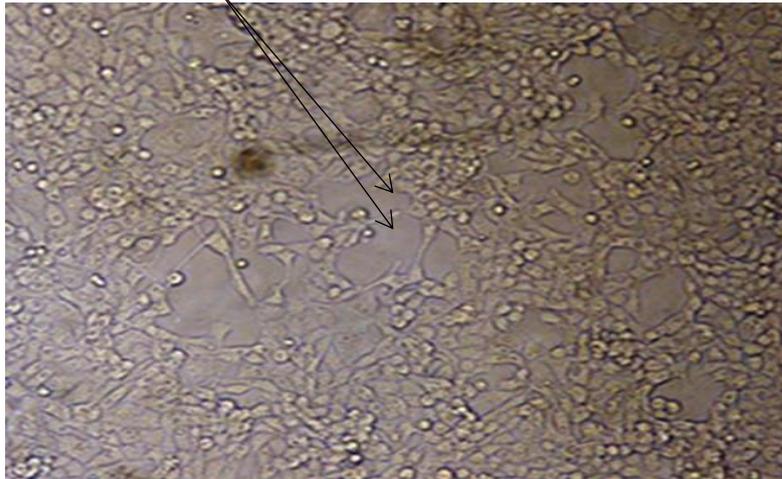


Figure IV.2: Début d'un effet cytopathique du virus grippal (G243 /12) sur MDCK.

Tableau IV. 3 : Inoculation des cellules MDCK avec le virus G243/12 en absence de la molécule, $DICT_{50} = 10^{6,25}$.

| | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | 11 | 12 |
|---|---|---|---|---|----|---|---|---|---|----|----|----|
| A | + | + | + | + | +- | - | - | - | - | - | - | - |
| B | + | + | + | + | + | - | - | - | - | - | - | - |
| C | + | + | + | + | + | - | - | - | - | - | - | - |
| D | + | + | + | + | + | - | - | - | - | - | - | - |
| E | | | | | | | | | | | | |
| F | | | | | | | | | | | | |
| G | c | c | c | c | c | c | c | c | c | c | c | c |
| H | c | c | c | c | c | c | c | c | c | c | c | c |

C : Contrôle

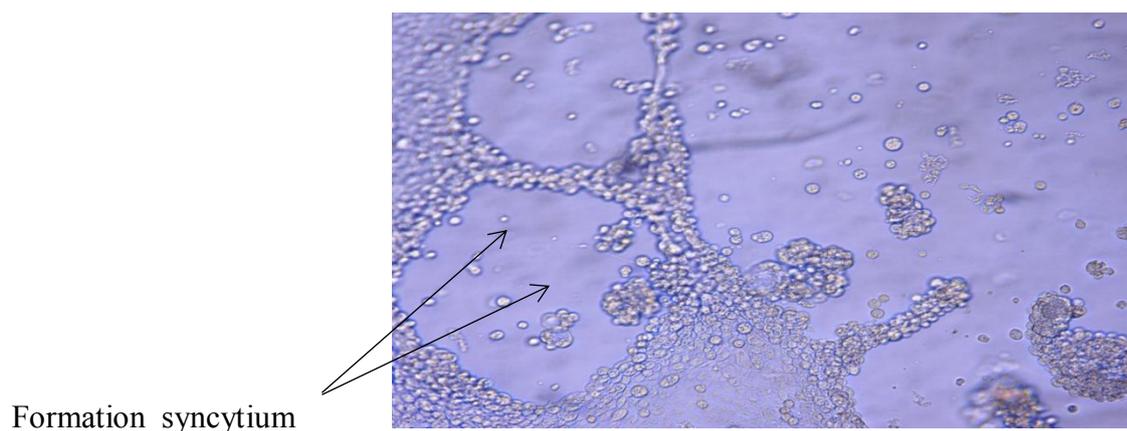


Figure IV.3: Effet Cytopathique entre [50 -75] % du virus grippal G243/12 sur les cellules MDCK.

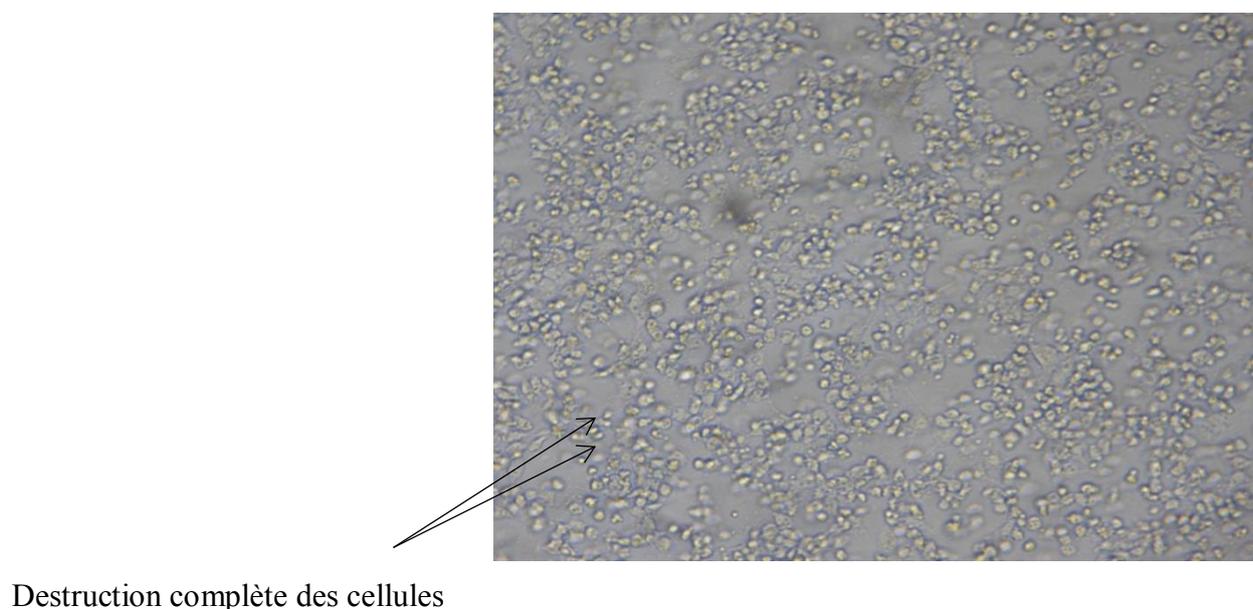


Figure IV.4: Effet Cytopathique à 100% par le virus grippal G243/12 sur les cellules MDCK.

Nous pouvons citer le gonflement ou le rétrécissement des cellules, avec des regroupements ou la formation de syncytium pour aller dans certains cas jusqu'à la destruction complète des cellules. Nous pouvons conclure à une présence d'effet cytopathique entre [50-100] %, on remarque un arrondissement des cellules et détachement de groupes de cellules

avec lyse ultérieure, une fusion de cellules infectées formant des cellules géantes polynucléaires syncytium, et une formation de cellules mononucléaires géantes, (**figure IV.3 et figure IV.4**) avec une dose infectieuse en culture de tissu 50 % (DICT₅₀) égale à 10^{5,83}, contrairement aux résultats obtenus dans le tableau IV.3 ou les résultats sont positifs dans la totalité du 5^{ème} puit , avec une (DICT₅₀/ml) =10^{6,25} .

L'inoculation des cellules de MDCK avec les différentes concentrations du Camphre sont représentées dans les tableaux suivants (**Tableaux IV.4, IV.5, IV.6**). Pour la concentration de 1000 µM du Camphre, nous remarquons l'absence d'un effet cytopathogène pour toutes les dilutions (**tableau IV.4**). Par contre pour les concentrations de [2000-3000] µM, nous pouvons constater un léger effet cytopathique avec un pourcentage d'environ 5% avec une dose infectieuse en culture de tissu 50 % (DICT₅₀) égale à de 10⁴ , 10^{4,83} pour les deux concentrations (**Tableaux IV.5 et IV.6**).

Tableau IV.4 : Inoculation des cellules MDCK avec le virus G243/12 avec 1000 uM de Camphre.

| | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | 11 | 12 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|----|----|----|
| A | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| B | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| C | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| D | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| E | | | | | | | | | | | | |
| F | | | | | | | | | | | | |
| G | | | | | | | | | | | | |
| H | | | | | | | | | | | | |

Tableau IV.5 : Inoculation des cellules MDCK avec le virus G243/12 avec 2000 μM de Camphre, $\text{DICT}_{50}=10^4$.

| | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | 11 | 12 |
|----------|---|----|---|---|---|---|---|---|---|----|----|----|
| A | + | + | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| B | + | + | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| C | + | + | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| D | + | +- | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| E | | | | | | | | | | | | |
| F | | | | | | | | | | | | |
| G | | | | | | | | | | | | |
| H | | | | | | | | | | | | |

Tableau IV.6 : Inoculation des cellules MDCK avec le virus G243/12 avec 3000 μM de camphre, $\text{DICT}_{50}=10^{4,83}$.

| | 0 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | 11 | 12 |
|----------|---|----|----|---|---|---|---|---|---|----|----|----|
| A | + | + | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| B | + | + | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| C | + | + | +- | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| D | + | +- | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| E | | | | | | | | | | | | |
| F | | | | | | | | | | | | |
| G | c | c | c | c | c | c | c | c | c | c | c | c |
| H | c | c | c | c | c | c | c | c | c | c | c | c |

IV.6. Discussion

Dans ce présent travail, l'activité antivirale de la molécule de 1,7,7-triméthylbicyclo, heptan-2-one –Camphre- a été testée. Nous avons obtenu un très faible taux d'effet cytopathique vis-à-vis le virus grippal (G243/12AH1N1 pdm), il convient donc de relever que la molécule initiale de camphre a une faible action inhibitrice sur le virus testé ce qui est en accord avec les résultats obtenus par l'étude de (Sokolova et al., 2017) relative au virus de la grippe A/Puerto Rico/8/34 (H1N1) et A/California/07/09 (H1N1)pdm09, où ils ont constaté une faible action antivirale de la molécule de camphre à partir d'une concentration de $3289,5 \pm 216,0$. En outre, une étude a révélé que les composés contenant des dérivés du camphre avec un ou deux groupes imines présentent une forte activité antivirale (Sokolova et al., 2014). Le composé à base de camphre et d'amino-éthanol 1,7,7-triméthylbicyclo[2.2.1]heptan-2-ylidène-aminoéthanol a démontré une forte activité antivirale associée à une faible toxicité (Sokolova et al., 2015).

Une autre étude menée par Yang et collaborateurs (Yang et al., 2013) révèle qu'un nouvel imino-dérivé du camphre a été appelé Camphecene, et sachant que l'hémagglutinine (HA) du virus de la grippe est une glycoprotéine membranaire qui fournit les deux principales fonctions du cycle de vie viral : tout d'abord, via la liaison aux récepteurs en se liant aux récepteurs de surfaces cellulaires et fixe le site virion à la membrane de l'hôte. Deuxièmement, il expose le peptide de fusion qui s'insère dans la cellule et assure la fusion de la membrane avec la formation du pore de fusion nécessaire à la poursuite de la libération du génome viral dans le cytoplasme. En raison de la grande importance de ces étapes pour la reproduction virale, l'HA semble être une cible intéressante pour l'intervention médicamenteuse en raison de ses rôles clés dans les premiers stades de l'infection : la liaison aux récepteurs et la fusion du virus et des membranes cellulaires (Yang et al., 2013).

Les imines de camphre sont apparemment capables de bloquer efficacement les réarrangements conformationnels de l'HA nécessaires à la fusion des membranes, l'étude a révélé un effet inhibiteur élevé des composés symétriques avec des liaisons aliphatiques entre deux résidus de camphre (Sokolova et al., 2014). Les dérivés aminés du camphre se sont avérés efficaces dans les inhibiteurs des canaux ioniques M2 de la grippe A (Sokolova et al., 2017). En outre la capacité à inhiber efficacement les virus de la grippe A (H1N1) a été démontrée par les dérivés imino et diimine du (+)-camphre (Kovaleva et al., 2018).

RÉSULTATS ET DISCUSSION

CHAPITRE V. ETUDE DES PROPRIÉTÉS STRUCTURALES, ÉLECTRONIQUES ET SPECTROSCOPIQUES DU CAMPBRE

L'objectif de cette partie théorique est de calculer les caractéristiques structurales et électroniques avec des différentes méthodes de calcul. Dans cette étude, nous allons définir la meilleure méthode ainsi que la base nécessaire pour nos calculs futurs et de prédire la réactivité chimique, nous allons également présenter une étude comparative théorique et expérimentale, cette étude expérimentale a été effectuée au niveau du CRAPC de Bousmail - TIPAZA de la molécule du 1,7,7-trimethylbicyclo [2,2,1] heptan-2-one *Camphre* par spectroscopie Infra Rouge (IR) et par résonance magnétique nucléaire (RMN) .

V.1. Méthodes de calcul utilisées

La molécule de Camphre et ses dérivés ont été optimisées initialement par logiciel « HyperChem 8.08 ». Les structures obtenues ont été d'abord ré-optimisées par la mécanique moléculaire en utilisant le champ de force (MM+) à l'aide de l'algorithme « Fletcher Reves » et avec une racine du carré moyen du gradient (RMS) qui est égale à 0,01 kcal. mol⁻¹. La structure obtenue a été ré-optimisée en utilisant la méthode « PM3 » (Stewart *et al.*, 1989).

Dans l'étape suivante, une autre étude a été réalisée en utilisant le logiciel Gaussien 09 (Frisch *et al.*, 2009), avec des différentes méthodes de calcul tel que : ab-initio/HF (Boucekkine, 2007), DFT/B3LYP (Jensen *et Wiley*, 1999) et avec des différentes bases comme 6-31G, 6-311G (d) et 6-311G + (d, p).

V.2. Etude des propriétés structurales et électroniques du Camphre

Les paramètres géométriques du camphre ont été optimisés par la méthode DFT, les résultats de calcul sont donnés dans le tableau V.1. La structure et la numérotation des atomes correspondants de la molécule, ainsi que la distribution de charge de la molécule du Camphre sont présentées dans les figures (V.1 et V.2)

L'efficacité des méthodes théoriques utilisées dans les calculs peuvent être évaluées par la comparaison des résultats obtenus avec les résultats expérimentaux (Salah *et al.*, 2015). Les calculs visent les longueurs des liaisons et les angles de valence pour le camphre (Tableau V.1) et les charges de Mulliken (Tableau V.2).

CHAPITRE V ETUDE DES PROPRIÉTÉS STRUCTURALES, ÉLECTRONIQUES ET SPECTROSCOPIQUES DU CAMPHRE

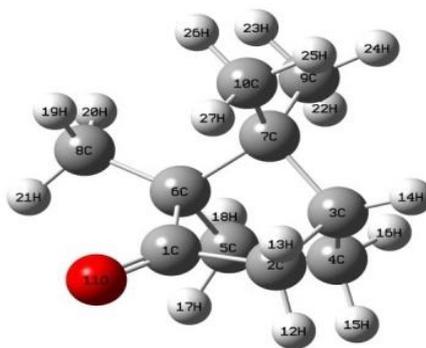


Figure V.1 : Conformation 3D du camphre (GaussView 05).

Tableau V-1 : Résultats de calcul des longueurs des liaisons, les angles de valence du camphre.

| Composé | Exp.[6] | ab-initio/HF | | | DFT/ B3LYP | | |
|--|----------|---------------|------------|---------|---------------|------------|----------|
| | | 6-311G+ (d,p) | 6-311G (d) | 6-311G | 6-311G+ (d,p) | 6-311G (d) | 6-311G |
| Longeurs de liaisons (angstrom) | | | | | | | |
| C1-C2 | 1.511 | 1.527 | 1.528 | 1.517 | 1.535 | 1.537 | 1.532 |
| C1-C6 | 1.525 | 1.526 | 1.526 | 1.519 | 1.534 | 1.536 | 1.532 |
| C1-O11 | 1.180 | 1.185 | 1.184 | 1.214 | 1.207 | 1.205 | 1.235 |
| C2-C3 | 1.564 | 1.538 | 1.538 | 1.540 | 1.542 | 1.541 | 1.548 |
| C3-C4 | 1.532 | 1.540 | 1.540 | 1.544 | 1.547 | 1.546 | 1.554 |
| C3-C7 | 1.590 | 1.556 | 1.556 | 1.562 | 1.566 | 1.566 | 1.574 |
| C4-C5 | 1.554 | 1.554 | 1.553 | 1.554 | 1.559 | 1.558 | 1.563 |
| C5-C6 | 1.551 | 1.557 | 1.556 | 1.562 | 1.567 | 1.566 | 1.575 |
| C6-C7 | 1.580 | 1.562 | 1.561 | 1.568 | 1.573 | 1.572 | 1.582 |
| C6-C8 | 1.536 | 1.517 | 1.516 | 1.515 | 1.517 | 1.515 | 1.518 |
| C7-C9 | 1.517 | 1.534 | 1.533 | 1.534 | 1.536 | 1.535 | 1.539 |
| C7-C10 | 1.516 | 1.538 | 1.537 | 1.538 | 1.539 | 1.539 | 1.542 |
| Angle de valence (degrés) | | | | | | | |
| C2-C1-C6 | 106.000 | 106.681 | 106.584 | 107.406 | 106.533 | 106.382 | 107.129 |
| C2-C1-O11 | 126.000 | 126.285 | 126.417 | 126.039 | 126.484 | 126.694 | 126.322 |
| C6-C1-O11 | 128.000 | 127.032 | 126.998 | 126.550 | 126.979 | 126.921 | 126.540 |
| C1-C2-C3 | 104.000 | 101.708 | 101.747 | 101.633 | 101.962 | 101.996 | 101.872 |
| C2-C3-C4 | 108.000 | 106.564 | 106.515 | 106.484 | 106.574 | 106.551 | 106.562 |
| C2-C3-C7 | 099.000 | 102.614 | 102.617 | 102.484 | 102.661 | 102.684 | 102.569 |
| C4-C3-C7 | 104.000 | 102.833 | 102.794 | 102.734 | 102.749 | 102.714 | 102.639 |
| C3-C4-C5 | 103.000 | 102.668 | 102.686 | 102.809 | 102.738 | 102.769 | 102.900 |
| C4-C5-C6 | 105.000 | 104.315 | 104.304 | 104.288 | 104.448 | 104.429 | 104.377 |
| C1-C6-C5 | 102.000 | 103.184 | 103.243 | 103.225 | 102.931 | 102.996 | 103.086 |
| C1-C6-C7 | 100.000 | 100.311 | 100.389 | 100.219 | 100.475 | 100.544 | 100.399 |
| C1-C6-C8 | 112.000 | 114.256 | 114.076 | 114.545 | 114.537 | 114.205 | 114.684 |
| C5-C6-C7 | 103.000 | 102.191 | 102.167 | 101.974 | 101.924 | 101.940 | 101.723 |
| C5-C6-C8 | 117.000 | 114.892 | 114.908 | 114.975 | 114.993 | 115.036 | 115.059 |
| C7-C6-C8 | 119.000 | 119.658 | 119.726 | 119.520 | 119.571 | 119.730 | 119.472 |
| C3-C7-C6 | 093.000 | 093.846 | 093.875 | 093.683 | 093.813 | 093.825 | 093.654 |
| C3-C7-C9 | 114.000 | 113.716 | 113.676 | 113.732 | 113.656 | 113.622 | 113.680 |
| C3-C7-C10 | 109.000 | 113.876 | 113.852 | 113.771 | 114.114 | 114.059 | 113.974 |
| C6-C7-C9 | 115.000 | 114.581 | 114.622 | 114.501 | 114.269 | 114.363 | 114.219 |
| C6-C7-C10 | 112.000 | 113.693 | 113.619 | 113.500 | 113.368 | 113.391 | 113.2632 |
| C9-C7-C10 | 112.000 | 107.083 | 107.066 | 107.438 | 107.414 | 107.386 | 107.768 |

D'après les résultats obtenus, nous pouvons noter une bonne corrélation entre les valeurs des charges atomiques calculées et les valeurs expérimentales pour les paramètres géométriques par exemple : les longueurs des liaisons C1-C2 calculées du composé par la méthode ab-initio/HF avec les bases 6-311G+(d,p) /6-311G(d)/ 6-311G présente des valeurs de 1.527, 1.528 et 1.517 Å, par la méthode DFT/ B3LYP avec les bases 6-311G+(d,p)/ 6-311G(d)/ 6-311G sont 1.535, 1.537 et 1.532 Å. Ces valeurs se rapprochent de la valeur trouvée par le travail Kwiatkowski et *al* qui est de 1.5111 Å (**Kwiatkowski et al., 1997**).

Concernant les valeurs des angles de valences calculées par la méthode ab-initio/HF, elles sont similaires à celles calculées par la méthode DFT/ B3LYP. Prenant l'exemple de l'angle C9-C7-C10, nous remarquons dans le tableau ci-dessus que les valeurs sont toutes presque identiques à la valeur 107 ° pour les deux méthodes qui se rapprochent de la valeur expérimentale de Kwiatkowski et collaborateurs (**Kwiatkowski et al., 1997**).

D'après les résultats obtenus des valeurs des charges atomiques calculées par la méthode ab-initio/HF, on remarque qu'elles sont approximativement similaires à celles calculées par la méthode DFT, ainsi tous les résultats obtenus par calculs sont proches aux résultats expérimentaux. Après comparaison des résultats de calculs obtenus par la méthode DFT et ab-initio/HF, nous pouvons conclure que la méthode DFT(B3LYP) avec la base 6-311G+ (d,p) est la meilleure méthode dans le but d'approfondir notre étude sur les propriétés structurales et électroniques de la molécule.

Afin de valider la méthode DFT pour notre molécule, nous pensons utile de calculer les charges Mulliken (voir figure V.2 et tableau V.2).

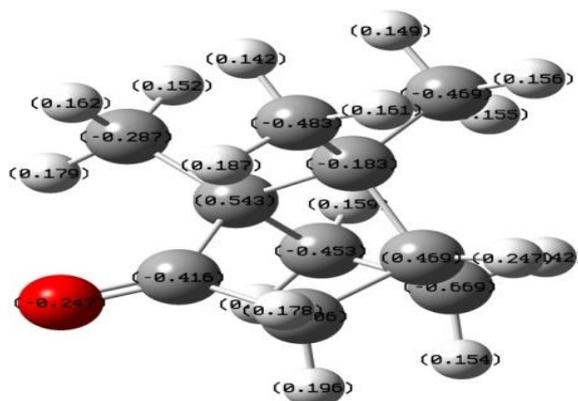


Figure V.2: Distribution de charge de la molécule du Camphre

Dans le tableau ci-dessous (**Tableau V.2**), nous pouvons constater que les atomes C1, C2, C4, C5, C7, C8, C9, C10 et O11 (DFT(B3LYP) avec la base 6-311G+ (d,p)) et que les atomes :C2,C3,C5,C6,C9,C10,O11 (ab-initiation/HF 6,311G+(d,p)) ont des charges négatives ce qui privilégie l'attaque électrophile, tandis que les deux atomes C3 et C6 (DFT(B3LYP)) et que les charges des atomes : C1,C4,C7,C8 (ab-initiation/HF 6,311G+(d,p)) ont des charges positives ce qui privilégie l'attaque nucléophile.

Le terme HOMO (Highest Occupied Molecular Orbital en anglais) et LUMO (Lowest Unoccupied Molecular Orbital) pour désigner, respectivement, l'ensemble des niveaux électroniques de plus haute énergie occupés (π liants) et l'ensemble des niveaux de plus basse énergie inoccupés (π^* anti-liants) (**Albright, 2013 ; Whangbo, 1985**). En outre, les valeurs propres de la plus basse orbitale moléculaire inoccupée (LUMO) et l'orbitale moléculaire occupée la plus élevée (HOMO) et de leur écart énergétique reflètent l'activité chimique de la molécule. Récemment, l'écart d'énergie entre HOMO et LUMO a été utilisé pour étudier le transfert de charge intramoléculaire (TCI) (**Padmaja et al., 2009 ; Ravikumar, 2008**).

Tableau V.2 : Résultats de calculs des charges Mulliken du camphre.

| Atomes | DFT/B3LYP 6-311G+(d,p) | ab-initiation/HF 6,311G+(d,p) |
|--------|---------------------------|----------------------------------|
| C1 | -0.416 | 0.067 |
| C2 | -0.506 | -0.011 |
| C3 | 0.053 | -0.011 |
| C4 | -0.315 | 0.053 |
| C5 | -0.083 | -0.315 |
| C6 | 0.298 | -0.083 |
| C7 | 0.299 | 0.298 |
| C8 | -0.239 | 0.299 |
| C9 | -0.264 | -0.239 |
| C10 | -0.191 | -0.264 |
| O11 | -0.596 | -0.191 |

Les orbitales frontières HOMO et LUMO de l'état fondamental du camphre sont représentés dans la figure V.3.

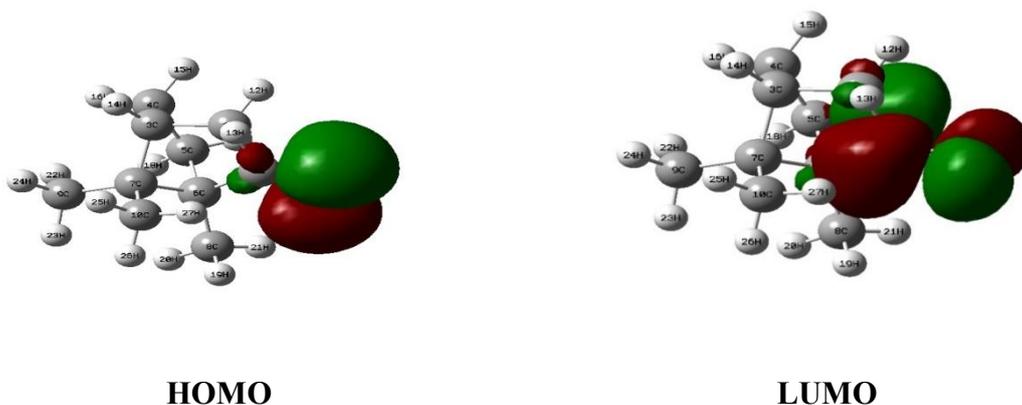


Figure V.3 : Représentation des orbitales frontières HOMO et LUMO du noyau de base de la molécule du camphre.

Nous pouvons constater que l'orbitale moléculaire HOMO se concentre principalement sur l'atome O11, une certaine distribution sur l'atome C1 et une absence de localisation sur les autres composés, tandis que l'orbitale moléculaire LUMO se répartie sur les atomes O11, C1, C6, C2 de la molécule avec une délocalisation sur les autres atomes. Cette distribution des orbitales frontières ont montré l'existence de la liaison π dans le cyclopentanone de la molécule. Dans le tableau V.3 représente les valeurs calculées des différents paramètres énergétiques tels que l'énergie totale, le moment dipolaire μ , l'orbitale moléculaire HOMO, l'orbitale moléculaire LUMO et la différence ΔE (gap) entre les énergies des orbitales HOMO et LUMO.

Tableau V.3 : Résultats de calcul des paramètres énergétiques et le moment dipolaire du camphre par la méthode DFT/ B3LYP 6-311G+ (d, p).

| HOMO (u.a) | LUMO (u.a) | ΔE | μ (debye) | Energie totale (u.a) |
|-----------------------|-----------------------|------------------------------|---------------------------------|-----------------------------|
| -0.2638 | -0.0294 | 0.2344 | 3.2950 | -466.0521 |

HOMO : orbitale moléculaire plus haut occupée. LUMO : orbitale moléculaire plus bas inoccupée. ΔE : gap énergétique EHOMO-ELUMO. μ : moment dipolaire. HOMO, LUMO et μ calculés par la méthode DFT/ B3LYP 6-311G+ (d, p).

V.3. Etude de l'effet de MESP sur le squelette de noyau de base du Camphre

La surface de potentiel électrostatique moléculaire MESP est un élément de potentiel électrostatique cartographié sur la surface de densité d'iso-électrons (**Prasad et al., 2010**).

L'importance du MESP donne des informations sur les régions moléculaires qui sont préférées par un électrophile ou un nucléophile. Tout système chimique crée un potentiel électrostatique autour de lui-même (**Murray et al., 1996 ; Abhisek et al., 2013**).

