

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
République Algérienne Démocratique et Populaire

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique



جامعة الإخوة منتوري قسنطينة I
Frères Mentouri Constantine I University
Université Frères Mentouri Constantine I

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie
Département de Biochimie et Biologie
Cellulaire et Moléculaire

كلية علوم الطبيعة والحياة
قسم الكيمياء الحيوية والبيولوجيا الخلوية
والجزئية

Mémoire présenté en vue de l'obtention du diplôme de Master

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences Biologiques

Spécialité : Biochimie Appliquée

N° d'ordre :

N° de série :

Intitulé :

Conception *in silico* de nouveaux ligands de la sous unité GluN2A du récepteur
NMDA

Présenté par : BOUAKAZ Akram

Le 28 /06/2022

LEMOUCHI Mohammed El Amine

Jury d'évaluation :

Encadreur : Mr BENSEGUENI A. (Professeur - Université Frères Mentouri, Constantine 1).

Examineur 1 : Mr CHIKHI A. (Professeur - Université Frères Mentouri, Constantine 1)

Examineur 2 : Mr MOKRANI.E.H (Maitre de Conférences B - Université Frères Mentouri, Constantine 1).

Année universitaire
2021 - 2022

Remerciements

En préambule à ce mémoire, nous tenons tout d'abord à remercier ALLAH le tout puissant, qui nous aide et qui nous a donné la force, le courage et la patience d'accomplir ce Modeste travail.

Nous adressons nos plus sincères remerciements à notre encadrant Monsieur BENSEGUENI Abderrahmane pour sa patience et sa confiance, ses remarques, ses conseils et sa bienveillance.

Notre profonde reconnaissance également à Mr MOKRANI qui nous a inspiré à vouloir travailler sur la modélisation par docking moléculaire.

Nos remerciements pour Mr CHIKHI, pour ses connaissances et sa disponibilité.

Je voudrais également remercier tous membres du laboratoire de biochimie appliquée.

Enfin, nous remercions toutes personnes ayant contribué et aidé de près ou de loin à la réalisation de ce travail.

Merci a tous et a toutes.

Dedications

Firstly, I would love to thank Allah for giving me the knowledge, power and patience to undertake and finish my research work

I would love to dedicate this modest work to the most amazing and supportive parents in the world, my father Slimane and my mother Al Kamla

Thank you so much for all the love and care you gave me throughout the years, I can never repay you for it but I will be thankful

To my lovely little sisters Aicha and Fatima El Zohra

To my supportive and loving brothers Ala eddine, Issam and Haroun

To my brothers from another mothers Druxy, Aymen, Haroun, Yacine, Nouredine and Wail

To my fellow soldier Heath

*To my friend and classmate who shared this journey with me and was always helpful
Sofia*

To my dear friend that I never met Hamid

To all my friends that I didn't mention

To the future

Bouakaz Akram

Dédicaces

A la mémoire de mon défunt père.

Tu restes le plus grand homme que j'ai connu;

À ma mère,

À cette source de tendresse, de patience et de générosité;

À mon grand-père,

La plus grande source d'encouragement et d'inspiration;

À mon frère,

L'ami le plus proche de mon cœur;

À toute ma famille;

À tous mais amis et collègues;

A tous qui m'ont donné la force de continuer.

Lemouchi M.A

Table de matière

INTRODUCTION GÉNÉRALE	1
Chapitre I : Le complexe des récepteurs NMDA comme cible thérapeutique	
1.1 Introduction	3
1.2 Classification des récepteurs du glutamate :	3
1.3 Structure du récepteur NMDA:	4
1.3.1 Sous-unités des récepteurs NMDA :	5
1.3.2 Sites de liaison des récepteurs NMDA (reconnaissance) :	7
1.4 L'activité physiologique du récepteur NMDA :	8
1.4.1 Régulation de l'excitotoxicité neuronale:	8
1.4.2 Plasticité synaptique :	9
1.5 Classification des antagonistes des récepteurs NMDA :	9
1.5.1 Antagonistes compétitifs des récepteurs NMDA :	10
1.5.2 Bloqueurs de canaux non compétitifs	12
1.5.3 Antagonistes du site de liaison de la glycine insensible à la strychnine :	13
1.5.4 Antagonistes des récepteurs de la polyamine	14
1.6 Propriétés neurologiques et psychotropes des antagonistes des récepteurs NMDA : 15	
1.6.1 Troubles convulsifs	16
1.6.2 Ischémie cérébrale	17
1.6.3 Maladies neurodegenerative:	19
1.6.4 Troubles de l'humeur:	23
1.6.5 Effet anxiolytique	24
1.6.6 Douleur et troubles de la douleur chronique	25
1.7 Tolérance aux drogues et récepteurs NMDA	26

Table de matière

1.7.1	La tolérance aux opiacés :	26
1.7.2	Tolérance aux autres substances psychoactives :	27
1.8	Facteurs limitant l'utilisation clinique des antagonistes des récepteurs NMDA	27
2	Chapitre 2 Docking Moléculaire	
2.1	Introduction	28
2.2	Les étapes de docking	28
2.2.1	Le docking	29
2.2.2	Le scoring	29
2.3	Type de docking	30
2.3.1	Docking rigide	30
2.3.2	Le docking semi-flexible	30
2.3.3	Docking flexible	30
2.4	Outils de docking	30
2.4.1	Récepteur	31
2.4.2	Ligand	31
2.4.3	Programmes de docking.....	31
2.4.4	Surflex.....	32
2.5	Les interactions protéines-ligands.....	33
2.5.1	La liaison hydrogène.....	33
2.5.2	Interaction ionique	34
2.5.3	Effet hydrophobe	34
2.5.4	Interactions Van der Waals.....	35
3	Chapitre III : MATÉRIELS et méthodes	
3.1	Materials.....	36
3.1.1	Computers.....	36

Table de matière

3.1.2	Software	36
3.2	Data base	40
3.2.1	PDB:.....	40
3.2.2	PubChem.....	41
3.3	METHODS	
3.3.1	Validation of docking protocol	42
3.3.2	Complex Choice:	42
3.3.3	Protein Preparation:	43
3.3.4	Ligand Preparation:.....	44
3.3.5	Docking with Surflex.....	44
3.3.6	Search for new theoretical GluN2A ligands:.....	46
3.3.7	ADME/Tox filtering:	48
3.3.8	Visual Analysis	49
4	Chapter IV : Results and discussion	
4.1	Introduction	51
4.2	THE RELIABILITY of the SurFlex software.	51
4.2.1	RMSD test.....	51
4.2.2	Visual Analysis :.....	54
4.2.3	Conclusion:	56
4.3	Virtual Screening:	57
4.4	Prediction of ADME Proprieties	59
4.4.1	Physio-Chemical PROPRIETIES:.....	59
4.4.2	Pharmacokinetic PROPRIETIES:.....	61
4.4.3	Results discussion:.....	61
4.5	Visual Analysis and Discussion of interactions	62

Table de matière

4.5.1	Result discussion:	65
5	Conclusion	66
6	RÉFÉRENCES	
	Annexes	
	Résumes	

LISTE DES FIGURES

Figure 1: Schéma de la structure du récepteur NMDA	5
Figure 2 : Structure cristalline du récepteur hétérotétramérique GluN1a-GluN2B NMDA (NR1-NR2)	6
Figure 3 : Modèle montrant la structure du récepteur NMDA avec des sites de liaison avec différents ligands.....	7
Figure 4 : Illustration des différents antagonistes des récepteurs NMDA et de leur mode d'action	10
Figure 5 : Structure chimique de certains antagonistes compétitifs des récepteurs NMDA.....	11
Figure 6 : Structure de quelques arcylohexamines	12
Figure 7 : Structure des antagonistes du site de liaison de la glycine.....	13
Figure 8 : Structure des antagonistes des récepteurs de la polyamine.....	14
Figure 9 : Illustration expliquant le mécanisme par lequel les récepteurs NMDA influencent la survie et la mort des cellules.....	18
Figure 10 : Dégradation de la substantia nigra associée à la maladie de Parkinson.....	19
Figure 11 : Illustration montrant en haut la gamme normale de répétitions et la gamme de répétitions pathogènes (National Institute of Standards and Technology).	21
Figure 12 : Illustrateur montrant la formation de plaques bêta-amyloïdes dans la maladie d'Alzheimer.....	22
Figure 13 : Structure du donépézil, un inhibiteur de l'acétylcholinestérase, et de la mémantine, un antagoniste des récepteurs NMDA.	23
Figure 14 : Etapes du processus de découverte d'un médicament	28
Figure 15 : Représentation schématique du Dockingmoléculaire	29

Figure 16: Représentation schématique des étapes du docking moléculaire.....	30
Figure 17: Digramme des programmes de docking les plus cités	32
Figure 18: La liaison hydrogène.	33
Figure 19 : La Liaison ionique.....	34
Figure 20: L'effet hydrophobe dans une protéine	35
Figure 21: Graphic interface of Surflex.....	37
Figure22:Graphic interface of open babel	38
Figure 23: Biovia Discovery studio Interface.....	39
Figure 24: SWISSADME interface	40
Figure 25: PDB home page.....	41
Figure 26: PubChem home page.....	42
Figure 27: The 3-dimensional structure of the 5h8q complex obtained from PDB(119).....	43
Figure 28: 5YE saved under the PDB format opened in a text editor.	44
Figure 29: Docking result in shown in command prompt window	45
Figure 30: PubChem Query page.....	47
Figure 31: Results of the RMSD test given in percent (%).	52
Figure 32: Superposition of the crystal conformation of the ligand extracted from 5H8Q (coloured in blue) with the best predicted pose (coloured in red).	53
Figure 33: Biovia Discovery Visualizer visual analysis of ligand interaction mode of S82 with the active site of 5h8q.	63
Figure 34: Representation of receptor-ligand 1 interactions in 2D diagram.	64

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1 : Sous-classes de récepteurs ionotropes du glutamate	3
Tableau 2 : Classes de récepteurs métabotropiques du glutamate	4
Tableau 3 : Computer specifications	36
Table 4 :List of 100 complexes used in RMSD test, green entries represent NMDA receptor crystalstructures	53
Table 5 : RMSD values of the selected NMDA receptor ligands studied (colored in blue) and their superposition with the best predicted position obtained from SurFlex (colored in red)	54
Table 6 : Results of virtual screening	57
Table 7 :Physio-chemical proprieties of 5YE, S82, S77, S81, S26, S84, S52.....	60
Table 8 : Pharmacokinetic proprieties of 5YE, S82, S77, S81, S26, S84, S52	61
Table 9 : bonds established by S82 interacting with the active site.....	64

LISTE D'ABRÉVIATION

2D: Two Dimensional

ADME: Absorption, Distribution, Metabolism, Elimination

AMPA: α -amino-3-hydroxy-5-methyl-4-isoxazolepropionic acid

APV: 2R)-amino-5-phosphonovaleric acid

BBB: Blood-Brain Barrier

BPAD: Bipolar affective disorder

CYP: Cytochrome P450

DTA/ AD : Démence de type Alzheimer, Alzheimer Dementia/Disease

GABA: Gamma-aminobutyric acid

GI: Gastro Intestinal

GLY: Glycine amino acid

HIS: Histidine amino acid

Kcal: Kilo-Calorie

LID: Levodopa-induced dyskinesia

LTD: Long-Term Depression

LTP: Long-Term Potentialisation

MH:Maladie Huntington

NMDA: N-methyl-d-aspartate

NMDAR: NMDA-Receptor

PCP: Phencyclidine

PD: Parkinson's Disease

PDB: Protein Data Bank

PRO: Proline amino acid

RMSD: Root-Mean-Square Deviation

SLA : Sclérose Latérale Amyotrophique

SNC : System Nerveux Centrale

SPN : GABAergic Spiny projection Neurons

TAB : trouble affectif bipolaire

THC: Tetrahydrocannabinol

TYR: Tyrosine amino acid

Tox: Toxicity

g: Gramme

mL: Milliliter

nAChRs: Nicotinic Acetylcholine Receptor

Å: Angstrom

INTRODUCTION GÉNÉRALE

Il y a eu un développement rapide des neurosciences au cours des 20 dernières années. Depuis, de nombreuses maladies sont devenues traitables et de nombreux secrets du système nerveux ont été découverts.

Cette avancée est en partie due à l'utilisation de l'assistance informatique comme outils de la science.

Le système des neurotransmetteurs, qui utilise des acides aminés excitateurs tels que le glutamate et l'aspartate comme intermédiaires, a récemment fait l'objet d'une attention particulière. En ce qui concerne le système glutamatergique, le sous-type de récepteurs du glutamate le plus étudié porte le nom de l'un des agonistes sélectifs, le N-méthyl-o-aspartate (NMDA).

L'une des approches assistées par les outils informatiques est le criblage virtuel par docking moléculaire, qui est une nouvelle approche visant à simuler et prédire l'affinité d'un très grand nombre de ligands pour le site actif d'une cible thérapeutique donnée, qui est assez facile à mettre en place, plus rapide et pour un coût bien inférieur au criblage expérimental.

Initiée au début des années 1980, cette approche s'est développée pour devenir, de nos jours, un outil incontournable dans la recherche de nouvelles molécules bioactives.

C'est dans ce même contexte que nous orientons notre travail dans la recherche de nouveaux inhibiteurs du récepteur NMDA en faisant appel à la modélisation par docking moléculaire

Dans le premier chapitre de ce travail, le complexe récepteur NMDA est considéré en détail comme une cible thérapeutique. L'accent est mis sur la classification des récepteurs du glutamate, la structure et les fonctions physiologiques de base du complexe des récepteurs NMDA, qui déterminent en grande partie les propriétés neuropsychotropes des ligands des récepteurs NMDA.

Le deuxième chapitre décrit le docking moléculaire et ses algorithmes de docking et de scoring ainsi que les outils et les différents logiciels nécessaires à sa réalisation.

Le troisième chapitre présente le matériel et les méthodes utilisées dans cette étude.

Le quatrième chapitre présente les résultats et leurs interprétations

Une conclusion générale ainsi que des perspectives clôturent ce travail.

CHAPITRE I :

LE COMPLEXE DES RÉCEPTEURS NMDA COMME CIBLE THÉRAPEUTIQUE

Chapitre I : Le complexe des récepteurs NMDA comme cible thérapeutique

1.1 INTRODUCTION

En 1883, les chimistes allemands Ernst. Schulze et E. Bosshard ont isolé la L-glutamine du jus de betteraves à sucre(1). Au début des années 1900, le glutamate était considéré comme un composant important du tissu nerveux(2). La recherche sur le rôle du glutamate dans l'activité du SNC a débuté à la fin des années 1950, lorsque sa capacité à exciter les neurones a été révélée et que le mécanisme spécifique (récepteur) de cet effet a été prouvé(3). Des études ultérieures ont permis de découvrir que le glutamate et un certain nombre d'autres acides aminés excitateurs (par exemple, l'aspartate) sont les principaux médiateurs du système nerveux central des mammifères et de nombreux sous-types de récepteurs du glutamate ont été découverts.

1.2 CLASSIFICATION DES RÉCEPTEURS DU GLUTAMATE :

Le glutamate agit par l'intermédiaire de deux classes de récepteurs, les canaux ioniques à libération par ligand (récepteurs ionotropes) et les récepteurs couplés aux protéines G (métabotropes). (4). Les récepteurs ionotropiques du glutamate sont nommés d'après leurs ligands (agonistes sélectifs) et classés en récepteurs NMDA, récepteurs AMPA et récepteurs Kainate(4) (Tableau 1). Les récepteurs métabotropiques du glutamate sont classés en fonction de leur structure et de leur activité physiologique en 8 familles différentes, mGlu1 à mGlu8. Ils sont également divisés en groupes, I, II et III (Tableau 2) (8).

Tableau 1. Sous-classes de récepteurs ionotropes du glutamate

	Sous-classe de récepteurs		
	NMDA	AMPA	Kainate
Agoniste	N-méthyl-D-aspartate (NMDA) D, L-(tétrazol-5-yl) glycine	α -amino-3-hydroxy-5-méthyl-4-isoxazolepropion (AMPA) 5-Fluorowillardiine	Acide kaïnique Glutamate
Antagonistes	****PUT CEUX QUE NOUS AVONS OBTENUS DE	CNQX, DNQX,acide	CNQX, DNQX,

Chapitre I : Le complexe des récepteurs NMDA comme cible thérapeutique

	PDB****	kynurénique	NS102
Système affecté	Na ⁺ /Ca ²⁺ /K ⁺	Na ⁺ /Ca ²⁺ /K ⁺	Na ⁺ /Ca ²⁺ /K ⁺
Sous-unités	NR1, NR2, NR2B, NR2C, NR2D, NR3	GluR1, GluR2, GluR3, GluR4	KA1, KA2, GluR5, GluR6, GluR7

Tableau 2. Classes de récepteurs métabotropiques du glutamate

	Groupes de récepteurs		
	Groupe I	Groupe II	Groupe III
Agoniste	3,5-dihydroxyphénylglycine	eglumegad Biphénylindanone A DCG-IV	
Antagoniste	MTEP, MPEP, Mavoglurant	APICA, EGLU	
Récepteurs (familles)	mGluR1, mGluR5	mGluR2, mGluR3	mGluR4 mGluR6 mGluR7 mGluR8

1.3 STRUCTURE DU RÉCEPTEUR NMDA:

1.3.1 Sous-unités des récepteurs NMDA :

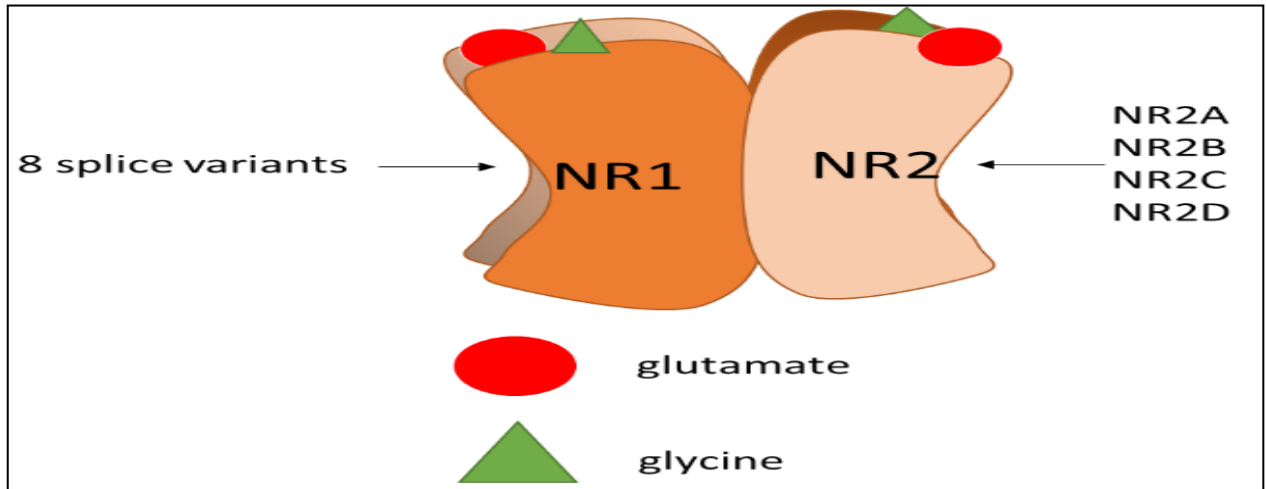


Figure 1: Schéma de la structure du récepteur NMDA (4) (5) (6).

Le clonage moléculaire a montré que tous les récepteurs ionotropes du glutamate sont constitués de quatre sous-unités, qui forment un récepteur fonctionnel avec un pore perméable aux ions. Chacune des quatre sous-unités se lie à une molécule de ligand(5). Les récepteurs NMDA nécessitent à la fois du l-glutamate et de la glycine pour l'activation du canal (figure 1).

Le récepteur NMDA est assemblé à partir de deux sous-unités NR1, exprimées sous forme de huit variantes d'épissage, et de deux d'une famille de quatre sous-unités NR2 (NR2A, NR2B, NR2C, NR2D).(4). La sous-unité NR1 se lie à la glycine, tandis que les sous-unités NR2 se lient au glutamate, ce qui permet au récepteur de se lier à un maximum de deux molécules de glutamate et de deux molécules de glycine (6).

