République Algérienne Démocratique et Populaire

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

UNIVERSITÉ MOULOUD MAMMERI DE TIZI OUZOU

Département de Pharmacie

Mémoire de fin d'études

Présenté sous forme d'article et soutenu publiquement

En vue l'obtention du Diplôme de Docteur en Pharmacie

Le : 03/07/2024

Sous le Thème :

Conception d'une nouvelle série de triazolés et étude de leur activité antifongique in silico

Présenté par :

AISSAOUI AHLEM

BOUSSABA SIHEM

ZAIDAT AGHILES

Encadré par :

Dr F. AGGUINI FADHILA

Membres de jury :

Dr. S. SADOU	MAHU	Toxicologie	Présidente
Dr. K. LAHMEK	Assistante	Chimie thérapeutique	Examinatrice

Promotion : 2023/2024

République Algérienne Démocratique Et Populaire
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
جامعة مولود معمري
كلية الطب
قسم الصيدلة
Département De Pharmacie

Conception d'une nouvelle série de triazoles et étude de leur activité anti-fongique in silicio

Aissaoui Ahlem, Boussaba Sihem, Zaidat Aghiles , Agguini Fadhila*

Article info

Article

Correspondance :

Aissaouiceliaa@gmail.com

aghilesouzaid@gmail.com

sihemboussaba1999@gmail.com

Laboratoire de chimie thérapeutique , Université

Mots-clés :

Infections fongiques

Résistance aux traitements

Molécules dérivées du fluconazole

Docking moléculaire

AutoDock Vina

Keywords:

Fungal infections

Treatment resistance

Fluconazole-derived molecules

Molecular docking

AutoDockVina

Résumé

Les infections fongiques représentent un défi croissant en santé publique en raison de leur prévalence et de leur capacité à développer rapidement une résistance aux traitements actuels. Cette étude vise à concevoir une nouvelle molécules antifongiques dérivées du fluconazole qui inhibitrice la 14 alpha deméthylase identifiée comme cible pathologique dans le traitement des infections fongiques, pour ce faire nous avons fait appel au docking moléculaire comme méthode de modélisation en utilisant l'AutoDock Vina comme logiciel de simulation afin d'apprécier l'affinité in silico ainsi que le mode l'interaction entretenue entre notre cible et les nouveaux ligands proposés. Ensuite Une étude in silico des propriétés physicochimiques et pharmacocinétiques par l'intermédiaire du serveur Swiss ADME et la toxicité grâce au serveur admet SAR ont été effectuées pour l'ensemble des ligands. Les résultats ont montré que toutes les nouvelles molécules présentent des énergies de liaison inférieures à celle du fluconazole donc une affinité plus élevée pour la cible en particulier les ligands aux structures volumineuses dont la M12 et celles avec des substituants halogènes. Un meilleur profil pharmacocinétique, physicochimique et toxicologique a été obtenu avec les molécules M1 et M2.

Abstract

Fungal infections pose an increasing challenge in public health due to their prevalence and ability to quickly develop resistance to current treatments. This study aims to design new antifungal molecules derived from fluconazole that inhibit 14 alpha-demethylase, identified as a pathological target in the treatment of fungal infections. To achieve this, we utilized molecular docking as a modeling method using AutoDockVina as the simulation software to evaluate the in silico affinity and interaction mode between our target and the proposed new ligands. Additionally, an in silico study of the physicochemical and pharmacokinetic properties through the SwissADME server and toxicity via the admetSAR server was conducted for all ligands. The results showed that all new molecules exhibit binding energies lower than fluconazole, indicating a higher affinity for the target, particularly for ligands with bulky structures such as M12 and those with halogen substituents. A better pharmacokinetic, physicochemical, and toxicological profile was obtained with the molecules M1 and M2.

1.Introduction

1-Introduction :

Chaque année, les infections fongiques touchent plus d'un milliard de personnes, constituant ainsi un problème de santé mondial croissant (1). Elles sont responsables de plus de 150 millions de cas graves et potentiellement mortels (2- 3), représentant ainsi une menace sérieuse pour la santé publique (4). En Afrique, l'Algérie se positionne parmi les pays les plus touchés. Les agents fongiques prédominants sont : candida spp, suivi de l'aspergillus spp et du cryptococcus spp. Ces micro-organismes sont généralement des saprophytes ou des commensaux. (5) Selon l'OMS, le système de santé algérien occupe la quatrième place en Afrique après le Nigeria, la Tunisie et l'Afrique du Sud. Selon les données disponibles, l'Algérie enregistre chaque année 568 900 cas d'infections fongiques, ce qui correspond à 1,41 % de la population. (6)

La prévalence croissante des infections fongiques est attribuée à une série de facteurs, notamment l'expansion démographique des populations à risque telles que les personnes âgées, les patients gravement malades ou immunodéprimés (7).

Comparativement au développement de nouveaux médicaments antibactériens, le développement de médicaments antifongiques est plus complexe en raison de la nature eucaryote des champignons. Cela implique que de nombreuses cibles potentielles pour le traitement se retrouvent également chez l'homme, présentant ainsi un risque élevé de toxicité pour l'hôte. Actuellement, il existe cinq classes de médicaments antifongiques disponibles pour traiter les infections fongiques systémiques, les échinocandines, les polyènesflucytosine, terbinafine et les azolés (8). Les antifongiques azolés sont les médicaments candidats cliniques les plus importants et les plus approuvés. Ils couvrent plusieurs caractéristiques des antifongiques les plus puissants. Au cours du dernier demi-siècle, cette famille a eu un effet significatif sur le contrôle des infections fongiques invasives et superficielles. Leur nouvelle génération a encore augmenté les propriétés hautement souhaitées telles que la sécurité, la réduction du risque d'interactions médicamenteuses, une pharmacocinétique appropriée et une activité accrue (9-11). Leur structure est caractérisée par la présence d'un noyau azole, qui est une structure chimique contenant un cycle azote-azote, comme dans le composé imidazole ou triazole. Ces molécules sont souvent utilisées en raison de leur efficacité contre un large éventail d'infections fongiques. Leurs mécanismes d'action reposent sur leur capacité à inhiber spécifiquement l'enzyme cytochrome P450 14α-déméthylase (CYP51) présente chez les champignons (12). Cette enzyme est essentielle à la synthèse de l'ergostérol, un composé crucial pour l'intégrité de la membrane cellulaire fongique. En inhibant la CYP51, Les azolés se lient à l'hème qui stabilise la structure de l'enzyme, bloquant l'activité enzymatique par une réaction réversible non compétitive avec ce dernier et perturbent la biosynthèse de l'ergostérol, ce qui entraîne une altération de la perméabilité de la membrane fongique une perturbation de la croissance cellulaire et finalement la mort cellulaire (13).

L'évolution des antifongiques azolés a suivi plusieurs étapes clés. Initialement, les premiers azolés, tels que le kétoconazole, étaient utilisés, mais leur utilisation était limitée en raison de leur spectre d'activité restreint et de leur toxicité potentielle (14). Offrant une meilleure spécificité et une tolérance accrue (15 ,16), Malgré leur efficacité, les azolés, en particulier la première génération de triazolés comme le fluconazole, sont confrontés à des défis croissants en raison de l'émergence de la résistance antifongique et du développement de souches moins sensibles.

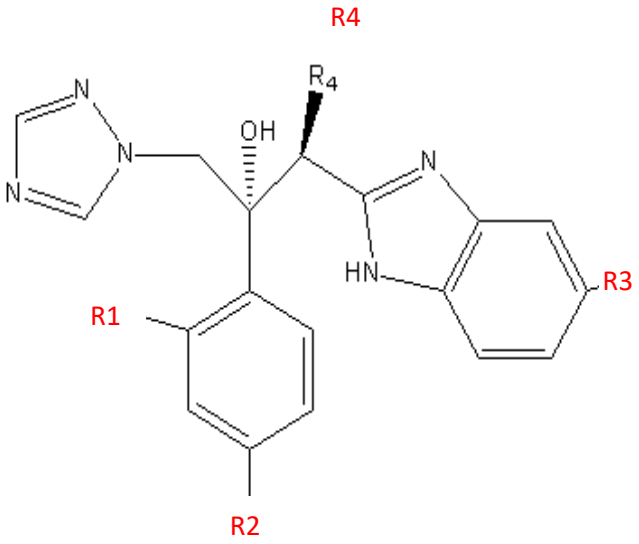
Les études de Kazeminejad et al. (2022) ont exploré de nouveaux dérivés triazolés en tant qu'agents antifongiques potentiels, mettant en lumière l'importance de l'innovation dans cette classe thérapeutique. Un autre domaine d'intérêt est la conception de composés hybrides qui combinent les propriétés de différents antifongiques pour maximiser leur efficacité.

Le fluconazole, en tant que médicament antifongique favorable en raison de son efficacité in vivo et de ses propriétés pharmacocinétiques, a été attiré par la découverte de médicaments hybrides (Analogues du fluconazole) obtenus en remplaçant facilement un cycle triazole par d'autres échafaudages antifongiques potentiels directement ou en utilisant des agents de liaison appropriés (17). Cette nouvelle façon de concevoir les structures fait des hybrides de fluconazole une future génération potentielle d'antifongiques azolés. Le noyau triazole, en particulier le cycle 1,2,3-triazole, a été utilisé comme agent de liaison dans diverses hybridations de médicaments antifongiques au moyen de la réaction click (18). Cela a stimulé la recherche de nouvelles classes d'antifongiques et le développement d'approches combinées pour lutter contre la résistance fongique et améliorer l'efficacité des traitements antifongiques.