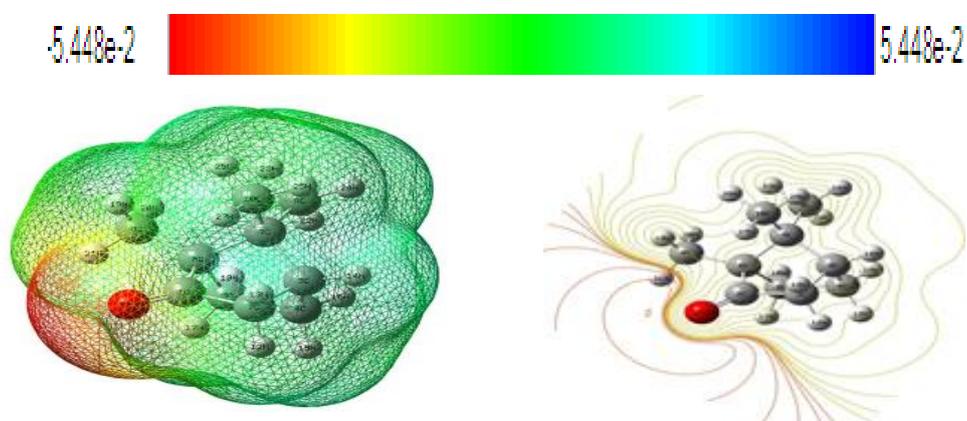


Figure V.4 : Carte de surface 3D MESP et carte de contour 2D MESP pour le noyau de base de la molécule du Camphre.

Une partie de la molécule qui présente un potentiel électrostatique négatif est susceptible d'une attaque électrophile. Les régions rouge et bleue de la carte MESP se réfèrent aux régions des potentiels négatifs et positifs et correspondent respectivement aux régions riches en électrons et déficientes en électrons tandis que la couleur verte indique le potentiel électrostatique neutre (**Srivastava et al., 2012**).

La carte de surface 3D MESP et la carte de contour 2D MESP pour le noyau de base de la molécule du camphre (figure V.4) montrent que la région proche de l'oxygène de carbonyle du cyclopentanone est riche en électrons en raison de la couleur rouge qui se réfère à un potentiel négatif qui accepte l'attaque électrophile. Les régions vertes situées entre les régions rouge et bleue, se réfèrent à un potentiel électrostatique neutre sont les atomes d'hydrogènes attachés à des atomes de carbone. La variation du potentiel électrostatique produit par une

molécule est largement responsable de la liaison d'un médicament à ses sites actifs (récepteur), car le site de liaison en général devrait avoir des zones opposées de potentiel électrostatique (Salah et al., 2014 ; Pathak et Sinha, 2012).

V.4. Étude des propriétés spectroscopiques par IR et RMN

V.4.1. Spectroscopie Infra -Rouge

Dans la partie qui suit, une étude spectrale a été réalisée théoriquement en se basant sur la spectroscopie IR afin de déterminer la meilleure méthode à prendre pour cette molécule.

En comparant les résultats expérimentaux avec ceux obtenus par nos calculs, nous avons déterminé la meilleure méthode de calcul et la base adéquate pour les molécules étudiées. Nous notons que les spectres expérimentaux IR ont été effectués en phase solide (KBr) (Van der Weerd et al., 2004). Les fréquences de vibration théoriques ont été calculées en utilisant le programme de calcul théorique Gaussian 09 avec une base B3LYP/6-311G+(d,p). Tous les spectres expérimentaux du composé étudié présentent des bandes caractéristiques pour les liaisons C-H C=O, C-C et C=C.

Le but principal de la spectroscopie vibrationnelle est la détermination des fréquences d'une molécule. Ces fréquences dépendent de la masse des atomes impliqués dans le mode normal de vibration ainsi que la force des liaisons inter-atomiques. Nous notons dans l'ensemble, qu'il y a un bon accord entre les bandes caractéristiques principales.

V.4.2. Modes de vibration de la molécule du camphre

Les vibrations d'élongation C-H des composés aromatiques apparaissent dans la région 3100-3000 cm^{-1} (Collier, 1995), (Socrates, 2001). En effet, la région des fréquences entre à 3029-3200 cm^{-1} est la région caractéristique pour l'identification des vibrations d'élongation symétrique de liaison C-H, et l'élongation asymétrique entre 3200-3236 cm^{-1} (Krtashnakumar, 2009). Les fréquences calculées théoriquement et comparés aux fréquences expérimentales sont illustrées dans les figures VI.5 et VI.6

V.4.2.1 Vibration de C-H

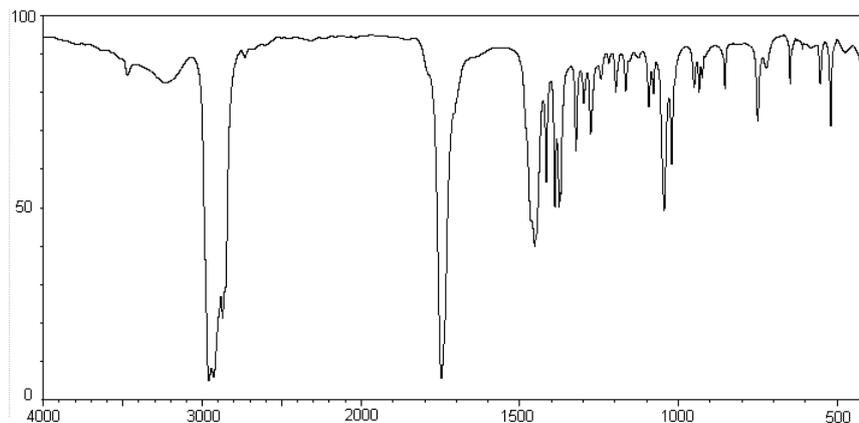


Figure V.5 : Spectre IR expérimentale du Camphre.

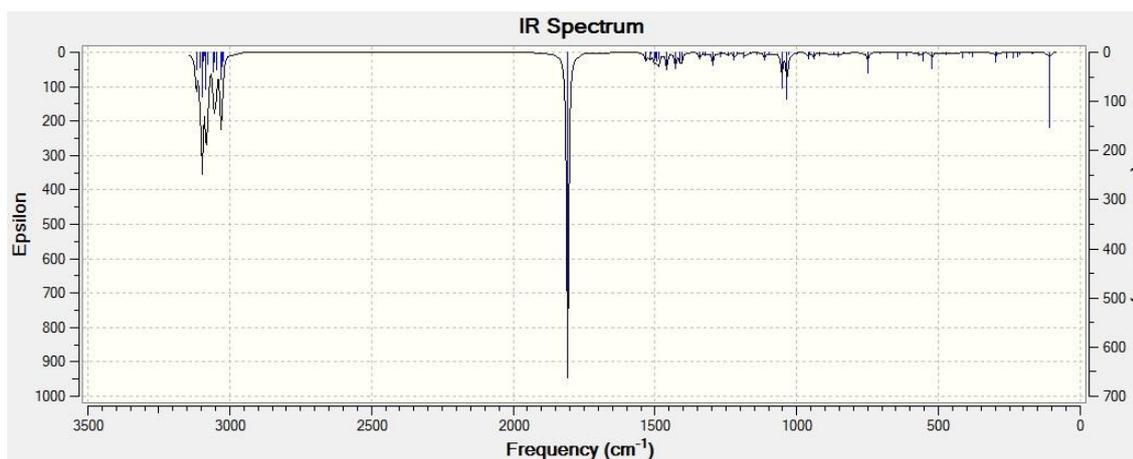


Figure V.6 : Spectre IR théorique du Camphre.

Nous observons des bandes entre 2980 et 3500 cm^{-1} correspondent aux vibrations d'élongation asymétriques et l'élongation symétriques entre 2980 et 3220 cm^{-1} du C-H, et théoriquement la bande élongation asymétrique vers 3097 cm^{-1} d'intensité 91,653 km/mol de C6 (H15, H18), de C7 (H17, H18), et de C3 (H12, H13).

La bande élongation symétrique vers 3031 cm^{-1} d'intensité 56,455 km/mol de C8 (H19, H20, H21) de C10 (H22, H23, H24), et de C11 (H25, H26, H27).

V.4.2.2 Vibration de C=O

Dans notre travail, nous observons un mode d'élongation fort du C=O à 1807cm^{-1} d'intensité $610,482\text{ km/mol}$ dans le spectre IR théorique du composé camphre, et expérimentalement la bande vers 1790 cm^{-1} . plus, nous pouvons également attribuer les bandes caractéristiques Moyenne-Fine des cycles C- $\nu_{\text{as}}\text{C}$ vers $1300\text{-}1190\text{ cm}^{-1}$ (Doreswamy et al., 2011), (Brusau et al., 2004).

Pour la vibration d'élongation de la liaison C-C du camphre, les spectres expérimentale et théorique (figures V.5 et V.6) montrent les bandes d'absorption à $1211, 1221, 1329$, et à 1342 cm^{-1} d'intensité moyenne, respectivement, concordent bien avec les valeurs expérimentales.

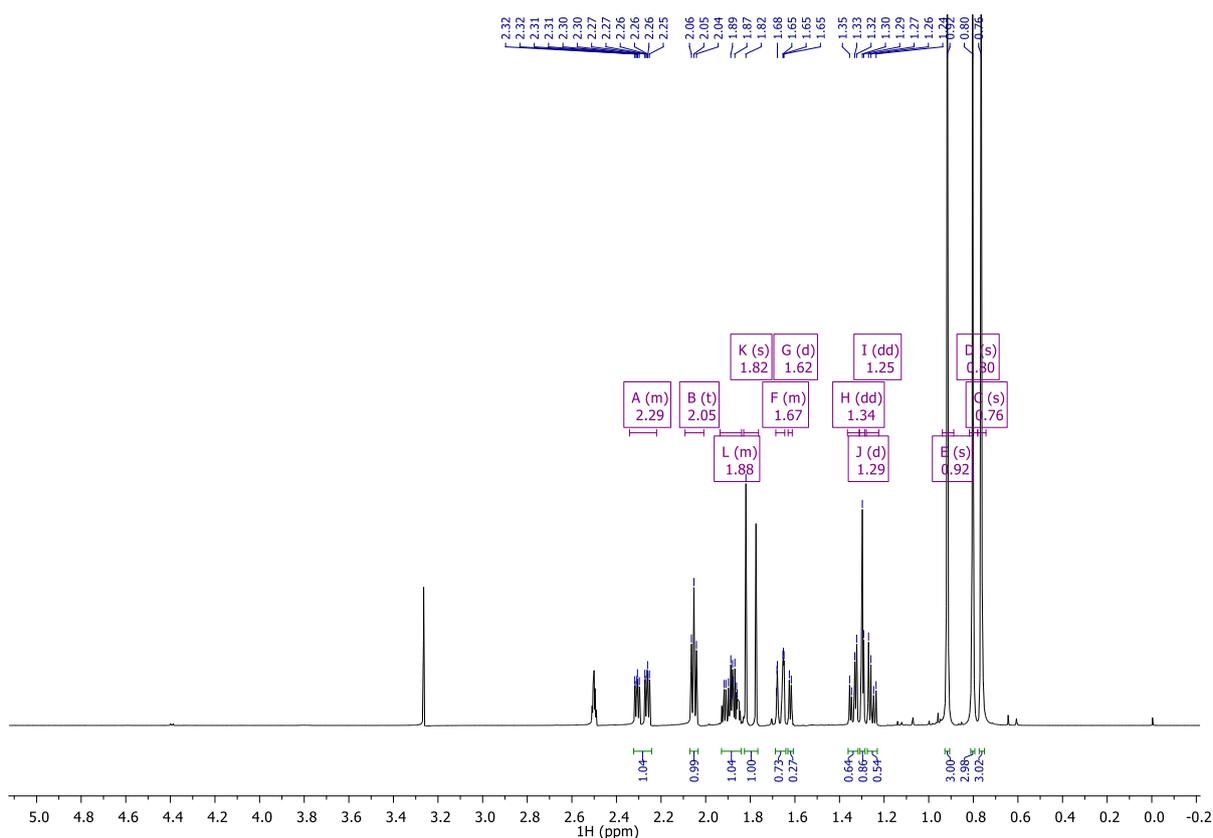
La comparaison des données spectrales IR de camphre avec le carbonyle $\nu(\text{C}=\text{O})$ de cycle aromatique, $\nu(\text{C}-\text{C})$ et (C-H) cyclopentanone, confirme la formation de la molécule du camphre.

Les fréquences calculées par DFT sont habituellement surestimées de manière significative par rapport aux valeurs expérimentales en raison du manque de corrélation électronique (Jaeqx et al., 2014). Ainsi, nous avons utilisé les facteurs de correction disponibles dans la littérature pour améliorer les résultats de calcul (Jaeqx et al., 2014). Les fréquences de vibration théoriques obtenues ont été corrigées par un facteur de correction égale 0.966 selon la littérature pour la méthode B3LYP/6-311G+(d,p) (<http://ccbdb.nist.gov/vibscalejust.asp>). Cette correction peut conduire à une conformité entre les fréquences expérimentales et celles calculées.

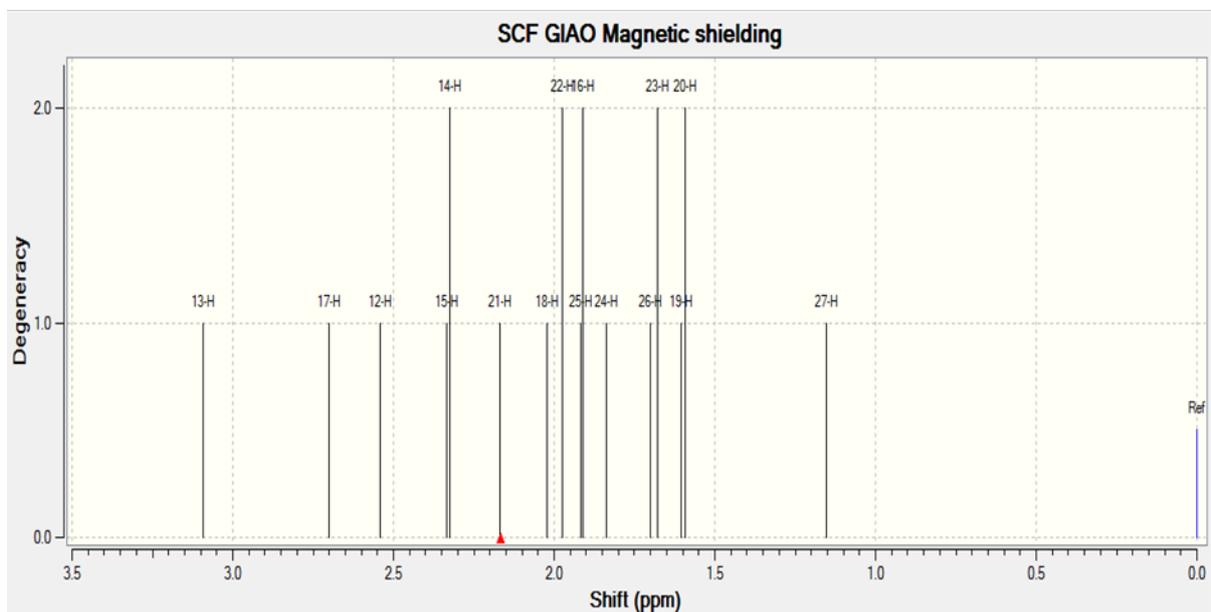
V.4.3. Spectroscopie ^1H -RMN

L'analyse ^1H -RMN nous a permis d'identifier clairement la structure du composé du camphre obtenu. Après analyse, nous pouvons attribuer les différents pics observés. Dans la zone des aromatiques, nous distinguons assez bien les protons du cyclopentanone dans l'intervalle $1.2\text{-}2.00\text{ ppm}$. Ensuite, la zone entre $2.2\text{-}2.4\text{ ppm}$ regroupe les protons C-H₃ de C-C confirme la présence du groupe CH₃ (figure V.7). En effet, sur la ^1H -RMN du spectre expérimental, l'apparition de signaux à $2.6\text{-}2.29\text{ ppm}$ correspondant aux protons de méthylène expérimentalement.

CHAPITRE V ETUDE DES PROPRIÉTÉS STRUCTURALES, ÉLECTRONIQUES ET SPECTROSCOPIQUES DU CAMPBRE



b) Spectre RMN ^1H expérimentale interprétation avec logiciel MestReNova

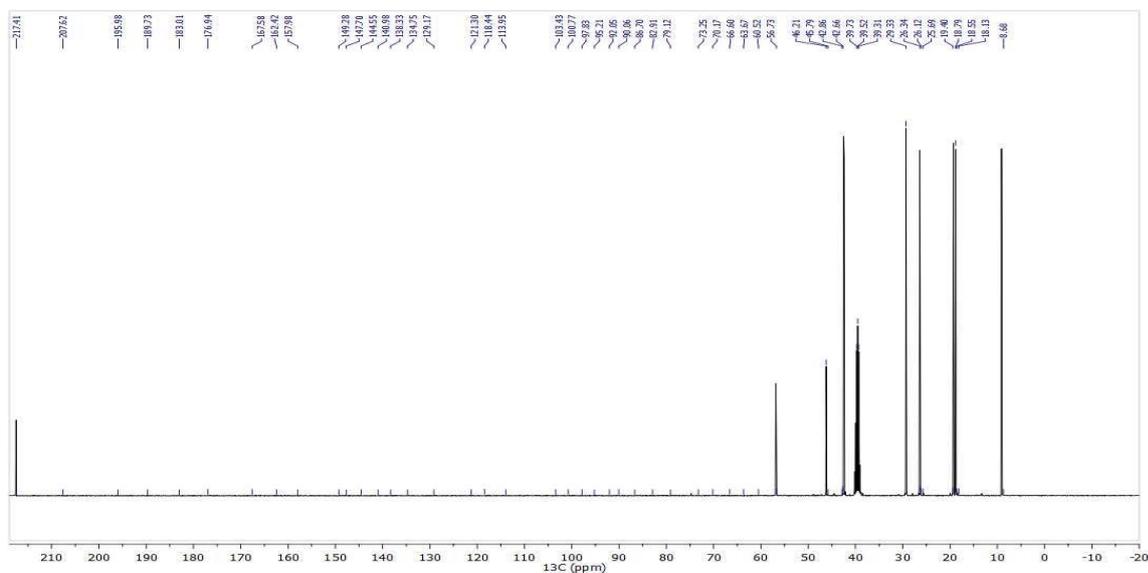
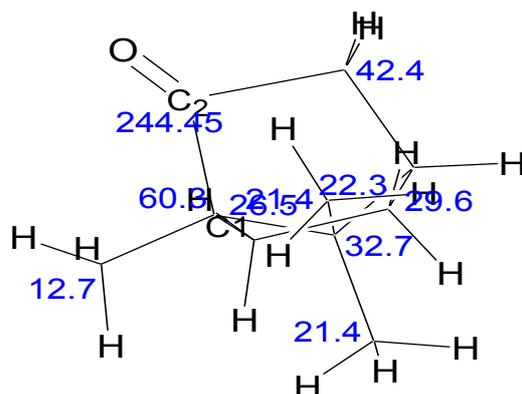


c) Spectre RMN ^1H théorique du camphre.

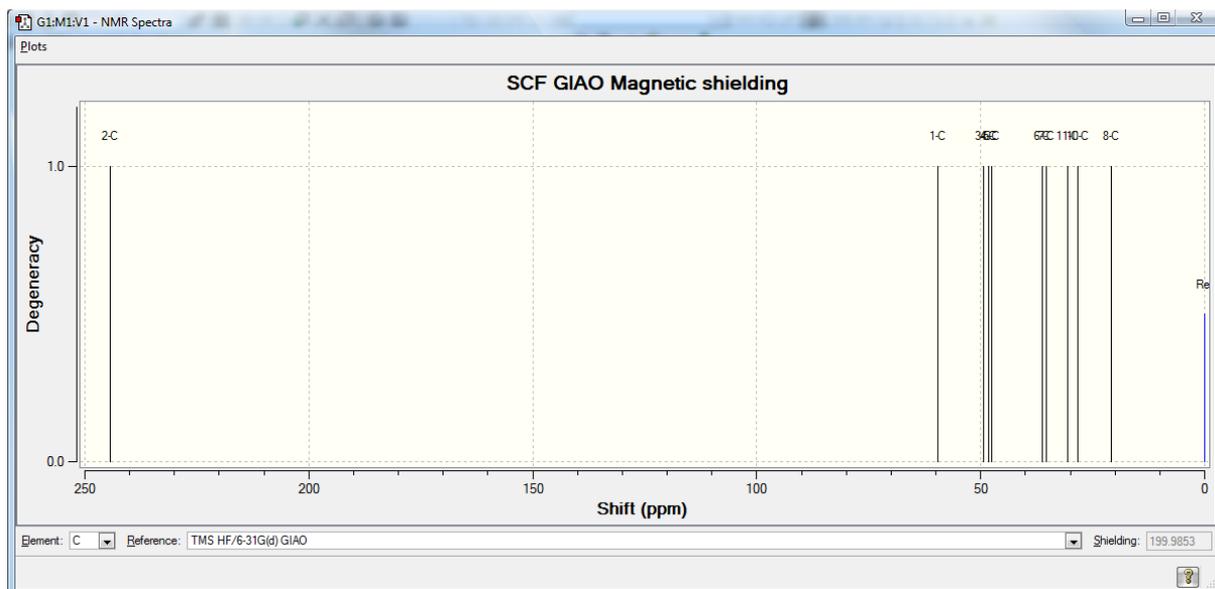
Figure V.7 : Spectres RMN ^1H expérimentaux (a,b) et théorique (c) du camphre .

V.4.4. Spectroscopie ^{13}C -RMN

Afin d'obtenir de plus amples informations, les spectres de ^{13}C -RMN ont été étudiés. Le spectre ^{13}C -RMN des signaux exposés entre δ 10.6 et 60 ppm correspondant au carbone du groupement CH_3 . Un signal observé à δ 244.45 ppm (expérimentale à δ 217 ppm) est attribué au carbone C_2 de groupement ($\text{C}=\text{O}$).



a) Spectre RMN ^{13}C expérimentale



b) Spectre RMN ^{13}C théorique du camphre.

Figure V.8 : Spectres RMN ^{13}C expérimentale (a) théorique (b) du camphre.

V.5. Conclusion

Lors de ce chapitre, nous avons présenté une étude qui a fournie une analyse des propriétés structurales, électroniques et vibrationnelles de la molécule du camphre et après comparaison des résultats de calculs effectués par les deux méthodes DFT et ab-initio/HF, nous en concluons que la méthode DFT(B3LYP) avec la base 6-311G+ (d,p) est la plus appropriée pour approfondir notre étude sur les propriétés structurelles et électroniques de la molécule, cette méthode peut être utilisée dans la prédiction de la réactivité chimique des molécules .

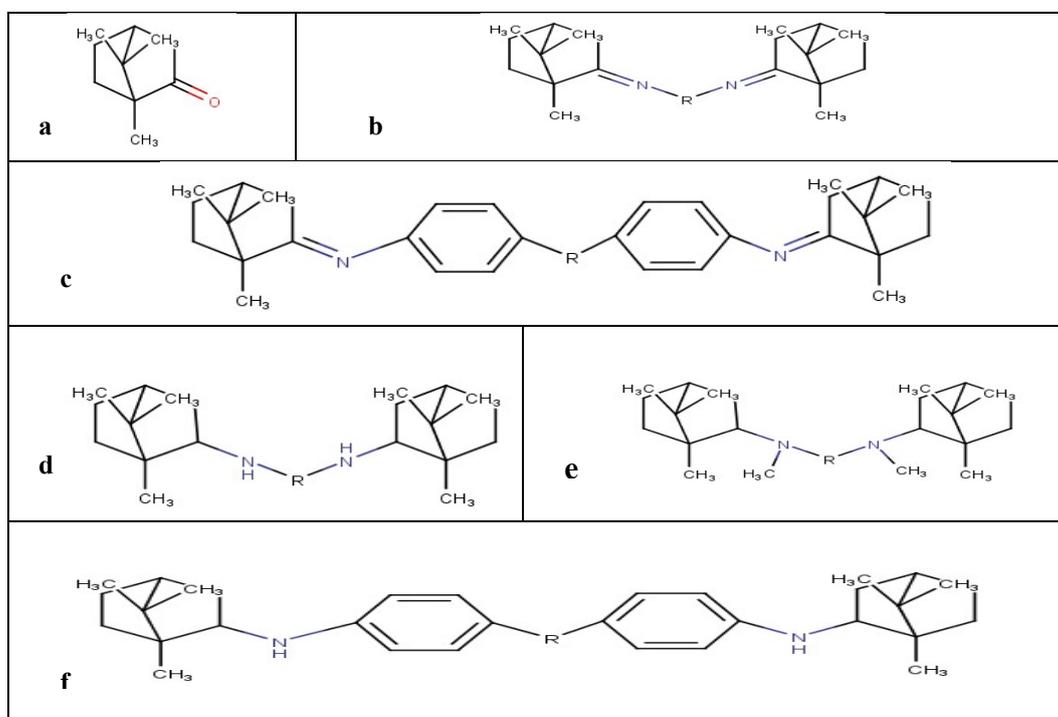
**CHAPITRE VI. ETUDE QUALITATIVE (SAR) ET
QUANTITATIVE (QSAR) DES RELATIONS STRUCTURE-
ACTIVITÉ DES DERIVES DU CAMPHRE**

Dans cette partie, une étude des relations quantitatives entre les structures et activités (SAR/QSAR) de vingt-cinq molécules diimines de la molécule du camphre a été réalisée. Ces molécules ont pour base la molécule symétrique du camphre. Les composés présentent des activités pharmacologiques importantes. Une régression linéaire multiple (MLR) a été utilisée pour mettre en corrélation les relations entre les descripteurs moléculaires et l'activité biologique des dérivés de diimines. La productivité du modèle a été estimée par une validation croisée en utilisant le procédé d'exclusion. Dans notre travail, nous avons utilisé un paramètre biologique : l'activité antivirale.

VI.1. Etude de la relation structure-propriétés d'une série bioactive de dérivés du 1,7,7 triméthylbicyclo [2,2,1] heptan-2-one .

VI.1.1. Sélection d'une série bioactive des dérivés du camphre

Plusieurs dérivés du camphre présentent des propriétés importantes. Leur utilisation est plus importante dans le domaine de la biologie comme des inhibiteurs dans le traitement et la prévention d'un grand nombre de maladies. Dans le but d'étudier l'effet de substitution sur les propriétés physicochimiques des camphres, nous avons sélectionné une série bioactive de dérivés de camphre (Sokolova *et al.*, 2014 ; Sokolov *et al.*, 2012).



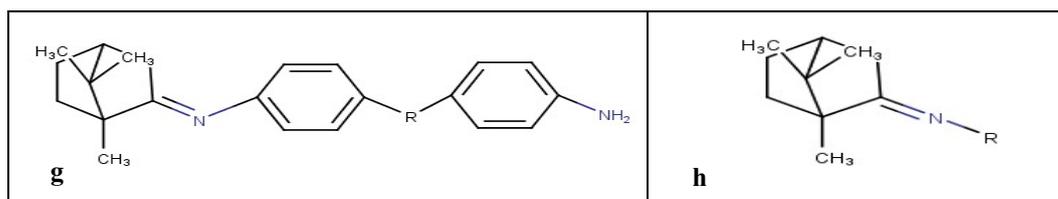


Figure VI.1 : Structures chimiques des dérivés du camphre.

La série étudiée des dérivés du camphre ont été synthétisés et caractérisés par A.S. Sokolova (Sokolova *et al.*, 2014 ; Sokolov *et al.*, 2012). Ces molécules bioactives sont représentées dans la figure VI.1.