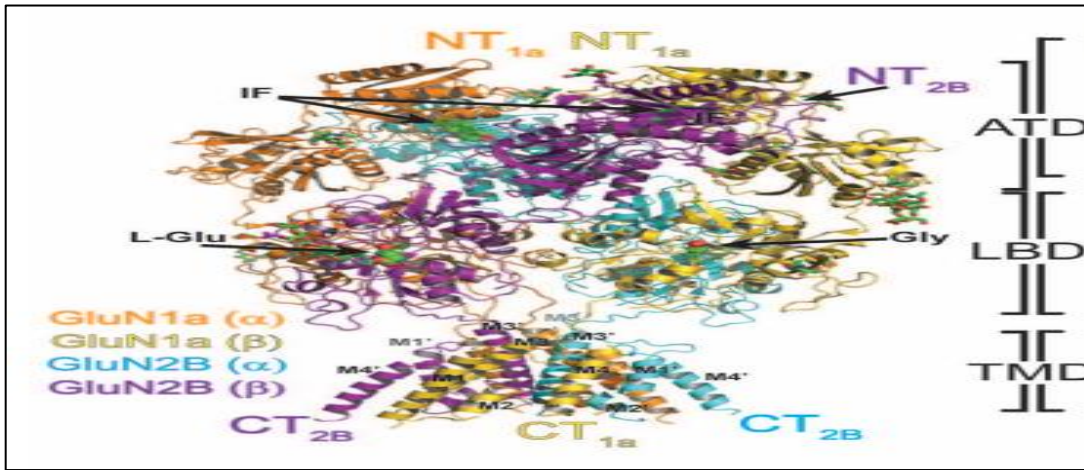


Figure 2: Structure cristalline du récepteur hétérotétramétrique GluN1a-GluN2B NMDA (NR1-NR2) (12)

Une nouvelle famille de sous-unités de récepteurs NMDA, composée de NR3A et NR3B, a été décrite récemment (7). NR3A forme des canaux fonctionnels avec NR1 et, contrairement aux autres sous-unités, fonctionne de manière dominante-négative, c'est-à-dire qu'elle s'assemble avec NR1 et supprime les courants induits par le glutamate (7).

1.3.2 Sites de liaison des récepteurs NMDA (reconnaissance) :

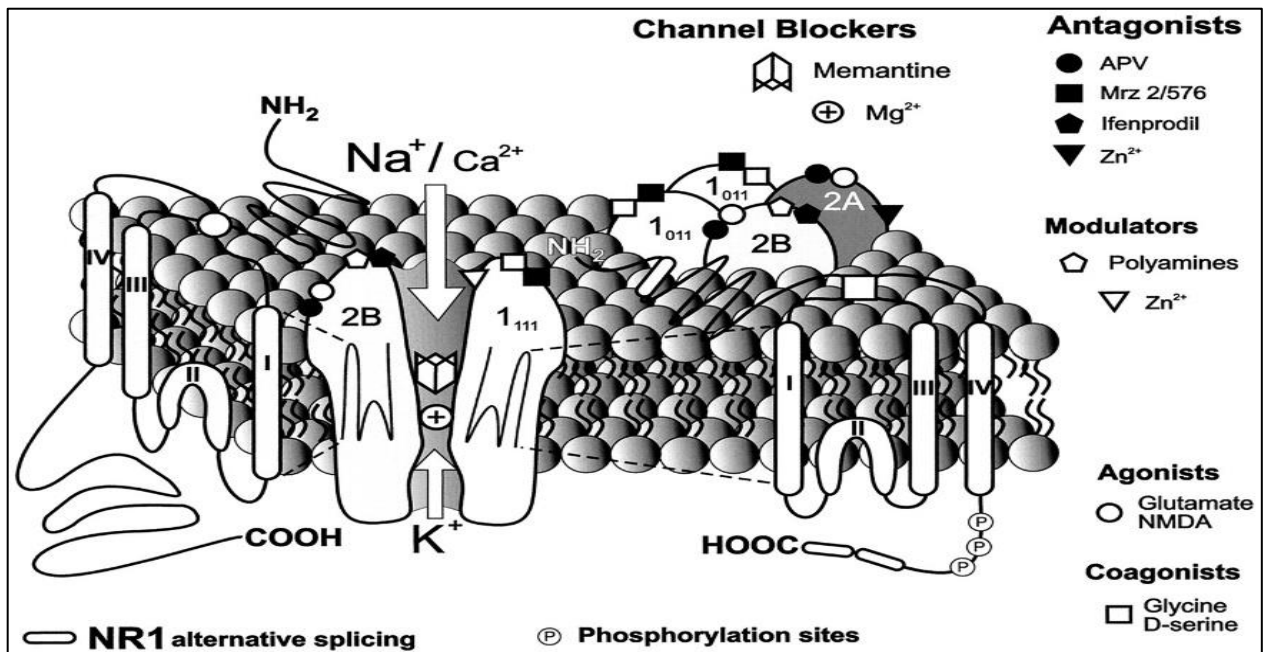


Figure 3 : Modèle montrant la structure du récepteur NMDA avec des sites de liaison avec différents ligands.

On distingue plusieurs sites de liaison dans le complexe NMD A-récepteur :

- 1) site de liaison des agonistes (glutamate, NMDA) et des antagonistes compétitifs.
- 2) le site de liaison des coagonants de la glycine et de la D-sérine et des antagonistes de la glycine
- 3) le site de liaison des polyamines (spermine, spermidine) et des antagonistes des polyamines (10)
- 4) le site de liaison des bloqueurs de "canaux" (phencyclidine, kétamine, mémantine) (11)
- 5) Site de liaison au Mg² (13)
- 6) Site de liaison du Zn² (14)
- 7) site de liaison H⁺ (15)

En outre, il existe des sites de liaison spécifiques pour d'autres substances bioactives, telles que les neurostéroïdes (par exemple, la prégnénolone ; (16)), les neuropeptides (par exemple, la dinorphine ; (17)) et l'histamine (18).

1.4 L'ACTIVITÉ PHYSIOLOGIQUE DU RÉCEPTEUR NMDA :

Comme nous l'avons déjà noté, le glutamate est le principal médiateur excitateur du système nerveux central des mammifères. Il n'est pas surprenant qu'un très grand nombre de fonctions physiologiques soient basées sur l'utilisation active de la transmission glutamatergique.

Il serait peu pratique d'essayer de décrire tous les effets physiologiques possibles de l'activation du complexe des récepteurs NMDA. Néanmoins, on peut distinguer trois fonctions physiologiques principales des récepteurs NMDA, qui reflètent les caractéristiques fonctionnelles de ces récepteurs et servent de base au développement de méthodes de modulation pharmacologique.

1.4.1 Régulation de l'excitotoxicité neuronale:

L'ouverture du canal associé au complexe des récepteurs NMDA entraîne une augmentation de la concentration de calcium intracellulaire entrant le long du gradient de concentration, ce qui conduit à une augmentation de l'activité neuronale.

La surexcitation d'un neurone s'accompagne du passage de neurones fonctionnant normalement à un état d'activité épileptiforme, qui peut se manifester par le développement de crises épileptiques (19).

L'activation excessive prolongée des récepteurs NMDA entraîne une augmentation pathologique de la concentration de calcium intracellulaire et déclenche des changements irréversibles (activation de protéases, d'endonucléases et de phospholipases Ca^{2+} -dépendantes), conduisant à la mort d'un neurone (mécanisme dit de " mort calcique ") (20).

Chapitre I : Le complexe des récepteurs NMDA comme cible thérapeutique

Les affections neuropathologiques causées par l'hyperactivité du système glutamatergique comprennent non seulement les troubles neurodégénératifs classiques (maladie d'Alzheimer, chorée de Huntington, maladie de Parkinson, sclérose latérale amyotrophique), mais aussi les lésions cérébrales ischémiques, diverses encéphalopathies (y compris diabétiques), les troubles cognitifs, etc(20).

Des études ont également révélé le rôle du récepteur NMDA dans la "mort cellulaire programmée" (apoptose) déclenchée par l'accident ischémique cérébral(21).

1.4.2 Plasticité synaptique :

Le terme "plasticité synaptique" est utilisé pour décrire les mécanismes de la mémoire et de l'apprentissage non seulement au sens traditionnel, mais aussi pour discuter des fondements de diverses formes d'addiction, de tolérance, de toxicomanie, etc. Ceci est dû au rôle des NMDAR en tant que déclencheur de la potentialisation à long terme (LTP) et de la dépression à long terme (LTD) de la transmission synaptique rapide (22).

Distribution des récepteurs NMDA dans le système nerveux central :

Les récepteurs NMDA (ou plutôt les sous-unités NR1) sont présents dans tout le système nerveux central des mammifères. La plus forte densité de ces récepteurs est observée dans le système olfactif, l'hippocampe, le cortex frontal, les noyaux basaux (noyau accumbens, noyau caudé, septum, etc.) qui sont responsables de la mémoire et de l'apprentissage au sens classique du terme (23)(24).

1.5 CLASSIFICATION DES ANTAGONISTES DES RÉCEPTEURS NMDA :

Il existe plusieurs classifications des antagonistes des récepteurs NMDA. La classification basée sur leur liaison à divers sites du complexe des récepteurs NMDA semble être la plus justifiée.

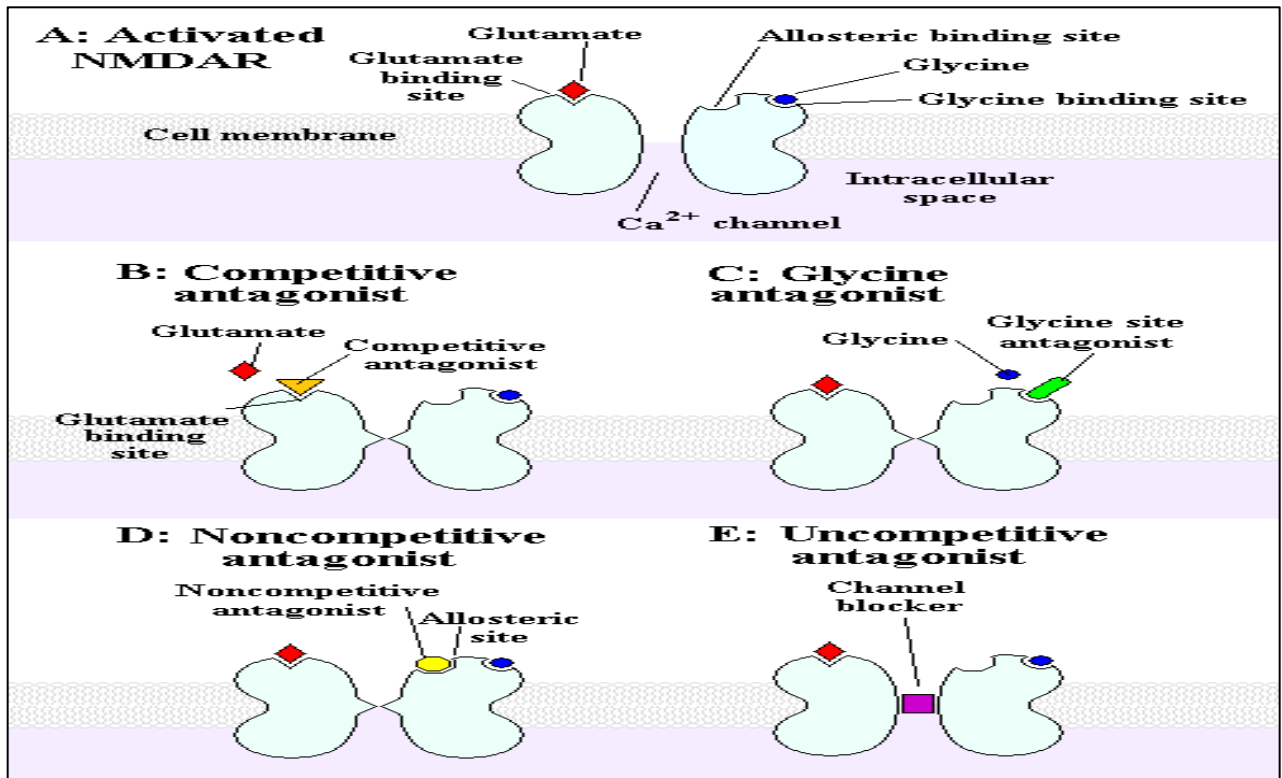


Figure 4: Illustration des différents antagonistes des récepteurs NMDA et de leur mode d'action (25)

1.5.1 Antagonistes compétitifs des récepteurs NMDA :

Comme leur nom l'indique, les antagonistes compétitifs interagissent avec le même site du complexe des récepteurs NMDA que le glutamate. L'introduction d'antagonistes compétitifs entraîne le déplacement des agonistes du site de liaison du glutamate sur le complexe des récepteurs NMDA et donc un affaiblissement des effets des agonistes.

Le premier des antagonistes compétitifs, l'acide o-a-aminoadipique, a été découvert à la fin des années 70. (26). Sur la base de cette molécule, un grand nombre d'antagonistes sélectifs contenant un groupe s-phosphonique, mais ayant une capacité limitée à pénétrer la barrière hémato-encéphalique. Plus tard, des analogues cycliques sont apparus avec du benzène (par exemple, NPC-17742 / GPI-3000 (27)), la pipéridine (par exemple CGS-19755 (28)) et pipérazine (par exemple CPP, D-CPPene (28)), qui se caractérisent par une activité élevée lors de l'administration systémique (figure 4).

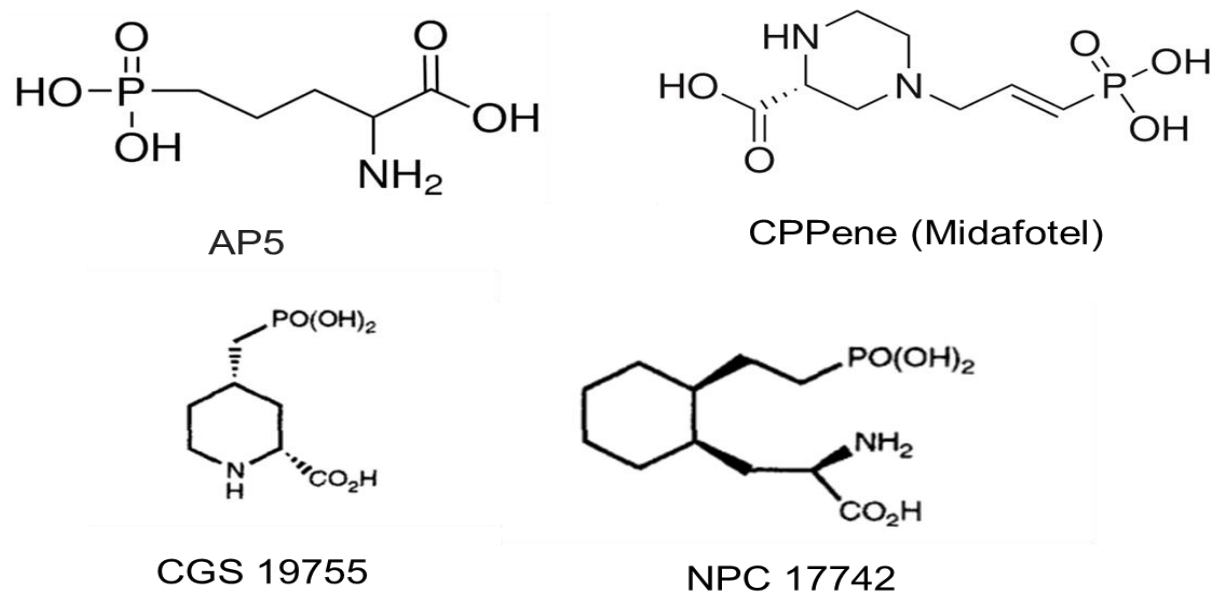


Figure 5: Structure chimique de certains antagonistes compétitifs des récepteurs NMDA.

La plupart des antagonistes compétitifs connus se lient à tous les sous-types de récepteurs NMDA, quelle que soit la configuration des sous-unités. Cependant, en général, les données indiquent que les antagonistes compétitifs ont la plus grande affinité pour les récepteurs ayant dans leur composition les sous-unités NMDAR2A et/ou 2B. Par exemple, o-CPRepe est le plus sélectif vis-à-vis des NMDAR2A-pe4 enTopaM (28).

Selfotel (CGS-19755), CGP-39653, CGP-43487 ont une plus grande affinité pour les récepteurs NMDAR2A et NMDAR2B que pour les récepteurs avec les sous-unités NMDAR2C et 2D (29).

1.5.2 Bloqueurs de canaux non compétitifs

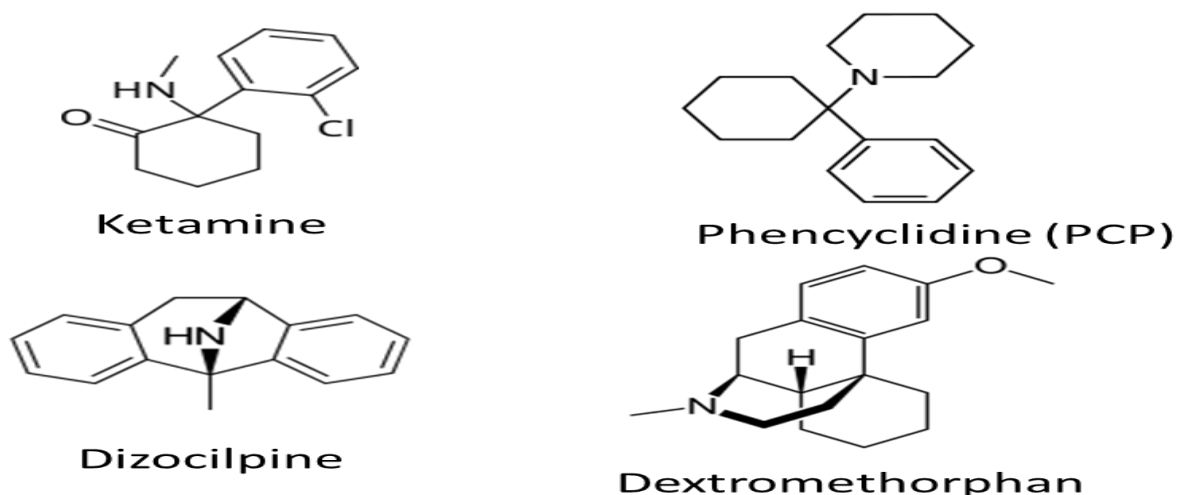


Figure 6: Structure de quelques arylcyclohexamines

C'est cette classe qui a donné le coup d'envoi à la recherche sur les propriétés pharmacologiques des antagonistes des récepteurs NMDA. Le premier bloqueur de canaux étudié, la phencyclidine (PCP), est utilisé dans des expériences depuis plus de 30 ans, bien que les bloqueurs de canaux sélectifs ne soient apparus que dans les années 1980 (30). Les arylcyclohexylamines interagissent avec une variété de récepteurs, ce sont : Le récepteur μ -opioïde, le récepteur σ et les agonistes du récepteur D2. Ainsi que les récepteurs nACh et les récepteurs NMDA. Ceci est associé à des effets anesthésiques, anticonvulsivants, neuroprotecteurs ; ainsi qu'à des effets stimulants, euphorisants et dissociatifs.

À des doses élevées, des effets psychomimétiques ont également été observés, ce qui a rendu l'avancement clinique difficile (31).

En raison du large éventail d'activités pharmacologiques possibles, des modifications chimiques sont mises en œuvre pour changer le profil pharmacologique, ce qui permet d'obtenir des effets plus sélectifs et mieux adaptés en fonction des différences structurales.

1.5.3 Antagonistes du site de liaison de la glycine insensible à la strychnine :

Au début, les perspectives d'utilisation des antagonistes des récepteurs de la glycine étaient très incertaines en raison des difficultés liées à la faible pénétration à travers la barrière hémato-encéphalique. Cependant, on sait déjà que plusieurs antagonistes de la glycine ont un profil pharmacocinétique amélioré, et des données ont confirmé leur bon potentiel thérapeutique en cas d'administration systémique (32).

Les antagonistes de la glycine constituent un groupe dont la structure chimique est très hétérogène (figure 7).