Dans cet article scientifique, nous explorons l'utilisation du docking moléculaire pour concevoir de nouveaux agents antifongiques triazolés. Notre objectif principal est de proposer une nouvelle série de médicaments antifongiques innovants pour lutter contre la résistance aux agents actuellement disponibles. Le docking moléculaire, une technique de modélisation utilisée en biochimie et en biologie moléculaire pour prédire la manière dont deux molécules, généralement une protéine et un ligand, interagissent entre elles. Cette technique permet de simuler l'interaction et l'affinité de liaison entre les molécules, en prenant en compte leur conformation et leur complémentarité spatiale.

2. Matériels et méthodes

Dans le contexte de cette étude, nous avons utilisé la structure du Fluconazole un inhibiteur du système enzymatique de la Lanosterol 14 alpha-déméthylase pour la conception d'une série de molécules inhibitrice probable et ceci en substituant un des triazoles de la structure de base par un benzimidazole substitué. Nous avons proposé une série de 15 molécules, Les formules développées des différents composés proposés sont représentées dans l'annexe 1.



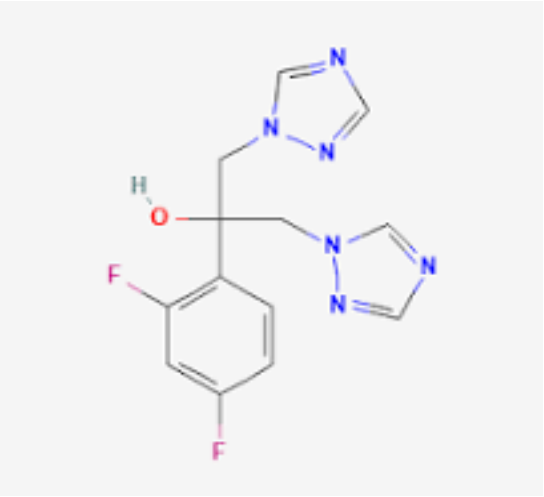


Figure 1 : sites modifiés de Structure de base de fluconazole.

Figure 2 : structure du fluconazole

2.1. Molinspiration

Pour l'étude des propriétés biologiques des molécules que nous avons proposées, on s'est servi du système expert MOLINSPIRATION (https://www.molinspiration.com) un moteur de recherche pour qui la prédiction du score de bioactivité pour les cibles médicamenteuses les plus importantes, le score de ressemblance avec les ligands GPCR (récepteur couplé aux protéines G), inhibiteurs de kinases, modulateurs de canaux ioniques, récepteurs nucléaires (19).Plus la valeur du score est élevée, plus la probabilité que la molécule particulière soit active est également élevée(20).

2.2. Amarrage moléculaire (Docking moléculaire)

Le Docking moléculaire est un outil de prédiction structurelle qui analyse les modes de liaison d'une petite molécule appelée "ligand" dans le site actif d'une macromolécule, telle qu'une protéine (21), il repose sur un mécanisme qui peut générer toutes les structures envisageables pour un ligand spécifique et la molécule cible (22), permettant ainsi de prédire la conformation dite "bioactive" du ligand et son orientation au sein des récepteurs. En réalité, toute conformation relative provenant du docking est liée à une énergie, connue sous le nom de "Score", où la conformation bioactive correspond à l'énergie la plus faible (23).

Nous avons procédé à un amarrage moléculaire pour prédire l'affinité des molécules proposées pour la cible 14 alpha-déméthylase, codée par 4WMZ dans la banque de données des protéines RCSB (24).

- **Mise au point des chimiothèques de départ**

La sélection des ligands (chimiothèques) est une étape cruciale. Elle doit être effectuée avec pertinence en raison de la spécificité du site actif de la cible, afin d'éviter des tests de molécules superflus (25). Les structures 2D des molécules proposées ont été dessinées par le logiciel chemDraw Ultra 8.0, ensuite converties en structure 3D à l'aide de Chem3D 8.0 (26). Pour optimiser la géométrie des molécules proposées, on a eu recours aux champs de force de la mécanique molécule MM2 model basé sur une approche semi-empirique, dont l'objectif est de minimiser leurs énergies (27). Les ligands sont ensuite enregistrés sous format PDB, ensuite convertis en format PDBQT (format utilisé dans la simulation d'amarrage) à l'aide de l'AutodockTools (28).

- **Préparation de la macromolécule**

Dans le cadre de notre thématique portant sur la proposition de nouveaux composés à activité antifongique probable, l'enzyme lanostérol 14 alpha déméthylase connu comme cible biologique des antifongiques (29) a été sélectionnée pour réaliser notre criblage afin de prédire, in silico, l'affinité des molécules proposées.

La structure tridimensionnelle (3D) de format Pdb de la protéine qui représente le domaine catalytique est co-cristallisé avec le fluconazole et est disponible dans la Protéine Data Bank sous le code 4WMZ avec une résolution de 2,5 Å (23).

Le ligand de référence co-cristallisé avec la cible a été séparé de la protéine. À ce stade de la préparation, les molécules d'eau ont été retirées de la cible afin de dégager la poche de liaison et de faciliter les calculs. On a ajouté à ce récepteur les hydrogènes polaires (essentiels). Le fichier de la protéine est enregistré en format PDB grâce à AutoDockTools (30, 31).

- **Validation du protocole du Docking**

Pour valider le protocole du docking, nous avons eu recours à une méthode d'évaluation dite redocking en utilisant l'Auto Dock Vina. Cette méthode a pour but de déterminer la capacité de ce protocole à générer une pose avec un positionnement dans le site d'interaction identique ou très proche de celui de la structure cristallographique originale. Cette méthode s'intéresse à l'écart quadratique moyen « RMSD » (Root Men Square Deviation). Il est considéré que les meilleurs protocoles de docking génèrent des valeurs RMSD inférieures à 2,0 Å(32).Forli et al. (2016) soulignent l'importance de maintenir un RMSD inférieur à la valeur déjà cité pour valider les résultats de docking, montrant que cette valeur est un critère clé pour garantir la précision et la fiabilité des simulations (33)

- **Protocole du docking moléculaire (Auto Dock Vina)**

L'utilisation de l'AutoDockTools a permis de définir l'espace de recherche conformationnel du ligand à docker (34) en utilisant une grille de potentiel tridimensionnelle (Grid Box), La taille de la grille a été créé avec une résolution de 40 Å dans toutes les directions cartésiennes, avec un espacement par défaut de 0.375 entre les points de la grille. Les coordonnées du centre de cette grille sont définies comme suit (X=22.54 Å, Y=10.66 Å et Z=15.53 Å). Ce centre représente le site actif de la protéine cible, ce qui permet la rotation libre du ligand (35).

Après validation du protocole de Docking, Le calcul et l'évaluation des affinités des nouvelles molécules proposées ont été réalisés en utilisant le programme AutoDock Vina ce qui permet d'évaluer rapidement l'énergie d'interaction produite par le ligand et les acides aminés présents dans cette grille. Une fois l'étude terminée, les meilleures conformations avec les plus faibles énergies d'amarrage ont été sélectionnées. (36)

Nous avant ensuite utilisé le programme DISCOVERY STUDIO 2021 pour une visualisation 3D du complexe ligand-récepteur. (37)

2.3. Prédiction des paramètres Pharmacocinétique et toxicité

Pour prédire in silico les propriétés physicochimiques et pharmacocinétiques ADME (absorption, la distribution, le métabolisme et l'élimination) ainsi que la toxicité par l'estimation de la sécurité pharmacologique d'une molécule, prenant en compte les paramètres comme la mutagénicité,la toxicité hépatique, et la toxicité potentielle pour le système cardiovasculaire , on a eu recours au site web swiss adme (38). Souvent, la sélection des composés avant criblage virtuel suit des règles spécifiques aux médicaments déjà connus et mis sur le marché (règles «Drug-like»).Par exemple, la règle de Lipinski et Veber ou encore «règle des 5» peut être utilisée pour la sélection de composés « drug-like » (39,40).

- masse molaire ≤ 500 g/mol.

- Log P ≤ 5 .

- Accepteurs de liaisons H ≤ 10.

- Donneurs de liaisons H ≤ 5 .

Ces critères sont essentiels pour évaluer la performance et l'efficacité d'un produit et déterminer s'il peut devenir un médicament d'intérêt pour des études cliniques ultérieures (41). Nous avons fait appel au serveur web SwissADME et admet SAR (pour prédire la toxicité)

3. Résultats

3.1 Prédiction de l'activité biologique par Molinspiration

La prédiction, in silico, avec molinspiration des activités biologiques et les affinités des molécules proposées vis avis des cibles médicamenteuses les plus importantes sont présentées dans le tableau I ci-dessous

Tableau I : Étude de l'activité biologique et l'affinité des molécules étudiées (analogues structuraux du fluconazole).