Tableau VI-1 : Structures chimiques, activités expérimentales et prédites avec les résidus des molécules étudiées.

| N° | R | pED ₅₀ exp. | pED ₅₀ pred. | pED ₅₀ resid. |
|------------|---------------------------------|------------------------|-------------------------|--------------------------|
| 1a | / | -3,216 | -3,214 | -0,002 |
| 2b | C ₆ H ₁₂ | -1,179 | -0,826 | -0,353 |
| 3b | C ₈ H ₁₆ | -1,384 | -1,234 | -0,150 |
| 4b | C ₁₂ H ₂₄ | -1,653 | -1,675 | 0,022 |
| 5c | CH ₂ | -2,545 | -2,545 | 0,000 |
| 6c | O | -2,572 | -2,937 | 0,365 |
| 7d | C ₆ H ₁₂ | 0,113 | -0,092 | 0,205 |
| 8d | C ₇ H ₁₄ | -0,506 | -0,710 | 0,204 |
| 9d | C ₁₂ H ₂₄ | -0,643 | -0,766 | 0,123 |
| 10f | CH₂ | -3,022 | -2,826 | -0,196 |
| 11e | O | -2,317 | -2,286 | -0,031 |
| 12f | C ₆ H ₁₂ | -2,041 | -2,051 | 0,010 |
| 13f | C ₇ H ₁₄ | -1,607 | -1,532 | -0,075 |
| 14g | CH ₂ | -1,176 | -1,472 | 0,296 |
| 15g | O | -0,623 | -0,246 | -0,377 |
| 16h | C ₃ H ₇ | -1,294 | -1,306 | 0,012 |
| 17h | C ₄ H ₉ | -0,886 | -1,275 | 0,389 |
| 18h | C ₃ H ₁₁ | -0,886 | -0,922 | 0,036 |
| 19h | C ₆ H ₁₃ | -1,414 | -1,254 | -0,160 |
| 20h | C ₈ H ₁₇ | -1,810 | -1,831 | 0,021 |
| 21h | C ₁₀ H ₂₁ | -1,235 | -1,195 | -0,040 |
| 22h | C ₁₂ H ₂₅ | -1,195 | -1,223 | 0,028 |
| 23h | C ₁₈ H ₃₇ | -2,871 | -2,626 | -0,245 |
| 24h | Cyclopropyl | -2,772 | -2,270 | -0,502 |
| 25h | Cyclohexyl | -1,743 | -2,162 | 0,419 |

En premier lieu, vingt-cinq dérivés sélectionnés de la molécule du camphre ont été optimisées par la méthode de mécanique moléculaire (champ de force MM+) en utilisant le logiciel HyperChem 8.08, MarvinSketch 6.8.31 (**MarvinSketch, 2015**), et la base de données en ligne Molinspiration (**Database, <http://www.molinspiration.com>**). Par la suite, le module "propriétés QSAR" de l'HyperChem 8.08 a été utilisé pour calculer les paramètres suivants: la polarisabilité (Pol) (**Verma et al., 2005**), le coefficient de partage octanol/eau (log P) (**Lyman, 1990 ; Suzuki et al., 1990**), l'énergie d'hydratation (HE) (**Khalafi et al., 2005 ; Chudinov et al., 1992**), le volume moléculaire (MV) (**Leeson et al., 2004**), la surface moléculaire (SAG), la réfractivité molaire (MR) et le poids, moléculaire (MW) (**Yadav, 2011**).

VI.1.2. Interprétations des résultats

Un objectif important de cette étude est d'évaluer le domaine physico-chimique des dérivés du camphre rapportés dans la littérature à une activité biologique. Nous avons sélectionné une série bioactive de dérivés du camphre.

Les résultats de calculs des paramètres physicochimiques de la série sélectionnée sont représentés dans le tableau VI.2. La présence des groupes hydrophobes dans la structure des camphres provoque la diminution de l'énergie d'hydratation ; ainsi que, la présence des groupes hydrophiles augmente l'énergie d'hydratation (tableau VI.2).

La polarisabilité et la réfractivité molaire augmentent relativement avec la taille et le poids moléculaire des dérivés du camphre étudiés (tableau VI.2). Ce résultat est en accord avec le critère de -Lorentz qui donne une relation entre polarisabilité, la réfractivité molaire et le volume (**Patrick et al., 1995**).

Cette relation montre que la réfraction molaire et la polarisabilité sont proportionnelles avec le volume et la masse moléculaire. Par exemple, le composé 5C possède une grande valeur de polarisabilité (59.24 \AA^3) et de réfractivité molaire (158.83 \AA^3) (tableau VI.2). En revanche, le composé **1a** est la petite molécule de la série des diimines symétriques à base de camphre étudié, qui a une faible valeur de polarisabilité ($17,66 \text{ \AA}^3$) et de réfractivité molaire ($44,49 \text{ \AA}^3$).

CHAPITRE VI. ETUDE QUALITATIVE (SAR) ET QUANTITATIVE DES RELATIONS
STRUCTURE-ACTIVITÉ (QSAR) DES DERIVES DE CAMPBRE

Tableau VI-2 : Propriétés physicochimiques des dérivés du camphre.

| N° | Log P | MR (Å ³) | MV (Å ³) | HE (kcal.mol ⁻¹) | Pol (Å ³) | SAG (Å ²) | E _t (a.u) | μ(D) | E _{HOMO} (a.u) | E _{LUMO} (a.u) |
|-----|-------|----------------------|----------------------|------------------------------|-----------------------|-----------------------|----------------------|--------|-------------------------|-------------------------|
| 1a | 2.95 | 44.49 | 520.82 | 1.38 | 17.66 | 325.87 | -466.0434 | 3.3901 | -0.24672 | -0.3330 |
| 2b | 7.85 | 119.63 | 1145.34 | 3.61 | 47.26 | 597.86 | -1127.0195 | 3.1129 | -0.22248 | -0.00481 |
| 3b | 8.65 | 128.84 | 1361.59 | 5.46 | 50.93 | 761.97 | -1205.6634 | 3.4493 | -0.22461 | -0.01169 |
| 4b | 10.23 | 147.24 | 1594.79 | 7.34 | 58.27 | 892.23 | -1362.9688 | 3.2654 | -0.22547 | -0.01161 |
| 5c | 7.52 | 158.83 | 1411.81 | 2.21 | 59.24 | 745.24 | -1431.8980 | 3.9153 | -0.20408 | -0.03771 |
| 6c | 5.62 | 152.07 | 1400.15 | -0.87 | 56.20 | 772.48 | -1428.5438 | 5.3524 | -0.20224 | -0.03199 |
| 7d | 6.08 | 120.23 | 1292.86 | 3.68 | 48.09 | 728.52 | -1129.4523 | 1.3787 | -0.21900 | -0.00380 |
| 8d | 6.48 | 124.84 | 1291.63 | 3.41 | 49.93 | 704.84 | -1168.7645 | 1.5065 | -0.21941 | -0.00717 |
| 9d | 8.46 | 147.84 | 1565.27 | 5.21 | 59.10 | 857.02 | -1365.3837 | 0.8267 | -0.21812 | -0.00397 |
| 10f | 5.36 | 154.83 | 1414.52 | -0.07 | 58.24 | 766.28 | -1395.0397 | 2.2760 | -0.19925 | -0.02162 |
| 11f | 3.85 | 152.67 | 1410.50 | -2.93 | 57.4 | 773.91 | -1430.9595 | 2.9314 | -0.19318 | -0.01778 |
| 12e | 6.81 | 130.82 | 1263.88 | 5.28 | 51.76 | 653.03 | -1208.0319 | 0.9786 | -0.20508 | -0.00453 |
| 13e | 7.20 | 135.42 | 1355.26 | 5.89 | 53.60 | 712.27 | -1247.3559 | 0.1475 | -0.20552 | -0.00588 |
| 14g | 3.14 | 112.70 | 1036.89 | -5.82 | 41.02 | 591.82 | -1003.0586 | 2.5446 | -0.20173 | -0.02558 |
| 15g | 1.64 | 110.54 | 1031.80 | -8.51 | 39.82 | 601.09 | -1038.9743 | 2.8630 | -0.20159 | -0.02644 |
| 16h | 4.18 | 60.72 | 707.14 | 3.26 | 24.01 | 423.86 | -564.12522 | 1.8748 | -0.23452 | -0.00956 |
| 17h | 4.57 | 65.32 | 745.97 | 3.46 | 25.85 | 447.34 | -603.43840 | 2.0333 | -0.22634 | -0.01253 |
| 18h | 4.97 | 69.92 | 808.23 | 4.08 | 27.68 | 486.34 | -642.77271 | 1.8544 | -0.23395 | -0.00929 |
| 19h | 5.37 | 74.52 | 851.61 | 4.24 | 29.52 | 511.13 | -682.08766 | 2.0908 | -0.22562 | -0.01404 |
| 20h | 6.16 | 83.72 | 958.13 | 4.95 | 33.19 | 563.87 | -760.73330 | 2.0169 | -0.22591 | -0.01227 |
| 21h | 6.95 | 92.93 | 1067.49 | 5.71 | 36.86 | 643.09 | -839.38229 | 2.0864 | -0.22546 | -0.01406 |
| 22h | 7.75 | 102.13 | 1184.59 | 6.65 | 42.53 | 699.09 | -918.03843 | 1.9134 | -0.23350 | -0.00896 |
| 23h | 10.12 | 129.73 | 1506.49 | 8.84 | 51.54 | 880.66 | -1153.9803 | 1.9125 | -0.23348 | -0.00889 |
| 24h | 3.76 | 58.66 | 659.05 | 2.37 | 23.24 | 394.82 | -562.8666 | 2.1336 | -0.21890 | -0.01824 |
| 25h | 4.95 | 72.46 | 790.66 | 3.33 | 28.75 | 456.39 | -680.8882 | 1.7928 | -0.22906 | -0.01035 |

Un guide général pour l'absorption gastro-intestinal optimale par perméabilité de diffusion passive après l'administration par voie orale est d'avoir un log P modéré (intervalle 0-3). Dans cet intervalle, il existe la bonne balance de la perméabilité et la solubilité. Les composés ayant un faible log P sont plus polaires et ont une mauvaise perméabilité dans la bicouche lipidique (**Kerns et al., 2008**). Les composés ayant un log P supérieur sont plus non polaires et ont une faible solubilité aqueuse. Par conséquent, tend à favoriser l'absorption et rend les composés plus sensibles au métabolisme et/ou à la clairance biliaire.

Les résultats obtenus en calculant Log (P) ont montré que les composés **1a** et **15g** ont des valeurs optimales $0 < \text{Log (P)} < 3$ qui expliquent la bonne biodisponibilité orale de ces composés. D'un autre côté, une valeur positive pour Log (P) indique que le composé est trop lipophile. Il présente donc une bonne perméabilité à travers la membrane biologique, une meilleure liaison aux protéines plasmatiques, une élimination par métabolisme mais une mauvaise solubilité et tolérance gastrique (**Moreira et al., 2009 ; Oukil et al., 2017**). Le composé **23h** indique la valeur absolue maximale de l'énergie d'hydratation ($8,84 \text{ kcal.mol}^{-1}$).

Quant au composé **10f**, il indique la valeur absolue minimale ($0,07 \text{ kcal.mol}^{-1}$). En fait, une molécule hydrophobe de dérivés de diimines symétriques à base de camphre entraîne une diminution de l'énergie d'hydratation.

L'influence de la lipophilie sur la clairance métabolique des médicaments est attribuée principalement à l'affinité accrue des médicaments pour les enzymes (**Oukil et al., 2017**), elle est un facteur important dans les processus de solubilité, d'absorption, de distribution, de métabolisme et d'excrétion, ainsi que, l'activité pharmacologique. Hansch et Leo ont démontré que les molécules très lipophiles se réparties et conservées à l'intérieur des couches lipidiques des membranes cellulaires (**Kerns et Di, 2008**). En effet, dans les milieux biologiques, les molécules polaires sont entourées par les molécules d'eau où les liaisons hydrogènes peuvent être établies entre les molécules d'eau et ces molécules.

Les sites accepteurs de protons interagissent avec l'atome d'hydrogène. Ces molécules hydratées sont partiellement déshydratées avant et lors de leurs interactions. Ces interactions de faible énergie sont généralement réversibles, on les observe avec les différents récepteurs biologiques (**Kier, 1981**).

VI.1.3. Application de la règle de cinq ou règle de Lipinski

Le terme “Drug-likeness” apparait comme un coefficient pour étudier en se basant sur les propriétés moléculaires d’un composé qui influent sa pharmacodynamique et pharmacocinétique et permettre d’optimiser son absorption, sa distribution, son métabolisme et son élimination (ADME) dans le corps humain autant que médicament (**Kerns et Di, 2008**).

Les conditions empiriques pour satisfaire la règle de Lipinski et manifeste une bonne biodisponibilité orale impose un équilibre entre la solubilité aqueuse d’un composé et sa perméabilité par diffusion passive dans les différentes membranes biologiques (**Medjahed et al., 2016**).

Ces paramètres permettent de déterminer l'absorption orale ou la perméabilité de la membrane qui se produit lorsque la molécule évaluée suit la règle de cinq de Lipinski (**Valko et al., 2001**), la masse moléculaire ≤ 500 u.m.a, le coefficient de partage octanol-eau $\log P \leq 5$, liaison hydrogène donneurs, atomes d’azote ou oxygène avec un ou plusieurs atomes d’hydrogènes ≤ 5 et liaison hydrogène accepteurs, atomes d’azote ou oxygène ≤ 10 .

Les molécules qui ne réalisent pas une de ces conditions présentent des violations et peuvent y avoir des problèmes de biodisponibilité orale. Cette règle stabilise quelques paramètres structuraux en se basant sur la prédiction théorique de la biodisponibilité, et souvent utilisée pour la recherche de nouveaux médicaments. D’autre part, des familles de composés qui font des substrats de transporteurs biologiques comme les antibiotiques, les antifongiques, les vitamines et les glycosides cardiaques, font l’exception de cette règle (**Fortuné, 2006**).

Les calculs des paramètres structuraux de la règle de Lipinski donnés dans le tableau IV.3, montrent que tous les composés de la série des dérivés camphres étudiées suivent la règle de Lipinski de cinq. Nous pouvons conclure que ces composés sont prévus à avoir une bonne biodisponibilité orale.

Tableau VI-3 : Règle de cinq de Lipinski pour les dérivés du camphre.

| Comp. | MW (a.m.u) | log <i>p</i> | HBD | HBA | Lipinski score of 4 | NRB | PSA |
|-------|---------------|--------------|-----|-----|---------------------------|-----|-------|
| 1a | 152.24 | 2.95 | 0 | 1 | 4 | 0 | 17.07 |

CHAPITRE VI. ETUDE QUALITATIVE (SAR) ET QUANTITATIVE DES RELATIONS
STRUCTURE-ACTIVITÉ (QSAR) DES DERIVES DE CAMPHRE

| | | | | | | | |
|------------|--------|-------|---|---|---|----|-------|
| 2b | 384.65 | 7.85 | 0 | 2 | 3 | 7 | 24.73 |
| 3b | 412.70 | 8.65 | 0 | 2 | 3 | 9 | 24.73 |
| 4b | 468.81 | 10.23 | 0 | 2 | 3 | 13 | 24.73 |
| 5c | 480.74 | 7.52 | 0 | 2 | 3 | 4 | 24.73 |
| 6c | 468.68 | 5.62 | 0 | 3 | 3 | 4 | 33.96 |
| 7d | 388.68 | 6.08 | 2 | 2 | 3 | 9 | 24.05 |
| 8d | 402.71 | 6.48 | 2 | 2 | 3 | 10 | 24.05 |
| 9d | 472.84 | 8.46 | 2 | 2 | 3 | 15 | 24.05 |
| 10f | 470.74 | 5.36 | 2 | 2 | 3 | 6 | 24.05 |
| 11f | 472.71 | 3.85 | 2 | 3 | 4 | 6 | 33.29 |
| 12e | 416.73 | 6.81 | 0 | 2 | 3 | 9 | 6.48 |
| 13e | 430.76 | 7.20 | 0 | 2 | 3 | 10 | 6.48 |
| 14g | 332.49 | 3.14 | 2 | 2 | 4 | 3 | 38.39 |
| 15g | 334.46 | 1.64 | 2 | 3 | 4 | 3 | 47.62 |
| 16h | 193.33 | 4.18 | 0 | 1 | 4 | 2 | 12.36 |
| 17h | 207.36 | 4.57 | 0 | 1 | 4 | 3 | 12.36 |
| 18h | 221.39 | 4.97 | 0 | 1 | 4 | 4 | 12.36 |
| 19h | 235.41 | 5.37 | 0 | 1 | 3 | 5 | 12.36 |
| 20h | 263.47 | 6.16 | 0 | 1 | 3 | 7 | 12.36 |
| 21h | 291.52 | 6.95 | 0 | 1 | 3 | 9 | 12.36 |
| 22h | 319.57 | 7.75 | 0 | 1 | 3 | 11 | 12.36 |
| 23h | 403.74 | 10.12 | 0 | 1 | 3 | 17 | 12.36 |
| 24h | 191.32 | 3.76 | 0 | 1 | 4 | 1 | 12.36 |
| 25h | 233.40 | 4.95 | 0 | 1 | 4 | 1 | 12.36 |

Nous pouvons constater dans le tableau VI.3 que tous les composés ont des valeurs moins de 5 pour la lipophilie, allant de 1.40 à 4.11 donc ces composés sont mieux solubilisés dans des solutions aqueuses et lipidiques.

Nous pouvons également constaté dans le tableau VI.3 que tous ces composés ont des nombres accepteurs d'hydrogène (HBA) inférieurs à 10 (O,S) et nombres donneurs d'hydrogène (HBD) inférieurs à 5 (OH, NH).

Pour les poids moléculaires, tous ces composés ont des valeurs inférieures à 500 u.m.a, donc ils traversent facilement les membranes cellulaires, la valeur maximale de MW est de 472.84 (u.m.a) pour le composé **9d**. Ainsi, tous les composés répondent aux règles de Lipinski (règles des cinq), suggérant que ces composés théoriquement n'auraient pas de problèmes avec la biodisponibilité orale.

VI.2. Etude des relations quantitatives structure/activité (QSAR) de dérivés du camphre.

Dans notre travail, nous avons utilisé un paramètre biologique : l'activité antivirale. Les résultats biologiques de ces 25 dérivés du camphre sont exploités par la méthode de régression linéaire multiple (MLR = multiple linear regression) dans le but d'établir le modèle QSAR.

VI.2.1. Sélection des descripteurs et méthodes de calcul

Un descripteur moléculaire peut être considéré comme la conséquence d'un processus logique et mathématique, appliqué à l'information chimique codifiée à travers la représentation d'une molécule (**Melkemi, 2013**). Le choix des descripteurs dépend des outils dont on dispose, de la nature des composés décrits et de la propriété ciblée. L'information codée d'un descripteur moléculaire dépend du type de représentation moléculaire employée et de l'algorithme défini pour son calcul.

Tout d'abord, les vingt-cinq dérivés du camphre ont été pré-optimisées au moyen de la mécanique moléculaire, champ de force (MM+) en utilisant le logiciel HyperChem 8.08. Après cela, les structures minimisées obtenues précédemment ont été optimisées en utilisant la méthode semi-empirique PM3 par le même logiciel. Nous avons choisi une limite de norme du gradient de 0,01 kcal. Mol⁻¹ pour l'optimisation de la géométrie. Les molécules optimisées ont été utilisées pour calculer un certain nombre de descripteurs électroniques : moment dipolaire (μ), énergie totale (Et), énergies des orbitales frontières (EHOMO, ELUMO), en utilisant le logiciel Gaussien 09.

Tableau VI-4 : Descripteurs physico chimiques et quantiques utilisés dans l'étude QSAR.

| N° | LogP | MR (Å ³) | MV (Å ³) | HE (kcal/mol) | Pol (Å ³) | SAG (Å ²) | E _t (a.u) | μ(D) | E _{HOMO} (a.u) | E _{LUMO} (a.u) |
|-----|-------|-------------------------|-------------------------|------------------|--------------------------|--------------------------|-------------------------|--------|----------------------------|----------------------------|
| 1a | 2.95 | 44.49 | 520.82 | 1.38 | 17.66 | 325.87 | -466.0434 | 3.3901 | -0.24672 | -0.3330 |
| 2b | 7.85 | 119.63 | 1145.34 | 3.61 | 47.26 | 597.86 | -1127.0195 | 3.1129 | -0.22248 | -0.00481 |
| 3b | 8.65 | 128.84 | 1361.59 | 5.46 | 50.93 | 761.97 | -1205.6634 | 3.4493 | -0.22461 | -0.01169 |
| 4b | 10.23 | 147.24 | 1594.79 | 7.34 | 58.27 | 892.23 | -1362.9688 | 3.2654 | -0.22547 | -0.01161 |
| 5c | 7.52 | 158.83 | 1411.81 | 2.21 | 59.24 | 745.24 | -1431.8980 | 3.9153 | -0.20408 | -0.03771 |
| 6c | 5.62 | 152.07 | 1400.15 | -0.87 | 56.20 | 772.48 | -1428.5438 | 5.3524 | -0.20224 | -0.03199 |
| 7d | 6.08 | 120.23 | 1292.86 | 3.68 | 48.09 | 728.52 | -1129.4523 | 1.3787 | -0.21900 | -0.00380 |
| 8d | 6.48 | 124.84 | 1291.63 | 3.41 | 49.93 | 704.84 | -1168.7645 | 1.5065 | -0.21941 | -0.00717 |
| 9d | 8.46 | 147.84 | 1565.27 | 5.21 | 59.10 | 857.02 | -1365.3837 | 0.8267 | -0.21812 | -0.00397 |
| 10f | 5.36 | 154.83 | 1414.52 | -0.07 | 58.24 | 766.28 | -1395.0397 | 2.2760 | -0.19925 | -0.02162 |
| 11f | 3.85 | 152.67 | 1410.50 | -2.93 | 57.4 | 773.91 | -1430.9595 | 2.9314 | -0.19318 | -0.01778 |
| 12e | 6.81 | 130.82 | 1263.88 | 5.28 | 51.76 | 653.03 | -1208.0319 | 0.9786 | -0.20508 | -0.00453 |
| 13e | 7.20 | 135.42 | 1355.26 | 5.89 | 53.60 | 712.27 | -1247.3559 | 0.1475 | -0.20552 | -0.00588 |
| 14g | 3.14 | 112.70 | 1036.89 | -5.82 | 41.02 | 591.82 | -1003.0586 | 2.5446 | -0.20173 | -0.02558 |
| 15g | 1.64 | 110.54 | 1031.80 | -8.51 | 39.82 | 601.09 | -1038.9743 | 2.8630 | -0.20159 | -0.02644 |
| 16h | 4.18 | 60.72 | 707.14 | 3.26 | 24.01 | 423.86 | -564.12522 | 1.8748 | -0.23452 | -0.00956 |
| 17h | 4.57 | 65.32 | 745.97 | 3.46 | 25.85 | 447.34 | -603.43840 | 2.0333 | -0.22634 | -0.01253 |
| 18h | 4.97 | 69.92 | 808.23 | 4.08 | 27.68 | 486.34 | -642.77271 | 1.8544 | -0.23395 | -0.00929 |
| 19h | 5.37 | 74.52 | 851.61 | 4.24 | 29.52 | 511.13 | -682.08766 | 2.0908 | -0.22562 | -0.01404 |
| 20h | 6.16 | 83.72 | 958.13 | 4.95 | 33.19 | 563.87 | -760.73330 | 2.0169 | -0.22591 | -0.01227 |
| 21h | 6.95 | 92.93 | 1067.49 | 5.71 | 36.86 | 643.09 | -839.38229 | 2.0864 | -0.22546 | -0.01406 |
| 22h | 7.75 | 102.13 | 1184.59 | 6.65 | 42.53 | 699.09 | -918.03843 | 1.9134 | -0.23350 | -0.00896 |
| 23h | 10.12 | 129.73 | 1506.49 | 8.84 | 51.54 | 880.66 | -1153.9803 | 1.9125 | -0.23348 | -0.00889 |
| 24h | 3.76 | 58.66 | 659.05 | 2.37 | 23.24 | 394.82 | -562.8666 | 2.1336 | -0.21890 | -0.01824 |
| 25h | 4.95 | 72.46 | 790.66 | 3.33 | 28.75 | 456.39 | -680.8882 | 1.7928 | -0.22906 | -0.01035 |

Le module "propriétés QSAR" de l'HyperChem 8,08 a été utilisé pour calculer les paramètres (Descripteurs) suivants: la polarisabilité (Pol), la réfractivité molaire (RM), logarithme de coefficient de partage octanol/eau (log P), l'énergie d'hydratation (HE), le volume moléculaire (VM), la surface moléculaire (Surface) et la masse moléculaire (MM) (tableaux VI.4).

L'analyse par la méthode de régression linéaire multiple a été réalisée au moyen de logiciel SPSS 19 pour Windows (**Viswanadhan et al., 1989**).

VI.2.2. Le modèle QSAR

Le développement d'un modèle QSAR exige un ensemble de diverses données, pour cet effet, un nombre considérable de descripteurs doivent être considérés dans l'étude QSAR. Les

descripteurs sont des valeurs numériques qui codent les différentes caractéristiques structurales des molécules (**Kerassa, 2015**). La sélection d'un ensemble de descripteurs appropriés à partir d'un grand nombre de descripteurs utilisés, nécessite un procédé qui est capable de discriminer entre les paramètres. La matrice de corrélation de Pearson a été effectuée sur tous les descripteurs en utilisant le logiciel SPSS (**SPSS 19**).

VI.2.3. Interprétation du modèle

Les valeurs de la fraction de la variance peuvent varier entre 0 et 1. Le modèle QSAR doit considérer un $r^2 > 0.6$ pour qu'il soit valide (**Ajeet et Bijander, 2012**). Les valeurs $r = 0,970$ ($r^2 = 0,940$) nous permis d'indiquer fermement la corrélation entre les différents descripteurs utilisés tels que : MR, MW , POL, MV, PSA , HBA, NRB , Et, μ et l'activité antiviral étudiée. La valeur de Fischer (F) est jugée par la signification statistique au niveau de 95%, pour toutes les valeurs de F calculées et supérieures par rapport aux valeurs lues dans la table du Fischer (voire l'annexe E). La valeur positive de facteur de qualité (Q) de ce modèle QSAR **suggère** son haut pouvoir prédictif (**Patrick et al., 1995**). Après analyse de régression multiple sur le logiciel SPSS, des corrélations significatives générées avec des paramètres statistiques pertinents sont donnés ci-dessous.

La corrélation entre l'activité antivirale et les descripteurs exprimés par la relation suivante :

$$pED50 = -3.081 - 0.051 MW - 0.054 MV + 1.063 HE + 0.344MR + 0.397 Pol \\ + 0.253 PSA + 3.785 HBA - 0.109 NRB + 0.035 Et - 1.275 \mu \quad (1)$$

$$n = 25; r = 0.970; r^2 = 0.940; s = 0.277; F = 22.053; Q = 4.273$$

Où "n" est le nombre d'observations, "r" est le coefficient de corrélation, "r²" est le coefficient de corrélation au carré, S est l'erreur-type de l'estimation et les statistiques de F-Fischer .

Dans l'équation (1), le coefficient négatif de partage log p provoque une augmentation de la lipophilie des dérivés du camphre et entraîne une augmentation de l'activité antiviral, et aussi indique que les dérivés hydrophiles donnent une bonne activité biologique.

Le tableau VI.4 indique l'importance des paramètres physico-chimiques et quantiques dont le coefficient de partage (log p) est le plus important dans la description de l'activité spécifique de camphre.

VI.2.4. Validation de modèle

Les puissances prédictives des équations ont été validées par la méthode de validation croisée "leave-one-out" (LOO) (Patrick et al., 1995 ; Pajouhesh et al., 2005). La validation croisée est une méthode pratique et fiable pour tester la signification d'un modèle.

Afin de tester la validité de pouvoir prédictif du modèle QSAR sélectionné, la technique de validation croisée LOO (leave-one-out) a été utilisée. Le modèle développé a été validé par le calcul des paramètres statistiques suivants : la somme des carrés résiduels (PRESS), la somme des carrés totaux (TSS), qualité d'ajustement r^2_{adj} , coefficient de corrélation de validation croisée r^2_{cv} . La validation standard des erreurs de prédiction (SPRESS) et l'erreur de prédiction (PE) (tableau VI.5).

Tableau VI-5 : Paramètres de validation croisée.

| Model | PRESS | TSS | PRESS/TSS | SPRESS | r^2_{cv} | r^2_{adj} | PE | 6PE |
|-------|-------|--------|-----------|--------|------------|-------------|-------|-------|
| 1 | 1.079 | 18,083 | 0.060 | 0.208 | 0.940 | 0.898 | 0.008 | 0.048 |

La somme résiduelle prédictive des carrés (PRESS, *Predictive Residual Sum of Squares*) est une mesure des capacités prédictives d'un modèle. PRESS est un important paramètre de validation croisée car il s'agit d'une bonne approximation de l'erreur prédictive réelle du modèle. Sa valeur étant inférieure à TSS indique que ce modèle prédit mieux que le hasard et peut être considéré statistiquement significatif. La petite valeur de PRESS signifie la meilleure prévisibilité du modèle (Wold et Lenz, 1995). D'après les résultats présentés dans le tableau VI.6, cette valeur est égale à **1.079**, le modèle est statistiquement significatif.

De plus, pour un modèle QSAR fiable, le rapport PRESS / TSS devrait être inférieur à **0,4** (Dercmeche, 2016). D'après les données présentées dans le tableau VI.6 indiquent que pour le modèle développé, ce rapport est de **0.060**. Les valeurs élevées du R^2_{cv} et R^2_{adj} sont des critères essentiels pour une meilleure qualification des modèles QSAR (Podunavac-

Kuzmanović et al., 2009). Les résultats obtenus de R^2_{cv} (R^2_{adj}) pour ce modèle QSAR est 0.940 (0.898) respectivement.