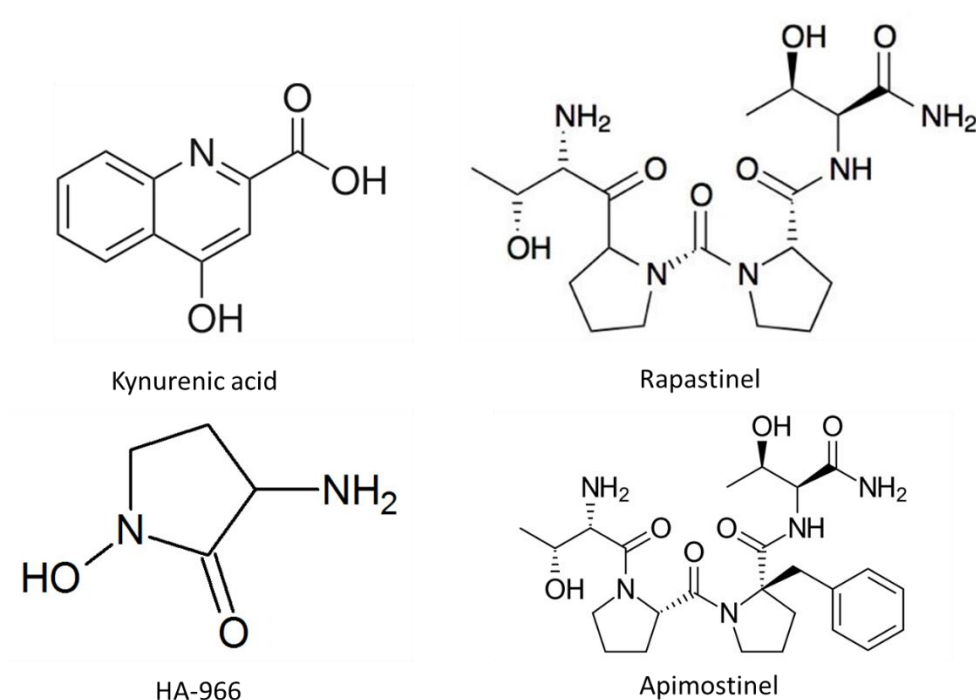


Figure 7: Structure des antagonistes du site de liaison de la glycine.

1.5.4 Antagonistes des récepteurs de la polyamine

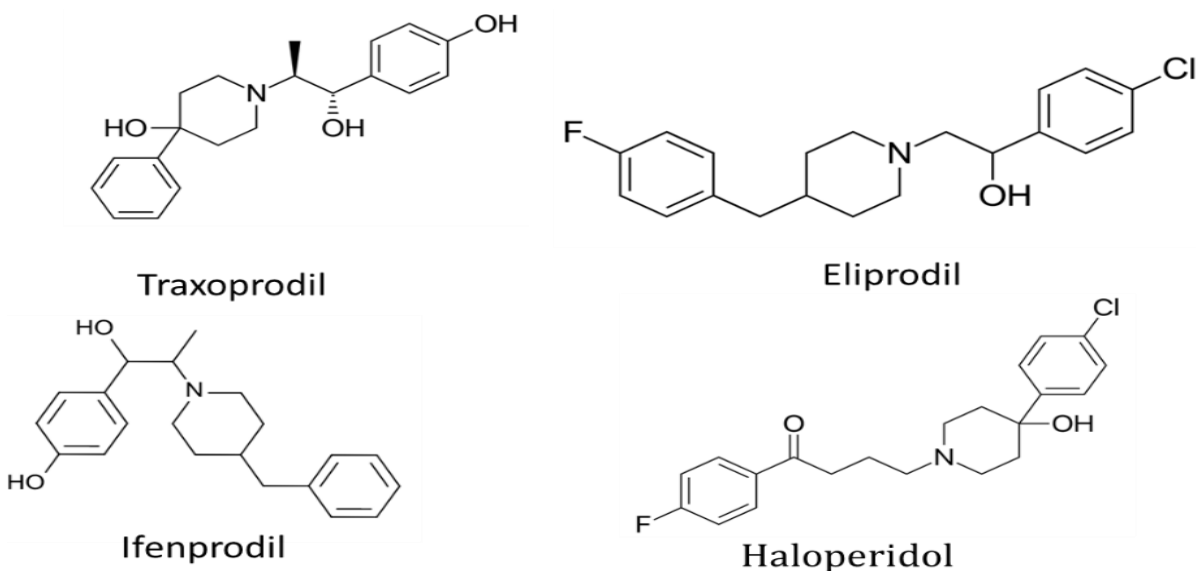


Figure 8: Structure des antagonistes des récepteurs de la polyamine

Le ifenprodil a été développé pour traiter les troubles circulatoires périphériques ; il subit une dégradation rapide dans le foie, et une série de ses analogues a donc été synthétisée afin de limiter le métabolisme dans le foie. L'une de ces substances, l'éliprodil (SL-82.0715), s'est avérée être un antagoniste sélectif des récepteurs des polyamines et a elle-même servi de prototype pour le développement d'une série d'antagonistes des récepteurs NMDA (figure 8). Les antagonistes de la polyamine constituent encore un groupe relativement restreint de modulateurs du complexe des récepteurs NMDA, malgré cela, ils possèdent des propriétés très intéressantes qui captent l'attention des chercheurs. Tout d'abord, contrairement aux autres classes d'antagonistes des récepteurs NMDA décrites précédemment, le mécanisme d'action modulatrice des antagonistes des polyamines est mieux décrit par le terme "modulation", et non "antagonisme" ou "blocage". En raison de la grande prévalence des récepteurs NMDA dans le système nerveux central, les ligands qui ont un effet modéré (limité) sur l'activité du complexe des récepteurs NMDA (tels que les agonistes partiels des récepteurs de la glycine) ont les meilleures perspectives d'utilisation clinique. Les antagonistes des polyamines ne déplacent pas les

Chapitre I : Le complexe des récepteurs NMDA comme cible thérapeutique

agonistes ou les co-agonistes des sites de liaison et ne bloquent pas directement l'ionophore lui-même, mais ils bloquent les canaux calciques potentiellement dépendants(33).

Deuxièmement, les antagonistes des polyamines se lient sélectivement aux RECEPTEURS NMDAR2B (34). La sous-unité NMDAR2B est la plus largement représentée dans le cerveau antérieur et, en particulier, dans les structures du système limbique, ainsi que dans l'hippocampe(35).

Par conséquent, l'analyse pharmacologique des effets des antagonistes des polyamines présente peut-être le plus grand intérêt pour la psychopharmacologie.

1.6 PROPRIÉTÉS NEUROLOGIQUES ET PSYCHOTROPES DES ANTAGONISTES DES RÉCEPTEURS NMDA :

La présence d'un grand nombre de récepteurs du glutamate dans diverses parties du système nerveux, leur rôle physiologique unique indiquent les perspectives d'utilisation de composés qui affectent le système des neurotransmetteurs glutamatergiques comme médicaments de divers types d'action (anticonvulsivants, anti-ischémiques, agents neuroprotecteurs, analgésiques, etc.)

Il n'est donc pas surprenant que les plus grandes sociétés pharmaceutiques du monde disposent de programmes de recherche approfondis visant à créer des médicaments basés sur les ligands des récepteurs du glutamate.

Dans ce chapitre, nous tenterons d'analyser les principales tendances et perspectives de création de nouveaux médicaments basés sur la régulation des fonctions des NMDA, un sous-type de récepteurs ionotropes du glutamate. La capacité des antagonistes des récepteurs NMDA à supprimer le développement et la manifestation de la tolérance et de la dépendance aux drogues (principalement aux opiacés) est examinée en détail pour plusieurs raisons.

Premièrement, les antagonistes des récepteurs NMDA améliorent considérablement l'analgésie opiacée, ce qui, associé à leur capacité à inhiber le développement de la

Chapitre I : Le complexe des récepteurs NMDA comme cible thérapeutique

tolérance, augmente l'efficacité thérapeutique des analgésiques opiacés. Deuxièmement, les antagonistes des récepteurs NMDA affaiblissent les propriétés motivationnelles des drogues, y compris des opiacés, et augmentent ainsi la sécurité thérapeutique des analgésiques opiacés. Troisièmement, les bloqueurs de canaux de type phencyclidine ont eux-mêmes un potentiel addictif prononcé, et l'administration répétée d'antagonistes des récepteurs NMDA peut s'accompagner du développement d'une tolérance à leurs effets.

Les propriétés anticonvulsivantes, anxiolytiques et antidépressives des antagonistes des récepteurs NMDA peuvent être extrêmement utiles comme options thérapeutiques.

1.6.1 Troubles convulsifs

La régulation de l'excitabilité neuronale est l'une des principales fonctions physiologiques du système glutamatergique. Les agonistes des récepteurs du glutamate provoquent une augmentation de l'activité neuronale, et leur administration s'accompagne du développement de crises d'épilepsie. Presque immédiatement après l'apparition des antagonistes compétitifs des récepteurs NMDA, on a commencé à étudier la possibilité de les utiliser comme anticonvulsivants(36).

Un grand nombre de données expérimentales ont été accumulées sur l'effet anticonvulsivant prononcé des antagonistes des récepteurs NMDA de diverses classes - antagonistes compétitifs, bloqueurs de canaux, antagonistes de glycine (37).

Les antagonistes des récepteurs NMDA présentent une activité anticonvulsivante dans les crises cloniques et toniques : crises audiogènes, crises limbiques provoquées par la pilocarpine, crises provoquées par le corazole, chocs électriques, crises convulsives généralisées après choc électrique transcrânien, états convulsifs génétiquement déterminés, crises provoquées par l'administration intracérébrale ou systémique d'agonistes des récepteurs NMDA.

L'intérêt pour le développement de nouveaux anticonvulsivants basés sur les antagonistes des récepteurs NMDA s'explique par l'existence d'hypothèses sur l'efficacité de ces substances dans certaines formes de troubles convulsifs qui étaient auparavant résistants à la thérapie.

Chapitre I : Le complexe des récepteurs NMDA comme cible thérapeutique

Certains antagonistes tels que la Kétamine se sont révélés être des traitements possibles pour contrôler l'état épileptique et les crises liées à l'éclampsie, des études ayant montré des résultats positifs(38).

1.6.2 Ischémie cérébrale

La libération massive de glutamate et d'autres acides aminés excitateurs lors d'une ischémie ou d'une lésion du tissu nerveux a été mise en évidence dans de nombreuses études (39) (40). De plus, une augmentation de la concentration de glutamate et de glycine est observée dans le liquide céphalo-rachidien et le plasma des patients souffrant d'accidents ischémiques progressifs ou de lésions cérébrales(41).

La libération excessive de glutamate en soi est l'une des clés, mais pas le seul mécanisme de la mort neuronale dans des conditions d'ischémie et de traumatisme, lorsque les ressources énergétiques de la cellule sont très limitées. Il est également nécessaire de tenir compte du fait que des facteurs tels que la diminution du potentiel membranaire de repos, l'endommagement des systèmes de tampons calciques intracellulaires augmentent la sensibilité des neurones au glutamate. En outre, il ne faut pas oublier le rôle important du stress oxydatif, de l'inflammation et de la détérioration de la barrière hémato-encéphalique(42).

Dans les lésions cérébrales, on considère que l'un des mécanismes de dommage est l'affaiblissement du blocage des récepteurs NMDA par le magnésium(43).ce qui peut expliquer la plus grande efficacité des bloqueurs de canaux par rapport aux antagonistes compétitifs.

Les données les plus récentes montrent une dualité dans la façon dont les NMDAR contribuent à la survie ou à la mort des neurones, en fonction des emplacements subcellulaires et des sous-types du récepteur qui sont activés (figure 9).

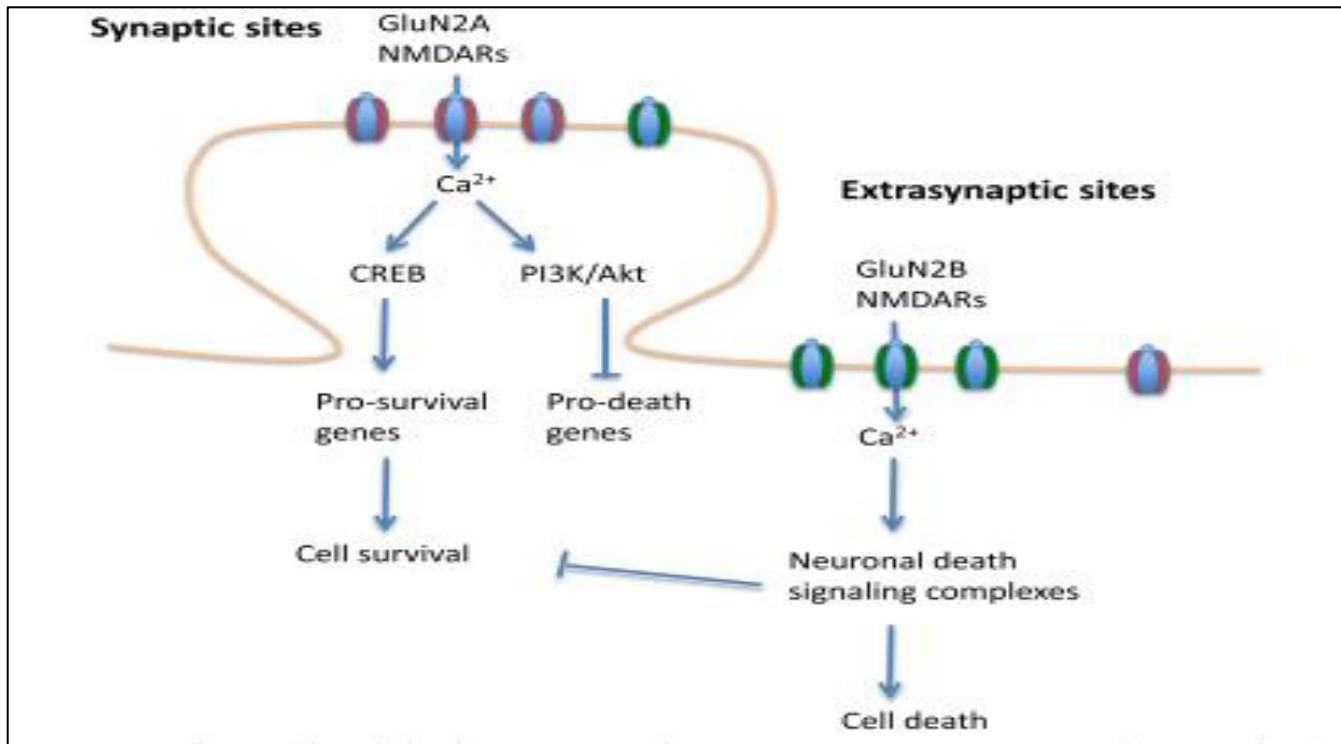


Figure 9: Illustration expliquant le mécanisme par lequel les récepteurs NMDA influencent la survie et la mort des cellules. (44)

En général, les NMDARs GluN2A synaptiques sont associés à des effets "pro-survie" tandis que les NMDARs GluN2B extra-synaptiques sont liés à des complexes de signalisation pro-mortalité. (44).

La conception de traitements basés sur les récepteurs NMDA est une possibilité mais reste difficile, les chercheurs devraient chercher à bloquer la voie de signalisation "pro-mort". Si certains antagonistes sont capables de le faire, ils n'ont aucune sélectivité pour les sous-unités GluN2A et GluN2B, tandis que les antagonistes sélectifs de GluN2B existants sont des régulateurs allostériques négatifs, avec l'inconvénient d'effets indésirables et de dépendance à l'activité (45) (46).

1.6.3 Maladies neurodégénératives:

1.6.3.1 La maladie de Parkinson:

Le principal mécanisme pathogénique du développement de la maladie de Parkinson est la mort des neurones de la substantia nigra (pars compacta), qui donnent des projections dopaminergiques dans le striatum, le noyau caudé et la clôture. On suppose que les changements neurodégénératifs sont déclenchés par le mécanisme de neurotoxicité du glutamate.

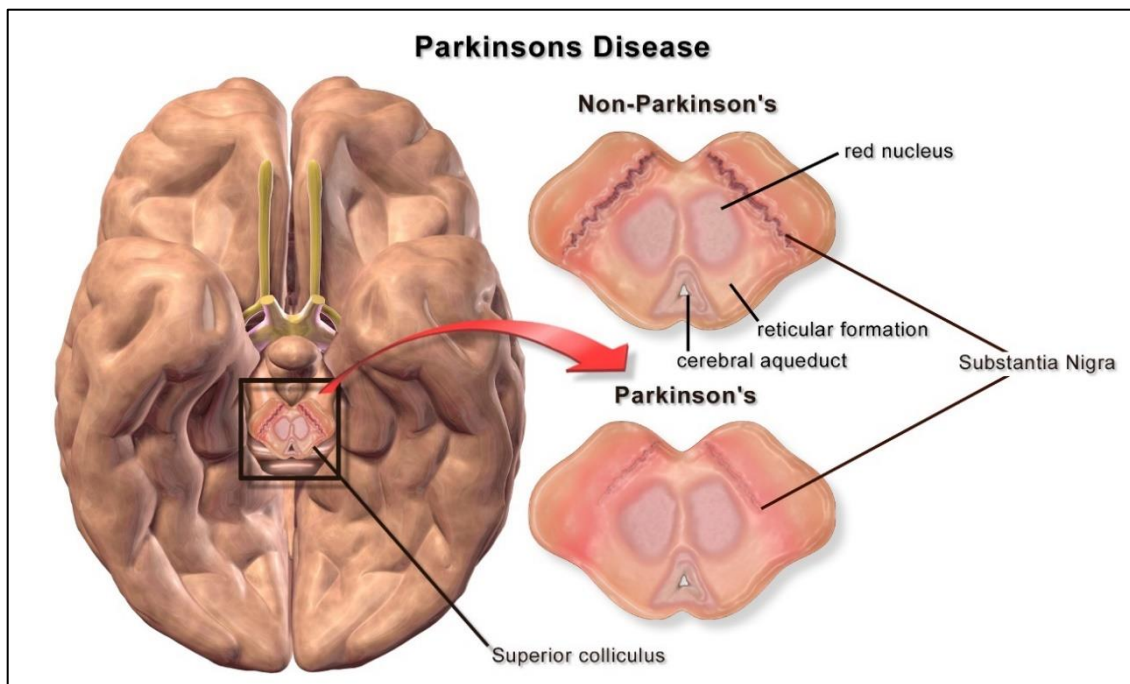


Figure 10 : Dégradation de la substantia nigra associée à la maladie de Parkinson (79).

L'utilisation des antagonistes du NMDA est due à trois observations : le blocage de la signalisation anormale du glutamate dans le noyau sous-thalamique est crucial dans la pathogenèse et les symptômes moteurs de la maladie de Parkinson (47).

L'antagonisme du NMDA protégeant les neurones nigraux, la synergie des antagonistes du NMDA avec les agents dopaminergiques entraînant une augmentation de la libération et du renouvellement de la dopamine ainsi que le blocage de la signalisation anormale du glutamate dans le noyau sous-thalamique étant cruciaux dans la pathogenèse et

Chapitre I : Le complexe des récepteurs NMDA comme cible thérapeutique

les symptômes moteurs de la maladie de Parkinson justifient l'utilisation de l'agoniste du NMDA dans la maladie de Parkinson(48) (49).

Bien que les évaluations précliniques obtenues aient indiqué l'efficacité potentielle du ciblage des récepteurs du glutamate pour le traitement du parkinsonisme, les essais cliniques chez les patients atteints de la maladie de Parkinson sont encore relativement insuffisants et toujours en cours de développement. À l'heure actuelle, seul l'amantadine, un faible antagoniste du NMDA, a été largement utilisé pour le traitement des dyskinésies. La pharmacologie de l'amantadine est complexe et ne dispose pas d'un mécanisme d'action bien défini, mais elle exerce un effet antiparkinsonien grâce à des concentrations "thérapeutiques" (c'est-à-dire de faibles micromolaires) sur l'activité des antagonistes du NMDA (50).

Cependant, une étude récente sur l'antagoniste des récepteurs NMDA sélectif du NR2B, le MK-0657, a suggéré qu'une dose unique de MK-0657 n'a pas permis d'améliorer la LID et les symptômes moteurs chez les patients atteints de MP (51).