Molécule	Ligand du GRCP	Modulateur de canaux ioniques	Inhibiteur de Kinase	Ligand des récepteurs nucléaires	Inhibiteur de protéase	Inhibiteur enzymatique
Fluconazole	0.04	0.01	-0.09	0.23	-0.09	0.03
M1	0.17	0.09	0.00	-0.32	-0.04	0.14
M2	0.17	0.08	0.02	-0.28	-0.04	0.08
M3	0.23	0.07	-0.04	-0.34	-0.10	0.18
M4	0.17	0.11	0.00	-0.29	-0.07	0.06
M5	0.19	0.12	0.04	-0.25	-0.02	0.10
M6	0.07	0.05	-0.01	-0.35	-0.14	0.01
M7	0.01	0.03	-0.09	-0.33	-0.18	-0.03
M8	*0.01*	*0.03*	*-0.09*	*-0.33*	*-0.18*	*-0.03*
M9	0.21	-0.13	0.11	-0.22	0.09	0.10
M10	0.22	0.15	0.16	-0.12	0.03	0.15
M11	0.22	0.13	0.10	-0.26	-0.02	0.05
M12	0.26	-0.09	0.10	-0.07	-0.02	0.18
M13	0.12	-0.33	0.01	-0.27	0.03	0.03
M14	0.22	-0.24	0.07	-0.20	0.02	0.07
M15	0.11	-0.37	0.00	-0.28	-0.02	-0.04

Lecture de résultat *: Plus la valeur prédite par molinspiration est élevée plus l'affinité et l'activité biologique de la molécule étudiée est meilleure*

- ***RMSD***

La simulation du re-docking avec Auto-Dock Vina a généré un RMSD équivalent à 1.58 Å (figure 3).

La superposition de la conformation du ligand obtenue par AUTO DOCK VINA lors du redocking avec la conformation expérimentale (ancrée au niveau du site actif) est représentée dans la figure 1. Le calcul du RMSD avec Discovery a donné une valeur égale à 1.58 Å.

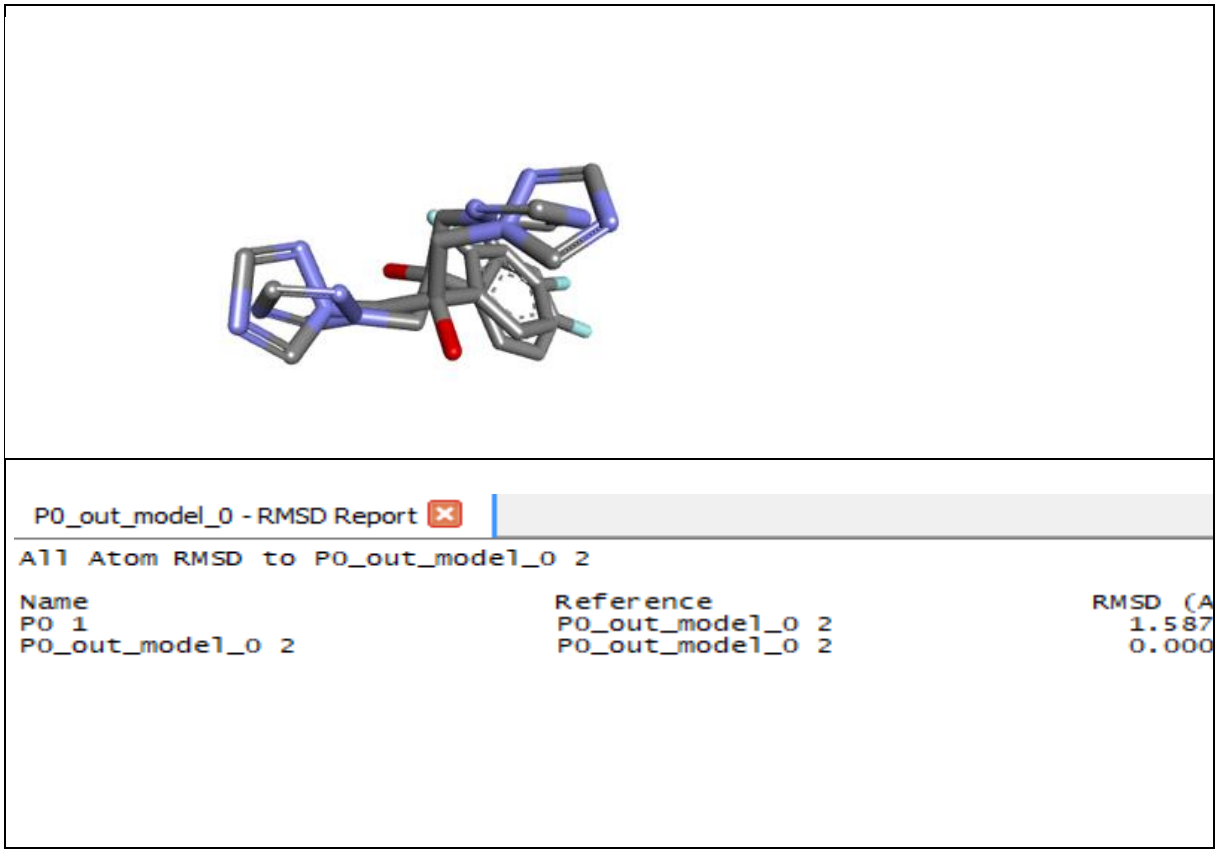


Figure 3 : Superposition de la conformation du ligand obtenue par Auto Dock Vina avec celle expérimentale (ancrée au niveau du site actif).

3.2 Docking moléculaire

Les affinités pour la cible (4WMZ) prédites par Auto Dock Vina pour la série de notre étude sont résumées dans les tableaux II ci-dessous.

Tableau II : scores d'amarrage moléculaire et liaisons prédites au niveau du site actif de 4wmz pour les analogues du fluconazole proposés.

Molécules	Liaisons hydrogènes			Autres types de liaisons	Affinité
	Acide amine du récepteur	Groupement ou atome des molécules proposées	Distances		
Fluconazole	/	/	/	-halogen (fluorine) GLY A : 310 -pi-alkyl (LEU A :380 ; ILE A : 139 ; HEM A : 601)	-8.4
M1	-TYR A : 140 (Hydrogène de l'hétérocycle)	Hydrogène de l'hétérocycle	D=2.82	-Pi- alkyl (LEU A : 383, MET A : 509) -Pi-Sigma (LEU A : 380 ; THR A :130) -halogène (HEM A :601) -pi-pi shaped (HIS A :381)	-9.1
M2	-TYR A : 140 (C=O oxygène de carbonyle)	OH : oxygène de l'hydroxyle	D=3.03	-Halogène (fluor) (GLY A : 310) -Pi- Sigma (ILE A : 139 ; HEM A :601) -Pi-Alkyl (VAL A : 311, LEU A : 380) -pi- pi stacked : TYR A :126	-9.2
M3	-HIS A :381 (hydrogène de l'hétérocycle)	NH : Hydrogène d'imidazole	D=2.77	-pi-sigma : LEU A :380 -pi-sulfur : MET A :509 -pi-pi stacked : PHE A :241 -pi- pi T-shaped : PHE A :241 -pi-alkyl : LEU A :96 ;ALA A :69 ;LEU A :95 ;PRO A :238 ;LEU A :383 -alkyl : ALA A :69	-11.0
M4	-HIS A :381 (amine de triazole) -ARG A :98 (hydrogène de l'hétérocycle)	-NH (hydrogène de l'amine) -hydrogène de l'hétérocycle	D=2.63 D=2.94	-pi-sgma : LEU A :95 -pi-pi staked : PHE A :241 -pi-pi T shaped :TYR A :72 -alkyl : VAL A :70 ; MET A :74 -pi-alkyl : ALA A :69 ; PRO A :238	-8.9