L'erreur prédictive du coefficient de corrélation **PE** est encore un autre paramètre utilisé pour évaluer la puissance prédictive des modèles proposés (**Yousfi, 2017**). Le calcul de la valeur **PE** du modèle proposé est présent dans le tableau VI.6. Pour ce modèle, la condition $r > 6PE$ est satisfaite et nous pouvons donc dire qu'ils ont une bonne puissance prédictive. Cependant, la seule façon d'estimer le pouvoir prédictif réel du modèle développé est de prévoir le calcul des valeurs $\log(1 / ED50)$ des camphres étudiés en utilisant ce modèle.

Le calcul des valeurs prédites (**pED50 pred.**) et résiduelles (**pED50 Resid.**) de l'activité biologique des camphres est un autre moyen pour estimer le pouvoir prédictif du modèle développé (tableau VI.1).

La figure VI.2 présente la corrélation entre les valeurs prédites et expérimentales pour l'activité biologique des dérivés du camphre. Du point de vue des performances statistiques, ce modèle présente la valeur du coefficient de corrélation R^2 significative. La valeur de R^2 est égale à 0.940, pour le modèle ce qui indique que ce modèle peut être appliqué avec succès pour prédire l'activité étudiée.

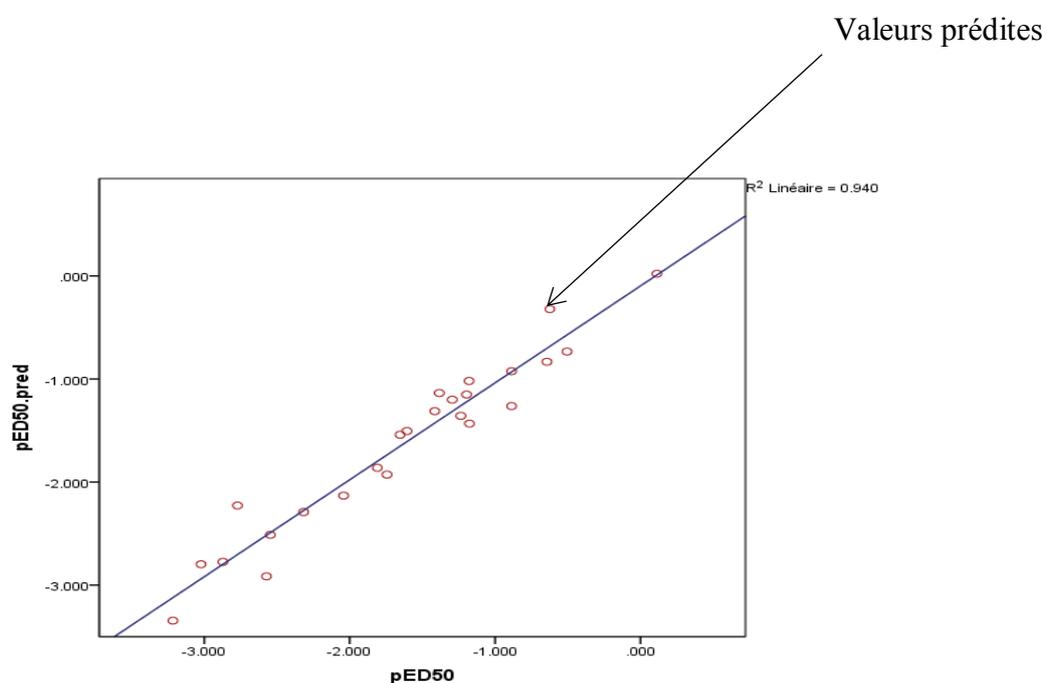


Figure VI.2: Corrélation entre l'activité biologique expérimentale et prédite.

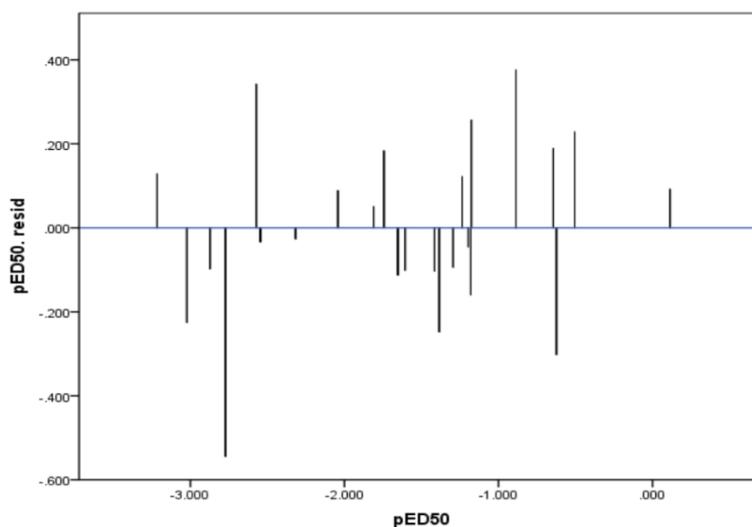


Figure VI.3 : Corrélation entre l'activité biologique entre expérimentale et résiduelle.

Pour rechercher la présence d'une erreur systématique dans l'élaboration des modèles QSAR, les valeurs résiduelles du log d'activité biologique ($1 / ED_{50}$) ont été tracés en fonction des valeurs expérimentales, comme le montre la figure VI.3. La répartition des résidus dans les deux côtés de l'axe des abscisses indique l'absence de l'erreur systématique (Yousfi Y, 2017). La propagation des résidus des deux côtés de zéro indique qu'il n'y a pas d'erreur systématique (Srivastava et Shukla, 2013), comme l'ont suggéré Jalali-Heravi et Kyani (Van der Voet, 1994).

Nous notons que ce modèle peut être appliqué avec succès pour prédire l'activité antiviral pour l'ensemble du campbre utilisé dans le développement de modèle QSAR.

VI.3. Conclusion

Dans ce présent travail, l'application des règles de Lipinski et des règles de Veber aux dérivés des diimines symétriques à base du campbre étudiés montre que la plupart de ces composés n'auront théoriquement pas de problèmes de biodisponibilité orale.

Une étude QSAR des dérivés des diimines symétriques à base du campbre a été réalisée. Une équation de régression significative a été obtenue par la méthode MLR, en ce qui concerne leurs activités biologiques expérimentales. La meilleure équation de régression obtenue contient ces descripteurs: MW, HE, MR, MV, Pol, PSA, HBA, NRB, E et μ . Le modèle QSAR indique que ces descripteurs ont des relations significatives avec les bioactivités observées

Le modèle le plus significatif a été développé pour prédire l'activité spécifique antiviral des dérivés du camphre. Les valeurs prédites obtenues sont plus proches que les valeurs expérimentales. Le pouvoir prédictif du modèle obtenu a été confirmé par la méthode de validation croisée LOO. Une forte corrélation a été observée entre les valeurs expérimentales et prédites de l'activité antivirale, ce qui indique la validité et la qualité du modèle QSAR obtenu.

CONCLUSION GENERALE

Afin de développer de nouveaux agents antiviraux, la compréhension et le traitement des interactions inter et intramoléculaires en biologie constituent un défi majeur pour la prospection et le développement de biomolécules à des fins thérapeutiques ou technologiques. Ces dernières années, nous faisons face à une masse de données expérimentales toujours plus abondante qui vient nourrir des bases de données dont l'utilisation par les chercheurs et industriels du monde entier est devenue quotidienne. Parallèlement à l'essor des moyens de calcul, nous avons assisté au développement de multiples algorithmes de modélisation des macromolécules. Néanmoins, la difficulté de modéliser de tels systèmes est importante (notamment en raison de leur taille et de la complexité des interactions nécessaires pour les définir), si bien que ces mêmes algorithmes présentent certaines limites. L'objectif de cette thèse était d'étudier expérimentalement l'activité antivirale de la molécule du camphre 1,7,7-triméthylbicyclo, heptan-2-one, sur des cellules « MDCK » Madin-Darby Canine Kidney infectées par le virus de la grippe H1N1, et une étude théorique afin de développer des modèles QSAR fiables pour la prédiction de quelques propriétés biologiques des dérivés de diimines symétriques à base du camphre. Un grand nombre de descripteurs moléculaires a été calculés parmi eux : MW, HE, MR, MV, Pol, PSA, HBA, NRB, E et μ . La méthode statistique de régression linéaire a été utilisée dans la construction de ce modèle. Dans ce cadre, nous avons présenté les propriétés géométriques, structurales et électroniques pour l'obtention d'une information suffisamment complète sur le noyau du camphre et de ses dérivés diimines. Les résultats obtenus ont été comparés aux données expérimentales. Les propriétés géométriques électroniques et énergétiques ont été déterminées en utilisant les différentes méthodes de calcul : ab-initio/HF, DFT/B3LYP et avec les différentes bases : 6-31G, 6-311G (d) et 6-311G + (d, p). En ce qui concerne les résultats de l'expérience in vitro de la molécule du camphre, et sur la base de la comparaison des valeurs de la dose infectieuse de 50% en culture tissulaire (DCIT50) présenter un faible pourcentage d'inhibition virale sur les cellules MDCK infectées par le virus de la grippe, ce qui nous a permis de déduire que le camphre ne présentait pas d'activité antivirale aux différentes concentrations choisies. Les résultats de l'étude computationnelle étaient similaires aux résultats expérimentaux ainsi qu'aux différentes méthodes de calculs. Cette étude démontre que les calculs établis par la méthode DFT/B3LYP avec la base 6-311G +(d,p), présente une approche puissante pour comprendre la structure moléculaire des composés organiques. L'efficacité de ces méthodes utilisées a été confirmée par la comparaison des paramètres structuraux entre les données expérimentales et les résultats obtenus par les deux

méthodes théoriques *ab initio*/HF et DFT/B3LYP. Ensuite, nous avons étudié la spectroscopie (IR) et la résonance magnétique nucléaire (RMN). En effet, cette étude nous a permis de prédire la réactivité chimique des dérivés. Une étude qualitative de la relation structure-propriétés / activités a été réalisée sur une série des dérivés diimines du camphre. La nature des groupements qui se lient sur le noyau de base des molécules étudiées affecte leurs propriétés physicochimiques et par conséquent sur leurs propriétés pharmacologiques, l'application des règles de Lipinski et de Veber aux dérivés des diimines symétriques à base du camphre étudiés indique que la majorité de ces dérivés n'auront théoriquement pas de difficultés de biodisponibilité orale.

Enfin et en perspectives, une étude approfondie sur la structure moléculaire des dérivés du camphre est souhaitée, en utilisant la dynamique moléculaire par les solvants afin d'obtenir une approche sur le milieu biologique, ainsi qu'une étude *in vivo* sur des rats avec les différents types de dérivés de la molécule pour évaluer l'activité antivirale serait envisageable. Cette étude serait prometteuse pour la poursuite du développement de médicaments à base du camphre et pour l'exploration des dérivés du camphre en tant que groupe très prometteur d'antiviraux potentiels.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

-A-

- **Abhisek B., Apoorva D., Subodh P., Anoopande, V. Narayan., (2013).** DFT study of picric acid and its derivative by first principles. *I.J.E.T.T.* 6 168-173.
- **Abildgaard Rosenberg, S. (2017).** Development and application of QSAR models for mechanisms related to endocrine disruption. National Food Institute, Technical University of Denmark.
- **Ait- Aissa, A., Derrar, F., Hannoun, D., Gradi, EA., Scaravelli, D., Bouslama, Z., (2018).** Surveillance for antiviral resistance among influenza viruses circulating in Algeria during five consecutive influenza seasons (2009-2014). *J Med Virol*;90(5):844-853.
- **Ajeet B.P., Bijander K. (2012).** Quantitative structure activity relationship (QSAR) modeling of 2-x-5,9-dimethoxy-1,4-naph thoquinones against 11210 cells. *Int. J. Pharm. & Pharm. Sci.* 4 445-448.
- **Al Awaidy, S., Althaqafi, A., Dbaibo, G., (2018).** A Snapshot of Influenza Surveillance, Vaccine Recommendations, and Vaccine Access, Drivers, and Barriers in Selected Middle Eastern and North African Countries. *Oman Med J.*; 33(4):283-290. doi:10.
- **Almanac, B.B., (2007).** *Pure. Appl. Chem.*, p. 23/
- **Albright A., Burdett K., Whangbo H., (2013).** *Orbital interactions in chemistry*, John Wiley Sons.
- **Almi, Z., Belaidi, S., Segueni, L., (2015).** Structural Exploration and Quantitative Structure-Activity Relationships Properties for 1,2, 5-Oxadiazole Derivatives, *Reviews in Theoretical Science* 3 . 3.264-272.5001/omj.2018.54
- **Aoumeur N., Tchouar N., Belaidi S., Medjahed S., Oukil O., and Lanez T., (2018).** Druglikeness Scoring and QSAR Modeling of 1,3,4-Thiadiazole Derivatives as Antitubulin Agents by Computational Calculations *J. Bionanosci.*, 12 (3), 428-436,
- **Applebaum, B., DiSorbo, D., (2012).** *The Book of Beer Pong : The Official Guide to the Sport of Champions.* Chronicle Books.
- **Amat, L., Besalu, E., Carbo-Dorca, R., Ponec, R. (2003).** Identification of active molecular sites using quantum-self-similarity measures. *J. Chem. Inform. Comput Sci.*43, 1780-1793.
- **Arena, J.M., (1979).** *Poisoning: Toxicology, Symptoms, Treatments*, 4th ed.; CC. Thomas: Springfield, IL, USA.
- **Arias, C.F., Escalera-Zamudio, M., de los Dolores Soto-Del Río, M., Georgina Cobián-Güemes, A., Isa, P., and López, S., (2009).** Molecular Anatomy of 2009 Influenza Virus A (H1N1). *Archives of Medical Research* 40, 643–654.
- **Atkins, P.W., De Paula, J., (2002).** *Atkins' Physical Chemistry*, 7th ed., Oxford University Press.
- **Aurélien, M., (2006).** Création et utilisation de chimiothèques optimisées pour la recherche « in silico » de nouveaux composés bioactifs. Thèse de Doctorat. Université d'ORLEANS.

-B-

- **Baltimore, D. (1971).** Expression of animal virus genomes. *Bacteriol Rev* 35, 235–241. CIDRAP, 2011.

- **Banerjee, S., Welsch, C.W., Rao, A.R. (1995).** Modulatory influence of camphor on the activities of hepatic carcinogen metabolizing enzymes and the levels of hepatic and extrahepatic reduced glutathione in mice. *Cancer Lett*, p 88, 163–169.
- **Barakat, A., Ihazmad, H., Benkaroum, S., (2011).** Influenza Surveillance among Outpatients and Inpatients in Morocco, 1996–2009. *PLOS ONE*. 2011;6(9):e24579. doi:10.1371/journal.pone.0024579.
- **Barnard, D. L., (2009).** Animal models for the study of influenza pathogenesis and therapy. *Antiviral Res* 82: A110-22.
- **Barr, I. G., McCauley, J., Cox, N., Daniels, R., Engelhardt, O. G., (2010).** Epidemiological, antigenic and genetic characteristics of seasonal influenza A(H1N1), A(H3N2) and B influenza viruses: basis for the WHO recommendation on the composition of influenza vaccines for use in the 2009-2010 Northern Hemisphere season. *Vaccine* 28: 1156-67.
- **Becke, A.D., (1993).** *The Journal of Chemical Physics*. 98, 5648.
- **Bekele, J., Hassanali, A., (2001).** Blend effects in the toxicity of the essential oil constituents of *Ocimum kilimandscharicum* and *Ocimum kenyense* (Labiatae) on two post-harvest insect pests. *Phytochemistry*, p 57, 385–391.
- **Belaidi S., Almi Z., and Bouzidi D., (2014).** *J. Comput. Theor. Nanosci.* 11 1.
- **Belongia, EA., Irving, SA., Waring, SC., Coleman, LA., Meece, JK., Vandermause, M., (2010).** Clinical characteristics and 30-day outcomes for influenza A 2009 (H1N1), 2008-2009 (H1N1), and 2007-2008 (H3N2) infections. *JAMA* 2010;304:1091-8.
- **Bergeron, C., (2009).** Composition génétique de semences vaccinales H3N2 et construction d'un virus vecteur : une histoire d'encapsidation de segments chez les virus influenza de type A. Université Claude Bernard (Lyon I).
- **Biémont, É., (2008).** Spectroscopie moléculaire : structures moléculaires et analyse spectrale, De Boeck Supérieur.
- **Bohm, H-J., Schneider, G., (2000).** "Virtual Screening for Bioactive Molecules." Germany: Wiley-VCH.
- **Born, M., Oppenheimer J.R., (1927).** *Ann. Physik*. 84 457.
- **Bosque, R., Sales, J., Bosch, E., Rosès M., Garcia-Alvarez-Coque, M.C., Torres-Lapasio J.R., (2003).** A QSPR study of the p-solute polarity parameter to estimate retention in HPLC, *Journal of Chemical Information and Modeling*, 43, 1240–1247.
- **Botineau, M., Pelt, J.M., (2010).** Botanique systématique et appliquée des plantes à fleurs. Ed. Tec & Doc.
- **Boucekkine G., (2007),** *Méthodes de la chimie quantique*, Techn. Ing., AF6050.
- **Bouchlaleg L., Belaidi S., Salah T., Alafeefy A. M., (2015).** *J. Comput. Theor. Nanosci.*, 12 3949.
- **Bouscambert-Duchamp, M., (2010).** Étude du réassortiment génétique des virus influenza d'origines et de sous-types différents. Sciences agricoles. Université Claude Bernard - Lyon I, 2010. Français. NNT: 2010LYO10084. tel-00733681.
- **Bouvier, N.M., Palese, P., (2008).** The biology of influenza viruses. *Vaccine* 26 Suppl 4, D49-53.

- **Brankston, G., Gitterman, L., Hirji, Z., Lemieux, C., Gardam, M., (2007).** Transmission of influenza A in human beings. *Lancet Infect Dis* 7, 257-265.
- **Brattsten, L.B., (1983).** Cytochrome P-450 involvement in the interactions between plant terpenes and insect herbivores. In *Plant Resistance to Insects*; Hedin, P.A., Ed.; ACS (American Chemical Society): Washington, DC, USA, 1983; pp. 173–195.
- **Brickell, C., Zuk, J., (1997).** American Horticultural Society: The American Horticultural Society A-Z Encyclopedia of Garden Plants. American Horticultural Society Practical Guides. DK Pub
- **Bruce, E.A., Medcalf, L., Crump, C.M., Noton, S.L., Stuart, A.D., Wise, H.M., Elton, D., Bowers, K., and Digard, P. (2009).** Budding of filamentous and non-filamentous influenza A virus occurs via a VPS4 and VPS28-independent pathway. *Virology* 390, 268–278.
- **Brusau E. V., Pedregosa J. C., Narda G.E., Puelles G. F., Ayala E. P., Oliveira E. A., (2004).** Vibrational and thermal study of hexaaquatriis(malonate) dieuropium (III) dihydrate. *The Journal of the Argentine Chemical Society.* 92 47, 48.
- **Bui, M., Wills, E.G., Helenius, A., Whittaker, G.R. (2000).** Role of the influenza virus M1 protein in nuclear export of viral ribonucleoproteins. *J. Virol.* 74, 1781–1786.
- **Burden, F.R., Ford, M.G., Whitley, D.C., Winkler, D.A., (2000).** Use of automatic relevance determination in QSAR studies using Bayesian neural networks, *Journal of Chemical Information and Modeling*, 40(6), 1423–1430.
- **Burrow, A., Eccles, R., Jones, A.S., (1983).** *The effects of camphor, eucalyptus and menthol vapour on nasal resistance to airflow and nasal sensation.* *Acta Otolaryngol*, 96, 157–161.
- **Bursi, R., Dao, T., Van Wijk, T., De Gooyer, M., Kellenbach, E., Verwer, P., (1999).** Comparative spectra analysis (CoSA): Spectra as three-dimensional molecular descriptors for the prediction of biological activities. *J. Chem. Inform. Comput Sci.* 39, 861-867.

-C-

- **Cammarata, A., (1967).** An Apparent Correlation between the in Vitro Activity of Chloramphenicol Analogs and Electronic Polarizability, *Journal of Medicinal Chemistry*, 10, 525–527.
- **Cancès, E., Le Bris, C., Maday, Y., (2006).** *Méthodes mathématiques en chimie quantique. Une introduction*, Springer Science & Business, 2006.
- **Cavalli, J.F., (2002).** Thèse de doctorat de l'université de Corse. Discipline : Chimie Organique et Analytique, caractérisation par CPG/IK, CPG/SM ET RMN DU CARBONE-13 d'huiles essentielles de Madagascar.
- **Chemical Computing Group Inc, (2006).** "MOE", H3A, 2R7., <http://www.chemcomp.com>: Montreal, Canada.
- **Cherkasov, A., Muratov, E.N., Fourches, D, Varnek, A., Baskin, I.I., Cronin, M., Dearden, J., Gramatica, P., Martin, Y.C., Todeschini, R., Consonni, V., Kuz'min, V.E., Cramer, R., Benigni, R., Yang, C., Rathman, J., Terfloth, L., Gasteiger, J., Richard, A., Tropsha, A., (2014).** QSAR Modeling: Where Have You Been? Where Are You Going To? *J. Med. Chem.* 57, 4977–5010. doi:10.1021/jm4004285.

- **Chen, Z-H., Wu, B., Li, J-Y., Zhao, J-G., Zhou, X-Y. and Zhang, Y-K. (2004).** Germination of the seeds and growth of seedlings of *Cinnamomum camphora* (L.) *Prestl. Plant Species Biology*; 19, 55-58.
- **Chudinov G., Napolov D., Basilevsky M. (1992).** *Chemical Physics*. 160 41.
- **Clavijo, A., Tresnan, D. B., Jolie, R., Zhou, E. M., (2002).** Comparison of embryonated chicken eggs with MDCK cell culture for the isolation of swine influenza virus. *Can J Vet Res* 66, 117-121.
- **Coburn, A.M., (2017).** Molecular determinants of Influenza A virus cross-species jumps PhD thesis.
- **Collier W.B., Klots T.D., (1995).** *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*. 51 1255.
- **Conway Duever, L., (2000).** Floridata: *Cinnamomum camphora*. URL http://www.floridata.com/ref/c/cinn_cam.cfm.
- **Corticchiato, M., Casanova, J., (1992).** Analyse des mélanges complexes par RMN du carbone-13. Application aux huiles essentielles. *Analisis*.20, 51–58.
- **Couch, R. B., (2008).** Seasonal inactivated influenza virus vaccines. *Vaccine* 26 Suppl 4: D5-9.
- **Cros, J.F., García-Sastre, A., Palese, P., (2005).** An unconventional NLS is critical for the nuclear import of the influenza A virus nucleoprotein and ribonucleoprotein. *Traffic* 6, 205–213.
- **Cros, A.F.A.** Action de l'alcool amylique sur l'organisme, thèse de Doctorat, Faculté de Médecine, université Strasbourg,186.
- **Croteau, R., Hooper, C.L., Felton, M., (1978).** *Biosynthesis of monoterpenes. Partial purification and characterization of a bicyclic monoterpene dehydrogenase from sage (Salvia officinalis)*. *Arch. Biochem. Biophys*, 188, 182–193.
- **Csurhes, S., Edwards, R., (1998).** National weeds program, potential environmental weeds in australia, candidate species for preventative control. National Parks and Wildlife Biodiversity Group, Environment Australia, Canberra

-D-

- **Daher, C., (2012).** Analyse par spectroscopies Raman et infrarouge de matériaux naturels organiques issus d'objets du patrimoine : méthodologies et applications. Thèse de Doctorat. Université Pierre et Marie Curie.
- **Dalibart, M., Servant, L., (2012).** “Spectroscopie dans l’infrarouge”, *Techniques de l’Ingénieur, traité Analyse et Caractérisation*, 2 845.
- **Damjanoviæ-Vratnica, B., Dakov, T., Šukoviæ, D., Damjanoviæ, J., (2008).** *Chemical composition and antimicrobial activity of essential oil of wildgrowing Salvia officinalis L. from Montenegro*. *JEOBP*, 11, 79–89.
- **Database, [http://www.molinspiration.com].**
- **Davidson, E., (1991).** *Chem.Rev.*91649.
- **Dckinson, W.C., (1950).** Dependence of the 19F Nuclear Resonance Position on Chemical Compound. *Physical Review*.77, 736.

- **Dearden J.C., Barratt M.D., Benigni R., Douglas W., Combes R.D., Cronin M.T.D., Judson P.N., Payne M.P., Richard A.M., Tichy M., Worth A.P., Yourick J.J. (1997).** The Development and Validation of Expert Systems for Predicting Toxicity, *Altern. to Lab. Anim.* 25, 223–252.
- **De Medici, D., Pieretti, S., Salvatore, G., Nicoletti, M., Rasoanaivo, P., (1992).** *Chemical Analysis of Essential Oils of Malagasy Medicinal Plants by Gas Chromatography and NMR Spectroscopy, Flavour Fragr. J.*, p 7, 275-281.
- **Dercmeche K. (2016).** Étude in Silico de Thalidomide : Apport de la Modélisation Moléculaire, Thèse de doctorat, Université de Mohamed Boudiaf-Oran.
- **Dharan, N. J., Gubareva, L. V., Meyer, J. J., Okomo-Adhiambo, M., McClinton, R. C., (2009).** Infections with oseltamivir-resistant influenza A(H1N1) virus in the United States. *Jama* 301: 1034-41.
- **Dirac, P.A.M., (1964).** Lectures on Quantum Mechanics, Belfer graduate School of Science, Yeshiva University, New York.
- **Dodge, Y., (2007).** Statistique Dictionnaire encyclopédique, Springer-Verlag France, Paris
- **Domingo, L.R., Chamorro E., Perez, P., (2008).** *J.Org. Chem.* 73, 4615-4624.
- **Donkin, R.A., (1999).** Dragon’s brain Perfume: An Historical Geography of Camphor; Koninklijke Brill: Leiden, The Netherlands; p. 141.
- **Doreswamy B. H., Mahendra M., Shashidhara Prasad; Varughese P. A., Varghese G., (2011).** Samarium Coordinated Polymer: Structural, Vibrational and Thermal Studies of [Sm₂ (C₃H₂O₄)₃ (H₂O)₆]_n *J. Inorg. Organomet. Polym.* 21 378.
- **Dugas, H., (1996).** Aspects théoriques et pratiques, quatrième édition, Librairie de l’Université de Montréal.

-E-

- **Eccles, R., (2005).** Understanding the symptoms of the common cold and influenza. *Lancet Infect Dis* 5: 718-25.
- **ECHA.** Guidance on information requirements and chemical safety assessment - Chapter R.6: QSARs and grouping of chemicals, (2008). https://echa.europa.eu/documents/10162/13632/information_requirements_r6_en.pdf (accessed March 16, 2017).
- **Eisfeld, A. J., Neumann, G., Kawaoka, Y., (2014).** Influenza A virus isolation, culture and identification. *Nat Protoc* 9, 2663-2681.
- **Elkaim, J., (2011).** Drug Design In Silico Criblage Virtuel De Protéines à Visée Thérapeutique, Thèse De Doctorat Université De Bordeaux 1 École Doctorale Des Sciences Chimiques.
- **Ellison, J.A., Davis, C.T., York, I.A., (2012).** A distinct lineage of influenza A virus from bats. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 109, 4269–4274.
- **Epelboin, L., Macey J., (2009).** Maladies infectieuses et Transmissibles. Editions Elsevier Masson. pp. 92-p93.