1.6.3.2 La maladie de Huntington

La maladie de Huntington (MH) est une maladie neurodégénérative autosomique dominante causée par une expansion des répétitions CAG dans le premier exon du gène de la huntingtine, conduisant à un étirement polyglutamine dans l'extrémité N-terminale de la protéine. Cette mutation provoque une neurodégénérescence progressive affectant d'abord les neurones de projection du striatum (SPN) puis les neurones corticaux, entraînant des symptômes moteurs, cognitifs et psychiatriques caractéristiques(52).

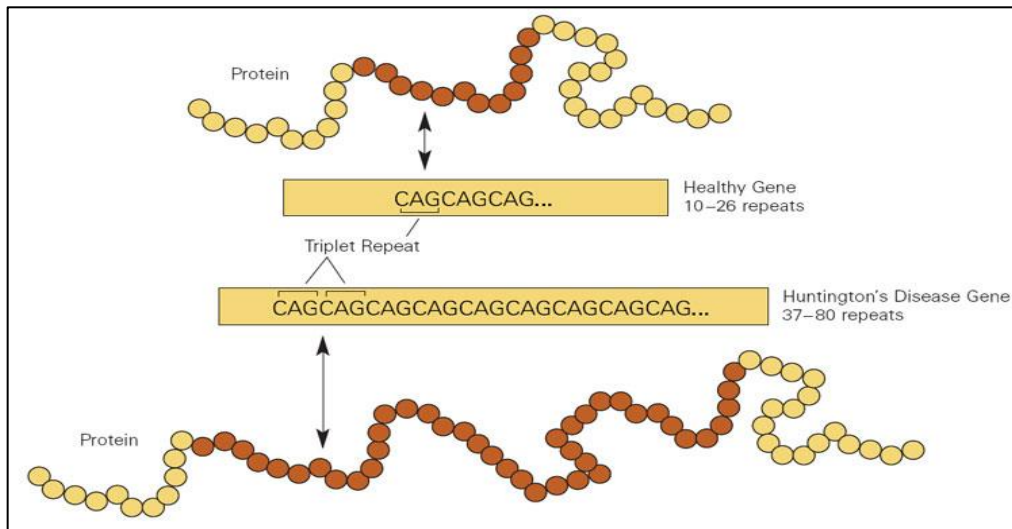


Figure 11 : Illustration montrant en haut la gamme normale de répétitions et la gamme de répétitions pathogènes (National Institute of Standards and Technology).

Parmi les dysfonctionnements cellulaires observés dans la HD, une augmentation de la susceptibilité neuronale à l'excitotoxicité induite par le NMDA a été rapportée. De plus, les injections intrastriales d'agoniste NMDAR chez les souris et les primates reproduisent la dégénérescence striatale observée dans la MH, ce qui sous-tend la sensibilité des neurones striataux de la MH à la toxicité induite par les NMDAR (53) (54).

1.6.3.3 Sclérose latérale amyotrophique

Une stimulation excessive des récepteurs du glutamate est également associée au développement de la sclérose latérale amyotrophique, dans laquelle on observe une diminution de la masse des neurones des cornes ventrales de la moelle épinière et des neurones corticaux qui donnent des projections dans les neurones des cornes ventrales. La concentration accrue de glutamate dans le liquide céphalo-rachidien et le plasma dans la SLA a servi de base à un certain nombre d'essais cliniques sur les récepteurs des antagonistes du glutamate (dextrométhorphan, lamotrigine) qui n'ont pas encore apporté le résultat escompté. Cependant, les récepteurs du glutamate restent des cibles potentielles dans le traitement de cette maladie, et le riluzole, un inhibiteur non sélectif de la libération

du glutamate, a été enregistré dans un certain nombre de pays comme thérapie pour la SLA (55).

1.6.3.4 La maladie d'Alzheimer et les troubles de la mémoire :

La maladie d'Alzheimer est la variante la plus courante de la démence sénile, caractérisée par un dysfonctionnement cognitif global, notamment des pertes de mémoire, des changements de comportement et de personnalité. Elle est liée à des dommages dans la fonction et la structure de l'hippocampe et du néocortex, des zones du cerveau utilisées pour la mémoire et la cognition(56). Les caractéristiques histologiques de la maladie d'Alzheimer sont la formation de plaques amyloïdes extracellulaires composées du peptide amyloïde bêta ($A\beta$) et d'enchevêtrements neurofibrillaires intraneuronaux, composés de la protéine Tau anormalement hyperphosphorylée(57).

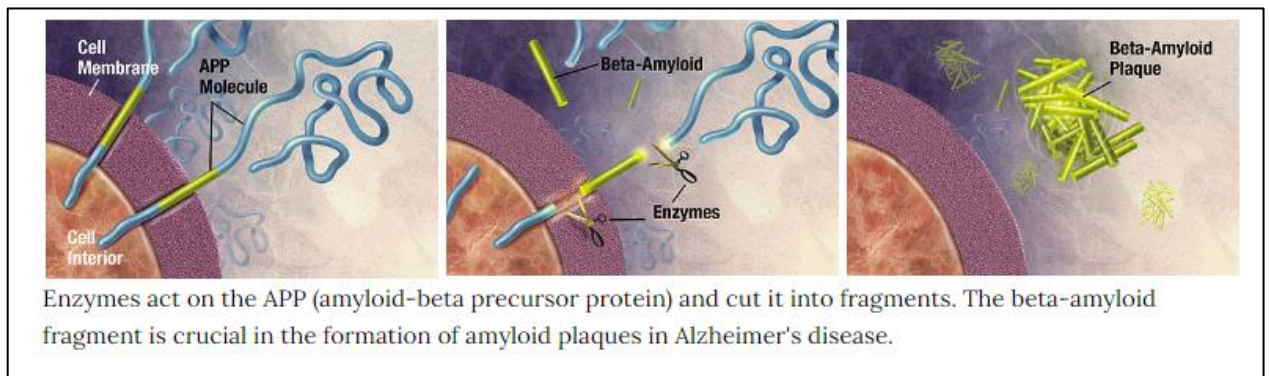


Figure 12 : Illustrateur montrant la formation de plaques bêta-amyloïdes dans la maladie d'Alzheimer

Néanmoins, la perte de synapses causée par l'absence d'axones et de dendrites fonctionnels ou par la mort des neurones est la principale cause de perte de mémoire (58).

On s'attend donc à ce que les antagonistes des récepteurs NMDA fassent l'objet de recherches sur la maladie d'Alzheimer en raison de leurs propriétés neuroprotectrices mentionnées précédemment.

Il existe actuellement deux classes de médicaments contre la maladie d'Alzheimer : Les inhibiteurs du cholinestérase qui comprennent la galantamine, la rivastigmine et le

Chapitre I : Le complexe des récepteurs NMDA comme cible thérapeutique

donépézil. La mémantine, antagoniste non compétitif des récepteurs NMDA. L'association de la mémantine et des inhibiteurs du cholinestérase pourrait avoir des effets bénéfiques plus importants sur le comportement, la cognition et les résultats globaux(59).

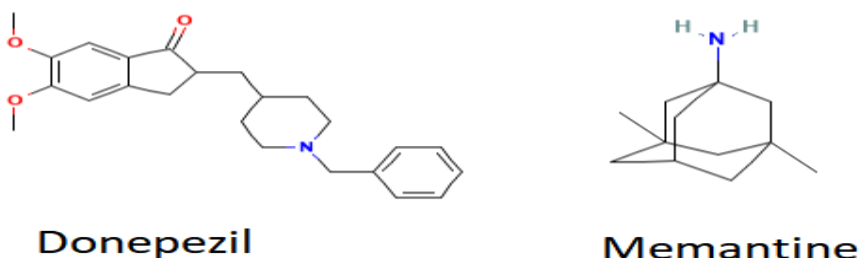


Figure 13 : Structure du donépézil, un inhibiteur de l'acétylcholinestérase, et de la mémantine, un antagoniste des récepteurs NMDA.

1.6.4 Troubles de l'humeur:

L'humeur est décrite comme la tonalité interne des sentiments qui influence la façon dont un individu se perçoit et perçoit l'environnement.

Les troubles de l'humeur les plus étudiés sont le trouble dépressif majeur et le trouble affectif bipolaire (TAB), ce dernier étant caractérisé par une alternance d'épisodes maniaques et dépressifs. Les symptômes psychotiques peuvent être présents lors d'épisodes graves de dépression, de manie ou lors d'états mixtes(60).

On a d'abord pensé que les troubles de l'humeur étaient causés par des altérations des niveaux de noradrénaline et de sérotonine, mais cette théorie n'a pas permis d'expliquer complètement la cause de cette maladie complexe. Parmi les autres théories, citons l'altération de la régulation hormonale (dysfonctionnement de l'axe hypothalamo-hypophysaire et de l'axe thyroïdien), l'altération des récepteurs de l'acide γ -aminobutyrique (GABA) et l'altération de la voie de l'acide arachidonique et des récepteurs NMDA.

Chapitre I : Le complexe des récepteurs NMDA comme cible thérapeutique

L'hypothèse de l'acide arachidonique (AA) dans la BPAD représente un mécanisme bien étudié utilisé pour expliquer la pathophysiologie de la maladie. Cette hypothèse a gagné en popularité grâce à des données montrant que la BPAD est associée à une augmentation de la cascade de l'AA. Ces données ont été validées par des rapports indiquant que les inhibiteurs de cette cascade, y compris le lithium, étaient des stabilisateurs d'humeur efficaces(61).

Comme pour d'autres troubles mentaux avec des manifestations psychotiques, l'activité des récepteurs NMDA semble être intimement impliquée dans le réseau complexe de voies menant à la pathogenèse des troubles de l'humeur. Il a été démontré que la kétamine, un antagoniste des récepteurs NMDA, améliore rapidement les symptômes de la dépression(62).

D'autres auteurs ont décrit que la kétamine produit également une désinhibition des neurones GABAergiques, conduisant à une augmentation des niveaux présynaptiques de glutamate ; qui interagit ensuite avec les récepteurs α -amino-3-hydroxy-5-méthyl-4-isoxazolepropionique (AMPA), les récepteurs NMDA étant bloqués par la kétamine. Cette augmentation du rapport entre l'activation des AMPA et des NMDA pourrait être impliquée dans les effets antidépresseurs de la kétamine(63).

De plus, une analyse de liaison génétique a confirmé un rôle spécifique de la sous-unité NR2B du récepteur NMDA dans la BPAD(64).

L'ensemble de ces études suggère que l'activité des récepteurs NMDA joue un rôle essentiel dans les troubles de l'humeur.

1.6.5 Effet anxiolytique

Alors que les traitements les plus courants des troubles anxieux sont les benzodiazépines et les inhibiteurs sélectifs du recaptage de la sérotonine, certaines formes d'anxiété s'avèrent résistantes au traitement par ces composés, il est devenu évident que des stratégies de traitement alternatives sont nécessaires. Le système glutamatergique a fait l'objet d'études sur la physiopathologie des troubles anxieux(65).

Chapitre I : Le complexe des récepteurs NMDA comme cible thérapeutique

Des effets anxiolytiques ont été observés chez des rongeurs auxquels on a administré des antagonistes des récepteurs NMDA dans plusieurs scénarios, y compris le test du labyrinthe en croix élevé(66).

Bien que ces rapports indiquent l'implication de la signalisation médiée par les récepteurs NMDA dans la régulation des comportements de type anxieux, la dissection moléculaire du rôle de la signalisation médiée par les récepteurs NMDA est difficile car le glutamate exerce ses effets sur diverses fonctions neuronales d'une manière très complexe(67).

1.6.6 Douleur et troubles de la douleur chronique

Les antagonistes des récepteurs NMDA ont suscité une attention croissante ces dernières années en tant que traitement alternatif de la douleur.

L'activation des récepteurs NMDA a été associée à l'hyperalgésie, à la douleur neuropathique et à la réduction de la fonctionnalité des récepteurs opioïdes. L'hyperalgésie et la douleur neuropathique sont le résultat d'une sensibilisation accrue des neurones spinaux, ce qui entraîne une augmentation du niveau de la douleur(68) (69).

La réduction de la fonction des récepteurs opioïdes est causée par une diminution de la sensibilité des récepteurs opioïdes. Cette diminution de la sensibilité se traduit à son tour par une tolérance aux opioïdes, les patients ayant besoin de doses plus élevées d'opioïdes pour obtenir les mêmes effets thérapeutiques(70). Par conséquent, les antagonistes du NMDA peuvent jouer un rôle dans ces domaines du traitement de la douleur(71).

Les antagonistes du NMDA qui ont été actuellement testés comprennent la kétamine, la méthadone, la mémantine, l'amantadine et le dextrométhorphan. Les essais cliniques réalisés jusqu'à présent ont démontré l'intérêt de la kétamine et de la méthadone dans la réduction de la douleur neuropathique et de la douleur résistante aux opiacés. Cependant, les effets indésirables sur le SNC sont préoccupants, surtout avec la kétamine. La mémantine, l'amantadine et le dextrométhorphan sont des antagonistes du NMDA plus faibles avec un profil de toxicité plus sûr, mais ils n'ont pas montré de bénéfice constant dans ces contextes de douleur. D'autres études sur les antagonistes du NMDA sont

nécessaires pour déterminer leur meilleure utilisation dans le traitement de la douleur ainsi que pour gérer efficacement leurs effets secondaires(72).

1.7 TOLÉRANCE AUX DROGUES ET RÉCEPTEURS NMDA

L'une des fonctions physiologiques les plus importantes du complexe des récepteurs NMDA - est sa participation aux mécanismes de mémoire et d'apprentissage. En effet, les récepteurs NMDA jouent un rôle clé dans les processus de plasticité synaptique, et la plupart des mécanismes d'adaptation reposent en grande partie sur la fonction intacte des récepteurs NMDA. L'adaptation de l'organisme à l'administration répétée et prolongée d'agents pharmacologiques ne fait pas exception. La tolérance, la sensibilisation (tolérance inverse), ainsi que la pharmacodépendance, qui sont, à première vue, des phénomènes hétérogènes, sont unies par la capacité des antagonistes des récepteurs NMDA à bloquer leur développement et/ou leur manifestation.

À notre avis, ce domaine d'application des antagonistes des récepteurs NMDA est l'un des plus prometteurs.

1.7.1 La tolérance aux opiacés :

De nombreuses études ont démontré que les récepteurs NMDA jouent un rôle important dans la tolérance et la dépendance aux effets antinociceptifs des opioïdes. (73). Plusieurs points importants peuvent être tirés de ces études :

Bien que l'application répétée d'antagonistes des récepteurs NMDA inverse la tolérance au fil du temps, un traitement unique avec un antagoniste des récepteurs NMDA ne rétablit pas les effets antinociceptifs des opioïdes chez les animaux tolérants. Ainsi, l'activation des récepteurs NMDA n'est pas nécessaire à l'expression de la tolérance aux opioïdes. A l'exception de la tolérance et de la dépendance induites par la morphine, pour lesquelles les études montrent systématiquement l'efficacité des antagonistes des récepteurs NMDA, le rôle des récepteurs NMDA dans la tolérance induite par les agonistes opioïdes sélectifs (en particulier les δ - et κ -opioïdes) reste controversé. Les agents disponibles en clinique ayant

des propriétés antagonistes des récepteurs NMDA (tels que la DXM, la D-méthadone, la mémantine) sont généralement aussi efficaces que le MK-801 pour prévenir la tolérance et la dépendance dans les essais précliniques(74).

1.7.2 Tolérance aux autres substances psychoactives :

Ce groupe de substances est très diversifié et comprend des classes bien connues de substances psychoactives. Les antagonistes des récepteurs NMDA ont montré leur capacité à ralentir le développement des benzodiazépines (75) Nicotine (76) l'éthanol(77) et THC(78).

1.8 FACTEURS LIMITANT L'UTILISATION CLINIQUE DES ANTAGONISTES DES RÉCEPTEURS NMDA

L'activité psychotomimétique des antagonistes des récepteurs NMDA, ainsi que les troubles cognitifs prononcés résultant de leur administration, ont prédéterminé l'échec des tentatives d'utilisation de ces médicaments en pratique clinique pendant de nombreuses années.

Ces dernières années, il est devenu évident que tous les antagonistes des récepteurs NMDA ne provoquent pas de tels effets secondaires, ce qui a conduit à une utilisation thérapeutique plus active de ces substances. En outre, les études qui ont été menées ont permis d'acquérir une compréhension moderne du profil psychopharmacologique des antagonistes des récepteurs NMDA, qui détermine la probabilité de leur utilisation thérapeutique. L'effet des antagonistes des récepteurs NMDA sur la mémoire et l'apprentissage a été décrit précédemment.

La phencyclidine est apparue sur le marché pharmaceutique à la fin des années 50 en tant qu'anesthésique général. Malgré l'efficacité du médicament, ainsi qu'un certain nombre d'avantages qui lui sont associés - l'anesthésie dite "dissociée", les effets psychomimétiques ainsi que le potentiel narcotique qui ont fait de cette substance l'une des drogues les plus consommées à la fin du 20th siècle ont limité la stigmatisation sociale de cette drogue.

Chapitre 1 : Le complexe des récepteurs NMDA comme cible thérapeutique

Chapitre II : Docking Moléculaire

DOCKING MOLÉCULAIRE

2.1 INTRODUCTION

Le développement d'un nouveau médicament est un processus long et coûteux, allant de l'identification d'une cible biologique d'intérêt thérapeutique jusqu'au patient, dans lequel les essais cliniques succèdent au développement préclinique.(80)de l'idée initiale à l'entrée sur le marché, peut prendre environ 12 à 15 ans (81). Coût plus d'un milliard d'euros (Figure 14) (82).

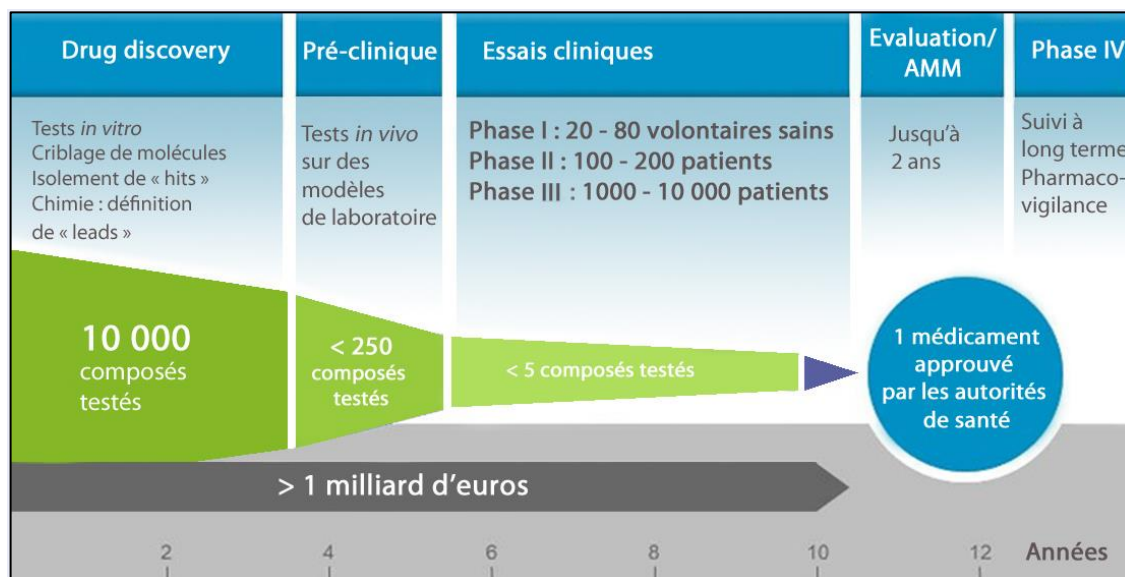


Figure 14:Etapes du processus de découverte d'un médicament (83)

Le docking moléculaire *in silico* vise à prédire la structure de complexes moléculaires à partir de molécules isolées, ce qui est assez facile à réaliser. Moins cher et plus rapide que les tests *in vitro* (84).

2.2 LES ETAPES DE DOCKING

Le docking, en français, signifie ancrage, amarrage ou arrimage moléculaire, et son but est de prédire la capacité d'une molécule à se lier au site actif d'une protéine (Figure 15). Celle-ci est basée sur la prédiction de la conformation et de l'orientation de la molécule lorsqu'elle se lie au

récepteur pour accélérer la recherche et la découverte de nouvelles molécules bioactives insilico (85, 86).