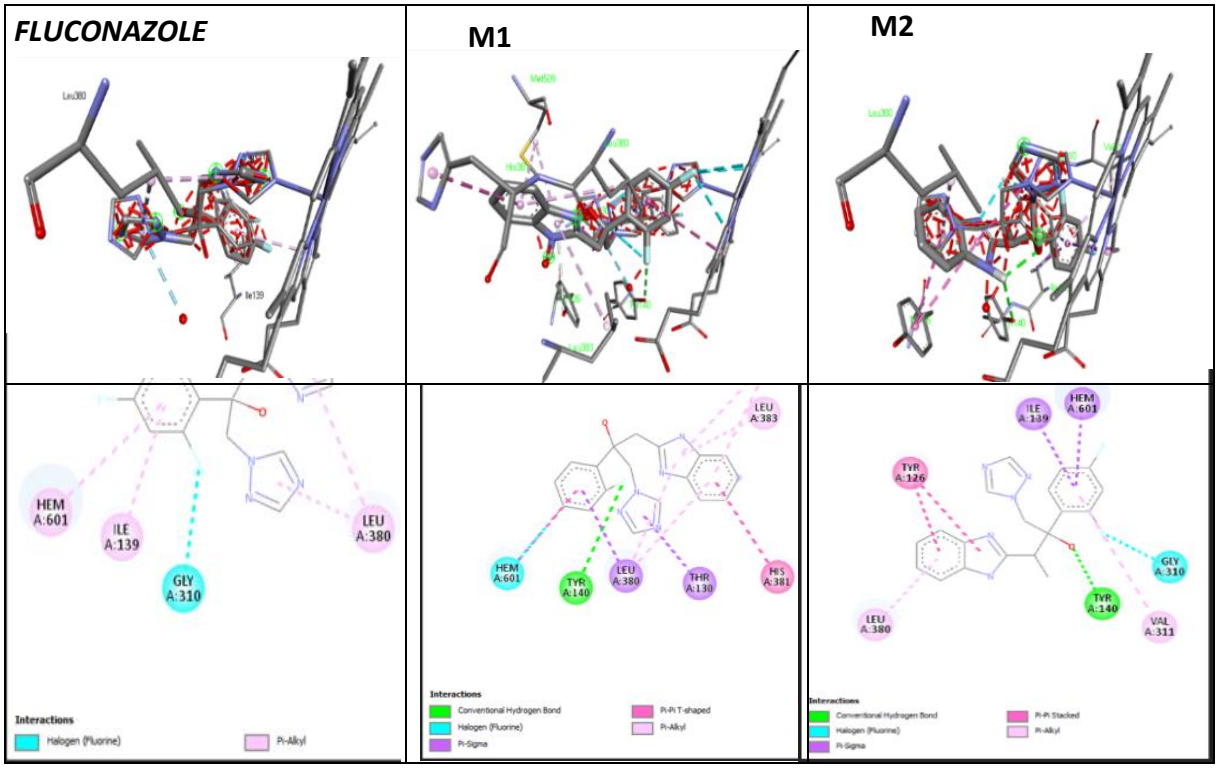
M5	-SER A : 458 (hydrogène de l'hétérocycle) - SER A : 453 (hydrogène de triazole et l'imidazole) -TYR A :439 (hydrogène de l'hétérocycle)	NH : hydrogène de groupement amine -NH : hydrogène de l'imidazole -Hydrogène de l'hétérocycle	D=2.23 D=2.94 D=2.99	-halogen (fluorine) : TYR A : 460 -pi-cation : ARG A :469	-9.5
M6	- TYR A :140 (hydrogène de l'hétérocycle)	Hydrogène de l'hétérocycle	D=3.40	-pi-sigma : LEU A :380 ;MET A :509 ;TYR A :126 -pi-pi T shaped : HEM A :601 ;PHE A :384 -pi-alkyl : LEU A :96 ; PRO A : 238	-11.0
M7	-TYR A : 140 (l'hydrogène cycle triazole) -THR A : 318 (hydrogène de l'hétérocycle) -HIS A : 381(N=O OXYGENE de l'azote)	-NH (hydrogène de groupement amine - (hydrogène de l'hétérocycle -N=O (oxygène de l'oxyde nitrique)	D=- 2.36 D=-2.55 D=2.50	Halogen (GLY A : 314 ; HEM A : 601) Pi- sigma (LEU A :380 ; TYR A :126) Pi- alkyl (ILE A : 139)	-9.3
M8	-TYR A : 140(hydrogène de cycle triazole) - THR A : 318 (hydrogène de l'hétérocycle) -HIS A :381 (NO2, oxygène de groupement nitro)	-NH (hydrogène de groupement amine) -hydrogène de l'hétérocycle) -N=O (oxygène de l'oxyde nitrique	D=2.33 D=2.59 D=3.37	Halogène (GLY A : 314 ; HEM A : 601) Pi- sigma (LEU A :380 ;TYR A : 126) Pi- alkyl (ILE A :139 ; MET A :509) Pipi shaped : HEM A :601	-9.3
M9	-THR A : 318 (hydrogène de l'hétérocycle)	-hydrogène de l'hétérocycle	D=2.76	Halogen (GLY A : 314 ; HEM A : 601) Pi- alkyl (LEU A :380 ; LEU A :383)	-8.8

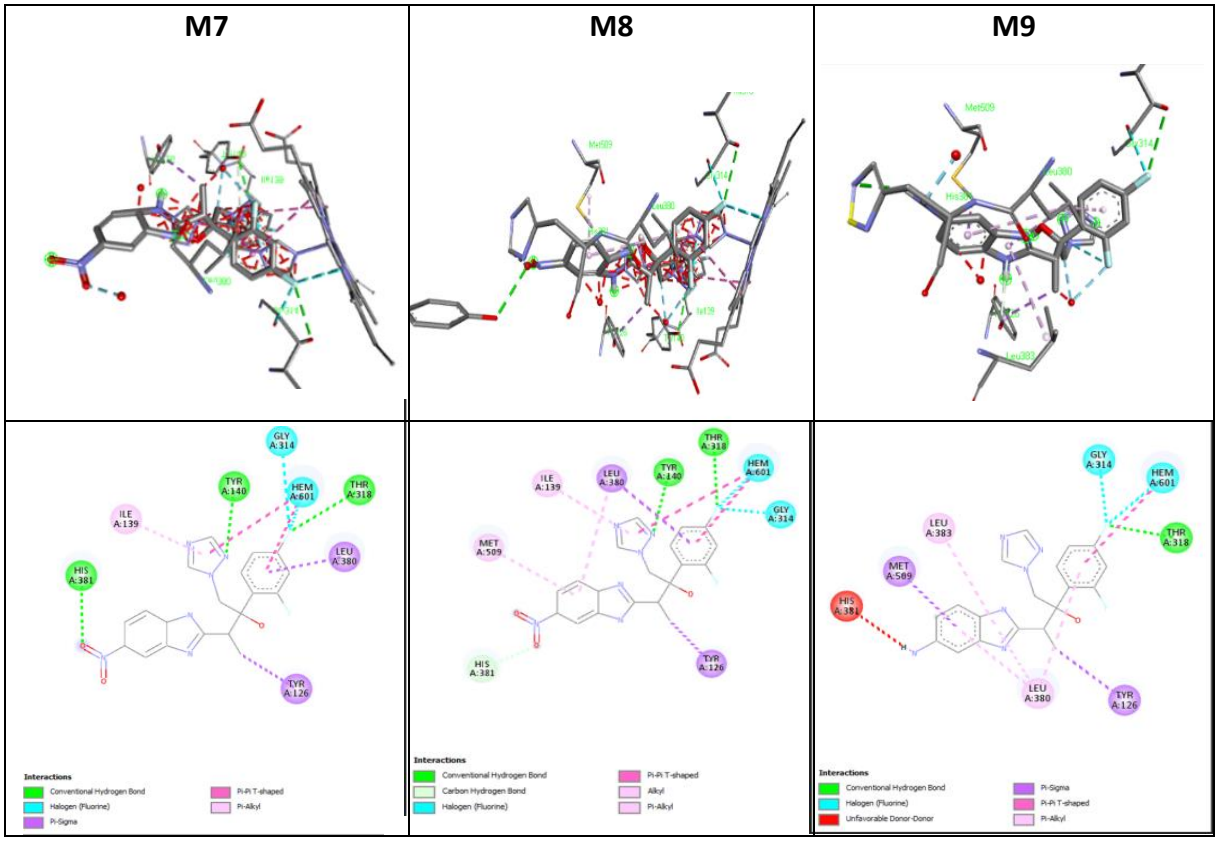
				Pi- sigma(MET A :509 ;TYR A :126) Unfavorable donor-donor : HIS A :381 Pipi T shaped : HEM A :601	
M10	-TYR A : 140(hydrogène de l'hétérocycle) - THR A :318(hydrogène de l'hétérocycle)	-hydrogène l'hétérocycle - hydrogène de l'hétérocycle	D=2.81 D=2.96	-Halogen (GLY A : 314 ; HEM A : 601) -Pi- alkyl (LEU A :383 ; PRO A :23) -Pi- sigma(MET A :509 ; LEU A :380 ;TYR A :126) -pi-sulfur :MET A :509 Pipi T shaped :PHE A :384 ; PHE A : 134	-9.8
M11	-MET A :509 (hydrogène de l'hétérocycle)	CH : carbone de cycle aromatique, la pyrimidine	D=5.81	- Halogen (GLY A : 314) -Pi- alkyl (LEU A :383 ; ILE A :139 ; HEM A : 601) - pi-sigma (LEU A :380 ; THR A : 318) -pi- sulfur :MET A :509 Pipi stacked : TYR A :126	-9.5
M12	-TYR A : 140 (amine de groupement de triazole) -TYR A :126 (azote de l'imidazole)	NH (hydrogène de groupement amine) -NH : (hydrogène de groupement amine)	D=3.00	-pi-sigma (LEU A :380 ;MET A : 509 ;LEU A :95 ; THR A :130) -pi- alkyl (LEU A : 383 ;PRO A :238) - pi-pi T-shaped (HEM A :601 ; HIS A :381) -pi-pi stacked :PHE A :241	-12.9
M13	GLY A : 310 (hydrogène de l'hétérocycle) -HIS A :381 (hydrogèned'imidazole)	NH (hydrogène de groupement amine) -NH : hydrogène de l'amine	D=3.07 D=2.68	-pi-sigma (MET A : 509) -pi –alkyl (LEU A : 380 ; LEU A : 383 ; PRO A :238 ;LEU A :95) Pipi T shaped :HIS A :381	-12.8

M14	**PRO A :238 (hydrogène de l'hétérocycle)**	**NH (hydrogène de groupement amine)**	**D=2.42**	**-alkyl (MET A :509 ; ILE A :139) -pi- pi T-shaped (TYR A :140 ; HEM A :601 ; PHE A :384) -pi-sigma (LEU A : 380 ; TYR A : 126) - pi-alkyl (LEU A : 380 ; MET A : 509 ; LEU A :95 ; LEU A : 96)**	**-11.9**
M15	**PRO A : 238(hydrogène de l'hétérocycle)**	**NH (hydrogène de groupement amine)**	**D=2.51**	**-pi-sigma (LEU A :380 ; TYR A : 126) -pi-pi T shaped (TYR A : 140 ;HEM A : 601 ; PHE A :384) -pi-alkyl (ILE A :139 ; MET A :509 ; LEU A :96)**	**-11.7**