-F-

- **Fang, J.Y., Tsai, T.H., Lin, Y.Y., Wong, W.W., Wang, M.N., Huang, J.F., (2007).** Transdermal delivery of tea catechins and theophylline enhanced by terpenes: A mechanistic study. *Biol. Pharm. Bull.* 30, 343–349.
- **Fawzi, D., Voirin, N., Khanafer, N., Izri, K., Gradi, E.A., Aitaissa, A., Hadjal, B., Mehdi, Z., Bouzeghoub, S., (2019).** Influenza surveillance during the 2009-10, 2010-11, 2011-12 and 2012-13 seasons in Algeria , 2019 doi: 10.1002/jmv.25469.
- **Feeley, E.M., Sims, J.S., John, S.P., Chin, C.R., Pertel, T., Chen, L.-M., Gaiha, G.D., Ryan, B.J., Donis, R.O., Elledge, S.J., (2011).** IFITM3 Inhibits Influenza A Virus Infection by Preventing Cytosolic Entry. *PLOS Pathogens* 7, e1002337.
- **Ferguson, L., Olivier, AK., Genova, S., Epperson, WB., Smith, DR., Schneider, L., Barton, K., McCuan, K., Webby, RJ., Wan, X-F., (2016).** Pathogenesis of influenza D virus in cattle. *J Virol* 90:5636–5642. doi:10.1128/JVI.03122-15.
- **Fields, B., (2013).** *Field's Virology* 6th edition. Philadelphia: Wolters Kluwer Health/Lippincott Williams & Wilkins.
- **Fortuné, A., (2006).** Thèse de doctorat, Techniques de Modélisation Moléculaire Appliquées à l'Etude et à l'Optimisation de Molécules Immunogènes et de Modulateurs de la Chimiorésistance, Université Joseph Fourier – Grenoble I.
- **Fouchier, R. A., Schneeberger, P. M., Rozendaal, F. W., Broekman, J. M., Kemink, S. A., Munster, V., Kuiken, T., Rimmelzwaan, G. F., Schutten, M., Van Doornum, G. J., Koch, Bosman G., A., Koopmans, M., Osterhaus, A. D., (2004).** Avian influenza A virus (H7N7) associated with human conjunctivitis and a fatal case of acute respiratory distress syndrome. *Proc Natl Acad Sci U S A* 101, 1356-1361.
- **Francis, T., Pearson, H. E., Salk, J. E., Brown, P. N., (1944).** Immunity in Human Subjects Artificially Infected with Influenza Virus, Type B. *Am J Public Health Nations Health* 34, 317-334.
- **Franke, R., (1984).** *Theoretical Drug Design Methods*, Elsevier Amsterdam, 115–123.
- **Frisch, M.J., Trucks, G.W., Schlegel H.B., Scuseria, G.E., Robb M.A., Cheeseman J.R., Scalmani G., Barone V., Mennucci B., Petersson G.A., Nakatsuji H., Caricato M., Li X., Hratchian H.P., Izmaylov A.F., Bloino J., Zheng G., Sonnenberg J.L., Hada M., Ehara M., Toyota K., Fukuda R., Hasegawa J., Ishida M., Nakajima T., Honda Y., Kitao O., Nakai H., Vreven T., Montgomery J.A., Peralta J.J.E., Ogliaro F., Bearpark M., Heyd J.J., Brothers E., Kudin K.N., Staroverov V.N., Kobayashi R., Normand J., Raghavachari K., Rendell A., Burant J.C., Iyengar S.S., Tomasi J., Cossi M., Rega N., Millam J.M., Klene M., Knox J.E., Cross J.B., Bakken V., Adamo C., Jaramillo J., Gomperts R., Stratmann R.E., Yazyev O., Austin A.J., Cammi R., Pomelli C., Ochterski J.W., Martin R.L., Morokuma K., Zakrzewski V.G., Voth G.A., Salvador P., JDannenberg J., Dapprich S., Daniels A.D., Farkas Ö., Foresman J.B., Ortiz J.V., Cioslowski D J., Fox J., *Gaussian, Inc., Wallingford CT., (2009).***
- **Frizzo, C. D., Santos, A. C., Paroul, N., Serafini, L. A., Dellacassa, E., Lorenzo, D., Moyna, P., (2000).** Essential oils of camphor tree (*Cinnamomum camphora* Nees & Eberm) cultivated in southern Brazil. *Brazilian Archives of Biology and Technology*; 43 (3), 313-316.
- **Fortuné A. (2006).** Thèse de doctorat, Techniques de Modélisation Moléculaire Appliquées à l'Etude et à l'Optimisation de Molécules Immunogènes et de Modulateurs de la Chimiorésistance, Université Joseph Fourier – Grenoble I.

▪ **Fourches, D., Muratov, E., Tropsha, A., (2015).** Curation of chemogenomics data, *Nat. Chem. Biol.* 11, 535–535. doi:10.1038/nchembio.1881.

-G-

▪ **Gallaher, WR., (2009).** Towards a sane and rational approach to management of influenza H1N1 2009. *Virol J* 2009; 6:50.

▪ **Gaush, C. R., Hard, W. L., Smith, T. F., (1966).** Characterization of an established line of canine kidney cells (MDCK). *Proc Soc Exp Biol Med* 122, 931-935.

▪ **Gerber, M., Isel, C., Moules, V., Marquet, R., (2014).** Selective packaging of the influenza A genome and consequences for genetic reassortment. *Trends Microbiol.* 22, 446–455.

▪ **Ghanta, V.K., Hiramoto, N.S., Solvason, H.B., Tyring, S.K., Spector, N.H., Hiramoto, R.N., (1987).** Conditioned enhancement of natural killer cell activity, but not interferon, with camphor or saccharin-LiCl conditioned stimulus. *J. Neurosci. Res*, 18, 10–15.

▪ **Goel, H.C., Singh, S., Singh, S.P., (1989).** Radiomodifying influence of camphor on sister-chromatid exchange induction in mouse bone marrow. *Mutat. Res*, p 224, 157–160.

▪ **Gonzalez-Diaz, H., Olazabal, E., Santana, L., Uriarte, E., Gonzalez-Diaz, Y., Castanedo, N., (2007).** "QSAR study of anticoccidial activity for diverse chemical compounds: Prediction and experimental assay of trans-2-(2-nitrovinyl) furan." *Bioorg. Med. Chem.* 15, 962-968.

▪ **Green, B.G., (1990).** *Sensory characteristics of camphor. J. Invest. Dermatol*, 94, 662–666.

▪ **Grgic, H., Costa, M., Friendship, R. M., Carman, S., Nagy, E., Poljak, Z., (2015).** Genetic Characterization of H1N1 and H1N2 Influenza A Viruses Circulating in Ontario Pigs in 2012. *PLoS One* 10, e0127840.

▪ **Gütlein, M., Helma, C., Karwath, A., Kramer, S., (2013).** A Large-Scale Empirical Evaluation of CrossValidation and External Test Set Validation in (Q)SAR, *Mol. Inform.* 32, 516–528. doi:10.1002/minf.201200134.

▪ **Gutman, I., (1994).** Selected properties of the Schultz molecular topological index, *Journal of Chemical Information and Modeling*, 34(5), 1087–1089.

-H-

▪ **Hahn, E.L., (1950).** « SpinEchoes ». *Physical Review*.80, 580.

▪ **Hale, B.G., Randall, R.E., Ortín, J., and Jackson, D. (2008).** The multifunctional NS1 protein of influenza A viruses. *J. Gen. Virol.* 89, 2359–2376.

▪ **Hattori, A, (2001).** Camphor in the Edo era fireworks. *Yakushiqaku Zasshi*, p 36, 27–31.

▪ **Hall, L.H., Kier, L.B., (1991).** The molecular connectivity chi indexes and kappa shape indexes in structure-property modeling. *Rev. Comput. Chem.* 2, 367-422.

▪ **Han, J., Kamber, M., Pei, J., (2011).** *Data Mining: Concepts and Techniques*, Chapter 8: Classification: Basic Concepts, 3rd edition, Morgan Kaufmann Publishers.

▪ **Hansch, C., Telzer, B.R., Zhang, L.T., (1995).** Comparative QSAR in toxicology: examples from teratology and cancer chemotherapy of aniline mustards, *Critical Reviews in Toxicology*, 25, 67–89

▪ **Hansch C., Leo A. (1979).** *Wiley: New York.*

- **Hansch, C., Coats, E., (1970).** Chymotrypsin: A Case Study of Substituent Constants and Regression Analysis in Enzymic Structure—Activity Relationships, *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 59(6), 731–743.
- **Hansch, C., Maloney, P.P., Fujita, T., Muir, R.M., (1962).** Correlation of biological activity of phenoxyacetic acids with hammett substituent constants and partition coefficients. *Nature*; 194:178-80.
- **Harkati, D., (2016).** Etude de la structure et des propriétés physico-chimiques associées, de quelques molécules bioactives à intérêt pharmaceutique. Thèse de Doctorat Université Biskra.
- **Hehere, W., (1995).** Practical Strategies for Electronic Structure Calculations, Wave functions, Inc, Irvine California.
- **Heisenberg, W., (1949).** The Physical Principles of the Quantum Theory, Dover, New York.
- **Higo, J., Go, N., (1989).** Algorithm for rapid calculation of excluded volume of large molecules, *Journal of Computational Chemistry*, 10, 376–379
- **Hilico, J.C., Phys, J., (1965).** Vol. 19, p328.
- **Hladik, J., Chrysos, M., Hladik, P.-E., Ancarani, L.U., (1997).** Mécanique quantique, Masson.
- **Hohenberg, P., Kohn, W., (1964).** B864.
- **HoHongHaiVo., (2011).** Élaboration de nouvelles stratégies thérapeutiques à l'encontre du virus de la grippe. Médecine humaine et pathologie. Université Claude Bernard (Lyon I).
- **Hu, M., Jin, Y., Zhou, J., Huang, Z., Li, B., Zhou, W., Ren, H., Yue, J., Liang, L. (2017).** Genetic Characteristic and Global Transmission of Influenza A H9N2 Virus. *Front Microbiol* 8.
- **Huang, R., Xia, M., Sakamuru, S., Zhao, J., Shahane, S.A., Attene-Ramos, M., Zhao, T., Austin, C.P., (2016).** Simeonov A., Modelling the Tox21 10 K chemical profiles for in vivo toxicity prediction and mechanism characterization, *Nat. Commun.* 7, 10425. doi:10.1038/ncomms10425.
- **Huergo et Retamar, (1978).**
- **Humbel S., Sieber, S., Morokuma, K., (1996).** The Journal of chemical physics. 105.1959.
- **Hunh, P.N.T., (2007).** Synthèse et Etude des Relations structure. Activité Quantitatives. (QSAR/2D) D'analogues Benzo[c]phénanthridiniques, Laboratoire SONAS, UPRES-EA921. Université France, 2007

-I-

- **International program on chemical safety (IPCS) INCHEM.** Camphor. Available online: <http://www.inchem.org/documents/pims/pharm/camphor.htm/> .
- **Ingle, B.L., Veber, B.C., Nichols, J.W., Tornero-Velez, R., (2016).** Informing the Human Plasma Protein Binding of Environmental Chemicals by Machine Learning in the Pharmaceutical Space: Applicability Domain and Limits of Predictability, *J. Chem. Inf. Model.* 56, 2243–2252. doi:10.1021/acs.jcim.6b00291.

▪ **Ishikawa, H., Fukui, T., Ino, S., Sasaki, H., Awano, N., Kohda, C., Tanaka, K. (2016).** Influenza virus infection causes neutrophil dysfunction through reduced G-CSF production and an increased risk of secondary bacteria infection in the lung. *Virology* 499, 23–29.

-J-

▪ **Jaeqx S., Oomens J., Cimas A., Gaigeot M.-P., and Rijs A. M., (2014).** *Angew Chem., Int. Ed.* 533663–3666.

▪ **Jain N., Lodha R., Kabra S.K., (2001).** Upper respiratory tract infections. *Indian J Pediatr* 68, 1135–1138.

▪ **Jantan, I., Goh, S. H. (1992).** Essential oils of *Cinnamomum* species from peninsular Malaysia. *Journal of Essential Oil Research*; 4, 161-171.

▪ **Jensen F., Wiley J., (1999),** *Introduction to Computational Chemistry*, Chichester., Angleterre.

▪ **Jiang, Y., Guo, P., Liu, G., (1990).** Asymmetric Synthesis X: The high enantioselective synthesis of (R)- α -substituted benzylic amines via the modified (+)-camphor derivative as chiral synthon. *Synth. Commun*, p 20, 15–22.

▪ **Juteau, F., Masotti, V., Bessièrè, J.M., Dherbomez, M., Viano, J., (2002).** Antibacterial and antioxidant activities of *Artemisia annua* essential oil. *Fitoterapia*, p 73, 532–535.

-K-

▪ **Kanematsu, N., Shibata, K.I., (1990).** Investigation of DNA reactivity of endodontic agents by rec-assay. *Gifu Shika Gakkai Zasshi*, p 17, 592–597.

▪ **Karlsson, E.A., and Beck, M.A. (2010).** The burden of obesity on infectious disease. *Exp. Biol. Med. (Maywood)* 235, 1412–1424

▪ **Karnan M., Balachandran V., Murugan M., (2012).** *Spectro. Acta A*.96 51.

▪ **Kerassa A. (2015).** Étude par la modélisation moléculaire des relations structures-propriétés de quelques séries hétérocycliques bioactives. Thèse de doctorat, Université Mohamed Khider – Biskra.

▪ **Kerassa A., Belaidi S., Harkati D., Lanez T., Sinha L., Prasad O., (2015).** *Rev. Theor. Sci.*3 1.

▪ **Kerns E.H., Di L. (2008).** *Drug-like Properties: Concepts, Structure Design and Methods: from ADME to Toxicity Optimization*, Academic Press, USA.

▪ **Khalafi A., Soltani M., Mohabatkar H., Asrari Z., Hemmateenejad B. (2005).** *Bioorganic & Medicinal Chemistry*. 13 1931.

▪ **Kier L.B. (1981).** *Molecular Orbital Theory in Drug Research*, Academic Press, New York.

▪ **Knipe, D.M., Howley P.M., (eds),** *Fields Virology*. Lippincott, Williams and Wilkins, Philadelphia, pp. 1647–1689.

▪ **Kohn, W. (1996).** *Phys. Chem.* 100, 12974.

▪ **Kopp, A., (2012).** Travaux récents sur la culture du camphrier et la production du camphre. *Revue de botanique appliquée et d'agriculture coloniale*, 2(15):636–643, 1922. ISSN 0370-3681.

- **Kotan, R., Kordali, S., Cakir, A., Kesdek, M., Kaya, Y., Kilic, H., (2008).** Antimicrobial and insecticidal activities of essential oil isolated from Turkish *Salvia hydrangea* DC: Ex Benth. *Biochem. Syst. Ecol.*
- **Krtaishnakumar V., Parabavathi,N., (2009).** Scaled quantum chemical calculations and FTIR, FT-Raman spectral analysis of 2-Methylpyrazine. *Spectrochim Acta A.72* 743-747.
- **Kubinyi H., (1993).** QSAR: Hansch analysis and related approaches. Weinheim ; New York.
- **Kumar, M., Ando, Y., (2003).** Single-wall and multi-wall carbon nanotubes from camphor-a botanical hydrocarbon. *Diamond Relat. Mater.* p 12, 1845–1850.
- **Kwiatkowski J. S., Leszczynski J., Teca I., (1997),** *J. Mol. Struct.* 45 451-480.

-L-

- **Labute, P., (2000).** A widely applicable set of descriptors, *Journal of Molecular Graphics and Modelling*, 18, 464–477.
- **Lamarre, D., (2016).** Découverte du Médicament. Approches et Défis, Université de Montréal.
- **Landau, L., Lifchitz, E., (1967).** Mécanique quantique, Editions Mir, Moscou.
- **Laude, E.A., Morice, A.H., Grattan, T.J., (1994).** *The antitussive effects of menthol, camphor and cineole in conscious guinea-pigs. Pulm. Pharmacol*, 7, 179–184.
- **Le Ru, A.A., (2010),** Département de génie chimique. École Polytechnique de Montréal. Diplôme de maîtrise ÈS Sciences appliquées (génie chimique). Production du virus influenza dans des cellules HEK-293 cultivées en suspension.
- **Leach, A.R., (1996).** Quantum Mechanical Models, in *Molecular modelling: Principles and applications.* Addison Wesley Longman Ltd., Harlow.
- **Lee, C., Yang, W., Parr R., (1988).** *Phys. Rev. A.* 38, 3098.
- **Leeson, P.D., Springthorpe, B., (2007).** The influence of drug-like concepts on decisionmaking in medicinal chemistry. *Nat Rev Drug Discov* .6, 881.
- **Leeson, P., Davis A. (2004).** *Journal of Medicinal Chemistry.* 47 6338.
- **Leo, A., Hansch, C, Elkins, D., (1971).** Partition coefficients and their uses, *Chemical reviews.* Department of chemistry, Pomona College, Claremont, California.
- **Leo, A., Hansch, C., Church, C., (1969).** Comparison of parameters currently used in the study of structure-activity relationships, *Journal of Medicinal Chemistry*, 12(5), 766–771.
- **Lerbet-Sereni, F., (2004).** Expériences de la modélisation, modélisation de l'expérience, Editions L'Harmattan.
- **Lewis, D.F.V., Ioannides, C., Parke, D.V., (1994).** Interaction of a series of nitriles with the alcoholinducible isoform of P450: Computer analysis of structure—activity relationships, *Xenobiotica*, 24(5), 401–408.
- **Li, S., Yuan, W., Wang, P., Zhang, Z., Zhang, W., Ownby, S., (2007).** Processes for the extraction and purification of shikimic acid and the products of such processes. United States. 20070161818.
- **Li, Y.S., Zou, H.Y., (2001).** Insecticidal activity of extracts from. *Eupatorium adenophorum* against four stored grain insects *Entomol. Knowl*, 38, 214–216.

- **Liebelt, E.L., Shannon, M.W., (1993).** Small doses, big problems: A selected review of highly toxic common medications. *Pediatr. Emerg. Care*, p 19, 292–297.
- **Lipinski, C., Lombardo, F., Dominy, B., Feeney, P., (2012).** *Advanced Drug Delivery Reviews*. 64, Supplement 4.
- **Lipinski, C. A., Lombardo, F., Dominy, B. W., Feeney, P. J., (1997).** *Adv. Drug. Deliv. Rev.*23, 3.
- **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*, 6(1–3), 3–25
- **Liu H., Du Y., Kennedy J. (2007).** *Carbohydrate Polymers*. 68 598.
- **Liu, W., (2005).** Terpenes: The expansion of chiral pool. In *Handbook of Chiral Chemicals*, 2nd ed.; Ager, D.J., Ed.; CRC Press: Boca Raton, FL, USA; p. 65.
- **Loete, M., (1984).** Thèse d'état, Faculté de sciences MIPC de l'université de Bourgogne, Dijon (France).
- **, H.A., (1880).** Über die Beziehungzwischen der Fortpflanzungsgeschwindigkeit des Lichtes der Körperdichtel, *Wiedemann's Annalen der Physik*, 9, 641–665.
- **Love, J.N., Sammon, M., Smereck, J., (2003).** Are one or two dangerous? Camphor exposure in toddlers. *J. Emerg. Med*, p 27, 49–54.
- **Lowen, A.C., (2017).** Constraints, Drivers, and Implications of Influenza A Virus Reassortment. *Annu Rev Virol* 4, 105– 121.
- **Lu, X., Tumpey, T. M., Morken, T., Zaki, S. R., Cox, N. J., Katz, J. M. (1999).** A mouse model for the evaluation of pathogenesis and immunity to influenza A (H5N1) viruses isolated from humans. *J Virol* 73: 5903-11.
- **Lyman W. (1990).** *Rosenblatt, Eds.; American Chemical Society: Washington. DC. 1.*

-M-

- **Maher, J. A., DeStefano, J., (2004).** The ferret: an animal model to study influenza virus. *Lab Anim (NY)* 33: 50-3.
- **Maines, T. R., Jayaraman, A., Belser, J. A., Wadford, D. A., Pappas, C., (2009).** Transmission and pathogenesis of swine-origin 2009 A(H1N1) influenza viruses in ferrets and mice. *Science* 325: 484.
- **Manicassamy, B., Medina R. A., Hai R., Tsibane, T., Stertz, S., Nistal-Villan, E., Palese, P., Basler C. F., Garcia-Sastre, A., (2010).** Protection of mice against lethal challenge with 2009 H1N1 influenza A virus by 1918-like and classical swine H1N1 based vaccines. *PLoS Pathog* 6: e1000745 1-14.
- **Mansard, (2016).** Le camphrier : étude botanique, chimique et biologique de ses huiles essentielles. Diplôme d'Etat de Docteur en Pharmacie par Michaël MANSARD.
- **MarvinSketch 6.8.31, Chemaxon (<http://www.chemaxon.com>) (2015).**
- **Mateke, J.A.N., (2005).** Détermination par méthodes ab-initio des courbes de potentiels du monoxyde d'azote, Univeristé de Douala-Cameron.
- **Matlin, K.S., Reggio, H., Helenius, A., Simons, K., (1981).** Infectious entry pathway of influenza virus in a canine kidney cell line. *J. Cell Biol.* 91, 601–613.

- **Matsuoka, Y., Matsumae, H., Katoh, M., Einfeld, A.J., Neumann, G., Hase, T., Ghosh, S., Shoemaker, J.E., Lopes, T.J., Watanabe, T., (2013).** A comprehensive map of the influenza A virus replication cycle. *BMC Syst Biol* 7, 97.
- **McLean, E., Pebody, R.G., Campbell, C., Chamberland, M., Hawkins, C., Nguyen-Van-Tam, J.S., (2009).** Pandemic (H1N1) 2009 influenza in the UK: clinical and epidemiological findings from the first few hundred (FF100) cases. *Epidemiol Infect* 2010;138:1531.
- **Medina, R.A., García-Sastre, A., (2011).** Influenza A viruses: new research developments. *Nat. Rev. Microbiol.* 9, 590–603. Zhao et al., 2017.
- **Medina, R. A., Manicassamy, B., Stertz, S., Seibert, C. W., Hai, R., (2010).** Pandemic 2009 H1N1 vaccine protects against 1918 Spanish influenza virus. *Nat Commun* 1: 28-33.
- **Medjahed S., Belaidi S., Djekhaba S., Tchouar N., and Kerassa A. (2016).** *J. Bionanosci.* 10 118.
- **Meguro, H., Bryant, J. D., Torrence, A. E., Wright, P. F., (1979).** Canine kidney cell line for isolation of respiratory viruses. *J Clin Microbiol* 9, 175-179.
- **Melkemi N. (2013).** Étude des corrélations entre les paramètres structuraux et les propriétés bioactives de quelques composés organiques, Thèse de doctorat, Université Mohamed khider biskra.
- **Methyl bromide technical options committee (MBTOC) :** Assessment of alternatives to methyl bromide. Nairobi, Kenya, United Nations Environment Programme, Ozone Secretariat 1998. Available online: http://ozone.unep.org/Assessment_Panels/TEAP/Reports/MBTOC/MBTOCAssesment-Report-2010.pdf.
- **Meyer, H.** Zur Theorie der Alkoholnarkose. Erste Mitteilung, welche Eigenschaft der Anesthetica bedingt ihre narkotische Wirkung. *Arch Exp Pathol Pharmakol* 1899 ; 42 :109.
- **Miessler G. L., and Tarr D. A., (1999).** *J. Inorg. Chem.*, 181.
- **Miller K. J., (1990).** *J. Am. Chem. Soc.* 1128533.
- **Miller, MA., Viboud, C., Balinska, M., Simonsen, L., (2009).** The signature features of influenza pandemics--implications for policy. *N Engl J Med*;360:2595-8.
- **Mishin, V. P., Nedyalkova, M. S., Hayden, F. G., Gubareva, L. V., (2005).** Protection afforded by intranasal immunization with the neuraminidase-lacking mutant of influenza A virus in a ferret model. *Vaccine* 23: 2922-7.
- **Monto, A. S., Ohmit, S. E., Petrie, J. G., Johnson, E., Truscon, R., Teich, E., Rotthoff, J., Boulton, M., Victor, J. C. (2009).** Comparative efficacy of inactivated and live attenuated influenza vaccines. *N Engl J Med* 361: 1260-7.
- **Moreira R., Leite A. C, Dos Santos R. R, and Soares M. B. (2009).** *J. Curr. Drug Targets* 10, 212
- **Moss, R. B., Davey, R. T., Steigbigel, R. T., Fang, F., (2010).** Targeting pandemic influenza: a primer on influenza antivirals and drug resistance. *J Antimicrob Chemother* 65: 1086-93.
- **Murray J. S., Sen K., (1996).** Molecular electrostatic potentials, Concepts and Applications. Elsevier, Amsterdam.

▪ **Myles, P., Ault, S.K., Bragazzi, N.L., Martini, M., (2016).** History and evolution of influenza control through vaccination: from the first monovalent vaccine to universal vaccines. *J Prev Med Hyg* 57, E115–E120.

-N-

▪ **Nair, H., Brooks, W.A., Katz, M., (2011).** Global burden of respiratory infections due to seasonal influenza in young children: a systematic review and meta-analysis. *Lancet Lond Engl.*;378(9807):1917-1930. doi:10.1016/S01406736(11)61051-9.

▪ **Narasaraju, T., Sim M. K., Ng H. H., Phoon M. C., Shanker N., Lal S. K., Chow V. T. (2009).** Adaptation of human influenza H3N2 virus in a mouse pneumonitis model: insights into viral virulence, tissue tropism and host pathogenesis. *Microbes Infect* 11: 2-11.

▪ **Nandi, N., (2005).** *Study of chiral recognition of model peptides and odorants : Carvone and camphor.* *Curr. Sci.* 2005, 88, 1929–1937.

▪ **Nayak, D.P., Balogun, R.A., Yamada, H., Zhou, Z.H., Barman, S., (2009).** Influenza virus morphogenesis and budding. *Virus Res* 143, 147–161.

▪ **Neese F., (2006).** A critical evaluation of DFT, including time-dependent DFT, applied to bioinorganic chemistry, *Journal of Biological Inorganic Chemistry*, 11(6), 702–711.

▪ **Netzeva, T.I., Worth, A.P., Aldenberg, T., Benigni, R., Cronin, M.T.D., Gramatica P., Jaworska J.S., Kahn, S., Klopman, G., Marchant, C.A., Myatt, G., Nikolova-Jeliazkova, N., Patlewicz, G.Y., Perkins, R., Roberts, D.W., Schultz, T.W., Stanton, D.T., Van De Sandt, J.J.M., Tong, W., Veith, G., Yang, C., (2005).** Current status of methods for defining the applicability domain of (quantitative) structure-activity relationships, *Altern. to Lab. Anim.* 33, 155–173.

▪ **Neumann, G., Hughes, M.T., and Kawaoka, Y., (2000).** Influenza A virus NS2 protein mediates vRNP nuclear export through NES-independent interaction with hCRM1. *EMBO J* 19, 6751–6758.

-O-

▪ **Oliveira, A.P., Valentão, P., Pereira, J.A., Silva, B.M., Tavares, F., Andrade, P.B., (2009).** *Ficus carica* L.: Metabolic and biological screening. *Food and Chemical Toxicology* 47: 2841-2846.

▪ **Ouattara, B., Simard, R.E., Holley, R.A., Piette, G.J.P., Bégin, A., (1997).** *Antibacterial activity of selected fatty acids and essential oils against six meat spoilage organisms.* *Int. J. Food Microbiol.* 37, 155–162.

▪ **Oukil O., Tchouar N., Belaidi S., Salah T., and Cinar M. (2017).** *Rev.Roum.Chim.*62, 81

-P-

▪ **Padmaja L., Ravikumar C., Sajan D., Hubert Joe I., Jayakumar V. S., Pettit G. R., and Neilsen F.O., (2009).** *Raman Spectrosc J.*, 40 419–428.

▪ **Pajouhesh H., Lenz G.R. (2005).** *J. Am. Soc. Exp. NeuroTherap.* 2541.

▪ **Pajouhesh H., Lenz G.R. (2005).** Medicinal chemical properties of successful central nervous system drugs. *J. Am. Soc. Exp. NeuroTherap.* 2 541-553.

▪ **Paquereau, J., (2013).** *Au jardin des plantes de la Bible : Botanique, symboles et usages.* Forêt privée Française.

- **Pariani, E., Amendola, A., Piatti, A., (2014).** Ten years (2004–2014) of influenza surveillance in Northern Italy. *Hum Vaccines Immunother.*;11(1):198-205.
- **Pathak J., and Sinha L., (2012).** *J. At.Mol. Sci.* 3 95.
- **Patrick H., Langenacker W., Tollenaere J. (1995).** Computational Medicinal Chemistry for Drug Discovery, marceldekker, New York.
- **Patri, G., Silano, V., Anton,R., (2006).** Plantes dans les cosmétiques, volume 3. Council of *Europe*.
- **Pauli, W., Physik, Z., (1925).** 31, 765.
- **Peiris, J.S.M., Hui, K.P.Y., and Yen, H.-L. (2010).** Host response to influenza virus: protection versus immunopathology. *Curr. Opin. Immunol.* 22, 475–481.
- **Piron, C., (1998).** Mécanique quantique: Bases et applications, PPUR presses polytechniques.
- **Philipps, H., Killingray, D., (2003).** The spanish influenza pandemic of 1918-19: New perspectives. London: Routledge.
- **Podunavac-Kuzmanović S.O., Cvetković D.D., Barna D.J., (2009).** QSAR analysis of 2- amino or 2-methyl-1-substituted benzimidazoles against *pseudomonas aeruginosa*. *J. Mol. Sci.* 10 1670-1682.
- **Potter, C.W. (2001).** A history of influenza. *J. Appl. Microbiol.* 91, 572–579.
- **Prabavathi N., Nilufer A., (2014).** *J. Environ. Nanotechnol.* 3 130.
- **Prasad O., Sinha L., Kumar N., (2010).** *J. At.Mol. Sci.* 1 201.
- **Procyor, W.G., (1950).** F.C.Yu, The Dependence of the a Nuclear Magnetique Resonance Frequency upon Chemical Compound. *Physical Review.* 77, 717.