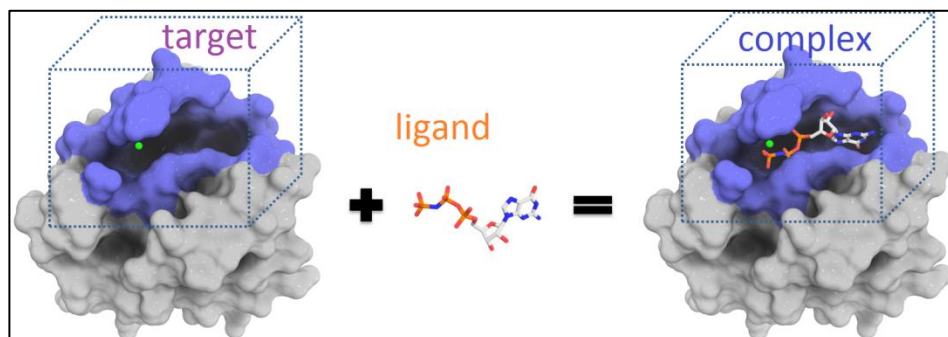


Figure 15: Représentation schématique du Docking moléculaire (87)

Une simulation de docking comprend essentiellement deux étapes :

2.2.1 Le docking

Est l'étape de sélection, consistant à placer le ligand dans le site actif de la protéine et à échantillonner les conformations, positions et orientations (poses) possibles, en ne retenant que celles qui représentent les modes d'interaction les plus favorables.

2.2.2 Le scoring

Est l'étape de classement, qui consiste à évaluer l'affinité entre le ligand et la protéine dans chacun des complexes sélectionnés lors de l'étape précédente.

Cette tâche est accomplie par des outils informatiques nommés fonctions de score. Celles-ci évaluent d'abord les différentes contributions énergétiques (et parfois entropiques) pour la stabilisation du complexe protéine-ligand, et ordonnent ensuite ces complexes, permettant ainsi l'identification des modes d'interaction les plus probables (88).

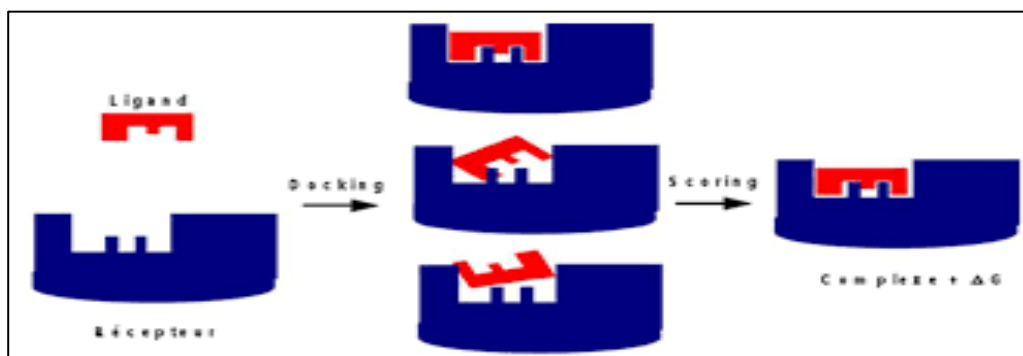


Figure 16: Représentation schématique des étapes du docking moléculaire.

2.3 TYPE DE DOCKING

On peut distinguer trois types de docking moléculaire :

2.3.1 Docking rigide

Pendant longtemps, le mécanisme de liaison d'un ligand à son récepteur a été envisagé comme un processus statique dans lequel le ligand constituait une clé de forme complémentaire à celle de la serrure qu'il était capable « d'ouvrir » (89). Dans le cas des méthodes de docking rigide, la recherche de la pose optimale se limite au positionnement(90).

2.3.2 Le docking semi-flexible

Seule la flexibilité du ligand est traitée, le récepteur reste rigide. Par conséquent, en plus de l'exploration de la translation et de la rotation, les degrés de liberté du ligand sont également échantillonnés. Cet ancrage est basé sur l'hypothèse de base que la conformation du récepteur utilisé peut reconnaître le ligand (91).

2.3.3 Docking flexible

Lorsque les méthodes de docking prennent en compte la flexibilité du ligand, deux étapes sont effectuées successivement pendant toute la durée du docking. La première étape correspond à une exploration de l'espace conformationnel de manière à retrouver, parmi les conformations proposées, la conformation bioactive. Pendant la deuxième étape une fonction de score évalue ces conformations. Il existe plusieurs types d'algorithmes pour le traitement de la flexibilité du ligand : les méthodes systématiques (fragmentation/reconstruction), les méthodes aléatoires, et les méthodes de simulation (dynamique moléculaire)(92).

2.4 OUTILS DE DOCKING

Pour réaliser une étude utilisant le docking moléculaire il y a des éléments indispensables : le/la ligand qui est une petite molécule, la/cible qui est un récepteur macromoléculaire de nature protéique et le programme de docking qui prédit la conformation la plus favorable du ligand au sein du récepteur choisi.

2.4.1 Récepteur

Le récepteur est une macromoléculaire protéiques qui assure la réception d'information par la liaison avec une molécule plus petite, appelée ligand, à un site de reconnaissance particulier (93). Les structures 3D que nous utilisons sont disponible gratuitement dans la banque de donnée PDB (« Protein Data Bank », (en anglais) la plus grande archive de données structurales de macromolécules biologiques, comme les protéines et les acides nucléiques (ARN et ADN) (94).

2.4.2 Ligand

Ligand est une molécule qui se lie de manière réversible à une macromolécule ciblée, protéine nucléique, jouant en général un rôle fonctionnel : stabilisation structurale, catalyse, modulation d'une activité enzymatique, transmission d'un signal (95).

Le choix du ligand dans le docking moléculaire est une étape très importante et il doit être pertinent en raison de la spécificité du site actif de la cible évitant de tester inutilement des molécules (96).

La structure des ligands est obtenue par deux moyens : Le premier moyen consiste à utiliser des ligands de la PDB ou de la littérature qu'on peut dessiner, optimiser et enregistrer dans différents formats (pdb, mol, mol2...etc.) grâce à des logiciels de construction moléculaire tels que chemDraw, Arguslab, Titan ou Sybyl. Le second moyen, souvent d'aspect commercial, consiste à utiliser des bases de données de structures chimiques appelés chimiothèque ou espaces chimique telles que Pubchem, Zinc, la chimiothèque Nationale Française etc (97).

2.4.3 Programmes de docking

Le docking moléculaire a pour objectif essentiel de prédire la conformation (position et orientation relative) la plus favorable du ligand au sein de son récepteur, et aussi pour estimer la force de l'interaction entre la cible et le ligand.

A nos jours plusieurs programmes de docking moléculaire (commerciaux ou non) sont disponibles : AutoDock, AutoDock Vina, LeDock19, rDock, UCSF DOCK, LigandFit, Glide, GOLD, MOE Dock, Surflex-Dock, DOCK3, AutoDock4, GOLD5, FlexX6, Glide7, ICM8 et Surflex9 (98, 99).

Les plus fréquemment cités sont respectivement: AutoDock, GOLD, Glide, FlexX (figure 17)

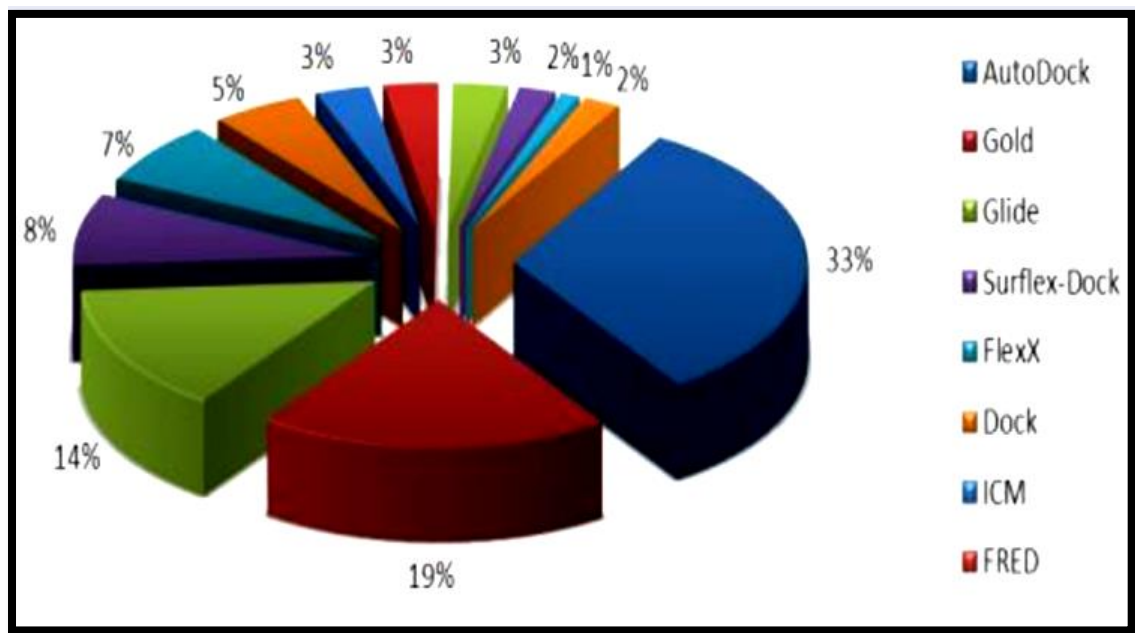


Figure 17: Digramme des programmes de docking les plus cités (99).

2.4.4 Surflex

Parmi les programmes de docking moléculaire, nous avons utilisé le programme Surflex pour réaliser le travail de recherche. Le programme Surflex comprend deux parties. L'une pour des études de similarité tridimensionnelle des molécules, l'autre pour des études de docking. Seule la partie docking est abordée ici. Elle se base sur la construction d'une pseudo-molécule comme cible laquelle aligner le ligand. Il s'agit de fragments de molécules placés dans le site actif de manière à occuper idéalement et de manière redondante celui-ci à partir de critères morphologiques. Il est important de préciser que cette pseudo molécule peut être construite à partir du ligand dans le site, à condition de bénéficier d'une structure, ou bien à partir du récepteur sans aucun ligand : il utilise dans ce cas 3 types de fragments CH₄, C=O et N-H mais il est nécessaire de connaître l'emplacement du site actif. L'étape de Docking s'effectue suivant deux méthodes : - La première est une méthode incrémentale dite Hammerhead. Dans ce cas le programme fractionne le ligand et cherche à trouver le meilleur appariement pour chaque

fragment, il essaye d'adapter les fragments à ceux de la pseudo-molécule. Les fragments ayant la plus haute affinité sont utilisés pour reconstruire le ligand. - La deuxième méthode dite "molécule entière" reprend la même étape de fractionnement que précédemment. Le changement se fait au niveau des fragments du ligand conservés. Dans la méthode Hammerhead ne sont conservés pour l'étape de docking que les meilleurs fragments qui s'alignent avec ceux de la pseudo-molécule. Ici tous les fragments sont pris en compte pour la recherche de configuration optimale du ligand (117).

2.5 LES INTERACTIONS PROTEINES-LIGANDS

2.5.1 La liaison hydrogène

La liaison hydrogène est une force attractive qui s'opère entre deux groupes d'atomes accepteurs et donateurs impliquant un atome d'hydrogène. Le donneur est l'atome d'hydrogène lié de manière covalente à un atome électronégatif, typiquement azote, oxygène, fluor. Tandis que l'accepteur est un autre atome électronégatif, uniquement azote, oxygène ou fluor. Les valeurs des angles et des distances varient respectivement de 90 à 180 degrés et de 1.2 à 4.0 Å. Pour que la liaison hydrogène puisse s'établir il faut que les conditions citées avant soient réalisées. (100 ,101)

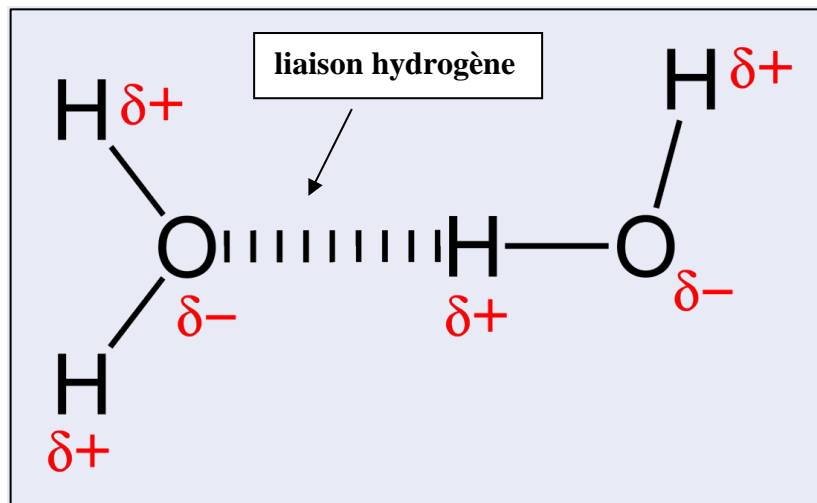


Figure 18: La liaison hydrogène.(101)

2.5.2 Interaction ionique

Une liaison ionique, également connue sous le nom de pont salin, est créée par l'attraction électrostatique entre deux atomes chargés de manière opposée, la distance de la liaison saline doit être inférieure à 4,0 - 4,5 Å, et sa force est importante pour les interactions non covalentes qui peuvent être atteints. Toujours très important 10 kcal/mole. (102)

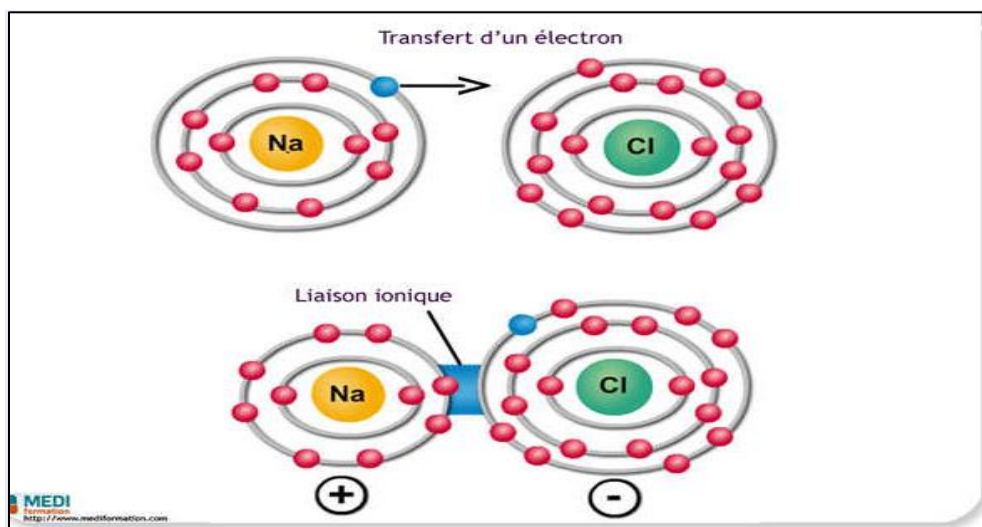


Figure 19: La liaison ionique.

2.5.3 Effet hydrophobe

Les molécules ou groupes d'atomes non polaires ne sont pas capables de former des liaisons hydrogènes et ne peuvent donc pas s'hydrater : pour cette raison, on les nomme substances hydrophobes. L'effet hydrophobe est la tendance qu'ont ces groupes à se rassembler par coalescence de façon à minimiser les contacts avec l'eau. Les liaisons hydrophobes possèdent une énergie de l'ordre de 7 kcal/mol (103).

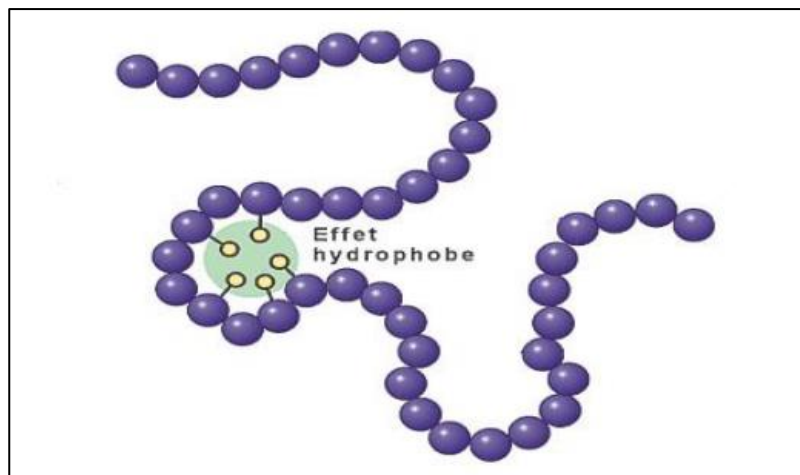


Figure 20: L'effet hydrophobe dans une protéine

2.5.4 Interactions Van der Waals

Les interactions Van der Waals sont à courte portée et se produisent lorsque deux atomes ou molécules se rapproche l'une de l'autre. Ces interactions sont la somme des forces d'attraction ou de répulsion entre les molécules, elles sont non covalentes et sont considérés comme des interactions attractives faibles qui deviennent seulement appréciable lorsque les molécules interagissant sont neutres et non polaires (104)

CHAPITRE III

MATÉRIELS ET MÉTHODES

3.1 MATERIALS

3.1.1 Computers

Two computers were used for the execution and analysis of our work , characteristics presented in the following table:

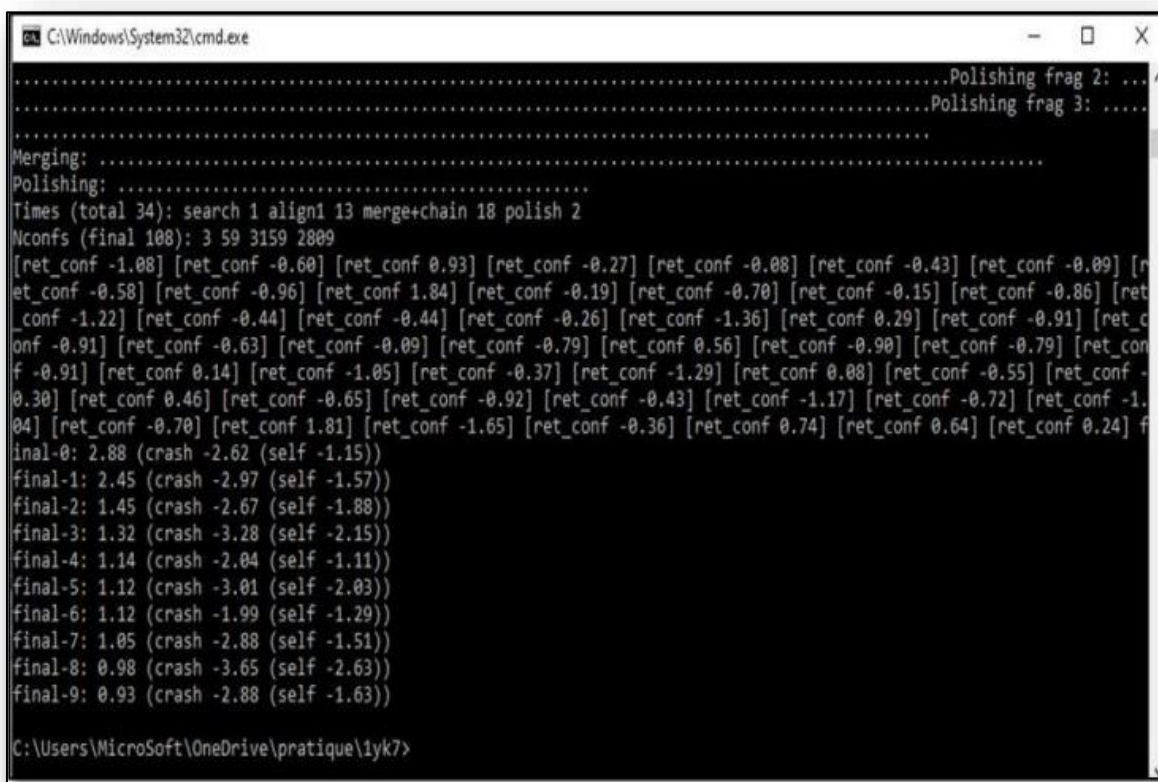
	Computer 1	Computer 2
RAM	4 GO	16 GO
CPU	Intel Core i3 (i3 - 4010U, 1.70 GHz, 3 MB)	Intel(R) Core (TM) i5-10600KF CPU @ 4.10GHz 4.10 GHz
Graphics Card	Intel HD 4400	Geforce GTX 1060
Exploitation System	Windows 10 Pro (64bit)	Windows 10 Pro (64bit)

Tableau 03: Computer specifications.