- **Visualisation des interactions établies en 2D et 3D du fluconazole et de quelques ligands proposés.**

Les interactions prédites par AUTO DOCK VINA sont visualisées par DISCOVERY du fluconazole et sont représentés dans la figure 4 ci-dessous





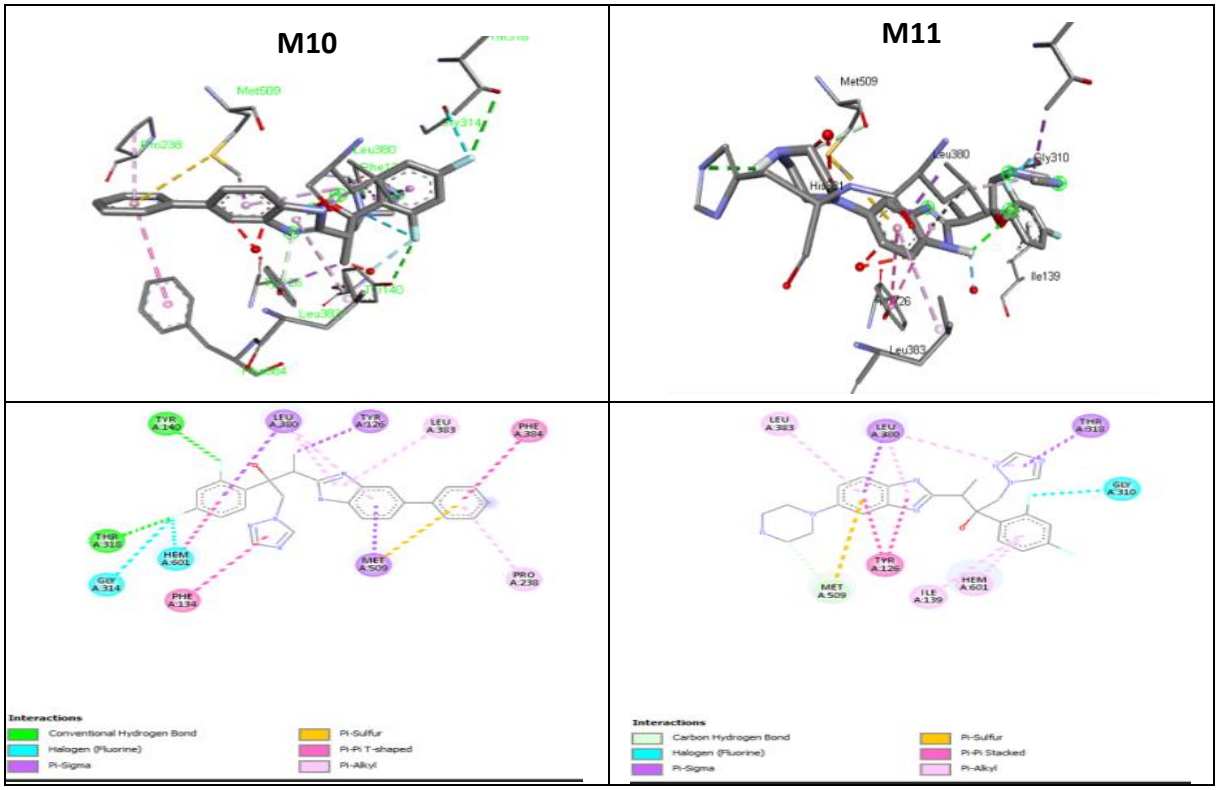


Figure 4 : Types de liaison (2D et 3D) des composés (fluconazole-M1-M2-M7-M8-M9-M10-M11) avec la cible 14 alpha déméthylase PDB ID : (4WMZ) visualisés par discovery studio.

3.3. Prédiction des propriétés ADMET in silico :

Les résultats des propriétés pharmacocinétique et toxicologique des 7 ligands sélectionnés comme ayant un meilleur profil parmi les composés proposés, prédites par le serveur swissADME, et SAR admet sont représentés dans le tableau III ci-dessous.

Tableau III : Résultats de la prédiction, in silico, des propriétés pharmacocinétiques du fluconazole et des 7 meilleurs ligands par le serveur web ADMET Sar et swiss ADME

Propriétés	**Fluconazole**	**M1**	**M2**	**M7**	**M8**	**M9**	**M10**	**M11**
Absorption GI	Haut	Haut	Haut	Faible	Faible	Haut	Haut	Haut
Perméabilité CACO2	Oui	Oui	Oui	Non	Non	Oui	Non	Non
Perméabilité sBHE	Oui	Oui	Oui	Oui	Oui	Oui	Oui	Oui
Substrat de P-gp	Non	Oui	Oui	Non	Non	Oui	Oui	Oui
Inhibiteur de P-gp	Non	Non	Non	Non	Non	Non	Non	Oui
Localisation	Mitochondrie	Mitochondrie	Mitochondrie	Mitochondrie	Mitochondrie	Mitochondrie	Mitochondrie	Mitochondrie
CYP450 1A2 inhibition	Non	Non	Non	Non	Non	Non	Non	Non
CYP450 2C19 inhibition	Oui	Oui	Oui	Non	Oui	Non	Oui	Non
CYP450 2D6 inhibition	Non	Non	Non	Non	Non	Non	Oui	Non
CYP450 2D6 substrat	Non	Non	Non	Non	Non	Non	Non	Non
CYP450 3A4 inhibition	Non	Oui	Non	Non	Oui	Oui	Oui	Oui
CYP450 3A4 substrat	Non	Non	Oui	Non	Oui	Non	Non	Non
Inhibition hEGR	Oui (faible)	Oui (faible)	Oui (faible)	Oui (faible)	Oui (faible)	Oui (faible)	Oui (faible)	Oui (faible)
Hépato-toxicité	Oui	Oui	Oui	Oui	Oui	Oui	Oui	Oui
Test AEMS	Non	Non	Non	Non	Non	Non	Non	Non
Cancérogénicité	Non	Non	Non	Non	Non	Non	Non	non

- **Vérification de la règle de Lipinski et Veber**

Les résultats des propriétés physicochimies des 7 ligands sélectionnés comme ayant un meilleur profil parmi les composés proposés, prédites par le serveur swissADME.

Tableau IV**:** Vérification de la règle de Lipinski et veber pour la série des analogues du fluconazole.

Molécule / résultats	FLUCONAZOLE	M1	M2	M7	M8	M9	M10	M11
LIPINSKI	OUI	OUI	OUI	OUI	OUI	OUI	OUI	OUI
VEBER	OUI	OUI	OUI	OUI	OUI	OUI	OUI	OUI

Lecture de résultats : *la conformité des règles de lipinski et veber révèle une bonne absorption par voie orale*

4. Discussion

4.1. Molinspiration :

Nous avons proposé une série de molécules inhibitrices de 4wmz, à partir du fluconazole qui est la molécule de référence (Figure1). Les résultats fournis par Molinspiration représentent des valeurs de différents descripteurs physico-chimiques , globalement tous les composés montrent une prédiction positive en tant que ligand de la GRCP et inhibiteurs enzymatiques dont la M12 avec une plus grande valeur (0.26 , 0.18)respectivement notant qu'elle présente aussi la meilleur énergie(-12.9) Kcal/mol dans notre série étudiée à l'exception de M3 , M7 , M8 et M15,cependant la M12 n'est pas prédite comme modulateur de canaux ioniques ni ligand des récepteurs nucléaires

4.2. Résultats du docking moléculaire

Pour confirmer la fiabilité du modèle d'ancrage, le ligand a été ancré dans le site actif de 4WMZ et un redocking a été lancé avec AutoDock Vina. La conformation obtenue après visualisation des résultats par Discovery Studio était parfaitement superposable au ligand de référence, comme le montre la Figure 1. La valeur du RMSD généré est de 1.58 Å, comme illustré dans la Figure 1. Valeur inférieure au seuil, (<2A°) entre les poses prédites et les structures expérimentales ce qui indique que notre protocole est valide et qu'il est applicable pour le reste des composés.

Les résultats présentés dans le tableau des substituants (annexe 1) ont révélé que les analogues du fluconazole qui ont des structures plus volumineuses ont des énergies plus faibles donc une activité meilleure (42), et concernant la substitution, les molécules (M11, M12, M13, M15) ayants des substituants halogènes (chlore) sur le cycle benzénique en position ortho ou para ont montré des énergies plus basses que la substitution de fluor dans ces positions. La substitution d'un groupe méthyle (CH3) en position R4 dans la molécule M2 a donné une énergie plus basse (-9.2) en comparaison avec la molécule M1 (-9,1) qui présente un hydrogène (H) en position R4.

Les résultats du docking moléculaire obtenus avec AutoDock Vina des énergies de liaison (kcal/mol) et les interactions protéine/ligand des composés proposés et de la références Tableau II montrent que toutes les molécules proposées ont des valeurs d'affinité élevées par rapport à la molécule de référence Fluconazole qui a donné dans les mêmes conditions une énergie d'affinité équivalente à -8.4 Kcal/mol. Les molécules M12, M13, M14, M15 ont les énergies d'interaction plus faibles -12.9, -12.8, -11.9, -11.7 respectivement tandis que, les molécules M3 et M6 présentent la même valeur d'énergie -11 Kcal /mol, à noter que Plus l'énergie de liaison est faible, plus l'affinité est grande et, par conséquent, plus l'inhibition est importante (43). L'ajout du motif benzimidazole a donné lieu à une meilleure affinité (toutes les molécules ont structure benzimidazole ont donné des énergies plus basses).