-R-

- **Ramesh, G., Vamshi, V.Y., Kishan, V., Madhusudan, R.Y., (2007).** Studies on the influence of penetration enhancers on in vitro permeation of carvedilol across rat abdominal skin. *Curr. Trends Biotechnol. Pharm.* p 1, 62–69.
- **Ravindran, K. Nirmal-Babu, Shylaja M., (2003).** Cinnamon and cassia : the genus *Cinnamomum*. CRC press.
- **Ravikumar C., Hubert Joe I., and Jayakumar V. S., (2008).** *Chem. Phys. Lett.* 460 552–558.
- **Rebound Health.** Camphor. Available online: reboundhealth.com/cms/images/pdf/Textbooks/camphor%20id%2015853.pdf.
- **Reed, L.J., Muench, H.** A simple method of estimating fifty percent endpoints. *Am J Hyg.* 1938; 27: 493–497.
- **Remko, M., Swart, M., Bickelhaupt, F. M., (2006).** Theoretical study of structure, pKa, lipophilicity, solubility, absorption, and polar surface area of some centrally acting antihypertensives. *J. Bioorg. Med. Chem.* 14, 1715-1728.
- **Rencher, A. C., Schaalje, G. B., (2008).** Second Edition, John Wiley & Sons, Inc., Hoboken, New Jersey.
- **Richet, C.** CR Séances Soc Biol Ses Fil 1893; 9:775.

- **Rinaldo, R., (2012).** Certification, biocomplexité et valorisation des Lauracées de Guyane française. Thèse de doctorat de chimie, Université des Antilles et de la Guyane.
- **Ritter, M., Reimer, J.** Ufei - selectree Cinnamomum camphora tree record, 1995-2015. URL <https://selectree.calpoly.edu/tree-detail/cinnamomum-camphora>.
- **Rivière, C., Nicolas, J.P., Caradec, M.L., Desirea,O., Dinl A.H., Rémy,G., Delelis, A., Dupont, F., (2005).** Importance de l'identification botanique dans la démarche ethno pharmacologique; cas d'une bignoniaceae malgache, perichlaena richardii baill. Acta botanica gallica, 152(3) : 377–388.
- **Robb, N.C., Smith, M., Vreede, F.T., Fodor, E., (2009).** NS2/NEP protein regulates transcription and replication of the influenza virus RNA genome. J. Gen. Virol. 90, 1398–1407.
- **Robert, D., Amat, L., Carbo-Dorca, R., (1999).** Three-dimensional quantitative structure activity elationships from tuned molecular quantum similarity measures: prediction of the corticosteroid-binding globulin binding affinity for a steroid family. J. Chem. Inform. Comput Sci. 39, 333-44.
- **Rohde, PD, Gaertner, B., Ward, K., Sørensen, P., Mackay, TFC., (2017).** Analyse génomique de l'interaction génotype par environnement social pour le comportement agressif de Drosophila melanogaster. Génétique 206 (4) : 1969-1984.
- **Roothan, C.C., Roothan, C.C., (1951).** Rev. Mod. Phys.23, 6989-1951.
- **Rossman, J.S., and Lamb, R.A. (2011).** Influenza virus assembly and budding. Virology 411, 229–236. Sayari, 2018.
- **Roy, K., Kar, S., Narayan Das, R., (2015).** Understanding the Basics of QSAR for Applications in Pharmaceutical Sciences and Risk Assessment, Chapter 6 - Selected Statistical Methods in QSARl, Academic Press, Boston, 191–229.

-S-

- **Sabljk A., Guesten H., Hermens J., Oppperhuizen.A. (1993).** *Environmental Science & Technology*. 27 1394.
- **Santiso E.E., Gubbins K.E., (2004).** Multi-scale molecular modeling of chemical reactivity. Molecular Simulation 30, 699-748.
- **Sarkar, S.K., Malhotra, S.S., (1979).** Gas-liquid-chromatographic method for separation of organic-acids and its application to pine needle extracts. Journal of Chromatography 171:227-232.
- **Schenk, JR., (2009).** 'Phytochemistry, allelopathy and the capability attributes of camphor laurel (Cinnamomum camphora (L.) Ness & Eberm.)', PhD thesis, Southern Cross University, Lismore, NSW. Copyright JR Schenk.
- **Schrodinger, E., (1926).** Ann. phys. Leipzig. 76 361.
- **Scotti, M. T., Fernandes, M. B., Ferreira, M. J. P., Emerenciano, V. P., (2007).** "Quantitative structure-activity relationship of sesquiterpene lactones with cytotoxic activity." Bioorg. Med. Chem.15, 2927-2934.
- **Selassie, C. D., (2003).** "History of quantitative Structure-Activity relationships", in Book "History of quantitative Structure-Activity relationships", D. J. Abraham, Editor., John Wiley & Sons, Inc.,: California.

- Seyoum, A., Killeen, G.F., Kabiru, E.W., Knolls, B.G.J., Hassanali, A., (2003). Field efficacy of thermally expelled or live potted repellent plants against African malaria vectors in western Kenya. *Trop. Med. Int. Health*, p 8, 1005–1011.
- Shim, J.M., Kim, J., Tenson, T., Min, J.-Y., Kainov, D.E., (2017). Influenza Virus Infection, Interferon Response, Viral Counter-Response, and Apoptosis. *Viruses* 9.
- Shimizu, T., Takizawa, N., Watanabe, K., Nagata, K., Kobayashi, N., (2011). Crucial role of the influenza virus NS2 (NEP) C-terminal domain in M1 binding and nuclear export of vRNP. *FEBS Lett.* 585, 41–46 Le Goffic et al., 2011.
- Sieczkarski, S.B., Whittaker, G.R., (2003). Differential requirements of Rab5 and Rab7 for endocytosis of influenza and other enveloped viruses. *Traffic* 4, 333–343.
- Simon, Z., (1974). *Angew. Chem. Int. Ed. Eng.* 13, 719.
- Simonsen, L., Spreuwenberg, P., Lustig, R., Taylor, R.J., Fleming, D.M., Kroneman, M., Van Kerkhove, M.D., Mounts, A.W., and Paget, W.J. (2013). Global Mortality Estimates for the 2009 Influenza Pandemic from the GLAMOR Project: A Modeling Study. *PLoS Med* 10.
- Sivropoulou, A., Nikolaou, C., Papanikolaou, E., Kokkini, S., Lanaras, T., Arsenakis, M., (1997). Antimicrobial, cytotoxic and antiviral activities of *Salvia fruticosa* essential oil. *J. Agric. Food Chem*, 45, 3197–3201.
- Slater, J.C., (1974). *The self-consistent field for molecules and solids*, McGraw-Hill New York.
- Slater, J.C., (1929). *Physical Review.* 34 1293.
- Smither, S. J., Lear-Rooney, C., Biggins, J., Pettitt, J., Lever, M. S., Olinger, G. G., Jr., (2013). Comparison of the plaque assay and 50% tissue culture infectious dose assay as methods for measuring filovirus infectivity. *J Virol Methods* 193, 565-571.
- Sokolov D.N., Zarubaev V.V., Shtro A.A., Polovinka M.P., Luzina O.A., Komarova N.I., Salakhutdinov N. F., and Kiselev O.I. (2012). *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 22, 7060.
- Sokolova, A.S., Yarovaya O.C., Korchagina D.V., Zarubaev V.V., Tretiak T.S., Anfimov P.M., Kiselev O.I., and Salakhutdinov N.F. (2014). *Bioorg. Med. Chem.* 22, 2141.
- Soković, M., Van Griensven, L, (2006). *J.L.D. Antimicrobial activity of essential oils and their components against the three major pathogens of the cultivated button mushroom, Agaricus bisporus.* *Eur. J. Plant Pathol.* 2006, p 116, 211–224.
- Solomonov, B. N., Konovalov, A.I., Norikov, V.B., Borbachuk, V.V., Neklyudov S.A., (1985). *J. Gen. Chem.* 55, 1681.
- Spss 19 For Windows, SPSS software packages, SPSS Inc., 444 North Michigan Avenue, Suite 3000, Chicago, Illinois, 60611, USA. <http://www.spss.com>
- Srivastava A.K., and Shukla N. (2013). *J. Saudi Chem. Soc.* 17 321-328.
- Srivastava R. K., Narayan V., Kumar A., Prasad O, Sinha L., (2012). Theoretical studies on the isomers of quinazolinone by first principles. *Res. J. Recent Sci.* 1 11-18.
- Stevens, R.V., Gaeta, C.A., (1977). Camphorae: Chiral intermediates for the total synthesis of steroids. *J. Am. Chem. Soc.* p 99, 6105–6106.
- Stewart, J.J.P., (1989), *Comp. J. Chem.*, 10, 221.

- **Suarez D., Spackman E., Senne D., Bulaga L., Welsch A., Froberg K., (2003).** The effect of various disinfectants on detection of avian influenza virus by real time RT-PCR. *Avian Dis* 47 (3 Suppl): 1091–5
- **Sugrue, R.J., Tan, B.H., Yeo, D.S.Y., Sutejo, R., (2008).** Antiviral drugs for the control of pandemic influenza virus. *Annals Academy of Medicine Singapore* 37: 518-524.
- **Sutour, S., (2010).** Etude de la Composition Chimique d’Huiles Essentielles et d’Extraits de Menthes de Corse et de Kumquats, l’Universite de Corse.
- **Suzuki H., Saito R., Masuda H., Oshitani H., Sato M., Sato, I., (2003).** Emergence of amantadine-resistant influenza A viruses: epidemiological study. *J Infect Chemother* 9: 195-200.
- **Suzuki T., Kudo Y. (1990).** *J Computer-Aided Mol Des.* 4 155.

-T-

- **Tham, S.Y., Agatonovic-Kustrin, S., (2002).** Application of the artificial neural network in quantitative structure-gradient elution retention relationship of phenylthiocarbamyl amino acids derivatives, *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 28(3), 581-590.
- **Thomas, G., (2003).** "Fundamentals of Medicinal Chemistry". "The SAR and QSAR approaches to drug design". John Wiley & Sons, Ltd.
- **Todeschini R., Consonni V., Mannhold R., (2009).** Molecular Descriptors for Chemoinformatics, *Drug Discovery & Development*, 41(2).
- **Tong, S., Li, Y., Rivaller, P., Conrardy, C., Castillo, D.A.A., Chen, L.-M., Recuenco, S.,**
- **Trimen, H., Bentley, R., (1880).** Medicinal plants. Being descriptions with original figures of the principal plants employed in medicine and an account of the characters, properties, and uses of their parts and products of medicinal value., volume3. J. London & A. Churchill.
- **Tuppurainen, K., Viisas, M., Laatikainen, R., Peraekylae, M., (2002).** Evaluation of a novel electronic eigenvalue (EEVA) molecular descriptor for QSAR/QSPR studies: validation using a benchmark steroid data set. *J. Chem. Inform. Comput Sci.* 42, 607-613.
- **Turner, D.B., Willett, P., Ferguson, A.M., Heritage T., (1997).** Evaluation of a novel infrared range vibration-based descriptor (EVA) for QSAR studies. 1. General application. *J. Comput.Aided. Mol. Des.* 11, 409-422.
- **Turrell, L., Lyall, J.W., Tiley, L.S., Fodor, E., and Vreede, F.T., (2013).** The role and assembly mechanism of nucleoprotein in influenza A virus ribonucleoprotein complexes. *Nat Commun* 4, 1591.

-U-

- **U.S. National Plant Germplasm System (2013).** Cinnamomum camphora information from npgs. URL <https://npgsweb.ars-grin.gov/gringlobal/taxonomydetail.aspx>.
- **U.S. National Plant Germplasm System, (2013).** U.S. National Plant Germplasm System : Cinnamomum camphora information from npgs, 2013. URL <https://npgsweb.ars-grin.gov/gringlobal/taxonomydetail.aspx>.

-V-

- **Valko, K., Du C., Bevan, C., Reynolds, D., Abraham, M., Testa, B., Van de Waterbeemd H., Folkers G., & Guy R., (Eds.), (2001).**

- **Van der Voet H. (1994).** Comparing the predictive accuracy of models using a simple randomization test. *Chemometr. Intell. Lab. 25* 313-23.
- **Van der Weerd J., R.M.A. Heeren, and Boon J.J., (2004).** Preparation methods and accessories for the infrared spectroscopic analysis of multi-layer paint films, *Studies in Conservation. 49* 193-210.
- **Van Riel, D., Munster, V. J., de Wit E., Rimmelzwaan, G. F., Fouchier, R. A., Osterhaus, A. D., Kuiken, T., (2007).** Human and avian influenza viruses target different cells in the lower respiratory tract of humans and other mammals. *Am J Pathol 171*: 1215-23.
- **Van Wyk, B.E., Van Oudtshoorn, B., Gericke, N., (2009).** *Medicinal plants of South Africa, 2nd ed.; Briza Publications: Pretoria, South Africa*; p. 92.
- **Veber, D. F., Johnson, S. R., Cheng, H.Y., Smith, B. R., Ward, K. W., Kopple, K. D., (2002).** Molecular properties that influence the oral bioavailability of drug candidates. *J. Med. Chem. 45*, 2615-23.
- **Verma, R.P., Hansch, C., (2010).** QSAR modeling of taxane analogues against colon cancer. *Eur. J. Med. Chem. 45*. 1470-1477.
- **Verma R., Kurup A., Hansch C. (2005).** *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 13 237.
- **Vibrational frequency scaling factors.** (<http://ccbdb.nist.gov/vibscalejust.asp>).
- **Viljoen, A., Van Vuuren, S., Ernst, E., Klepser, M., Demirci, B., Baser, H., Van Wyk, B., (2003).** *Osmitopsis astericoides* (Asteraceae)—The antimicrobial activity and essential oil composition of a Cape-Dutch remedy. *J. Ethnopharmacol.*, p 88, 137–143.
- **Vistoli, G., Pedretti, A., Testa, B., (2008).** *Drug. Discov. Today*. 13, 285.
- **Viswanadhan, V.N., Ghose, A.K., Revankar, G.R. Robins R.K, (1989).** Atomic physicochemical parameters for 3D structure directed quantitative structure-activity relationships: Additional parameters for hydrophobic and dispersive interactions and their application for an automated superposition of certain naturally occurring nucleoside antibiotics, *Journal of Chemical Information and Modeling*, 29, 163–172.
- **Viswanadhan V. N., Ghose A.K., Revankar G.R., and Robins R. K. (1989).** *J. Chem. Inform. Comput.Sci.*29 1631.

-W-

- **Wanyang, S., Wei, H., Guangyu, W., (1989).** Study on chemical constituents of the essential oil and classification of types from *cinnamomum camphora*. *Acta Botanica Sinica (China)*, 31(3):209–214
- **Walter, S., Judd, C. S., Campbell, E.A., Kellogg, Stevens, P., (2002).** *Botanique systématique : Une perspective phylogénétique. De Boeck Supérieur.*
- **Walsh, D., Mathews, M.B., Mohr, I. (2013).** Tinkering with translation: protein synthesis in virus-infected cells. *Cold Spring Harb Perspect Biol* 5, a012351.
- **Watanabe, T., Watanabe, S., Kawaoka, Y., (2010).** Cellular networks involved in the influenza virus life cycle. *Cell Host Microbe* 7, 427–439.
- **Webster, RG., Monto, AS., Braciale, TJ., Lamb, RA., (2013).** *Textbook of influenza (second édition): By John Wiley & Sons, Ltd.*
- **Wermuth, CG., Ganellin, CR., Lindberg, P., Mitscher, LA., (1998).** Glossary of terms used in medicinal chemistry (IUPAC Recommendations 1998). *Pure Appl Chem*; 70:1129-43

- **Whangbo M., Burdett J., Albright T., (1985).** *Orbital Interactions in Chemistry*. Wiley, New York.
- **W.H.O (2003).** World Health Organization Fact sheet N°211. Lowen, A.C. (2017). Constraints, Drivers, and Implications of Influenza A Virus Reassortment. *Annu Rev Virol* 4, 105– 121.
- **Wold, S., Eriksson, L., (1995).** Statistical validation of QSAR results. Validation tools. *Methods and Principles in Medicinal Chemistry*, 2 309-18.
- **Worth, A.P., Bassan, A., De Bruijn, J., Gallegos Saliner, A., Netzeva, T., Pavan, M., Patlewicz, G., Tsakovska, I., Eisenreich, S., (2007).** The role of the European Chemicals Bureau in promoting the regulatory use of (Q)SAR methods†, *SAR QSAR Environ. Res.* 18, 111–125. doi:10.1080/10629360601054255.

-X-

- **Xu, H., Blair, N.T., Clapham, D.E., (2005).** Camphor activates and strongly desensitizes the transient receptor potential vanilloid subtype 1 channel in a vanilloid-independent mechanism. *J. Neurosci*, 25, 8924–8937.

-Y-

- **Yadav, M., (2011).** *Bioinformation*. 7 388.
- **Yángüez, E., Rodriguez, P., Goodfellow, I., Nieto, A., (2012).** Influenza virus polymerase confers independence of the cellular cap-binding factor eIF4E for viral mRNA translation. *Virology* 422, 297–307.
- **Yousfi, Y., (2017).** Étude QSAR de l'Activité Anti-oxydante d'Une Série de Composés Phénoliques , Thèse de doctorat, Université Abou-Bekr Belkaid – Tlemcen.

-Z-

- **Zhou, X., Li, X.-D., Yuan, J.-Z., Tang, Z.-H., Liu, W.-Y., (2000).** Toxicity of cinnamomin – a new type II ribosome-inactivating protein to bollworm and mosquito, *Insect Biochemistry and Molecular Biology*, p 30, 259-264.
- **Zhou, Z., R.G., (1990).** Parr, —Activation hardness: new index for describing the orientation of electrophilic aromatic substitution‡, *Journal of the American Chemical Society*, 112(15), 5720–5724

ANNEXES

Annexe 1

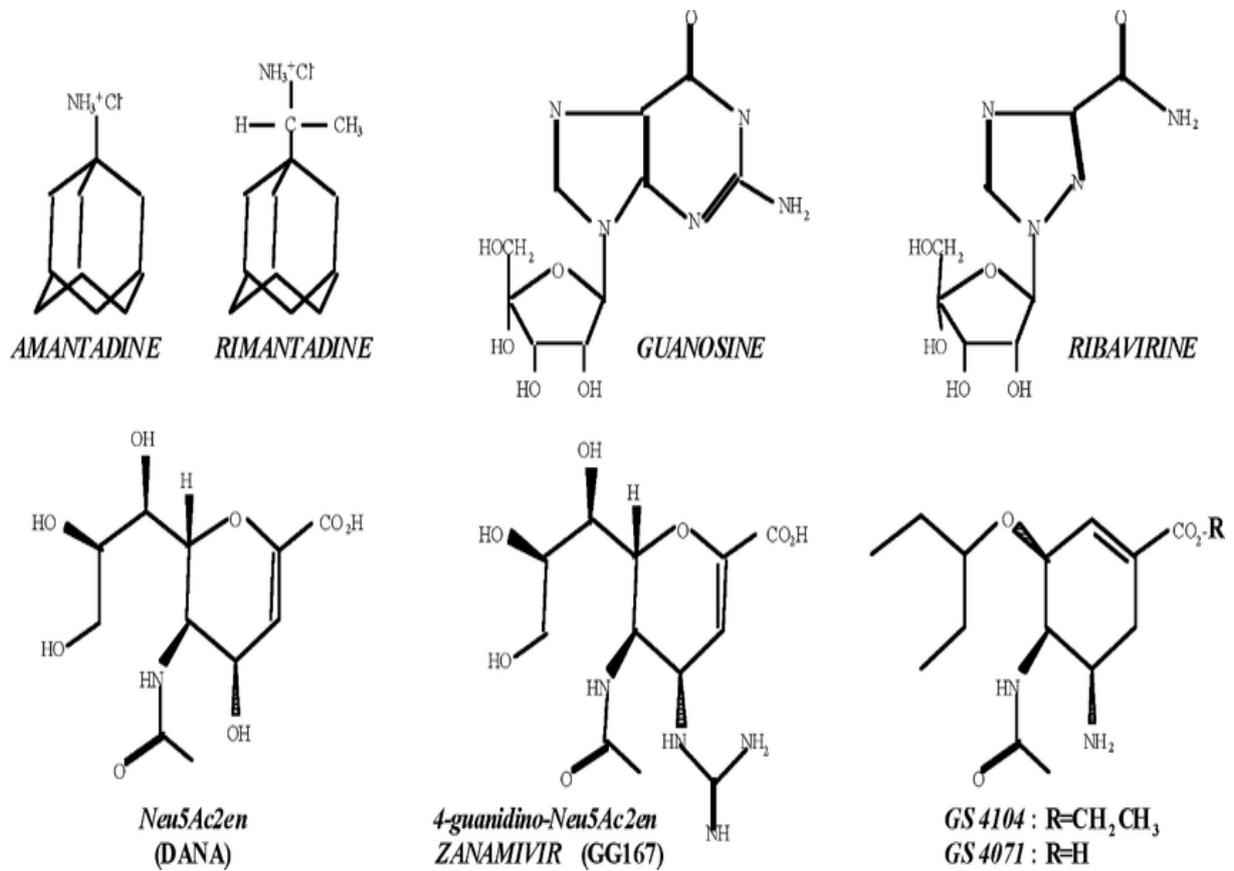


Figure 1 : Structures chimiques des molécules antivirales développées pour lutter contre les virus grippaux. Reproduit d'après J. C. Manuguerra et S. van der Werf (2002).

Manuguerra, J.-C. & van der Werf, S.2002. Les inhibiteurs de neuraminidase: une nouvelle classe d'antiviraux contre la grippe. *Virologie* 6: S129 – S138.

Annexe 2

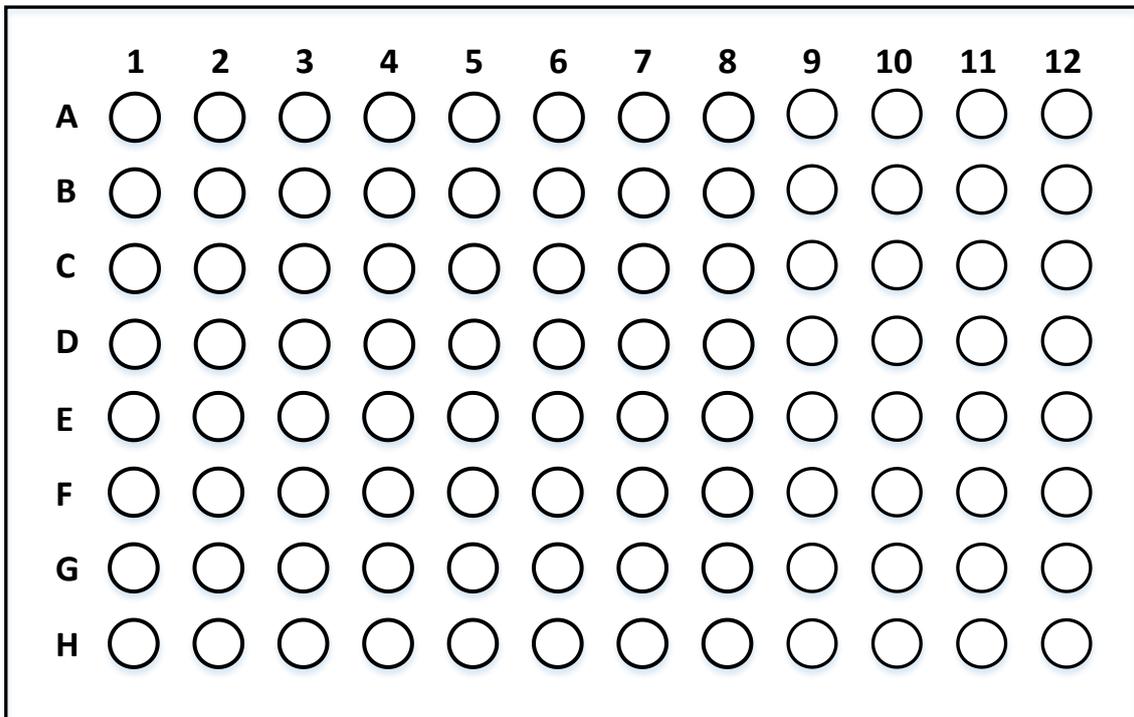


Figure 2 : Plaques 96 puits.

Annexe 3

| Statistic | Summary Stat |
|-------------------------|--------------|
| | Value |
| Multiple R | 0,963 |
| Multiple R ² | 0,927 |
| Adjusted R ² | 0,883 |
| F(9,15) | 21,095 |
| p | 0,0000006 |
| Std.Err. of Estimate | 0,297 |

Tableau 1 : Analyse sur Statistica 12.

$r=0.963$, reste très proche de 1, excellente corrélation linéaire

$p=6.10^{-7}$, la degré de signification de la régression est très hautement significatif ($p \ll 0.0001$).

| Effect | Analysis of Variance; DV: p(exp) (Data de travail.sta) | | | | |
|----------|--|----|--------------|--------|-----------|
| | Sums of Squares | df | Mean Squares | F | p-value |
| Regress. | 16,75 | 9 | 1,862 | 21,095 | 0,0000006 |
| Residual | 1,324 | 15 | 0,088 | | |
| Total | 18,08 | | | | |

Tableau 2 : Analyse de variance (Overall goodness of fit) très hautement significative.

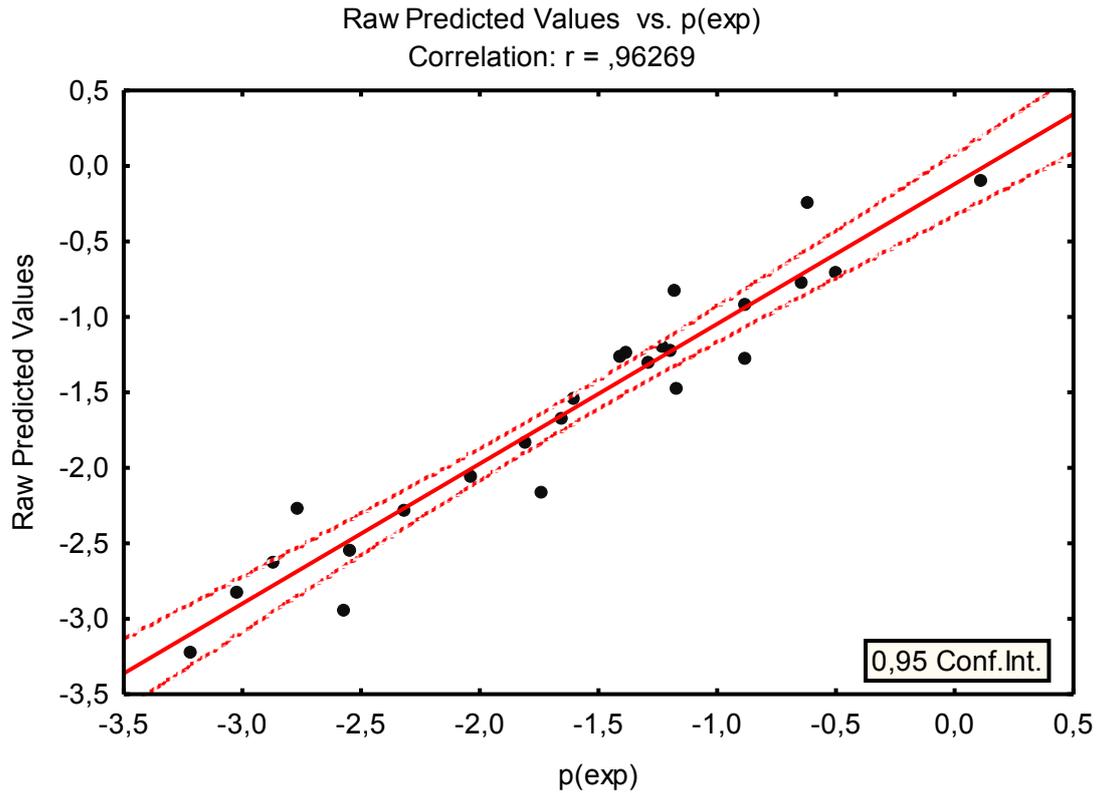


Figure 1 : Corrélation entre l'activité biologique expérimentale et prédite.
(Durbin-Watson statistic).