3.1.2 Software

3.1.2.1 Surfex

Surflex is a fully automatic flexible molecular docking algorithm that combines the scoring function from the Hammerhead docking system with a search engine that relies on a surface-based molecular similarity method as a means to rapidly generate suitable putative poses for molecular fragments (105).



```
C:\Windows\System32\cmd.exe
.....Polishing frag 2: ...
.....Polishing frag 3: .....
.....
Merging: .....
Polishing: .....
Times (total 34): search 1 align1 13 merge+chain 18 polish 2
Nconfs (final 108): 3 59 3159 2809
[ret_conf -1.08] [ret_conf -0.60] [ret_conf 0.93] [ret_conf -0.27] [ret_conf -0.08] [ret_conf -0.43] [ret_conf -0.09] [r
et_conf -0.58] [ret_conf -0.96] [ret_conf 1.84] [ret_conf -0.19] [ret_conf -0.70] [ret_conf -0.15] [ret_conf -0.86] [ret
_conf -1.22] [ret_conf -0.44] [ret_conf -0.44] [ret_conf -0.26] [ret_conf -1.36] [ret_conf 0.29] [ret_conf -0.91] [ret_c
onf -0.91] [ret_conf -0.63] [ret_conf -0.09] [ret_conf -0.79] [ret_conf 0.56] [ret_conf -0.90] [ret_conf -0.79] [ret_con
f -0.91] [ret_conf 0.14] [ret_conf -1.05] [ret_conf -0.37] [ret_conf -1.29] [ret_conf 0.08] [ret_conf -0.55] [ret_conf -
0.30] [ret_conf 0.46] [ret_conf -0.65] [ret_conf -0.92] [ret_conf -0.43] [ret_conf -1.17] [ret_conf -0.72] [ret_conf -1.
04] [ret_conf -0.70] [ret_conf 1.81] [ret_conf -1.65] [ret_conf -0.36] [ret_conf 0.74] [ret_conf 0.64] [ret_conf 0.24] f
inal-0: 2.88 (crash -2.62 (self -1.15))
final-1: 2.45 (crash -2.97 (self -1.57))
final-2: 1.45 (crash -2.67 (self -1.88))
final-3: 1.32 (crash -3.28 (self -2.15))
final-4: 1.14 (crash -2.04 (self -1.11))
final-5: 1.12 (crash -3.01 (self -2.03))
final-6: 1.12 (crash -1.99 (self -1.29))
final-7: 1.05 (crash -2.88 (self -1.51))
final-8: 0.98 (crash -3.65 (self -2.63))
final-9: 0.93 (crash -2.88 (self -1.63))

C:\Users\Microsoft\OneDrive\pratique\1yk7>
```

Figure 21: Graphic interface of Surflex

3.1.2.2 Open Babel

Open Babel is a chemical toolbox designed to speak the many languages of chemical data. It's an open, collaborative project allowing anyone to search, convert, analyse, or store data from molecular modelling, chemistry, solid-state materials, biochemistry, or related areas(106).

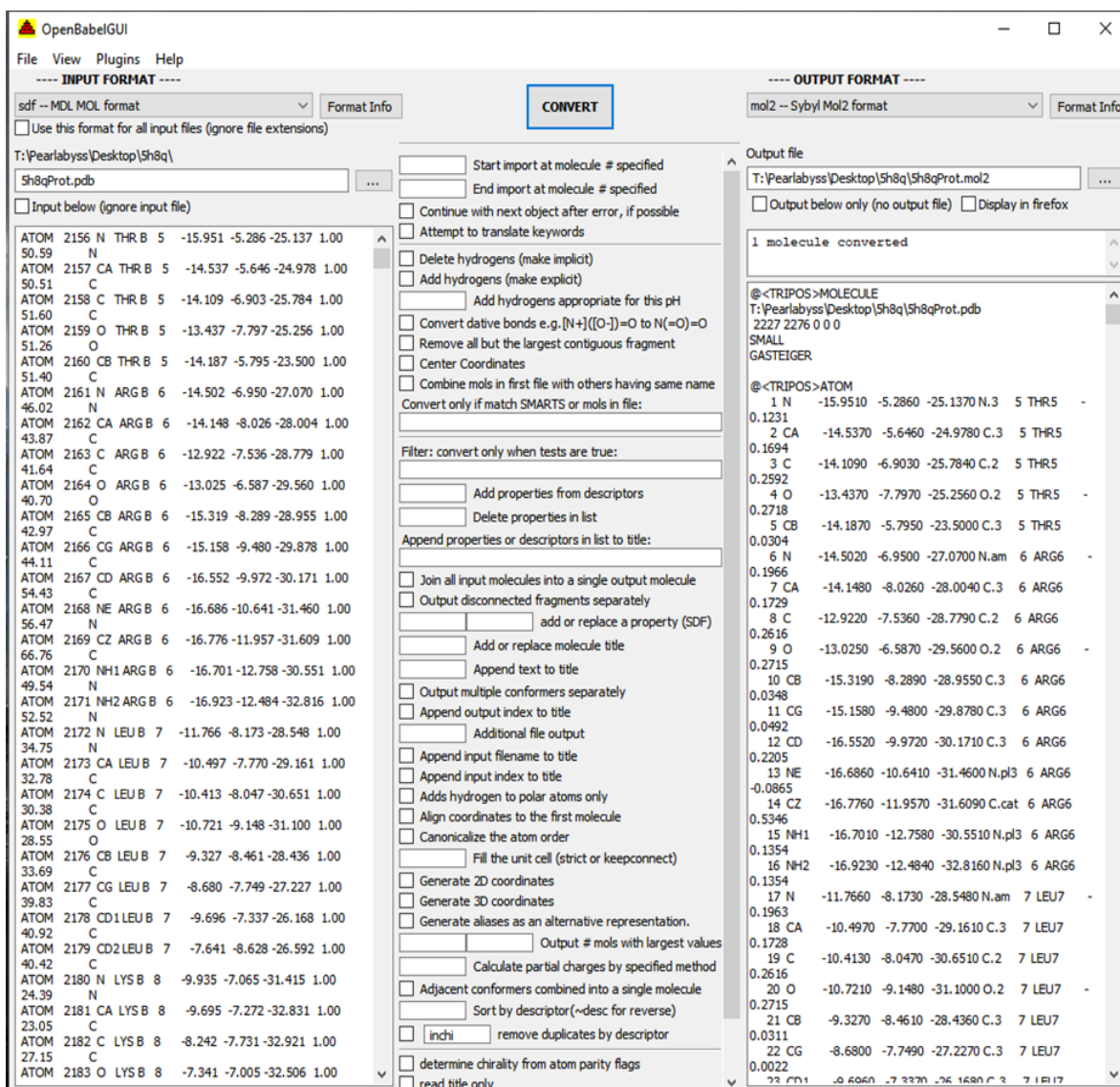


Figure22:Graphic interface of open babel

3.1.2.3 BIOVIA DISCOVERY STUDIO

Discovery Studio is a comprehensive software suite for analysing and modelling molecular structures, sequences, and other data of relevance to life science researchers. It's a free viewer that can be used to open data generated by other software in the Discovery Studio product line. It is designed to offer an interactive environment for viewing and editing molecular structures, sequences, X-ray reflection data, scripts, and other data (107).

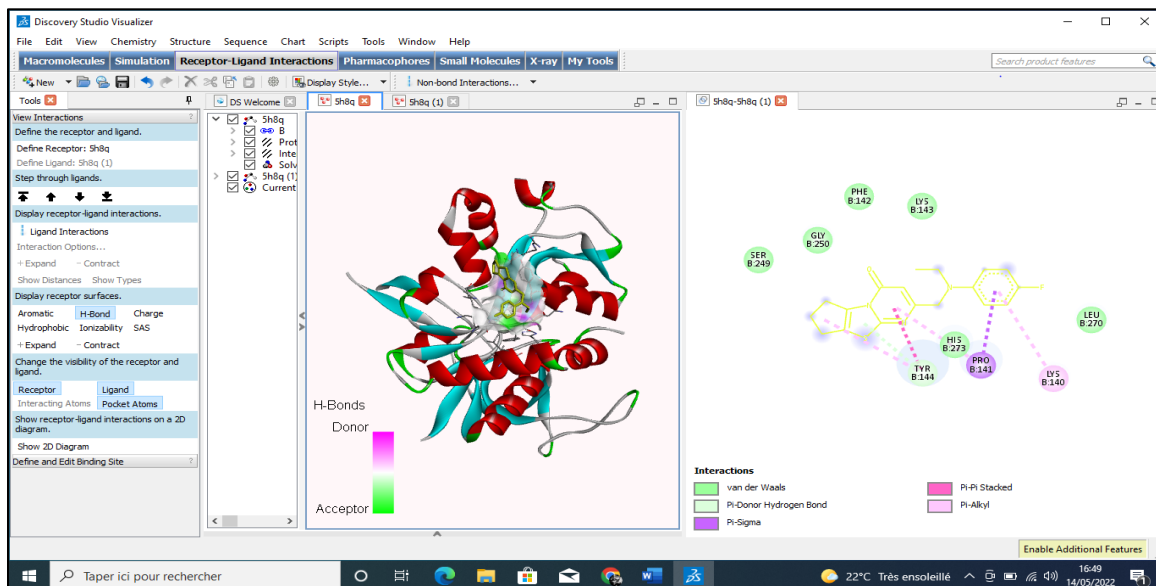


Figure23:Biovia Discovery studio Interface

3.1.2.4 SWISSADME

This website allows you to compute physicochemical descriptors as well as to predict ADME parameters, pharmacokinetic properties, druglike nature and medicinal chemistry friendliness of one or multiple small molecules to support drug discovery (108).

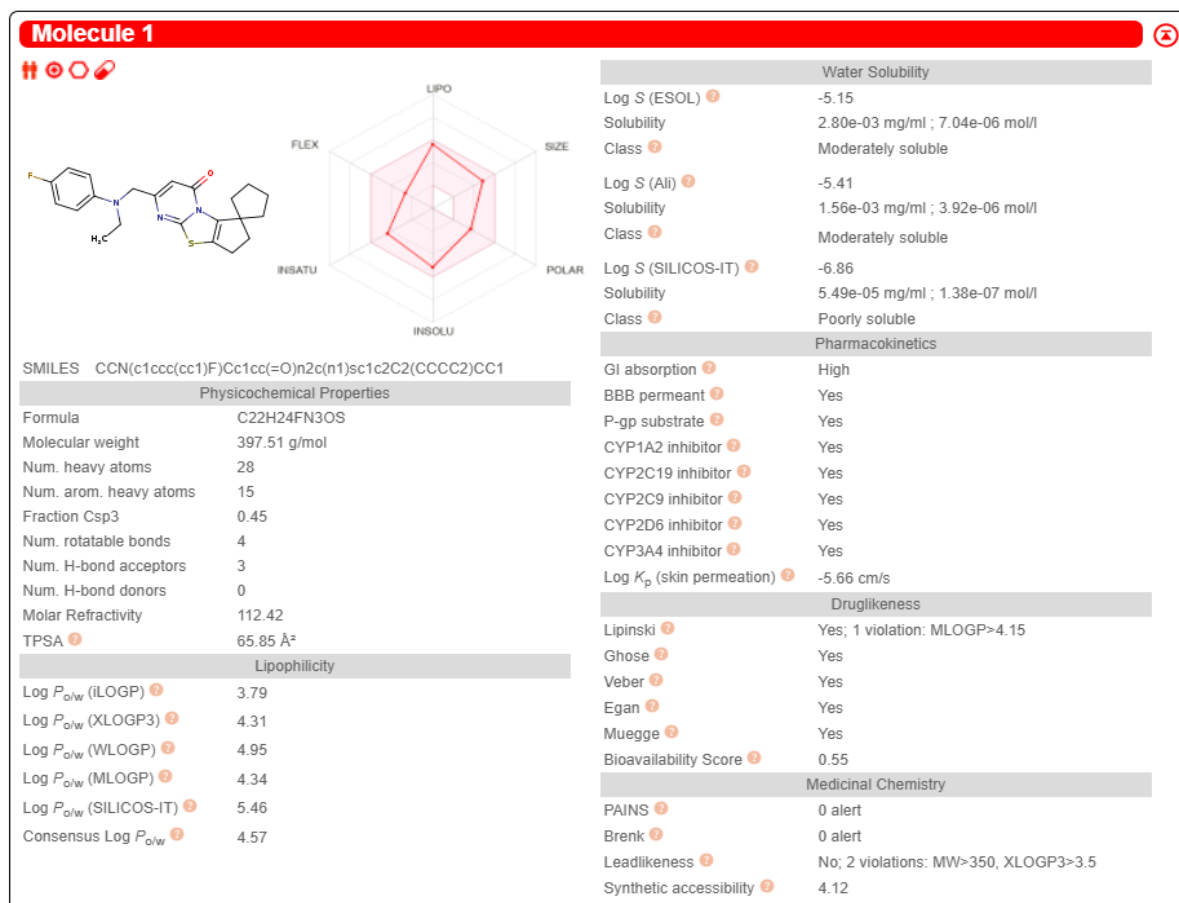


Figure 24:SWISSADME interface

3.2 DATA BASE

3.2.1 PDB:

The Protein Data Bank (PDB; <http://www.rcsb.org/pdb/>) is the single worldwide archive of structural data of biological macromolecules. This paper describes the goals of the PDB, the systems in place for data deposition and access, how to obtain further information, and near-term plans for the future development of the resource (109).

RCSB PDB Deposit Search Visualize Analyze Download Learn More Documentation Careers MyPDB

RCSB PDB 190404 Biological Macromolecular Structures Enabling Breakthroughs in Research and Education

PDB Archive | Advanced Search | Browse Annotations

Developers: Join the RCSB PDB Team Explore Open Positions

Welcome

Deposit

Search

Visualize

Analyze

Download

Learn

A Structural View of Biology

This resource is powered by the Protein Data Bank archive-information about the 3D shapes of proteins, nucleic acids, and complex assemblies that helps students and researchers understand all aspects of biomedicine and agriculture, from protein synthesis to health and disease.

As a member of the wwPDB, the RCSB PDB curates and annotates PDB data.

The RCSB PDB builds upon the data by creating tools and resources for research and education in molecular biology, structural biology, computational biology, and beyond.

COVID-19 CORONAVIRUS Resources

Join the RCSB PDB Team

May Molecule of the Month

Nicotine, Cancer, and Addiction

Latest Entries As of Tue May 10 2022 Features & Highlights News Publications

Figure 25:PDB home page

3.2.2 PubChem

PubChem is an open chemistry database at the National Institutes of Health (NIH). “Open” means that you can put your scientific data in PubChem and that others may use it. Since the launch in 2004, PubChem has become a key chemical information resource for scientists, students, and the general public. Each month our website and programmatic services provide data to several million users worldwide(110).

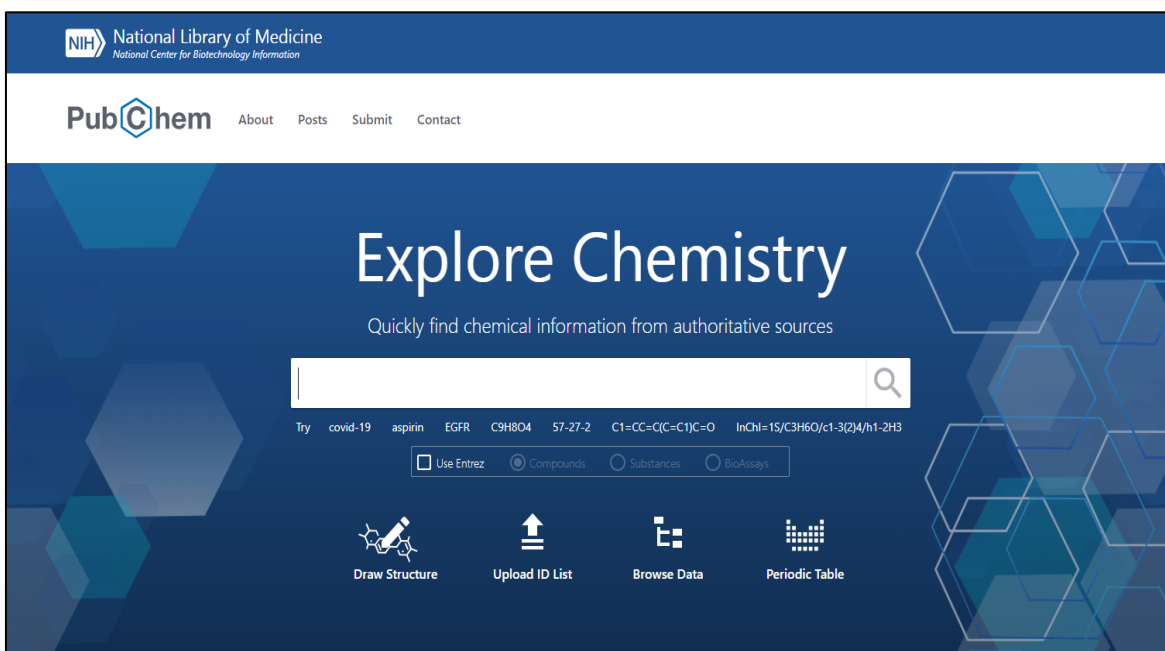


Figure 26 :PubChem home page

3.3 METHODS

3.3.1 Validation of docking protocol

3.3.1.1 RMSD

The RMSD test represents the ability of a program to reproduce the experimental binding modes of a ligand. It is a metric that measures average distances between the docking binding mode and the experimental position of a ligand. The RMSD value is equal to the average of the deviation of each of atoms compared to the original molecules. The ratio accepted is 2Å or beyond which the prediction is considered irrelevant. The current standard for evaluating the performance of a docking program Surflex is to make a test from hundreds of protein-ligand complexes crystallized. Our test was performed on 100 complexes available in the PDB and the RMSD determined (111).

3.3.2 Complex Choice:

The NMDA receptor GluN2A subunit is the therapeutic target that we studied in our work,

The crystal structure of GluN1/GluN2A was retrieved from the PDB (PDB ID: 5H8Q, resolution: 1.90 Å) , .This receptor's two chains (A, B) are not identical.



Figure 27:The 3-dimensional structure of the 5h8q complex obtained from PDB(119).

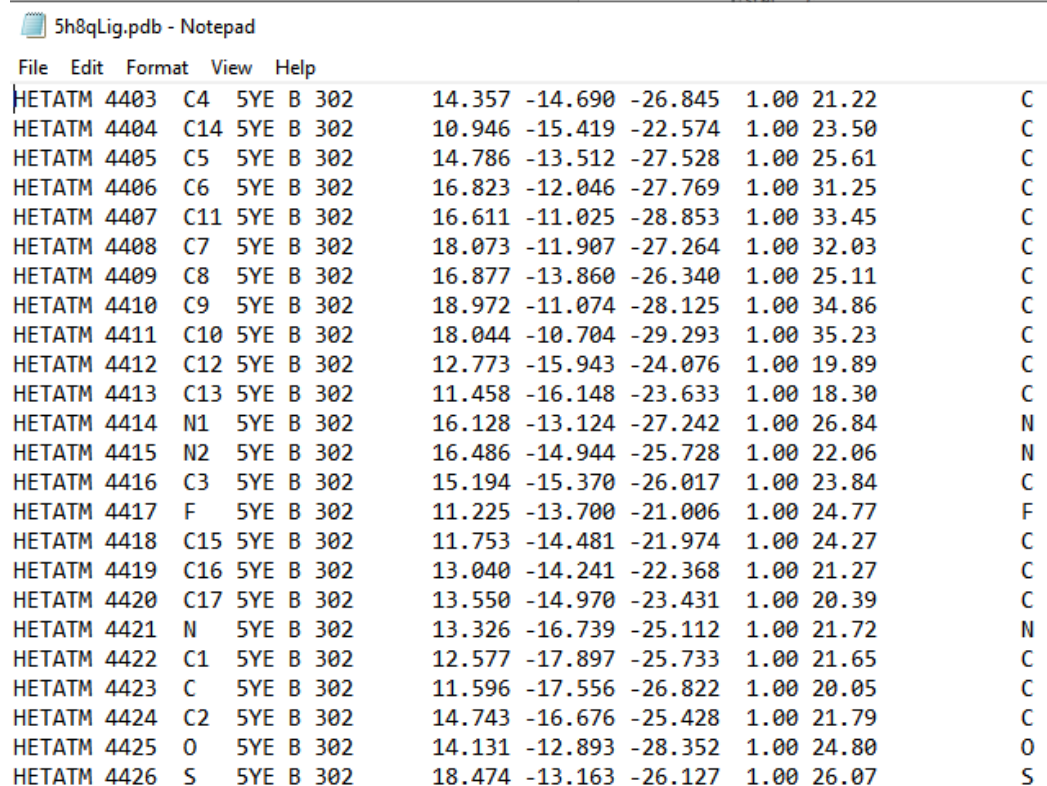
3.3.3 Protein Preparation:

In the protein structure preparation, the chain A and all heteroatoms except water molecules were eliminated to allow easier use of the enzyme during molecular docking. This was done manually without the assistance of software via opening the .pdb file in a text editor.