Les interactions protéine-ligand se caractérisent notamment par des interactions hydrophobes et des liaisons hydrogènes, qui jouent un rôle majeur dans l'évaluation de la force de liaison entre ligands et protéines (44). Selon Imberty Les interactions peuvent être catégorisées en fonction de la distance entre les résidus de la protéine et les atomes du ligand. En général, les distances de 2,5 Å à 3,1 Å correspondent à des interactions fortes, celles de 3,1 Å à 3,55 Å à des interactions moyennes, et celles au-delà de 3,55 Å à des interactions faibles (45).

Les molécules M5 et M7 ont donné lieu à trois liaisons hydrogènes fortes avec la **SER A :458** (d=**2.23A°) ; SER A :453 (d=2.94 A°) ; TYR A :439 (d=2.99 A°) et TYR A :140 (D=2.36A°) ;TYR A :318 (D=2.55 A°) ;HIS A :381 (d=2.50 A°)**,la molécule M8 contient 2 liaisons hydrogènes fortes avec TYR A :140 **(D=2.33A°) ; THR A :318 (D=2.59A°)** et une autre liaison moyenne avec HIS A :381 (**D=3.37).**Par contre, notre molécule de référence (fluconazole) n'a donné lieu à aucune liaison hydrogène, En effet, ces liaisons hydrogènes jouent un rôle crucial dans la structure et la catalyse des enzymes, et plus leur nombre est élevé, plus l'efficacité de la liaison et de l'inhibition est élevée (46). Elles sont indispensables à l'établissement de liaison entre un ligand et une protéine. D'un autre côté, les molécules commeM4 ; M10 ; M12 ; M13 présentent deux liaisons hydrogènes fortes ce qui semble renforcer leur affinité de liaison (47), quant à la molécule M11 elle a donné lieu à une seule liaison hydrogène faible avec MET A :509 (**D=5.81 A°).**

Les complexes ainsi formés entre les molécules proposées et le site actif de la cible (4wmz) sont stabilisés par d'autres types d'interactions hydrophobes supplémentaires telles que Pi-pi

stacked, Pi-Pi T-Shaped, Carbonhydrogen bond, , Pi-Cation, Pi-Donor d'Hydrogène Bond, Pi-Sulfure, Pi-Sigma, Alkyl et des interactions Pi-Alkyl ainsi que les interactions de type halogène notamment le fluor qui joue un rôle majeur pour leur capacité à stabiliser les complexes ligand-protéine via des interactions électrostatiques et des effets de polarisation (48), Les molécules M7 à M11 ainsi que le fluconazole de référence illustrent bien cette observation avec des interactions halogènes supplémentaires augmentant l'affinité de liaison . Après la comparaison des acides aminés en commun entre notre cible choisi (4wmz) et nos molécules étudiées, on a souligné que TYR A : 140, MET A :509, LEU A : 380, LEU A : 383 ILE A : 139 de la cible étaient présents dans la majorité des composés aussi ainsi que le fluconazole. Nous avons remarqué aussi que dans presque toutes les molécules M1 M2 M6 M7 M8 M9 M10 M11 M12 M14 M15, ainsi le fluconazole de référence ont donné lieu à une interaction avec l'HEM A : 601 par des liaisons pi-pi T- shaped, halogènes, pi-alkyl et pi-sigma, ce facteur est crucial dans les interactions ligand-récepteur en facilitant diverses liaisons stabilisantes, améliorant ainsi la spécificité et la robustesse des interactions moléculaires. Des études montrent que l'hème joue un rôle essentiel dans la régulation de la fonction des protéines et dans les processus enzymatiques, ce qui en fait une cible importante pour le développement de nouveaux médicaments (49)

4.2. Prédiction des propriétés ADMET :

Dans le cadre de cette étude, nous avons effectué une évaluation détaillée du profil pharmacocinétique et de la toxicité de quelques ligands de série proposés en utilisant le logiciel en ligne Admet Sar (50). De plus, les propriétés physicochimiques ont été prédites grâce au serveur SwissADME. Ces analyses vont nous permettre d'optimiser et raffiner la présélection des molécules antifongiques avant leur évaluation par des tests in vitro ou in vivo.

D'après les données obtenues dans le tableau III d'analyse des valeurs des propriétés ADMET des 7 molécule choisis , on a noté que le fluconazole montre une absorption gastro-intestinale élevée; tout comme la majorité des composés (sauf la M7 et M8), Cette absorption élevée garantie des concentrations plasmatiques efficaces, indépendamment de la prise alimentaire, ce qui en fait un candidat pratique pour l'administration orale (51). En termes de perméabilité, le fluconazole de référence et tous les composés peuvent traverser la barrière hémato-encéphalique, ce qui les rendent efficace pour traiter les infections fongiques du système nerveux centrale essentiellement les méningites fongiques. Pour la perméabilité CaCO2, les composés montrent des résultats variés dont les molécules M7, M8, M10, M11 qui ne sont pas perméables ce qui peut influencer leur absorption systémique.

Nous avons constaté aussi que Le fluconazole de référence et les molécules m7 et M8 sont ni substrat, ni inhibiteur de la glycoprotéine P (P-gp),Par contre les composés M1, M2, M9, M10, M11 ont été prédits comme étant des substrats de la P-glycoproteine, ce qui est défavorable en terme d'efficacité en diminuant la concentration de nos molécules antifongiques dans les cellules cibles, ce qui nécessite la co-administration de médicament inhibiteur de la P-gp. Le composé M11 a été prédit comme étant un inhibiteur de la glycoprotéine P, ce qui permet

aux antifongiques d' atteindre et de maintenir des concentrations efficaces à l'intérieur des cellules fongiques cibles, améliorant ainsi leur efficacité thérapeutique, pour résoudre le problème de l'accumulation du médicament dans les cellules cibles ,il est nécessaire d'ajuster les doses de manière appropriée en tenant compte le problème de l'accumulation du médicament dans les cellules et produit une toxicité cellulaire.

En ce qui concerne les enzymes cytochrome P450, Le fluconazole et les composés M1, M2, M8, M10 ont été prédits comme inhibeurs du CYP2C19.

Par ailleurs, Toutes les molécules proposées ont été prédites comme non inhibitrices du CYP1A2 et non substrat du CYP2D6, il est à noter aussi qu'à l'exception de M10, toutes les molécules ont été prédites comme non inhibitrices du CYP2D6, les composés M1, M8, M9, M10 et M11 ont été prédits comme inhibiteurs de CYP3A4 en revanche les molécules M2, M8 étant des substrats de CYP3A4. Cependant la molécule M7 n'a aucun impact sur ces enzymes du CYP450.

L'étude des interactions avec le cyp450 étude sont essentielle pour prédire les interactions médicamenteuses et personnaliser les thérapies pour éviter la toxicité (52). D'ailleurs, elles interviennent dans le métabolisme des médicaments, influençant les pharmacocinétiques et pharmacodynamiques de nombreux agents thérapeutiques.

Concernant la toxicité, Tous les composés, y compris le fluconazole, n'ont pas montré de potentiel cancérogène significatif dans les données disponibles. Cette absence de cancérogénicité est rassurante et conforme aux données historiques qui indiquent que les antifongiques azolés sont généralement sans risque de cancer à long terme. Cependant l'hépatotoxicité est un effet secondaire commun parmi les tous composés évalués, y compris le fluconazole, donc la surveillance de la fonction hépatique est cruciale lors de l'administration de ces médicaments. L'inhibition du courant hERG (human Ether-à-go-go-Related Gene) est une propriété à surveiller car elle est associée à un risque accru d'arythmies cardiaques. Tous les composés montrent un potentiel faible d'inhibition du hERG mais quand même remarquable, ce qui pourrait poser des risques cardiaques et nécessiter des études supplémentaires pour évaluer la sécurité cardiaque (53). Les résultats du test AEMS (test d'alerte d'effets médicaux secondaires) montrent que tous nos composés étudiés ont des réactivités négatives, ce qui indique l'absence des effets secondaires non désirés. D'après les résultats de la prédiction, in silico, des propriétés physico-chimiques et de Drug-likeness (règles spécifiques aux médicaments déjà connus et mis sur le marché) (54), tous nos composés ont été jugés conformes à la règle de Lipinskiet de Veber. Ceci reflète une prédiction d'une bonne absorption par voie orale comme le résume le tableau V. Sur la base de ces résultats, les molécules (M1, M2) représentent un meilleur profil physicochimique, pharmacocinétique et pharmacodynamique par rapport aux autres molécules proposées dans le présent document.

5. CONCLUSION :

Les travaux présentés dans ce manuscrit sont orientés vers la recherche et le développement des nouvelles molécules inhibitrices qui agissent sur l'enzyme 14alpha-déméthylase et prédiction, in silico, de leurs activités antifongiques. Afin d'atteindre cet objectif nous avons opté pour une série de 15 molécules dont les ligands sont inspirés du fluconazole.

Dans un premier temps, nous avons appliqué un criblage, basé sur une simulation de docking moléculaire, sur les composés proposés afin de visualiser la position et l'orientation la plus favorable pour les ligands pour prédire l'énergie et l'affinité des complexes formés et d'étudier par la suite leurs modes d'interaction vis-à-vis de notre cible.