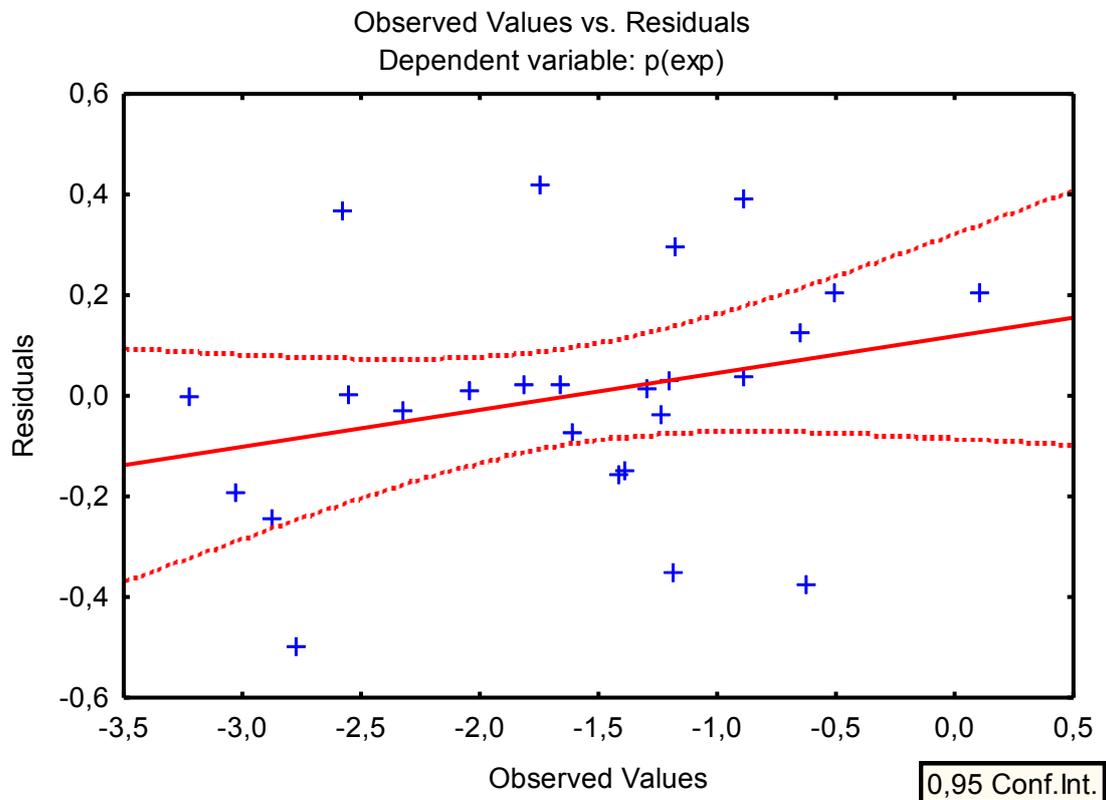


Figure 2: Corrélation entre l'activité biologique entre expérimentale et résiduelle.
(Durbin-Watson statistic).

**DRUG LIKENESS FILTERS AND QSAR ANALYSIS OF CAMPHOR-BASED
DIIMINES DERIVATIVES AS ANTIVIRAL AGENTS**W. Hamzi^{1,2}, N. Tchouar², S. Belaidi^{3,*}, O. Oukil², N. Aoumeur², S. Medjahed²

¹Département de biotechnologie, Faculté des sciences de la nature et de la vie, Université des sciences et technologies d'Oran-Mohamed Boudiaf (USTO-MB) Oran 31000, Algérie

²Laboratoire Génie des Procédés et Environnement (GPE), Faculté de chimie, Université des sciences et technologies d'Oran (USTO) BP 1503 Oran 31000, Algérie

³Groupe de chimie informatique et pharmaceutique, Laboratoire de chimie moléculaire et environnement, Université de Biskra, BP 145 Biskra 07000, Algérie

Received: 13 November 2019 / Accepted: 31 December 2019 / Published online: 01 January 2020

ABSTRACT

In the present study, Quantitative structure–activity relationship (QSAR) study has been applied on twenty-five molecules of camphor-based symmetric diimines. A Multiple Linear Regression (MLR) procedure was used to correlate the relationships between molecular descriptors and the biological activity of camphor-based symmetric diimine derivatives. The predictivity of the model was estimated by cross-validation with the leave-one-out method. Our results suggest a QSAR model based on the following descriptors: MW, HE, Pol, MR, MV, HBA, NRB, PSA, μ and E_{total} , for the influenza virus reproduction inhibition to confirm the predictive power of the models. High correlation between experimental and predicted activities was observed, indicating good quality of the QSAR model.

Keywords: Camphor, diimines derivatives, influenza virus, MLR, QSAR.

Author Correspondence, e-mail: prof.belaidi@mail.com

doi: <http://dx.doi.org/10.4314/jfas.v12i1.28>



1. INTRODUCTION

Influenza is a serious public health problem that results in serious illness in high-risk populations [1,2]. Influenza A virus is a respiratory pathogen that affects human health worldwide [3]. Two forms of drugs have been used for influenza therapy, M2 ion channel inhibitors (amantadine and rimantadine) and NA (neuraminidase) inhibitors (oseltamivir and zanamivir) [4,5].

The development of new drugs for the treatment of viral infections is one of the most important promising leads in medicinal chemistry. Outbreaks of avian influenza H5N1 (1997–2006) followed by pandemic of ‘swine flu’ in California/07/09 (H1N1) pdm09.

The recent introduction of avian virus of H7N9 subtype to the human population makes it necessary to revise the problem of searching for and developing novel antivirals [4].

In addition, the presence of specific antivirals also serves as a particular factor resulting in fast emergence of drug-resistant virus strains. These processes lead the screening of viral variants that are capable both of escaping the immune inactivation by neutralizing antibodies and of overcoming the suppressive action of antiviral drugs [5].

Camphor derives naturally from the bark of the *Cinnamomum camphora* tree, and is a major essential oil in many aromatic plants; camphor may be synthesized, using turpentine as a starting material [5,6]. Camphor has been used medicinally since ancient times in Asia and since the middle ages in Europe. Currently, camphor is used as an antimicrobial, antiviral, and analgesic agent. Camphor is also found in many cosmetics. Moreover, camphor derivatives exhibit several biological activities. Camphor derivatives of various types may be useful both from the viewpoint of their practical application and as key intermediates in fine organic synthesis, including enantioselective transformations. The significance of camphor is also determined by the fact that it is a natural renewable substance. Amino camphor derivatives were found to be effective inhibitors of M2 ion channels of influenza A [7]. The new imino-derivatives of camphor demonstrate high antiviral activity together with low toxicity [8].

Drug-likeness is a qualitative concept used in drug design, which is estimated from the molecular structure before the substance is even synthesized or after synthesis. The theoretical

calculation of certain properties of a molecule can inform the parameters necessary to demonstrate a certain biological activity. Lipinski's rule of five (ROF) is a rule of thumb to evaluate drug-likeness with a certain pharmacological or biological activity that would make it a likely orally active drug in humans [9,10].

QSAR study is indubitably of great importance in modern chemistry and biochemistry [11,12]. It is a mathematical model that was used to evaluate the toxicity of a compound from its physicochemical properties of electronic structures. To obtain a significant correlation, it is essential that appropriate descriptors are employed, whether they are theoretical or empirical [13,14].

The process of drug development is time-consuming and cost-intensive. Several years are required for lead identification, optimization [15-17], in vitro [18-29] and in vivo [30-34] testing before starting the first clinical trials [35].

Multiple linear regressions (MLR) is a mathematical tool that quantifies the relationship between a dependent variable and one or more independent variables, it was used to develop QSAR models [36,37] and all the variables that have been included in the model are significant [38].

Our present research aimed to describe the structure-activity relationships study on camphor-based symmetric diimines derivatives and developed a QSAR model on these compounds.

2. MATERIAL AND METHODS

2.1. Biological Data

The activity parameter as evaluated in California/07/09 (H1N1) pdm09, sensitive cell line was used: $A = ED_{50} \text{ compound, } \mu\text{M}$ [39,40].

A represent concentration of drug effective in inhibiting the cell-growth rate by 50% (ED50), dose-response curves were thus produced and used to determine this concentration [41].

Sokolova et al transformed the values of biological parameter to logarithmic scale; the inverse values of ED50 (pED50) were used to obtain higher values for the more active compounds [39].

2.2. Descriptors Generation

Firstly, the twenty-five investigated molecules were pre-optimized by means of the Molecular Mechanics Force Field (MM+) included in HyperChem release 8.08 [42]. After that, the resulted minimized structures were further refined using the semi empirical PM3 Hamiltonian implemented also in HyperChem. We chose a gradient norm limit of 0.01 kcal/Å for the geometry optimization. Then, these structures were re-optimized by using Gaussian 09 program package [43], with DFT/B3LYP/6-311G+ (d, p), this theory was used to calculate a number of electronic descriptors: total energy (Et), dipole moment (μ), energy of frontier orbital's, EHOMO and ELUMO.

The QSAR properties module from HyperChem 8.08 was used to calculate: molar polarizability (Pol), the molar refractivity (MR), partition coefficient octanol/water (log P), hydration energy (HE), molecular volume (MV), Surface area grid (SAG), and molecular weight (MW) [44-47].

Molinspiration, web based software was used to obtain parameter such as PSA (polar surface area), NRB (number of rotatable bonds), HBA, HBD and drug likeness [48].

2.3. Regression Analysis

Multiple linear regression analysis of molecular descriptors was carried out using the stepwise strategy in SPSS version 19 for Windows [49].

3. RESULTS AND DISCUSSION

3.1. Equilibrium geometry and electrostatic



Fig.1. 3D structure of camphor

Table 1. Bond lengths and valence angles of Camphor

| Comp. | Exp. ⁵⁰ | Ab-initio/HF | | | DFT/ B3LYP | | |
|-------------------------------|--------------------|--------------|-------------|---------|--------------|-------------|----------|
| | | 6-311G+(d,p) | 6- 311G (d) | 6-311G | 6-311G+(d,p) | 6- 311G (d) | 6- 311G |
| Bond length (angstrom) | | | | | | | |
| C1-C2 | 1.511 | 1.527 | 1.528 | 1.517 | 1.535 | 1.537 | 1.532 |
| C1-C6 | 1.525 | 1.526 | 1.526 | 1.519 | 1.534 | 1.536 | 1.532 |
| C1-O11 | 1.180 | 1.185 | 1.184 | 1.214 | 1.207 | 1.205 | 1.235 |
| C2-C3 | 1.564 | 1.538 | 1.538 | 1.540 | 1.542 | 1.541 | 1.548 |
| C3-C4 | 1.532 | 1.540 | 1.540 | 1.544 | 1.547 | 1.546 | 1.554 |
| C3-C7 | 1.590 | 1.556 | 1.556 | 1.562 | 1.566 | 1.566 | 1.574 |
| C4-C5 | 1.554 | 1.554 | 1.553 | 1.554 | 1.559 | 1.558 | 1.563 |
| C5-C6 | 1.551 | 1.557 | 1.556 | 1.562 | 1.567 | 1.566 | 1.575 |
| C6-C7 | 1.580 | 1.562 | 1.561 | 1.568 | 1.573 | 1.572 | 1.582 |
| C6-C8 | 1.536 | 1.517 | 1.516 | 1.515 | 1.517 | 1.515 | 1.518 |
| C7-C9 | 1.517 | 1.534 | 1.533 | 1.534 | 1.536 | 1.535 | 1.539 |
| C7-C10 | 1.516 | 1.538 | 1.537 | 1.538 | 1.539 | 1.539 | 1.542 |
| Valence angle (degree) | | | | | | | |
| C2-C1-C6 | 106.000 | 106.681 | 106.584 | 107.406 | 106.533 | 106.382 | 107.129 |
| C2-C1-O11 | 126.000 | 126.285 | 126.417 | 126.039 | 126.484 | 126.694 | 126.322 |
| C6-C1-O11 | 128.000 | 127.032 | 126.998 | 126.550 | 126.979 | 126.921 | 126.540 |
| C1-C2-C3 | 104.000 | 101.708 | 101.747 | 101.633 | 101.962 | 101.996 | 101.872 |
| C2-C3-C4 | 108.000 | 106.564 | 106.515 | 106.484 | 106.574 | 106.551 | 106.562 |
| C2-C3-C7 | 099.000 | 102.614 | 102.617 | 102.484 | 102.661 | 102.684 | 102.569 |
| C4-C3-C7 | 104.000 | 102.833 | 102.794 | 102.734 | 102.749 | 102.714 | 102.639 |
| C3-C4-C5 | 103.000 | 102.668 | 102.686 | 102.809 | 102.738 | 102.769 | 102.900 |
| C4-C5-C6 | 105.000 | 104.315 | 104.304 | 104.288 | 104.448 | 104.429 | 104.377 |
| C1-C6-C5 | 102.000 | 103.184 | 103.243 | 103.225 | 102.931 | 102.996 | 103.086 |
| C1-C6-C7 | 100.000 | 100.311 | 100.389 | 100.219 | 100.475 | 100.544 | 100.399 |
| C1-C6-C8 | 112.000 | 114.256 | 114.076 | 114.545 | 114.537 | 114.205 | 114.684 |
| C5-C6-C7 | 103.000 | 102.191 | 102.167 | 101.974 | 101.924 | 101.940 | 101.723 |
| C5-C6-C8 | 117.000 | 114.892 | 114.908 | 114.975 | 114.993 | 115.036 | 115.059 |
| C7-C6-C8 | 119.000 | 119.658 | 119.726 | 119.520 | 119.571 | 119.730 | 119.472 |
| C3-C7-C6 | 093.000 | 093.846 | 093.875 | 093.683 | 093.813 | 093.825 | 093.654 |
| C3-C7-C9 | 114.000 | 113.716 | 113.676 | 113.732 | 113.656 | 113.622 | 113.680 |
| C3-C7-C10 | 109.000 | 113.876 | 113.852 | 113.771 | 114.114 | 114.059 | 113.974 |
| C6-C7-C9 | 115.000 | 114.581 | 114.622 | 114.501 | 114.269 | 114.363 | 114.219 |
| C6-C7-C10 | 112.000 | 113.693 | 113.619 | 113.500 | 113.368 | 113.391 | 113.2632 |
| C9-C7-C10 | 112.000 | 107.083 | 107.066 | 107.438 | 107.414 | 107.386 | 107.768 |

The optimized geometrical parameters of camphor (Fig.1) were obtained using ab initio/HF and DFT/B3IYP methods with 6-311G+ (d,p), 6- 311G (d) and 6-311G basis, listed in Table 1

with the experimental results [50] which are approximately similar to the theoretical results, regarding bond length and valence angle values. We also note that the DFT/B3LYP method with 6-311G+ (d,p) base is more appropriate for further study on camphor (Table 1).

The molecular electrostatic potential surface MESP is a piece of electrostatic potential mapped onto the iso-electron density surface [51], the importance of the MESP lies in the fact that at the same time it shows the molecular size and form whether positive, negative and neutral electrostatic potential areas in terms of the electrostatic surface, which illustrate the investigation of the molecular structure with its physicochemical properties [52-54].

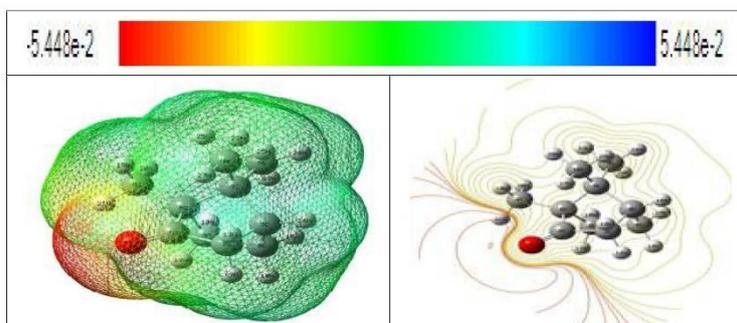


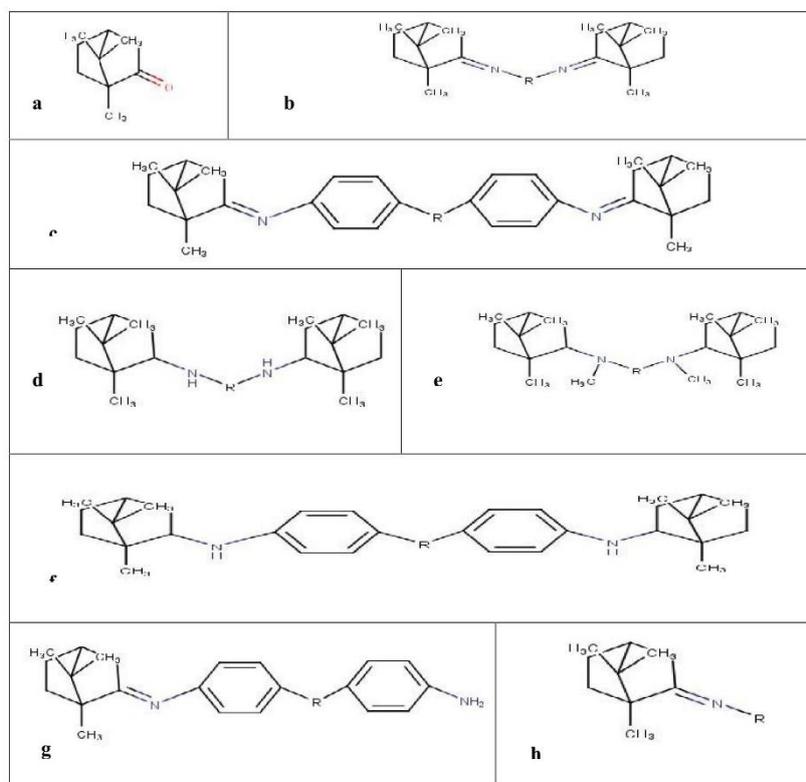
Fig.2. 3D MESP surface map and 2D MESP contour map for Camphor

3.2. Structure activity relationship (SAR)

3.2.1. Drug likeness filters of camphor-based symmetric diimines Derivatives

In this part, we have applied rules of thumb on twenty-five derivatives of camphor-based symmetric diimines with respect to their antiviral activity [33, 34] (Fig.3 and Table 2).

The properties involved are: partition coefficient octanol/water (logP), molecular weight (MW), hydrogen bond donors (HBD), hydrogen bond acceptors (HBA), number of rotatable bonds (NRB), polar surface area (PSA). The results using HyperChem 8.0.8 and MarvinSketch6.8.31 [55] and Molinspiration online database [42], are shown in Table 3.



These structures were designed by MarvinSketch 15.8.31 software⁵⁵

Fig.3. 2D structures of camphor-based symmetric diimines derivatives

The empirical conditions to satisfy Lipinski's rule and manifest a good oral bioavailability involve a balance between the aqueous solubility of a compound and its ability to diffuse passively through the different biological barriers [56,57]. These parameters allow ascertaining oral absorption or membrane permeability that occurs when the evaluated molecule follows Lipinski's rule of five since molecular weight (MW) ≤ 500 Da, an octanol water partition coefficient $\log P \leq 5$, H-bond donors, nitrogen or oxygen atoms with one or more hydrogen atoms (HBD) ≤ 5 and H-bond acceptors, nitrogen or oxygen atoms (HBA) ≤ 10 [58].

For an ideal oral bioavailability, there are two other descriptors identified by Veber et al [59].

(1) Rotatable bonds are under 10.

(2) Polar surface area is under 140 \AA^2 .

Table 2. Chemical structures, experimental and predicted activities of the studied molecules

| N° | R | pED ₅₀ exp. ^{39,40} | pED ₅₀ pred. | pED ₅₀ resid. |
|-----|---------------------------------|---|-------------------------|--------------------------|
| 1a | / | -3.216 | -3.345 | 0.129 |
| 2b | C ₆ H ₁₂ | -1.179 | -1.019 | -0.160 |
| 3b | C ₈ H ₁₆ | -1.384 | -1.136 | -0.248 |
| 4b | C ₁₂ H ₂₄ | -1.653 | -1.540 | -0.113 |
| 5c | CH ₂ | -2.545 | -2.512 | -0.034 |
| 6c | O | -2.572 | -2.914 | 0.342 |
| 7d | C ₆ H ₁₂ | 0.113 | 0.021 | 0.092 |
| 8d | C ₇ H ₁₄ | -0.506 | -0.733 | 0.228 |
| 9d | C ₁₂ H ₂₄ | -0.643 | -0.832 | 0.189 |
| 10e | CH ₂ | -3.022 | -2.797 | -0.225 |
| 11e | O | -2.317 | -2.291 | -0.026 |
| 12f | C ₆ H ₁₂ | -2.041 | -2.131 | 0.089 |
| 13f | C ₇ H ₁₄ | -1.607 | -1.505 | -0.102 |
| 14g | CH ₂ | -1.176 | -1.433 | 0.257 |
| 15g | O | -0.623 | -0.321 | -0.302 |
| 16h | C ₃ H ₇ | -1.294 | -1.200 | -0.094 |
| 17h | C ₄ H ₉ | -0.886 | -1.263 | 0.376 |
| 18h | C ₅ H ₁₁ | -0.886 | -0.924 | 0.038 |
| 19h | C ₆ H ₁₃ | -1.414 | -1.312 | -0.103 |
| 20h | C ₈ H ₁₇ | -1.810 | -1.861 | 0.051 |
| 21h | C ₁₀ H ₂₁ | -1.235 | -1.357 | 0.122 |
| 22h | C ₁₂ H ₂₅ | -1.195 | -1.150 | -0.046 |
| 23h | C ₁₈ H ₃₇ | -2.871 | -2.774 | -0.098 |
| 24h | cyclopropyl | -2.772 | -2.227 | -0.545 |
| 25h | cyclohexyl | -1.743 | -1.927 | 0.184 |

The rules are based on a strong physicochemical rationale. Hydrogen bonds increase solubility in water and help the water soluble of low molecular weight to pass through the aqueous pores of biological membranes with molecules passive diffusion [60].

Table 3 shows that all the studied derivatives are compatible with Lipinski rules. Molecular weight (MW) is related to the size of the molecule, with its increasing, a larger cavity should be formed in water to solubilize the compound [61]. We have all series compounds of camphor derivatives with molecular weights less than 500 Da, so they are probably soluble and easily pass through cell membranes.

Log P is used to predict the solubility of oral drug; this is done by partitioning the molecule

between water and the hydrophobic solvent n-octanol, and determining the log P value as the ratio of the concentration of the compound in n-octanol and to that in water [62].

The number of rotatable bonds (NRB) was defined as any single bond, not in a ring, bound to a heavy atom (non-hydrogen). Excluded from the count the amide bonds (C–N), because of their high rotational energy barrier [59]. The low number of rotatable bonds (reduced flexibility) in the studied series indicates that these ligands upon binding to a protein change their conformation only slightly. On the other hand, the polar surface area (PSA) is formed by polar atoms of a molecule.

It is a descriptor that shows good correlation with passive good oral bioavailability and an optimal biological activity [63]. Molecules with PSA values of 140 Å² or more are expected to exhibit poor intestinal absorption [64], PSA Values of camphor-based symmetric diimines are below the 140 Å² belong to the compounds with reduced absorption (Table 3).

Table 3. Pharmacological activities and properties involved in MPO methods for camphor camphor-based symmetric diimines derivatives

| Comp. | MW (a.m.u) | log <i>p</i> | HBD | HBA | Lipinski score of 4 | NRB | PSA |
|-------|---------------|--------------|-----|-----|---------------------------|-----|-------|
| 1a | 152.24 | 2.95 | 0 | 1 | 4 | 0 | 17.07 |
| 2b | 384.65 | 7.85 | 0 | 2 | 3 | 7 | 24.73 |
| 3b | 412.70 | 8.65 | 0 | 2 | 3 | 9 | 24.73 |
| 4b | 468.81 | 10.23 | 0 | 2 | 3 | 13 | 24.73 |
| 5c | 480.74 | 7.52 | 0 | 2 | 3 | 4 | 24.73 |
| 6c | 468.68 | 5.62 | 0 | 3 | 3 | 4 | 33.96 |
| 7d | 388.68 | 6.08 | 2 | 2 | 3 | 9 | 24.05 |
| 8d | 402.71 | 6.48 | 2 | 2 | 3 | 10 | 24.05 |
| 9d | 472.84 | 8.46 | 2 | 2 | 3 | 15 | 24.05 |
| 10f | 470.74 | 5.36 | 2 | 2 | 3 | 6 | 24.05 |
| 11f | 472.71 | 3.85 | 2 | 3 | 4 | 6 | 33.29 |
| 12e | 416.73 | 6.81 | 0 | 2 | 3 | 9 | 6.48 |
| 13e | 430.76 | 7.20 | 0 | 2 | 3 | 10 | 6.48 |
| 14g | 332.49 | 3.14 | 2 | 2 | 4 | 3 | 38.39 |
| 15g | 334.46 | 1.64 | 2 | 3 | 4 | 3 | 47.62 |
| 16h | 193.33 | 4.18 | 0 | 1 | 4 | 2 | 12.36 |
| 17h | 207.36 | 4.57 | 0 | 1 | 4 | 3 | 12.36 |
| 18h | 221.39 | 4.97 | 0 | 1 | 4 | 4 | 12.36 |
| 19h | 235.41 | 5.37 | 0 | 1 | 3 | 5 | 12.36 |
| 20h | 263.47 | 6.16 | 0 | 1 | 3 | 7 | 12.36 |
| 21h | 291.52 | 6.95 | 0 | 1 | 3 | 9 | 12.36 |
| 22h | 319.57 | 7.75 | 0 | 1 | 3 | 11 | 12.36 |
| 23h | 403.74 | 10.12 | 0 | 1 | 3 | 17 | 12.36 |
| 24h | 191.32 | 3.76 | 0 | 1 | 4 | 1 | 12.36 |
| 25h | 233.40 | 4.95 | 0 | 1 | 4 | 1 | 12.36 |

3.2.2. Structure Activity/Property Relationship for camphor-based symmetric diimines derivatives

In the first part of our studies, we have studied seven physical chemical proprieties of series of twenty five camphor-based symmetric diimines derivatives using HyperChem software (Tables 3 and 4). QSAR proprieties such as: MV, log P, MR, Pol, HE, MV and MW were investigated. The properties involved are: dipole moment (μ), Energy of frontier orbital's E_{HOMO} and E_{LUMO} and total Energy (Et)

Molecular polarizability of a molecule characterizes the capability of its electronic system to be distorted by the external field, and it plays an important role in modeling many molecular properties and biological activities [65,67]. The molar refractivity (MR) is important criterion to measure the steric factor. It is usually designated as a simple measure of the volume occupied either by an individual atom or a cluster (group) of atoms [68].

From the results obtained in Tables 4, we observe that polarizability data are generally proportional to refractivity, molecular volume and molecular weight. This explains the accordance of our results with Lorentz- Lorenz expression [69, 70] for example, the compound 5c has great values of polarizability (59,24 Å³) and molar refractivity (158,83 Å³). In contrast, the compound 1a is the small molecule in the series of studied camphor-based symmetric diimines, which has a small value of polarizability (17,66 Å³), and of molar refractivity (44,49 Å³). Compound 23h indicates the maximum absolute value of hydration energy (8,84 Kcal/mol). Regarding to compound 10f, it shows the minimum absolute value (0,07 Kcal/mol). In fact, hydrophobic molecule of camphor-based symmetric diimines derivatives leads to the decrease of the hydration energy.

We noticed that the compound 23h does not have HBD (number of hydrogen bond donors) and he has one HBA (Number of hydrogen bond acceptors) lead to the increase of the hydration energy. For good oral bioavailability, the log P must be greater than zero and less than three ($0 < \log P < 3$). A drug with higher log P has low solubility whereas drugs with lower log P have difficulty in penetrating the lipid membranes [71].

The results obtained by calculating of logP of camphor-based symmetric diimines derivatives, show that compounds 1a and 15g have optimal values ($0 < \log P < 3$) which explain the good

oral bioavailability for these compounds.

On the other hand, a positive value for log P indicates that the compound is too lipophilic. So it has a good permeability through biological membrane, a better binding to plasma proteins, elimination by metabolism but a poor solubility and gastric tolerance [72,73].