The remaining chain, chain B which corresponds to the GluN2A was saved in pdb format (5h8qProt.pdb) , followed by converting it to the mol2 format using the Open Babel program. The co-crystal ligand (5YE) was used to identify the active site of GluN2A.

3.3.4 Ligand Preparation:

Separation of the ligand (5YE) was done manually via opening the 5h8q.pdb file in a text editor via the elimination of all other components then saved in the PDB format (5h8qLig.pdb)



Atom	Element	Chain	Residue	X	Y	Z	Occupancy	B-factor	Type
HETATM 4403	C4	5YE	B 302	14.357	-14.690	-26.845	1.00	21.22	C
HETATM 4404	C14	5YE	B 302	10.946	-15.419	-22.574	1.00	23.50	C
HETATM 4405	C5	5YE	B 302	14.786	-13.512	-27.528	1.00	25.61	C
HETATM 4406	C6	5YE	B 302	16.823	-12.046	-27.769	1.00	31.25	C
HETATM 4407	C11	5YE	B 302	16.611	-11.025	-28.853	1.00	33.45	C
HETATM 4408	C7	5YE	B 302	18.073	-11.907	-27.264	1.00	32.03	C
HETATM 4409	C8	5YE	B 302	16.877	-13.860	-26.340	1.00	25.11	C
HETATM 4410	C9	5YE	B 302	18.972	-11.074	-28.125	1.00	34.86	C
HETATM 4411	C10	5YE	B 302	18.044	-10.704	-29.293	1.00	35.23	C
HETATM 4412	C12	5YE	B 302	12.773	-15.943	-24.076	1.00	19.89	C
HETATM 4413	C13	5YE	B 302	11.458	-16.148	-23.633	1.00	18.30	C
HETATM 4414	N1	5YE	B 302	16.128	-13.124	-27.242	1.00	26.84	N
HETATM 4415	N2	5YE	B 302	16.486	-14.944	-25.728	1.00	22.06	N
HETATM 4416	C3	5YE	B 302	15.194	-15.370	-26.017	1.00	23.84	C
HETATM 4417	F	5YE	B 302	11.225	-13.700	-21.006	1.00	24.77	F
HETATM 4418	C15	5YE	B 302	11.753	-14.481	-21.974	1.00	24.27	C
HETATM 4419	C16	5YE	B 302	13.040	-14.241	-22.368	1.00	21.27	C
HETATM 4420	C17	5YE	B 302	13.550	-14.970	-23.431	1.00	20.39	C
HETATM 4421	N	5YE	B 302	13.326	-16.739	-25.112	1.00	21.72	N
HETATM 4422	C1	5YE	B 302	12.577	-17.897	-25.733	1.00	21.65	C
HETATM 4423	C	5YE	B 302	11.596	-17.556	-26.822	1.00	20.05	C
HETATM 4424	C2	5YE	B 302	14.743	-16.676	-25.428	1.00	21.79	C
HETATM 4425	O	5YE	B 302	14.131	-12.893	-28.352	1.00	24.80	O
HETATM 4426	S	5YE	B 302	18.474	-13.163	-26.127	1.00	26.07	S

Figure 28 :5YE saved under the PDB format opened in a text editor.

The ligand is then converted into the mol2 format using OpenBabel.

3.3.5 Docking with Surflex

Surflex is a fully automatic flexible molecular docking algorithm that combines the scoring function from the Hammerhead docking system with a search engine that relies on a surface-based molecular similarity method as a means to rapidly generate suitable putative poses for molecular fragments. The docking with the Surflex is done in two steps (112).

3.3.5.1 Generation of Protomol

The identification of the active site by the construction of a pseudo-molecule called "Protomol" using the following command:

Surflex-dock proto l5h8qLig.mol2 5h8qProt.mol2 pl

This generates a file (pl-protomol.mol2) which will be used for later steps

3.3.5.2 Docking

This step requires the availability of the .mol2 format protein (8h8qProt.mol2) ,the protomol generated in the previous step (pl-protomol.mol2) and the ligands in .mol2 format (5h8qLig.mol2).

Molecular docking by “Surflex” allows to have the ten (10) best positions (conformations) of each ligand within the active site studied and classified by their affinities in M¹⁻ (Final-0, Final-1.....Final-9).

This step was carried out using the following command:

Surflex-dock dock 5h8qLig.mol2 pl-protomol.mol2 5h8qProt.mol2

```
Polishing: .....
Lines (total 1): search 0 align 0 merge+chain 1 polish 0
Nconfs (final 65): 3 16 1698 2008
[ret_conf 3.22] [ret_conf 0.97] [ret_conf 1.09] [ret_conf 1.03] [ret_conf 0.91]
[ret_conf 1.09] [ret_conf 1.01] [ret_conf 0.95] [ret_conf 0.81] [ret_conf 1.07]
[ret_conf 3.65] [ret_conf 2.02] [ret_conf 1.94] [ret_conf 0.86] [ret_conf 3.68]
[ret_conf 4.18] [ret_conf 3.65] [ret_conf 0.79] [ret_conf 0.85] [ret_conf 1.72]
[ret_conf 1.33] [ret_conf 0.91] [ret_conf 2.82] [ret_conf 1.80] [ret_conf 0.85]
[ret_conf 0.66] [ret_conf 1.09] [ret_conf 1.80] [ret_conf 4.02] [ret_conf 1.45]
[ret_conf 0.63] [ret_conf 0.91] [ret_conf 1.01] [ret_conf 4.07] [ret_conf 0.63]
[ret_conf 0.96] [ret_conf 0.64] [ret_conf 1.21] [ret_conf 1.01] [ret_conf 0.96]
[ret_conf 0.90] [ret_conf 0.59] [ret_conf 1.37] [ret_conf 1.87] [ret_conf 3.50]
[ret_conf 4.05] [ret_conf 2.15] [ret_conf 1.71] [ret_conf 1.09] [ret_conf 0.43]
final-0: 4.21 (crash -0.62 (self -0.15))
final-1: 4.07 (crash -0.50 (self -0.15))
final-2: 4.07 (crash -0.49 (self -0.22))
final-3: 4.03 (crash -0.49 (self -0.25))
final-4: 3.79 (crash -0.41 (self -0.19))
final-5: 3.72 (crash -0.42 (self -0.21))
final-6: 3.72 (crash -0.42 (self -0.21))
final-7: 3.71 (crash -0.50 (self -0.26))
final-8: 3.63 (crash -0.38 (self -0.15))
final-9: 3.22 (crash -1.30 (self -0.60))
```

Figure 29: Docking result in shown in command prompt window

3.3.5.3 Root-Mean-Square Deviation (RMSD) calculation:

RMSD compares between the conformation and orientation of the ligand and its pose in the experimental complex, therefore it requires two files: the best position file from the docking step (Final-0.mol2) and the experimental positioning 5h8qLig.mol2

This step is carried out using the following command:

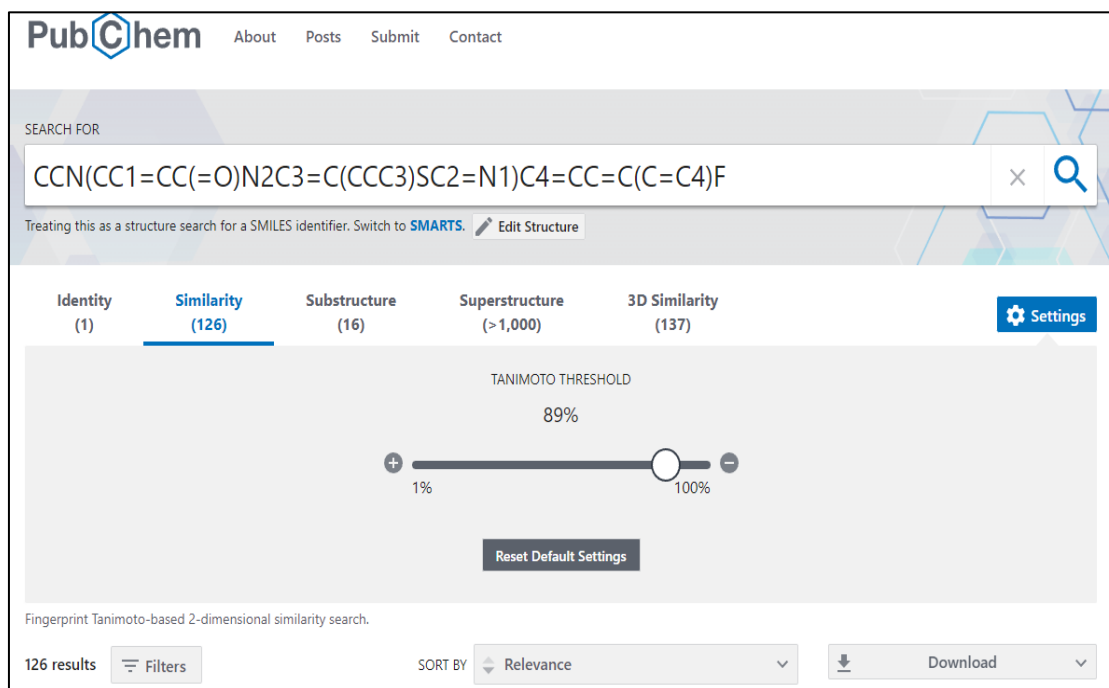
```
Surflex-dock rms Final-0.mol2 5h8qLig.mol2
```

3.3.6 Search for new theoretical GluN2A ligands:

3.3.6.1 Virtual Screening

The PubChem database provides a number of similars coordinated with the rate of desired structural similarity to the reference ligand. PubChem, offered us 126 compounds

with 89% homology to our reference ligand, of which we downloaded the first 100. This was obtained by searching the Pubchem using the smiles code of our ligand of interest 5YE, and setting the similarity to 89% (figure 30).



The screenshot shows the PubChem website interface. At the top, there is a navigation bar with 'PubChem' logo and links for 'About', 'Posts', 'Submit', and 'Contact'. Below this is a search bar with the text 'SEARCH FOR' and a search input field containing the SMILES string: CCN(CC1=CC(=O)N2C3=C(CCC3)SC2=N1)C4=CC=C(C=C4)F. To the right of the input field are 'x' and search icons. Below the search bar, a message states: 'Treating this as a structure search for a SMILES identifier. Switch to SMARTS. Edit Structure'. Below this is a navigation menu with tabs for 'Identity (1)', 'Similarity (126)', 'Substructure (16)', 'Superstructure (> 1,000)', and '3D Similarity (137)'. A 'Settings' button is located to the right of these tabs. The main content area features a 'TANIMOTO THRESHOLD' slider set to 89%, with a 'Reset Default Settings' button below it. At the bottom, there is a '126 results' indicator, a 'Filters' button, a 'SORT BY' dropdown menu set to 'Relevance', and a 'Download' button.

Figure 30 :PubChem Query page.

Each similar downloaded was put in its own separate folder renamed to S1 to S100.

Each folder has in addition to the similar file (s1.sdf) , the protomol file(pl-protomol.mol2) which marks the active site and the protein file (5h8qProt.mol2)

The similar then undergo virtual screening at the active site of our receptor target in order to predict their affinity towards the active site using the Surflex software via executing the command:

Surflex-dock dock s1.sdf pl-protomol 5h5qProt.mol2

This command is repeated in each one of previously mentioned folders directories, each time we note the affinity value.

3.3.7 ADME/Tox filtering:

Each potential drug must meet several basic criteria, such as its low cost of production, be soluble, stable, patentable, but must also comply with scales associated with its pharmacological properties of absorption, distribution, metabolism, excretion and toxicity.

3.3.7.1 Physico-chemical proprieties

3.3.7.1.1 Lipinski's Rule

According to « LIPINSKI's rule » allowing to determine if a chemical compound has specific drug characteristic, a compound has every chance of being orally available if it meets at least 3 of the following 5 criteria(113):

1. Has a molecular mass of less than 500 daltons.
2. A partition coefficient (log P) or lipophilicity between -2 and 5.
3. Does not have more than 5 hydrogen bond donors (OH and NH).
4. Does not have more than 10 hydrogen bond acceptors (O and N).
5. The number of rotatable links (flexible and linear) less than 15.

3.3.7.1.2 Veber's Rule

Additions to this rule have been made, in particular by Veber (114):

- The number of free rotating links (FRB) ≤ 10
- The polar surface of the molecule (PSA) $\leq 140 \text{ \AA}$

3.3.7.1.3 Water solubility

Solubility is the maximum amount of solute that can be dissolved in a solvent at a given temperature. Solubility is usually expressed in grams per 100 ml of water (g/100ml)

3.3.7.1.4 Accessibilité a la synthèse

In the case of a newly designed molecule, the experimental validation of its activity requires the synthesis of the compound (120). In our case, the accessibility to the synthesis of molecules is evaluated by a score ranging from 1 (easy to synthesize) to 10 (very difficult to synthesize).

The previously mentioned parameters are taken from the SWISSADME database for our best scoring similars.

3.3.7.2 Pharmacokinetic properties

3.3.7.2.1 Gastro-Intestinal absorption (GI)

The oral route of administration requires the drug to pass through the digestive barrier. This passage can be done by simple passive diffusion or involves more complex phenomena with the implementation of a system of transporters favoring or limiting absorption (118).

3.3.7.2.2 blood-brain permeability

This criterion is more important for drugs psychotropic drugs which must act at the level of the central nervous system than drugs act on peripheral tissues(115).

3.3.7.2.3 cytochromes P450 inhibition

Cytochromes P450 (CYP) are hemoproteins that participate in the oxidative metabolism of many drugs. Depending on the structure of the heme-bound protein, different families and subfamilies have been identified in humans. The main forms are CYP 1A2, 2D6, 2C9, 2C19, 2E1 and 3A4. Inhibition of a CYP may result in increase in the concentration of parent molecules that it metabolizes and a high risk of toxicity (116).

3.3.8 Visual Analysis

This is an important step that allows you to verify and compare the results of the RMSD calculated and superposition of molecules. It also makes it possible to observe and count the

Chapitre III : MATÉRIELS et méthodes

different interactions carried out between the ligand and the residues of the active site. The software used for this is BIOVIADISCOVERY STUDIO.

CHAPTER IV :
RESULTS AND DISCUSSION

4.1 INTRODUCTION

Our thesis has the essential objective of acquiring skills in virtual simulation, in particular molecular docking by the Surflex software, in order to contribute the *in-silico* design of new GluN2A NMDA receptor ligands.

This work is divided into three parts. We first tested the performance of the molecular docking program Surflex used in our manipulation. Secondly, we studied the interactions intervening during the NMDA, in a final part, new ligands theoretically more affine towards GluN2A.

4.2 THE RELIABILITY OF THE SURFLEX SOFTWARE.

4.2.1 RMSD test

In the present work, this test was performed on 100 protein-ligand complexes taken drawn randomly from the PDB. As shown in (Table 4) and (Figure 31), 76 out of 100 of RMSD values were less than 2Å. In most cases, there was aneeligible deviation between the experimental and the docked conformation (Figure 32). The obtained results indicate the capacity of the docking protocol used to reproduce the interaction modes and orientations of the co-crystal ligands.

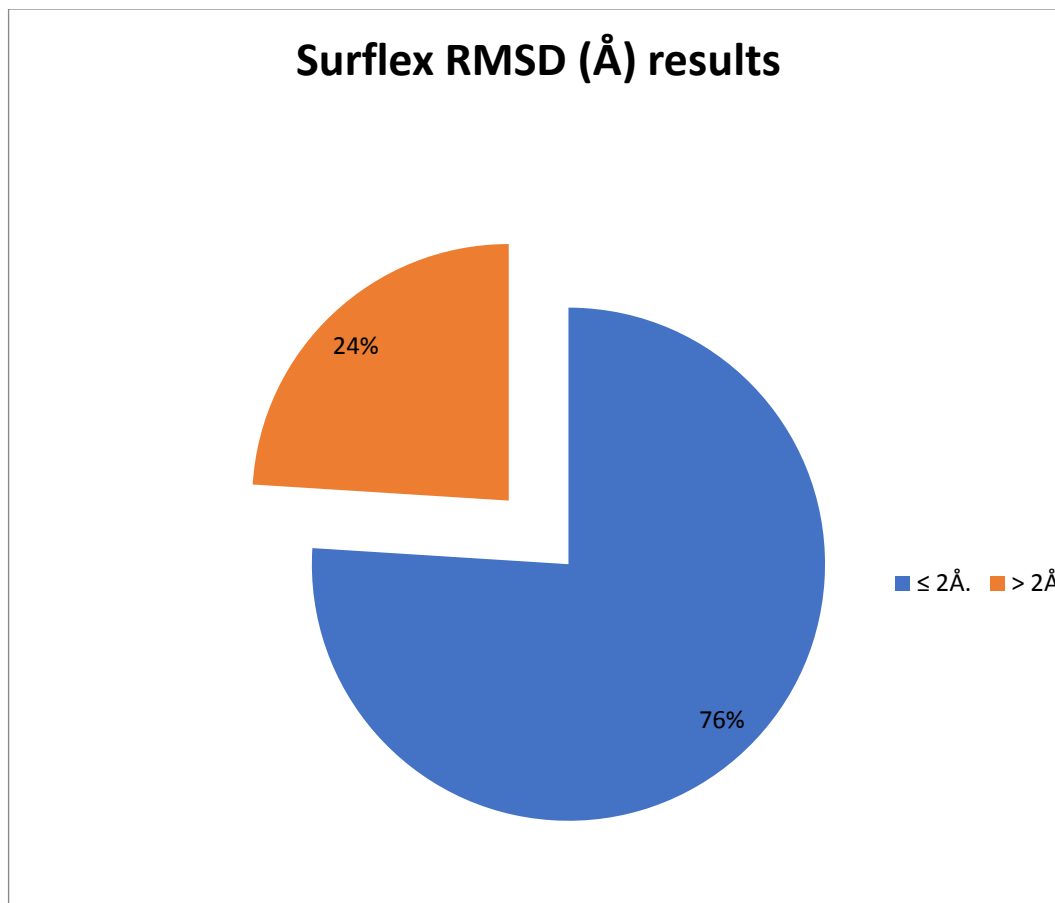


Figure 31 :Results of the RMSD test given in percent (%).