La présente étude a révélé que les molécules M1 et M2 présentent, in silico, des affinités meilleures pour la cible comparée à celle du ligand de référence.

Quant aux propriétés physicochimiques prédites grâce au serveur SwissADME, elles ont montré une bonne absorption par voie orale, en accord avec les règles de Lipinski et Veber.

les propriétés pharmacocinétiques et la toxicité prédites par admet Sar, ont montré que les molécules M1 et M2 sont non-inhibitrices de la majorité des iso formes du cytochrome P450 et sont donc moins sujettes aux interactions médicamenteuses, aussi une bonne perméabilité de la barrière hémato-encéphalique.

Les résultats de cette étude pourraient être utiles pour la conception de nouveaux dérivés tiazoles inhibiteurs probables de 14 alpha déméthylase, il serait donc intéressant de synthétiser les molécules M1 et M2 qui ont donné des bonnes affinités avec un profil pharmacocinétique et physicochimique acceptable et de compléter ce travail par des études expérimentales in vitro.

- **Références :**

[1]:Pfaller MA, Diekema DJ. Epidemiology of invasive candidiasis: a persistent public health problem. ClinMicrobiol Rev 2007; 20:133–6.

[2] : Kainz K, Bauer MA, Madeo F, Carmona-Guerrez D. Fungal infections in humans: the silent crisis. Microbial Cell 2020;7(6):143–5.

[3] : F. Almeida, M.L. Rodrigues, C. Coelho, The still underestimated problem of fungal diseases worldwide, Front. Microbiol. 10 (2019) 214, https://doi.org/ 10.3389/fmicb.2019.00214.

[4] : Chang YL, Yu SJ, Heitman J, Wellington M, Chen YL. New facets of antifungal therapy. Virulence 2017;8:222–36. (Kazeminejad et al., 2022 ; Wu et al., 2023 ; Fang et al., 2017.

[5] :Pappas PG, Kauffman CA, Andes DR, et al. Clinical Practice Guideline for the Management of Candidiasis: 2016 Update by the Infectious Diseases Society of America. Clin Infect Dis. 2016;62(4).

[6] : Chekiri-Talbi M, Denning DW. Burden of fungal infections in Algeria. J Fungi (Basel). 2017;3(4):58.

[7] : Shojaei P, Mokhtari B, Ghorbanpoor M. Synthesis in vitro antifungal evaluation and docking studies of novel derivatives of imidazoles and benzimidazoles. Med Chem Res 2019; 28:1–9.

[8]: Gintjee TJ, Donnelley MA, Thompson GR 3rd. Aspiring Antifungals: Review of Current Antifungal Pipeline Developments. J Fungi (Basel) 2020;6(1):28.

[9]:M.A. Hossain, M.A. Ghannoum, New investigational antifungal agents for treating invasive fungal infections, Expert Opin. Invest. Drugs 9 (2005) 1797–1813.

[10] : M.C.M. Marıa Victoria Castelli, Estefaní a Butassi, F.V.& S.A.Z. Laura A Svetaz,́ Novel antifungal agents: a patent review (2011 - present), Expert Opin. Ther. Pat. 27 (2014) 415426.

[11] : J.A. Paiva, J.M. Pereira, New antifungal antibiotics, Curr. Opin. Infect. Dis. 26 (2013) 168–174.

[12] : Wang Y, Xu K, Bai G, Huang L, Wu Q, Pan W, et al. Synthesis and antifungal activity of novel triazole compounds containing piperazine moiety. Molecules 2014;19(8):11333–40.

[13] : G.I. Lepesheva, M.R. Waterman, Structural basis for conservation in the CYP51 family, Biochim. Biophys. Acta - Proteins Proteomics. 2011 (1814) 88–93 (Shafiei et al. 2020.

[14] : Fromtling RA. Overview of medically important antifungal azole derivatives. Clin MicrobiolRev 1988;1:187–217.

[15] :) Pfaller MA, Diekema DJ, Gibbs DL, Newell VA, Ellis D, Tullio V, et al. Global Antifungal Surveillance Group. Results from the ARTEMIS DISK Global Antifungal Surveillance Study, 1997 to 2007: a 10.5-year analysis of susceptibilities of Candida Species to fluconazole and voriconazole as determined by CLSI standardized disk diffusion. J ClinMicrobiol 2010;48(4):1366–77.

[16] : Vincent TA. Current and future antifungal therapy: new targets for antifungal therapy. Int J Antimicrob Agents 2000;16:317–21.

[17] : S. Emami, E. Ghobadi, S. Saednia, S.M. Hashemi, Current advances of triazole alcohols derived from fluconazole: Design, in vitro and in silico studies, Eur. J. Med. Chem. (2019) 173–194.

[18] : N. Belskaya, J. Subbotina, S. Lesogorova, Synthesis of 2 H -1, 2, 3-Triazoles, Top Heterocycl Chem. 1 (2015) 51–116, https://doi.org/10.1007/7081.

[19] : Klopčič, I., and Novič, M. (2017). MolinspirationCheminformatics – The Best Case Scenario for Chemists and Biologists. *Molecules*, 22(2), 246.

[20] : Yap, C. W. (2011). PaDEL-descriptor: An open source software to calculate molecular descriptors and fingerprints. *Journal of Computational Chemistry*, 32(7).

[21] F. Lopez-Vallejo, T. Caulfield, K. Martinez-Mayorga, M. A. Giulianotti, A. Nefzi, R. A. Houghten, J. L. Medina-Franco, Integrating virtual screening and combinatorial chemistry for accelerated drug discovery, Comb. Chem. High Throughput Screen. 14 (6) (2011) 475–48.

[22] : Leach A., 2001. - Molecularmodelling, principles and application, prentice hall, new jersey.

[23] : Bernstein F, Koetzle T, Williams G, Meyer J.r E, Brice M, Rodgers J, Kennard O, Shimanouchi T, Tasumi M. The Protein Data Bank: a computer-based archival file for macromolecular structures. FEBS J, 2008; 10: 1432-103.

[24]: Tayor et al , 2002.

[25]: Monge A. Création et utilisation de chimiothèques optimisées pour la recherche « in silico » de nouveaux composés bioactifs. Thèse de doctorat d'université : Chimie Informatique et Théorique. Orléans : Université d'Orléans. France. (2006). p154 .

[26] : A. Imberty, K. D. Hardman. J.P. Carver, S .Perez; Molecularofprotein _carbohydrate interactions. Docking of monosaccharides in the binding site of concavaline A., Glycobiology, 1991, 1, 631- 642.

[27] : Overton, E. Studien über die Narkose, zugleich ein Beitrag zur allgemeinen Pharmakologie, Fischer, G., Jena, 1901 .

[28] : Morris, G. M., Huey, R., Lindstrom, W., Sanner, M. F., Belew, R. K., Goodsell, D. S., & Olson, A. J. (2009). AutoDock4 and AutoDockTools4: Automated docking with selective receptor flexibility. *Journal of Computational Chemistry*, 30(16), 2785-2791.

[29] : Alia A Sagatova et al. Agents antimicrobiens Chimother . Août 2015 .

[30] : Sousa, SF, Ribeiro, AJ, Coimbra, JTS et Martins, SA (2019). Préparation et analyse de structures protéine-ligand. *Méthodes en biologie moléculaire, 2053* , 1-15.

[31] : Huey, R., Morris, GM, Olson, AJ et Goodsell, DS (2008). Préparation de structures de protéines et de ligands pour l'amarrage moléculaire à l'aide d'AutoDock4. *Méthodes en biologiemoléculaire, 443* , 47-54.

[32] : Wang R, Liu L, Lai L, Tang Y. SCORE: a new empirical method for estimating the binding affinity of a protein-ligand complex. Comput Chem. 1998;22(2):132-9.

[33] : Forli, S., Huey, R., Pique, M. E., Sanner, M. F., Goodsell, D. S., & Olson, A. J. (2016). Computational protein-ligand docking and virtual drug screening with the AutoDock suite. *Nature Protocols*, 11(5), 905-919.

[34] : Trott O, Olson AJ. AutoDockVina: improving the speed and accuracy of docking with a new scoring function, efficient optimization, and multithreading. J Comput Chem. 2010 Jan 30;31(2):455-61.

[35] : Goodsell DS, Olson AJ. Automated docking of substrates to proteins by simulated annealing. Proteins. 1990;8(3):195-202.

[36] : O'Hagan S, Kellam B. Microarrays for the screening of bioactive molecules. Drug Discov Today. 2000 Nov 1;5(21):457-68.

[37] : DassaultSystèmes. BIOVIA Discovery Studio, Release 2021: Overview and Applications. San Diego: DassaultSystèmes, 2021 .

[38] : : Daina A, Michielin O, Zoete V. SwissADME: a free web tool to evaluate pharmacokinetics, drug-likeness and medicinal chemistry friendliness of small molecules. Sci Rep. 2017 Mar 3;7:42717 .

[39] : Zheng, S.; Luo, X.; Chen, G.; Zhu, W.; Shen, J.; Chen, K.; Jiang, H. A New Rapid and Effective Chemistry Space Filter in Recognizing a Druglike Database J. Chem. Inf. Comput. Sci. 2005, 45, 856-862.

[40] : : Lipinski, C.A. Lead- and drug-like compounds: the rule-of-five revolution. Drug Discov. Today 2004, 1, 337- 341 .