Table 4. Values of quantum and physicochemical descriptors used in the regression analysis

| N° | LogP | MR (Å ³) | MV (Å ³) | HE (kcal/mol) | Pol (Å ³) | SAG (Å ²) | E _t (a.u) | μ(D) | E _{HOMO} (a.u) | E _{LUMO} (a.u) |
|-----|-------|-------------------------|-------------------------|------------------|--------------------------|--------------------------|-------------------------|--------|----------------------------|----------------------------|
| 1a | 2.95 | 44.49 | 520.82 | 1.38 | 17.66 | 325.87 | -466.0434 | 3.3901 | -0.24672 | -0.3330 |
| 2b | 7.85 | 119.63 | 1145.34 | 3.61 | 47.26 | 597.86 | -1127.0195 | 3.1129 | -0.22248 | -0.00481 |
| 3b | 8.65 | 128.84 | 1361.59 | 5.46 | 50.93 | 761.97 | -1205.6634 | 3.4493 | -0.22461 | -0.01169 |
| 4b | 10.23 | 147.24 | 1594.79 | 7.34 | 58.27 | 892.23 | -1362.9688 | 3.2654 | -0.22547 | -0.01161 |
| 5c | 7.52 | 158.83 | 1411.81 | 2.21 | 59.24 | 745.24 | -1431.8980 | 3.9153 | -0.20408 | -0.03771 |
| 6c | 5.62 | 152.07 | 1400.15 | -0.87 | 56.20 | 772.48 | -1428.5438 | 5.3524 | -0.20224 | -0.03199 |
| 7d | 6.08 | 120.23 | 1292.86 | 3.68 | 48.09 | 728.52 | -1129.4523 | 1.3787 | -0.21900 | -0.00380 |
| 8d | 6.48 | 124.84 | 1291.63 | 3.41 | 49.93 | 704.84 | -1168.7645 | 1.5065 | -0.21941 | -0.00717 |
| 9d | 8.46 | 147.84 | 1565.27 | 5.21 | 59.10 | 857.02 | -1365.3837 | 0.8267 | -0.21812 | -0.00397 |
| 10f | 5.36 | 154.83 | 1414.52 | -0.07 | 58.24 | 766.28 | -1395.0397 | 2.2760 | -0.19925 | -0.02162 |
| 11f | 3.85 | 152.67 | 1410.50 | -2.93 | 57.4 | 773.91 | -1430.9595 | 2.9314 | -0.19318 | -0.01778 |
| 12e | 6.81 | 130.82 | 1263.88 | 5.28 | 51.76 | 653.03 | -1208.0319 | 0.9786 | -0.20508 | -0.00453 |
| 13e | 7.20 | 135.42 | 1355.26 | 5.89 | 53.60 | 712.27 | -1247.3559 | 0.1475 | -0.20552 | -0.00588 |
| 14g | 3.14 | 112.70 | 1036.89 | -5.82 | 41.02 | 591.82 | -1003.0586 | 2.5446 | -0.20173 | -0.02558 |
| 15g | 1.64 | 110.54 | 1031.80 | -8.51 | 39.82 | 601.09 | -1038.9743 | 2.8630 | -0.20159 | -0.02644 |
| 16h | 4.18 | 60.72 | 707.14 | 3.26 | 24.01 | 423.86 | -564.12522 | 1.8748 | -0.23452 | -0.00956 |
| 17h | 4.57 | 65.32 | 745.97 | 3.46 | 25.85 | 447.34 | -603.43840 | 2.0333 | -0.22634 | -0.01253 |
| 18h | 4.97 | 69.92 | 808.23 | 4.08 | 27.68 | 486.34 | -642.77271 | 1.8544 | -0.23395 | -0.00929 |
| 19h | 5.37 | 74.52 | 851.61 | 4.24 | 29.52 | 511.13 | -682.08766 | 2.0908 | -0.22562 | -0.01404 |
| 20h | 6.16 | 83.72 | 958.13 | 4.95 | 33.19 | 563.87 | -760.73330 | 2.0169 | -0.22591 | -0.01227 |
| 21h | 6.95 | 92.93 | 1067.49 | 5.71 | 36.86 | 643.09 | -839.38229 | 2.0864 | -0.22546 | -0.01406 |
| 22h | 7.75 | 102.13 | 1184.59 | 6.65 | 42.53 | 699.09 | -918.03843 | 1.9134 | -0.23350 | -0.00896 |
| 23h | 10.12 | 129.73 | 1506.49 | 8.84 | 51.54 | 880.66 | -1153.9803 | 1.9125 | -0.23348 | -0.00889 |
| 24h | 3.76 | 58.66 | 659.05 | 2.37 | 23.24 | 394.82 | -562.8666 | 2.1336 | -0.21890 | -0.01824 |
| 25h | 4.95 | 72.46 | 790.66 | 3.33 | 28.75 | 456.39 | -680.8882 | 1.7928 | -0.22906 | -0.01035 |

E_t, μ, E_{HOMO} and E_{LUMO} calculated by DFT/B3LYP/6-311G+(d,p) (Gaussian 09)

3.3. Quantitative Structure-Activity Relationships Studies (QSAR)

In the present study, twenty-five derivatives of camphor-based symmetric diimines were evaluated for their inhibitory activities of viral (Influenza virus) inhibitors (Table 2 and Fig.3).

In order to determine the role of structural features, we use QSAR studies, these compounds were used for multiple linear regressions (MLR) model generation. Different physicochemical descriptors such as steric, electronic and molecular structure were used as independent variables and were correlated with biological activity [74,76].

Developing a QSAR model requires a diverse set of data, and, thereby a large number of descriptors have to be considered. Descriptors are numerical values that encode different structural features of the molecules. Selection of a set of appropriate descriptors from a large number of them requires a method, which is able to discriminate between the parameters. Pearson's correlation matrix has been performed on all descriptors by using SPSS statistics 19 Software. The analysis of the matrix revealed ten descriptors for the development of MLR model. The values of descriptors selected for MLR model is presented in Table 5. The correlation between the biological activity (A) and descriptors expressed by the following relation:

$$\text{pED}_{50} = -3.081 - 0.051 \text{ MW} - 0.054 \text{ MV} + 1.063 \text{ HE} + 0.344 \text{ MR} + 0.397 \text{ Pol} \\ + 0.253 \text{ PSA} + 3.785 \text{ HBA} - 0.109 \text{ NRB} + 0.035 \text{ Et} - 1.275 \mu$$

$$n = 25; r = 0.970; r^2 = 0.940; s = 0.277; F = 22.053; Q = 4.273$$

where, "n" is the number of compounds, "r" is the correlation coefficient, "r²" is the squared correlation coefficient, S is the standard error of estimate and F – Fischer statistics.

The values of fraction variance may vary between 0 and 1.

QSAR model having $r^2 > 0.6$ will only be considered for validation. For example, the value $r = 0.970$ and $r^2 = 0.940$ allowed us to indicate firmly the correlation between different parameters (independent variables) with pED_{50} of the compounds. The F-value has found to be statistically significant at 95% level, since the calculated F value is higher as compared to tabulated value. The positive value of quality factor (Q) for this QSAR model suggests its high predictive power and lack of over fitting.

In the equation of pED_{50} the negative coefficients of MW, NRB, MV and μ explain that any

increase in molecular weight, number of rotatable bonds, molecular volume or dipole moment of the compounds cause a decrease in the biological activity.

Also the positive coefficient of HE indicates that any increase in hydration energy causes an increase in biological activity. From this parameter it may be concluded that hydrophilic molecules are more important for Influenza virus.

In order to test the validity of the predictive power of selected MLR model (eq.pED₅₀), the leave-one-out technique (LOO technique) was used. The developed model was validated by calculation of the following statistical parameters: predicted residual sum of squares (PRESS), total sum of squares deviation (SSY) and cross-validated correlation coefficient (r^2_{adj}) (Table 5).

PRESS is an important cross-validation parameter as it is a good approximation of the real predictive error of the model. Its value being less than SSY points out that model predicts better than chance and can be considered statically significant. The smaller PRESS value means the better of the model predictability. From the results depicted in Table 5, the model is statistically significant. Also, for reasonable QSAR model, the PREES/SSY ratio should be lower than 0.4 [77]. The data presented in Table 5 indicate that for the developed model this ratio is 0.060. Our result of r^2_{cv} for this QSAR model has been to be 0.940. The high value of r^2_{cv} and r^2_{adj} are essential criteria for the best qualification of the QSAR model.

The predictive error of the coefficient of correlation PE is yet another parameter used to evaluate the predictive power of the proposed model [78]. We have calculated the PE value of the proposed model and this is reported in Table 5. It is argued that if

- If $r < PE$, then correlation is not significant;
- if $r > PE$, several times (at least three times), then correlation is indicated;
- if $r > 6 PE$, then the correlation is definitely good.

For the model developed the condition $r > 6 PE$ is satisfied and hence it can be said to have a good predictive power.

However, the only way to estimate the true predictive power of developed model is to predict the by calculation of pED₅₀ values of the investigated camphor-based symmetric diimines derivatives using this model (Fig.3 and table 2).

Table 5. Cross-validation parameters

| Model | PRESS | SSY | PRESS/SSY | S _{PRESS} | r ² _{cv} | r ² _{adj} | PE | 6PE |
|-------|-------|--------|-----------|--------------------|------------------------------|-------------------------------|-------|-------|
| 1 | 1.079 | 18,083 | 0.060 | 0.208 | 0.940 | 0.898 | 0.008 | 0.048 |

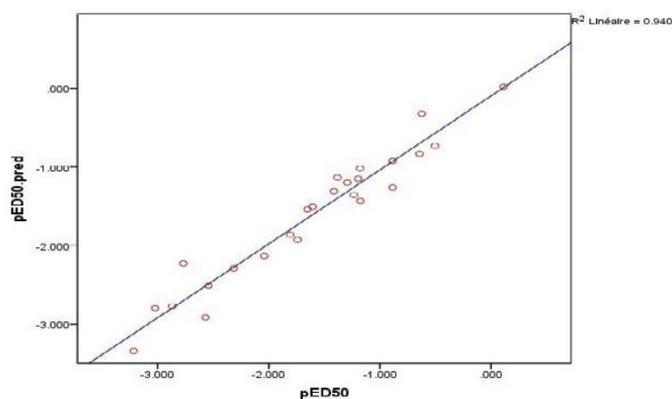


Fig.3. Predicted plot versus experimental observed pED₅₀of camphor-based diimines

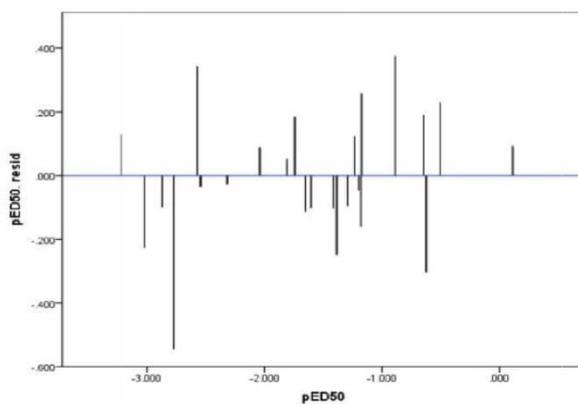


Fig.4. Plot of the residual values against the experimentally observed pED₅₀

Figure 3 shows the plots of linear regression predicted versus experimental value of the biological activity of camphor-based symmetric diimines derivatives outlined above. The

plots for this model show to be more convenient with $r^2 = 0.940$. It indicates that the model can be successfully applied to predict the antiviral activities of these compounds.

To investigate the presence of a systematic error in developing the QSAR model, the residuals of predicted values of the biological activity pED_{50} were plotted against the experimental values, as shows in Fig.4. The propagation of the residuals on both sides of zero indicates that no systemic error exists [79], as suggested by Jalali-Heravi and Kyani [80].

4. CONCLUSION

In the present work, the application of Lipinski rules and Veber rules on the studied camphor-based symmetric diimines derivatives shows that most of these compounds, theoretically, will not have problems with oral bioavailability.

QSAR study of the camphor-based symmetric diimines derivatives has been performed. A significant regression equation was obtained by the MLR method with respect to their experimental biological activities. The best equation of regression was obtained contains these descriptors: MW, HE, MR, MV, Pol, PSA, HBA, NRB, E and μ . QSAR model indicates that these descriptors have significant relationships with observed bioactivities.

5. REFERENCES

- [1] Sokolova A. S, Yarovaya O.I, Shernyukov A. V., Gatilov Y. V., Razumova Y. V., Zarubaev V.V., Tretiak T. S., Pokrovsky A. G., Kiselev O. I., and Salakhutdinov N. F. Discovery of a new class of antiviral compounds: Camphor imine derivatives. *Eur. J. Med. Chem.*, 2015, 105, 263-273
- [2] Quigley E., *Drug Discov. Today*, 2006, 11, 478-480, doi: 0.1016/j.drudis.2006.04.010
- [3] Fiers W., De Filette M., Birkett A., Neiryneck S., Min J.W., *Virus Res.* 2004, 103(1-2), 173-176, doi : 10.1016/j.virusres.2004.02.030
- [4] Nicoll A., Brown C., Karcher F., Penttinen P., Hegermann-Lindencrone M., Villanueva S., Ciotti M., Jean-Gilles L., Rehmeta S., and Nguyen-Van-Tamd, Bull J., *World Health Organ.* 2014, 22(7), 2141-2148, doi: 10.1016/j.bmc.2014.02.038. Epub 2014 Mar 1.
- [5] Chen W., Vermaak I., Viljoen A., *Molecules*, 2013, 18(5), 5434-5454, doi: 10.3390/molecules18055434

-
- [6] Martinez J. P., Sasse F., Bronstrup M., Diez J., Meyerhans A., Nat. Prod. Rep., 2015, 32, 29-48, doi:10.1039/C4NP00085D
- [7] Zhao X., Zhang Z.W., Cui W., Chen S., Zhou Y., Dong J., Jie Y., Wan J., Xu Y., Hu W., Med. Chem. Comm., 2015, 6(4), 727-731, doi: 10.1039/C4MD00515E
- [8] Zarubaev V.V., Garshinina A.V., Tretiak T.S., Fedorova V. A., Shtro A.A., Sokolova A.S., Yarovaya O.I., and Salakhutdinov N.F., Antiviral Res. 2015, 120, 126-133, doi: 10.1016/j.antiviral.2015.06.004
- [9] Joydeep M., Raja C., Saikat S., Anjay V., Biplab D., and Ravi T. K. Synthesis and biological evaluation of some novel quinoxalinyltriazole derivatives. Der Pharma Chemica, 2009, 1(2): 188-198
- [10] Joachim P., Nathalie M., Christine K., Gerald M., Bioorg. Med. Chem. 2012, 20, 5343-5351, doi: 10.1016/j.bmc.2011.11.064.
- [11] Fu L., Min N., Cai X., J. Biomater. Tissue Eng., 2019, 9(2), 198–205 doi: 10.1166/jbt.2019.1972
- [12] Shao W., Yuan L., Su S., Xin Z., Ma J., Wang S., J. Biomater. Tissue Eng. 2019, 9(1), 119-123, doi: 10.1166/jbt.2019.1942
- [13] Zheng H., Jie J., and Zheng Y., J. Bionosci. 2013, 7(6), 643-648, doi: 10.1166/jbns.2013.1165
- [14] Painuly D., Bhatt A., and Krishnan V.K., J. Biomater. Tissue Eng. 2014, 4(10), 823-833, doi: 10.1166/jbt.2014.1233
- [15] Li D., Yang L., Shi J., Hou E., and Zuo C., J. Bionosci., 2013, 7, 465-468, doi: 10.1166/jbns.2013.1116
- [16] Medjahed S., Belaidi S., Djekhaba S., Tchouar N., Kerassa A., J. Bionosci. 2016, 10(2), 118-126, doi:10.1166/jbns.2016.1358
- [17] Rouane A., Tchouar N., Kerassa A., Cinar M., Belaidi S., J. Bionosci. 2018, 12(2), 278-283, doi: 10.1166/jbns.2018.1511
- [18] Ge Y., Liu L., J. Bionosci, 2013, 7(5), 606-611, doi: 0.1166/jbns.2013.1180
- [19] Ayala A., Alexander J. D., Kargol A. U., J. Bionosci. 2014, 8(4), 309-312, doi: 10.1166/jbns.2014.1237

- [20]Kaur N., Yadav K., Garg R., Saroha K, Yadav D, J. Bionanosci. 2016, 10(3), 191-204, doi: 10.1166/jbns.2016.1340
- [21]Sekar G., Sivakumar A., Mukherjee A., Chandrasekaran N., J. Bionanosci. 2016, 10(2), 94-109, doi: 10.1166/jbns.2016.1352
- [22]Özden B., Yilmaz S., Baş B., Özden F.O., and Duran H., J. Biomater. Tissue Eng. 2017, 7(5), 413-417, doi: 10.1166/jbt.2017.1577
- [23]Fengyan H., An K, Wen X., Zhao P., Shi D., Lin C., Liu H., J. Biomater. Tissue Eng. 2017, 7(1), 35-44, doi: 10.1166/jbt.2017.1536
- [24]Jha N., Choi J.S., Kim J.H., Jung R., Choi E.H., Ryu J.J., Han I., J. Biomater. Tissue Eng., 2017,7(8), 662-670, doi: 10.1166/jbt.2017.1626
- [25]Almoammar K. A., Alkofide E., Alkathlan A., Alateeq Y., Alqahtani A., AlShaafim M. M., J. Biomater. Tissue Eng. 2017, 7(8), 671-677, doi: 10.1166/jbt.2017.1613
- [26]Wei B., Shi Z., Xiao J., Xu Y., Lv L., J. Biomater. Tissue Eng. 2017, 7(5), 418-425, doi: 10.1166/jbt.2017.1581
- [27]Xu H., Fang G., Gou J., Wang S., Yao Q., Zhang Y., Tang X., Zhao Y., J. Biomater. Tissue Eng. 2015, 5(12), 919-929, doi: 10.1166/jbt.2015.1405
- [28]AlQahtani M. A., Vohra F., Aljutayli H., Alomran W., J. Biomater. Tissue Eng. 2019, 9(2), 236-242, doi: 10.1166/jbt.2019.1968
- [29]Li J., Wang Z. Y., Hesham A., M. Fang M., Ma Y., Song Y.L., Jin L.Z., Gu X.Q., J. Biomater. Tissue Eng. 2019, 9(1), 69-75, doi: 10.1166/jbt.2019.1948
- [30]Li X., Rong Q., Chen S. L., J. Biomater. Tissue Eng. 2015, 5(6),445-451, doi: 10.1166/jbt.2015.1334
- [31]Guo H.G., Guo H.S., Yao F.L., Yang S.G., Chen Z., Wang T., J. Biomater. Tissue Eng. 2016, 6(2), 114-121, doi: 10.1166/jbt.2016.1427
- [32]Jeyapragas R., Poovi G., Rao M. S., Gopal R., Sivabalan M., J. Bionanosci. 2015, 9(6), 465-474, doi: 10.1166/jbns.2015.1331
- [33]Zakharov A.V., Lagunin A.A., Filimonov D.A., Poroikov V.V., J. Chem. Res. Toxicol. 2012, 25(11), 2378-2385, doi:10.1021/tx300247r
- [34]Alam, S. M. Samanta S., Halder A. K., Basu S., Jha T., Eur. J. Med. Chem. 2009, 44,

359-364, doi: 10.1016/j.ejmech.2008.02.042

[35] Guillén-Casla V., Rosales-Conrado N., León-González M. E., Pérez- Arribas L. V., Polo-Díez L. M., *J. Food Compos. Anal.* 2011, 24(3), 456-464 doi: 10.1016/j.jfca.2010.11.010

[36] Khamouli S., Belaidi S., Almi Z., Medjahed S. Belaidi H., *J. Bionosci.* 2017, 11(4), 301-309, doi: 10.1166/jbns.2017.1445

[37] Almi I., Belaidi S., Melkemi N., Bouzidi J., *J. Bionosci.* 2018,12, 49-57, doi: 10.1166/jbns.2018.1503

[38] Jaen J. C., Davis R.E., *Annu. Rep. Med. Chem.* 1994, 29, 23-32, doi: 10.1016/S0065-7743(08)60716-2

[39] Sokolova A.S., Yarovaya O.C., Korchagina D.V., Zarubaev V.V., Tretiak T.S., Anfimov P.M., Kiselev O.I., Salakhutdinov N.F., *Bioorg. Med. Chem.* 2014, 22(7), 2141-2148, doi: 10.1016/j.bmc.2014.02.038

[40] Sokolov D.N., Zarubaev V.V., Shtro A.A., Polovinka M.P., Luzina O.A., Komarova N.I., Salakhutdinov N. F., Kiselev O.I., *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 2012, 22(23), 7060-7064, doi: 10.1016/j.bmcl.2012.09.084

[41] Ramu A., Ramu N., *Cancer Chemother. Pharmacol.* 1992, 30(3), 165–173, doi: 10.1007/BF00686306

[42] HyperChem (Molecular Modeling System) Hypercube, Inc., 1115 NW, 4th Street, Gainesville, FL 32601, USA (2008).

[43] Frisch M. J., Trucks G. W., Schlegel H. B., Scuseria G. E., Robb M. A., Cheeseman J. R., Scalmani G., Barone V., Mennucci B., Petersson G. A., Nakatsuji H., Caricato M., Li X., Hratchian H. P., Izmaylov A. F., Bloino J., Zheng G., Sonnenberg J. L., Hada M., Ehara M., Toyota K., Fukuda R., Hasegawa J., Ishida M., Nakajima T., Honda Y., Kitao O., Nakai H., Vreven T., Montgomery J. A., Peralta J. E., Ogliaro F., Bearpark M., Heyd J. J., Brothers E., Kudin K. N., Staroverov V. N., Keith T., Kobayashi R., Normand J., Raghavachari K., Rendell A., Burant J. C., Iyengar S. S., Tomasi J., Cossi M., Rega N., Millam J. M., Klene M., Knox J. E., Cross J. B., Bakken V., Adamo C., Jaramillo J., Gomperts R., Stratmann R. E., Yazyev O., Austin A., Cammi R., Pomelli C., Ochterski J. W., Martin R. L., Morokuma K., Zakrzewski V. G., Voth G. A., Salvador P., Dannenberg J. J., Dapprich S., Daniels A. D.,

Farkas O., Foresman J. B., Ortiz J. V., Cioslowski J., Fox D. J., Gaussian 09, Gaussian Inc., Wallingford, CT, 2010.

[44]Dermeche K., Tchouar N., Belaidi S., Salah T., J. Bionanosci., 2015, 9(5), 395-400(6), doi: 10.1166/jbns.2015.1320

[45]Veber D.F., Johnson S.R., Cheng H.Y., Smith B.R., Ward K.W., Kopple K.D., J. Med. Chem. 2002,45(12), 2615-2623, doi: 10.1021/jm020017n

[46]Soualmia F., Belaidi S., Belaidi H., Tchouar N., Almi Z., J. Bionanosci. 2017, 11(6), 584-591, doi: 10.1166/jbns.2017.1476

[47]Sebaa Z., Tchouar N., Salah T., Belaidi H., Almi Z., and Belaidi S., J. Bionanosci., 2018, 12(1), 119-126, doi: 10.1166/jbns.2018.1491

[48]Database, [<http://www.molinspiration.com>].

[49]SPSS software packages, SPSS Inc., 444 North Michigan Avenue, Suite 3000, Chicago, Illinois, 60611, USA.

[50]Kwiatkowski J. S., Leszczynski J., Teca I., J. Mol. Struct. 1997, 436, 451-480, doi: 10.1016/S0022-2860(97)00125-7

[51]Prasad O., Sinha L., Kumar N., J. At. Mol. Sci.1, 2010. 1(3), 201-214, doi: 10.4208/jams.032510.042010a

[52]Chunzhi A., Li C. Y., Yonghua W., Yadong C., Ling Y., Bioorg. Med. Chem. Lett. 2009, 19(3), doi: 803-80610.1016/j.bmcl.2008.12.016

[53]Rajesh K. S., Narayan V., Prasad O., and Narayan V., J. Chem. Vibrational, Structural and Electronic properties of 6-methyl nicotinic acid by Density Functional Theory Pharm. 2012, 4(6): 3287-3296.

[54]Murray J. S. and Sen K., "Molecular Electrostatic Potentials, Concepts and Applications", Elsevier, Amsterdam, 1996.

[55]MarvinSketch 6.8.31, Chemaxon (<http://www.chemaxon.com>), 2015.

[56]Lipinski C. A., Lombardo F., Dominy B. W., and Feeney P. J., J. Adv. Drug Deliv. Rev., 2017, 23, doi: 10.1016/S0169-409X(96)00423-1

[57]Vistoli G., Pedretti A., Testa B., Drug. Discov.Today , 2008, 13(7-8), 285-294, doi: 10.1016/j.drudis.2007.11.007

- [58] Belaidi S., Belaidi H., and Bouzidi J., *Comput J. Theor. Nanosci.* 2015, 12, 1737-1745, doi: 10.1166/jctn.2015.3952
- [59] Veber D. F., Johnson S. R., Cheng H.Y., Smith B. R., Ward K. W., and Kopple K. D., *J. Med. Chem.* 2002, 45 (12), 2615-2623, doi: 10.1021/jm020017n
- [60] Salah T., Belaidi S., Melkmi N., and Tchouar N., *Rev. Theor. Sci.* 2015, 3, 355-364(10), doi: 10.1166/rits.2015.1040
- [61] Kerassa A., Belaidi S., and Lanez T., *Quantum Matter.* 2016, 5, 45-52, doi: 10.1166/qm.2016.1253
- [62] Schultes S., Graaf C., Haaksma E., Iwan J. P., and Kramer O., *Drug Discov. Today: Technologies.* 2010, 7(3), 157-162, doi: 10.1016/j.ddtec.2010.11.003
- [63] Ertl P., Rohde B., and Selzer P., *J. Med. Chem.* 2000, 43(20), 3714-3717, doi: 10.1021/jm000942e
- [64] Viswanadhan V.N., Ghose A. K., Revankar G. R., and Robins R. K., *J. Chem. Inf. Comput. Sci.*, 1989, 29(3), 163-172, doi: 10.1021/ci00063a006
- [65] Wang J., Xie X.Q., Hou T., and Xu X., *J. Phys. Chem.* 111, 2007, 111(20), 4443-4448, doi: 10.1021/jp068423w
- [66] Thirunarayanan G., *Int. Lett. Chem. Phys. Astron.* 2014, 24, 89-98, doi: 10.18052/www.scipress.com/ILCPA.24.89
- [67] Has Mukh R. K., Piyush P. P., Satish M. G., Jayesh S. B., Yogesh T. N., *Int. Lett. Chem. Phys. Astron.*, 31, 20, 2014
- [68] Patrick G. L., *An Introduction to Medicinal Chemistry*, Oxford University Press, Oxford, 1995
- [69] Hopkins A. L., Groom C. R., Alexander A., *Drug Discov. Today*, 2004, 9(10), 430-431. doi: 10.1016/S1359-6446(04)03069-7
- [70] Dimitrov V., and Komatsu T., An interpretation of optical properties of oxides and oxide glasses in terms of the electronic ion polarizability and average single bond strength. *J. Chem. Technol. Metall.* 2010, 45, 219-250
- [71] Kerns E., *Drug-like properties: Concepts, Structure Design and Methods: From ADME to Toxicity Optimization*, Elsevier Science, Amsterdam, 2008.

- [72]Moreira R., Leite A. C., Dos Santos R. R., Soares M. B., J. Curr. Drug Targets, 2009, 17(18), 6682-6691, doi: 10.1016/j.bmc.2009.07.068
- [73]Oukil O., Tchouar N., Belaidi S., Salah T., and Cinar M., Structural investigation, drug likeness scoring and structure activity/property relationships applied on 1,2,3-thiadiazole derivatives, with kinase inhibitors activity. Rev. Roum. Chim. 2017, (621), 81-92
- [74]Ouadah K., Tchouar N., Belaidi S., O. Oukil, and Cinar M. , J. Bionosci. 2018, 12(2), 250-259, doi: 10.1166/jbns.2018.1513
- [75]Belaidi S., Salah T., Melkemi N., Sinha L., Prasad O., J. Comput. Theor. Nanosci. 2015, 12(9), 2421-2427, doi: 10.1166/jctn.2015.4042
- [76] Aoumeur N., Tchouar N., Belaidi S., Medjahed S., Oukil O., and Lanez T., J. Bionosci. 2018, 12 (3), 428-436, doi: 10.1166/jbns.2018.1536
- [77]Podunavac-Kuzmanovic S. O., Cvetkovic D. D., and Barna D. J., Int. J. Mol. Sci. 2009, 10(4), 1670-1682; 10.3390/ijms10041670
- [78]Srivastava A.K., Shukla N., J. Saudi Chem. Soc., 2013, 17(3), 321-328 doi: 10.1016/j.jscs.2011.04.014
- [79]Mellaoui M., Belaidi S., Bouzidi D., Gherraf N., Quantum Matter, 2014, 3(5), 435-441, doi: 10.1166/qm.2014.1142
- [80]Heravi M. J., Kyani A., J. Chem. Inform. Comput. Sci. 2004, 44(4), 1328-1335, doi: 10.1021/ci0342270

How to cite this article:

Hamzi W., Tchouar N. , Belaidi S., Oukil O., Aoumeur N., Medjahed S., Drug likeness filters and QSAR analysis of camphor-based diimines derivatives as antiviral agents, J. Fundam. Appl. Sci., 2020, 12(1), 475-496.