[41] : Charly EMPEREUR-MOT, thèse de doctorat. Développement d'outils statistiques d'évaluation de méthodes de criblage virtuel : courbes de prédictivité& Screening Explorer, ÉCOLE DOCTORALE Sciences des Métiers de l'Ingénieur , (2017).

[42] : A.-I. Pricopie, L. Vlase, A. Pîrnău, and D. Cristian, "Design and synthesis of some novel 1, 2, 4-triazole-3-yl-mercapto derivatives as potential anti-Candida agents," Enzyme, vol. 66, no. 6, pp. 948–958, 201.

[43] : Kohler, J. R., Casadevall, A., &Perfect, J. (2014). The spectrum of fungi that infects humans. *Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine, 5*(12), a019273.

[44] :Mkhelfi, Z. (2021). Role of hydrophobic interactions and hydrogen bonds in protein-ligand binding interactions. *Journal of Molecular Recognition, 34*(7), e2896.

[45] :(Khazanov NA, Carlson HA (2013) Exploring the Composition of Protein-Ligand Binding Sites on a Large Scale. PLoSComputBiol 9(11): e1003321.

[46] : Rybak-Smith, M. J., & Williams, J. D. (2017). The role of hydrogen bonding in the catalytic activity and inhibition of fungal enzymes by triazole antifungals. *Journal of Fungal Research*, 4(1), 32-45.

[47] : (Halperin, I., Ma, B., Wolfson, H., &Nussinov, R. (2002). Principles of docking: An overview of search algorithms and a guide to scoring functions. *Proteins: Structure, Function, and Bioinformatics*, 47(4), 409-443).

[48] :(Auffinger, P., Hays, F. A., Westhof, E., & Ho, P. S. (2004). Halogen bonds in biological molecules. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 101(48), 16789-16794).

[49] : Cheng, Y., Prusoff, W. H., & Yang, Z. (2013). Admet Saar. *Journal of Chemical Information and Modeling, 53*(8), 1689-1699.

[50] : Martindale: The Complete Drug Reference. (n.d.). Fluconazole.

[51] :Nutrition et métabolisme - « Rôle du cytochrome P450 dans les interactions médicamenteuses » PLOS ONE.

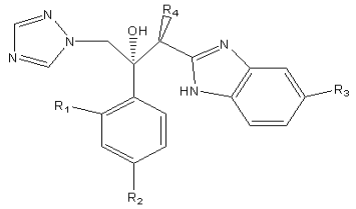
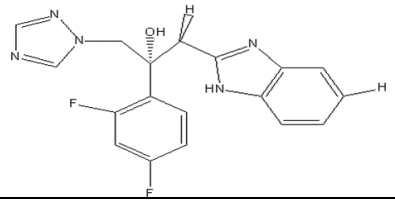
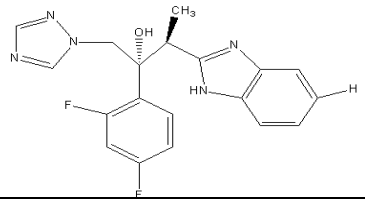
[52] : avero, I., Holzgrefe, H., "hERGToxicityAssessment: Useful Guidelines for Drug Design," **Advanced Drug Delivery Reviews**, vol. 86, pp. 12-20, 2015.

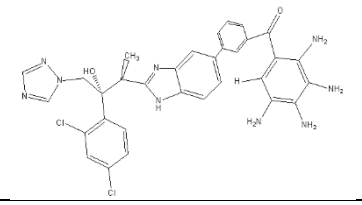
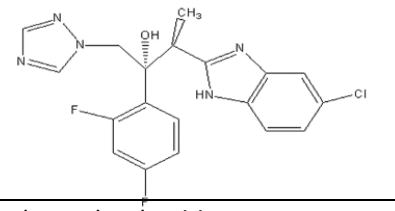
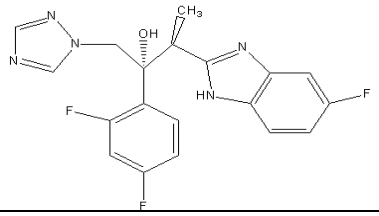
[53] : Chen X, Li H, Tian L, Li Q, Luo J, Zhang Y. Analysis of the PhysicochemicalProperties of Acaricides Based on Lipinski'sRule of Five. Journal of ComputationalBiology. sept 2020;27(9):1397-406.

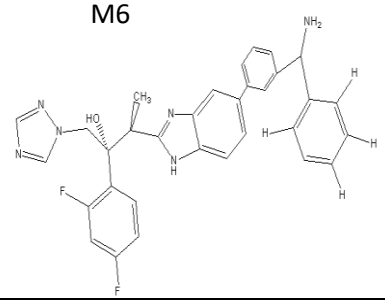
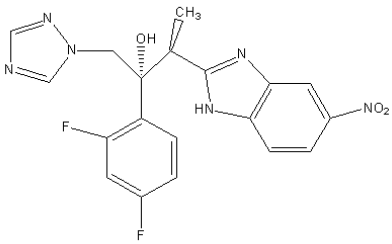
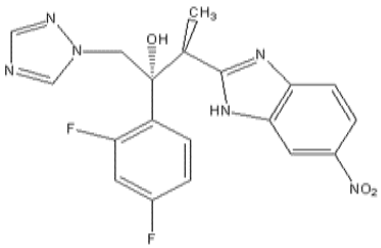
[54] : Kowalska M, Fijałkowski Ł, Nowaczyk A. The biologicalactivityassessment of potentialdrugs acting on cardiovascular system usingLipinski and VeberRules. Journal of Education, Health and Sport. 14 déc 2018;8(12):184-91.

Tableaux des annexes

Structures des molécules hybrides

Référence 	M1 	M2 
(2R,3S)-2-(2,4-R1 Phénol)-3-(5-R3-1H-benzo[d]imidazol-2-yl)-1-(1H-1,2,4-triazol-1-yl)butan-2-ol	(R)-1-(1H-benzo[d]imidazol-2-yl)-2-(2,4-difluorophenyl)-3-(1H-1,2,4-triazol-1-yl)propan-2-ol	(2R,3S)-3-(1H-benzo[d]imidazol-2-yl)-2-(2,4-difluorophenyl)-1-(1H-1,2,4-triazol-1-yl)butan-2-ol

M3 	M4 	M5 
(2,3,4,5-tetraminophenyl)(3-(2-((2S,3R)-3-(2,4-dichlorophenyl)-3-hydroxy-4-(1H-1,2,4-triazol-1-yl)butan-2-yl)-1H-benzo[d]imidazol-5-yl(phenyl) méthadone	(2R,3S)-3-(5-chloro-1H-benzo[d]imidazol-2-yl)-2-(2,4-difluorophenyl)-1-(1H-1,2,4-triazol-1-yl)butan-2-ol	(2R,3S)-3-(5-fluor-1H-benzo[d]imidazol-2-yl)-2-(2,4-difluorophenyl)-1-(1H-1,2,4-triazol-1-yl)butan-2-ol

M6 	M7 	M8 
(2R,3S)-3-(5-(3-(amino(phenyl)methyl)phenyl)-1H-benzo[d]imidazol-2-yl)-2-(2,4-difluorophenyl)-1-(1H-1,2,4-triazol-1-yl)butan-2-ol	(2R,3S)-2-(2,4-difluorophenyl)-3-(5-nitro-1H-benzo[d]imidazol-2-yl)-1-(1H-1,2,4-triazol-1-yl)butan-2-ol	(2R,3S)-2-(2,4-difluorophenyl)-3-(6-nitro-1H-benzo[d]imidazol-2-yl)-1-(1H-1,2,4-triazol-1-yl)butan-2-ol

M9	M10	M11
(2R,3S)-3-(5-amino-1H-benzo[d]imidazol-2-yl)-2-(2,4-difluorophenyl)-1-(1H-1,2,4-triazol-1-yl)butan-2-ol	(2R,3S)-2-(2,4-difluorophenyl)-3-(5-phenyl-1H-benzo[d]imidazol-2-yl)-1-(1H-1,2,4-triazol-1-yl)butan-2-ol	(2R,3S)-2-(2,4-difluorophenyl)-3-(5-(piperazin-1-yl)-1 H-benzo[d]imidazol-2-yl)-1-(1H-1,2,4-triazol-1-yl)butan-2-ol

M12	**M13**	**M14**
(3-(2-((R)-2-(2,4-dichlorophenyl)-2-hydroxy-3-(1 H-1,2,4-triazol-1-yl) propyl)-1H-benzo[d]imidazol-5-yl(phenyl)(phenyl) méthadone	(3,4,5-triaminophenyl)(3-(2-((R)-2-(2,4-difluorophenyl)-2-hydroxy-3-(1H-1,2,4-triazol-1-yl) propyl)-1H-benzo[d]imidazol-5-yl)phenyl)methanone	(3-aminophenyl)(3-(2-((2S,3R)-3-(2,4-dichlorophenyl)-3-hydroxy-4-(1H-1,2,4-triazol-1-yl)butan-2-yl)-1H-benzo[d]imidazol-5-yl)phenyl)methanone

M15
(3,4-diaminophenyl)(3-(2-((2S,3R)-3-(4-chloro-2-fluorophenyl)-3-hydroxy-4-(1H-1,2,4-triazol-1-yl)butan-2-yl)-1H-benzo[d]imidazol-5-yl)phenyl)methanone