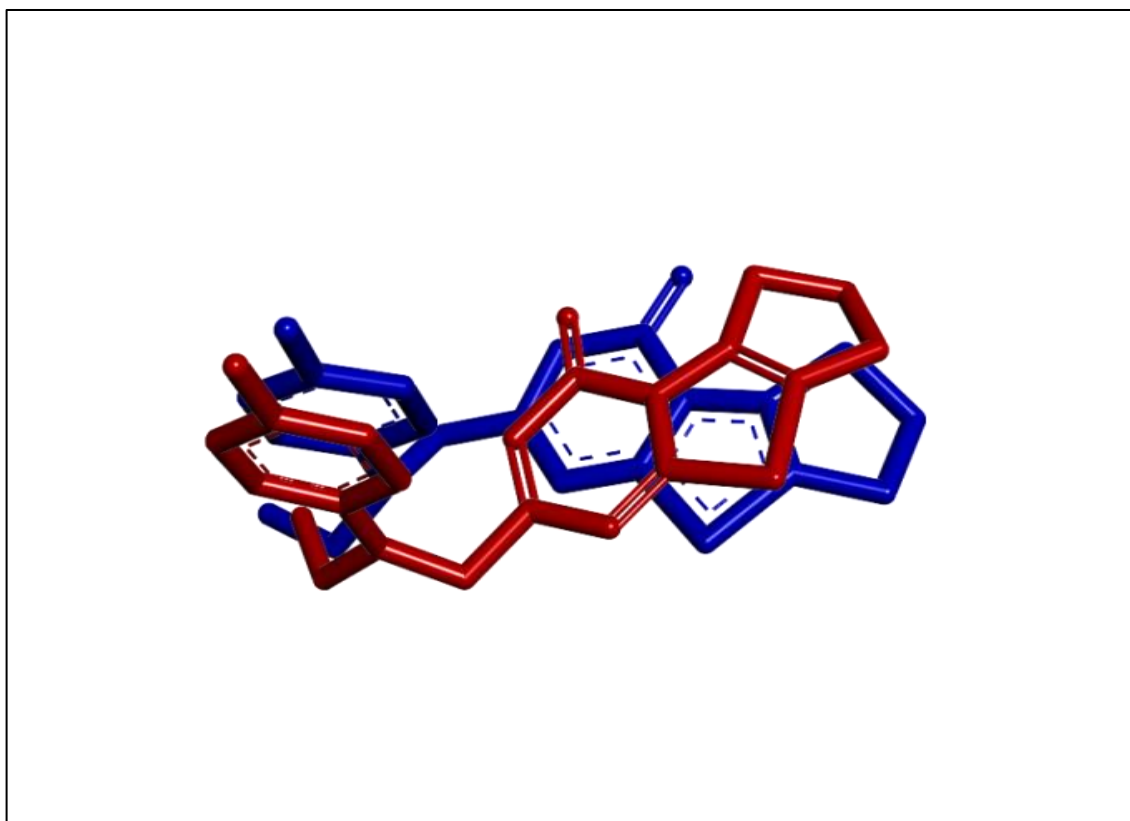


Figure 32: Superposition of the crystal conformation of the ligand extracted from 5H8Q (coloured in blue) with the best predicted pose (coloured in red).

Table 4: List of 100 complexes used in RMSD test, green entries represent NMDA receptor crystal structures

Nº	PDB	RMSD	Nº	PDB	RMSD	Nº	PDB	RMSD	Nº	PDB	RMSD
1	1H3A	4.813	26	4EY7	0.315	51	5EWJ	1.766	76	5TKP	0.839
2	1O79	4.514	27	4GMH	9.595	52	5EWL	0.532	77	5V6V	0.148
3	1APL	3.060	28	4M1Y	0.060	53	5EWM	1.000	78	5VXG	1.397
4	1ZHM	3.223	29	4M6X	0.955	54	5F1G	1.289	79	5WAF	0.577
5	1ZOM	3.746	30	4MLL	1.800	55	5FF7	0.658	80	5XPS	0.698
6	1ZXC	2.381	31	4MZO	2.024	56	5H8H	0.485	81	5ZK4	2.099
7	2IKH	1.675	32	4MZS	0.449	57	5H8N	2.508	82	6AY2	1.049

CHAPTER IV : RESULTS AND DISCUSSION

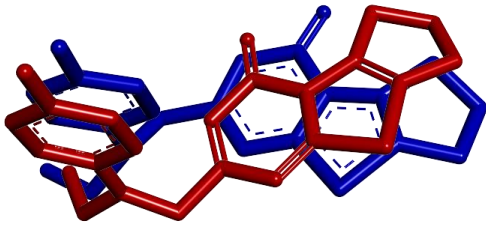
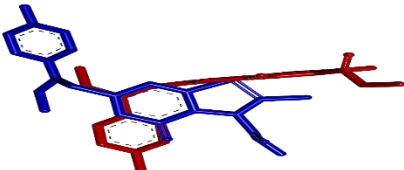
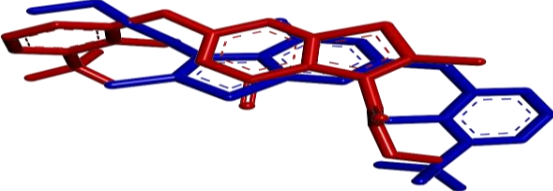
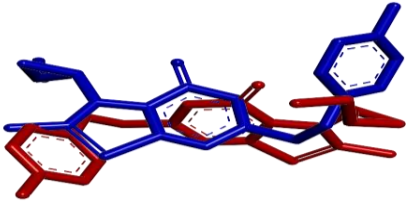
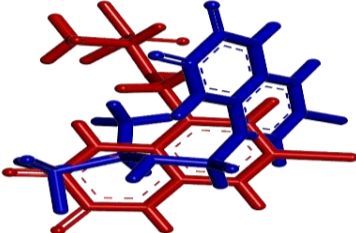
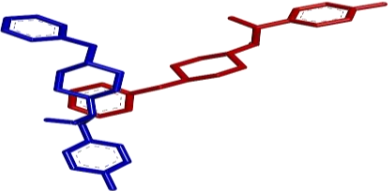
8	2PEV	4.160	33	4NPI	1.076	58	5H8Q	0.783	83	6B6D	1.824
9	2QT9	2.112	34	4O7D	1.352	59	5I2K	0.577	84	6DQ9	1.712
10	3DRP	1.619	35	4OOY	0.907	60	5I2N	2.633	85	6EIN	1.097
11	3HA8	1.149	36	4OUB	0.104	61	5I23	1.359	86	6GJK	1.397
12	3HJ0	0.924	37	4PE7	1.463	62	5IYT	2.010	87	6HHJ	1.270
13	3I06	1.231	38	4PHH	0.790	63	5J5D	0.912	88	6IC6	0.968
14	3I9N	1.512	39	4PID	0.750	64	5J8I	2.625	89	6IJS	1.590
15	3IC0	1.998	40	4PIS	2.068	65	5KCJ	2.044	90	6J2O	0.773
16	3IOQ	1.590	41	4PJE	1.620	66	5KWJ	1.998	91	6KU2	0.568
17	3ITA	1.920	42	4RSR	0.060	67	5LF7	2.592	92	6KGT	1.247
18	3K83	2.101	43	4S2K	1.096	68	5N0Y	1.134	93	6NZG	1.789
19	3KJF	1.712	44	4UIO	1.185	69	5OGQ	2.111	94	6P69	1.070
20	3KNE	3.451	45	5D11	1.936	70	5OSM	1.469	95	6Q5B	1.656
21	3KWZ	1.779	46	5DG6	2.376	71	5QIZ	0.752	96	6RQZ	0.041
22	3SR6	0.054	47	5DP7	1.883	72	5REP	2.146	97	6SUK	0.602
23	4E73	0.536	48	5DVC	1.925	73	5RFJ	1.525	98	7EOT	1.783
24	4EPV	1.132	49	5EST	1.297	74	5RFQ	1.503	99	7GCH	0.633
25	4EQC	3.454	50	5EUA	1.314	75	5RGN	1.844	100	8EST	1.571

4.2.2 Visual Analysis :

Visual analysis following the RMSD test is an important and complementary step in evaluating the performance of the Surflex program. The visualization of the results allowed us to see if the Surflex mimetic ligands from the four PDB complexes (blue) covered the reference ligands (red) in Biovia Discovery Viewer (Table 05).

Code PDB		Code de l'inhibiteur	RSMD (Å)	Superposition
5h8q		5YE	0.485	

CHAPTER IV : RESULTS AND DISCUSSION

				
5i2k		67H	0.577	
5i2n		67J	2.633	
5kcj		6RM	2.044	
7eot		J86	1.783	
5ewj		QEL	1.766	

CHAPTER IV : RESULTS AND DISCUSSION

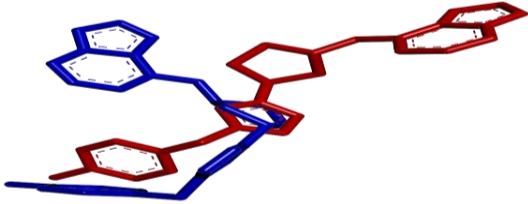
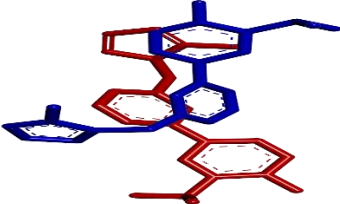
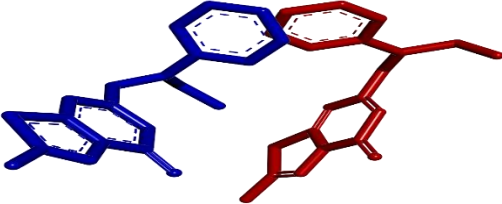
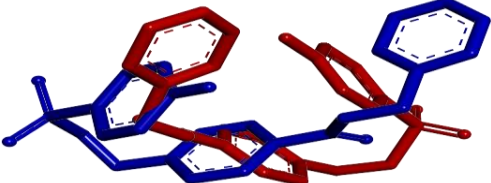
5ewl		5SL	0.532	
5ewm		5SM	1.000	
5h8h		5YC	0.485	
5h8n		5YD	2.508	

Table 05: RMSD values of the selected NMDA receptor ligands studied (colored in blue) and their superposition with the best predicted position obtained from SurFlex (colored in red) .

The results of our analysis showed that the ligands of the 5H8Q complex showed excellent RMSD results and overlapped well with the reference ligands. However, other complex ligands (5h8n ,5i2k,5i2n,5kcj,7eot,5ewj,5ewl,5ewm,5h8h) did not show any significant overlap.

4.2.3 Conclusion:

From the RMSD results and the visual analysis we concluded that the SurFlex program is efficient and can be used in our molecular docking , for our work we chose the 5H8Q complex

CHAPTER IV : RESULTS AND DISCUSSION

because it has the best resolution (1.90 Å) as well as the least amount of rotatable bonds (2 rotatable bonds).

4.3 VIRTUAL SCREENING:

We performed the virtual screening of 100 ligands of our 5H8Q complex downloaded from the PubChem chemical library with 89% structural homology to our reference ligand.

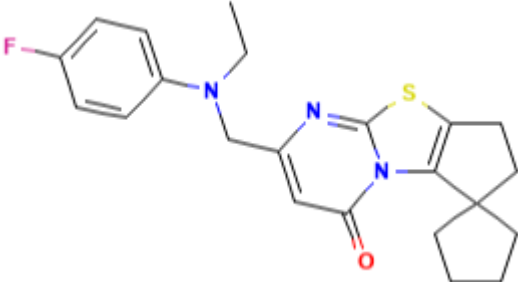
Using the Surflex program, we were able to simulate the formation of these complexes and evaluate their affinities, Compounds with higher affinity 5YE (1.57 M⁻¹) are highlighted in bold.

Table 6: Results of virtual screening

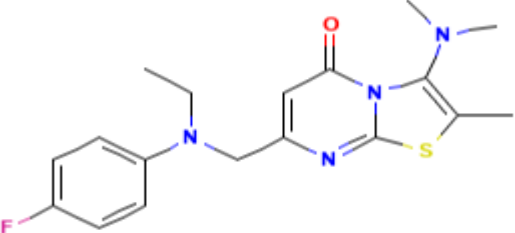
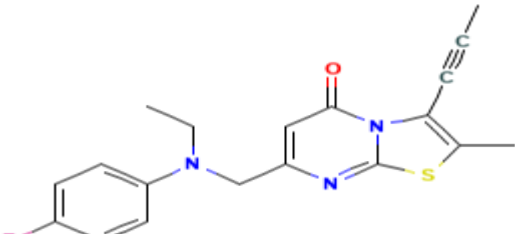
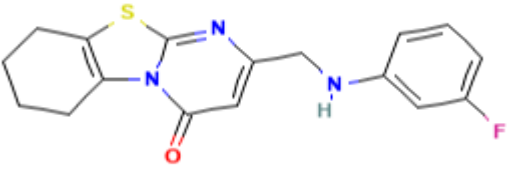
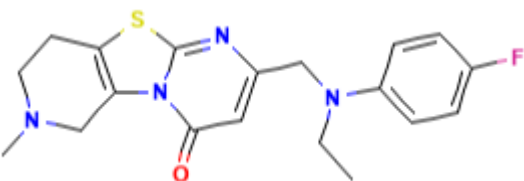
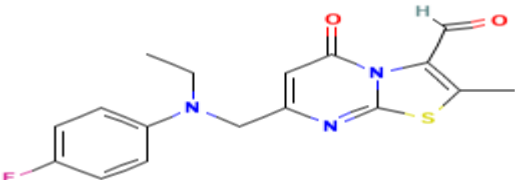
Nom	CHEM_ID	Score	Nom	CHEM_ID	Score	Nom	CHEM_ID	Score	Nom	CHEM_ID	Score
Standard (5YE)	118017713	1.57									
S01	670993	1.48	S26	8098113	2.78	S51	118009410	2.21	S76	118010926	2.21
S02	756754	0.62	S27	9420254	1.60	S52	118009459	2.57	S77	118011027	2.92
S03	756755	1.11	S28	9420256	1.44	S53	118009533	1.95	S78	118011037	2.08
S04	1194648	1.11	S29	9420257	2.36	S54	118009559	2.48	S79	118017588	2.06
S05	1673326	1.10	S30	9420258	1.75	S55	118009650	1.43	S80	118017591	1.25
S06	2155400	0.73	S31	16229106	0.67	S56	118010095	2.48	S81	118017668	2.81
S07	3048922	2.15	S32	20939093	0.77	S57	118010112	1.11	S82	118017672	3.70
S08	3048922	2.15	S33	20939094	2.29	S58	118010115	2.11	S83	118017673	0.74
S09	3309827	1.99	S34	45508468	0.16	S59	118010117	2.12	S84	118017674	2.66

CHAPTER IV : RESULTS AND DISCUSSION

S10	3490354	1.35	S35	46300918	1.31	S60	118010167	1.65	S85	118017676	1.62
S11	4096502	1.24	S36	47547349	2.06	S61	118010174	0.86	S86	118017677	2.06
S12	4181377	0.63	S37	51105636	1.88	S62	118010185	2.07	S87	118017702	1.83
S13	4200101	0.00	S38	51167907	1.70	S63	118010369	0.75	S88	118017706	1.53
S14	4225270	0.69	S39	71819653	2.05	S64	118010445	1.66	S89	118017709	0.19
S15	4673325	1.50	S40	87018170	2.51	S65	118010452	1.98	S90	118017714	0.79
S16	7101224	0.65	S41	91843519	0.48	S66	118010476	2.32	S91	118017715	2.55
S17	7101225	0.18	S42	92323590	1.13	S67	118010484	0.86	S92	118017718	1.12
S18	7101226	0.52	S43	92323706	0.88	S68	118010485	0.86	S93	118017752	2.25
S19	7101227	0.33	S44	118009185	1.94	S69	118010557	0.97	S94	118017771	1.04
S20	7158685	0.69	S45	118009228	2.14	S70	118010607	1.57	S95	118017909	1.64
S21	7158686	0.80	S46	118009236	2.50	S71	118010609	2.34	S96	118017910	2.20
S22	7158687	1.22	S47	118009268	2.33	S72	118010631	0.77	S97	118017935	1.93
S23	7158689	0.96	S48	118009337	1.99	S73	118010676	1.55	S98	118017987	0.46
S24	7158690	1.42	S49	118009349	1.94	S74	118010744	0.77	S99	118017991	1.74
S25	7158692	1.84	S50	118009384	1.41	S75	118010789	1.07	S100	118017992	2.38

Name	PubChem ID	Affinity	Structure
S82	118017672	3.70	

CHAPTER IV : RESULTS AND DISCUSSION

S77	118011027	2.92	
S81	118017668	2.81	
S26	8098113	2.78	
S84	118017674	2.66	
S52	118009459	2.57	

4.4 PREDICTION OF ADME PROPRIETIES

4.4.1 Physio-Chemical PROPRIETIES:

CHAPTER IV : RESULTS AND DISCUSSION

Consulting SWISSADME database we've determined the physio-chemical proprieties of our starting potential drugs and summarized it in the table below:

Table 7: Physio-chemical proprieties of 5YE, S82, S77, S81, S26, S84, and S52.

Propriétés	Standard (5YE)	s82	s77	s81	s26	s84	s52
Formule	C18H29FN3	C22H24FN3OS	C18H21FN4OS	C19H18FN3OS	C17H16FN3OS	C19H21FN4OS	C17H16FN3O2S
PM (g/mol) Poids moléculaire	306.44 g/mol	397.51 g/mol	360.45 g/mol	355.43 g/mol	329.39 g/mol	372.46 g/mol	345.39 g/mol
nLF nombre de liaisons flexibles	4	4	5	4	3	4	5
nON nombre d'accepteur d'hydrogène	3	3	3	3	3	4	4
nOHNH nombre de donneurs d'hydrogène	0	0	0	0	1	0	0
Log P	1.81	4.57	3.32	3.91	3.30	2.99	2.98
TPSA Å ²	14.92	65.85	69.09	65.85	74.64	69.09	82.92
Règle de Lipinski	Parfaitement conforme	Parfaitement conforme	Parfaitement conforme	Parfaitement conforme	Parfaitement conforme	Parfaitement conforme	Oui
Règle de Veber	Parfaitement conforme	Parfaitement conforme	Parfaitement conforme	Parfaitement conforme	Parfaitement conforme	Parfaitement conforme	Non
Solubilité dans l'eau	Moyenne	Poor	Moyenne	Moyenne	Poor	Moyenne	Moyenne
Accessibilité à la synthèse	4.95	4.12	3.34	3.47	3.19	3.45	3.02

CHAPTER IV : RESULTS AND DISCUSSION

4.4.2 Pharmacokinetic PROPRIETIES:

Table 8: Pharmacokinetic proprieties of 5YE, S82, S77, S81, S26, S84, S52.

Propriétés	Standard	s82	s77	s81	s26	s84	s52
GI absorption	élevée	élevée	élevée	élevée	élevée	élevée	élevée
BBB perméabilité	élevée	élevée	normal	normal	normal	normal	non
CYP1A2 inhibition	Négative	positive	positive	positive	positive	positive	positive
CYP2C19 inhibition	Négative	positive	positive	positive	positive	Négative	positive
CYP2C9 inhibition	Négative	positive	positive	Positive	positive	positive	positive
CYP2D6 inhibition	Négative	Positive	Positive	Négative	Positive	Positive	Négative
CYP3A4 inhibition	Négative	Positive	Positive	Négative	Positive	Positive	Négative

4.4.3 Results discussion:

From the results obtained and summarized in table 6,7,8, we observe that all of our potential drugs conform to Lipinski's rule of 5 as well as Veber's rule, except for **S52** which doesn't conform to the latter mentioned rule. All molecules have low synthesis accessibility score (4.12 and under) which means they are easier to synthesis than 5YE (4.95). When it comes to Pharmacokinetic Proprieties, we note that all of our compounds have high GI absorption levels, High Blood Brain Barrier permeability for **S82**, Normal permeability for **S77 S81 S26** and **S84**, but when it comes to **S52** it has no BBB permeability which means it loses its potential as a drug since the therapeutic target is in the CNS. As for cytochromes P450 (CYP) inhibition, all of our potential drugs positively inhibit CYP2C19, CYP2C9, CYP2C9, CYP2D6 and CYP3A4. Except

for **S81** who has no CYP2D6 and CYP3A4 inhibition effect. This poses a risk of toxicity due to the increase in parent molecules metabolized by these enzymes.

From the obtained results, we conclude that **S82** is the most favorable drug candidate, due to its favorable Physio-Chemical properties, High GI absorption, High BBB permeability despite P450 inhibition.

4.5 VISUAL ANALYSIS AND DISCUSSION OF INTERACTIONS

In this study, we selected the one molecule (**S82**) that presented the best pharmacodynamic and pharmacokinetic properties.

The docking of these compound in the active site of receptor gives several information interesting concerning the interactions formed between them. We used the “Display Receptor-Ligand interactions” “Show types”, “Show distances” and “Show 2D diagram” in the interface of the Biovia Discovery Studio program to view and analyze the number and type of bonds forming the complex.

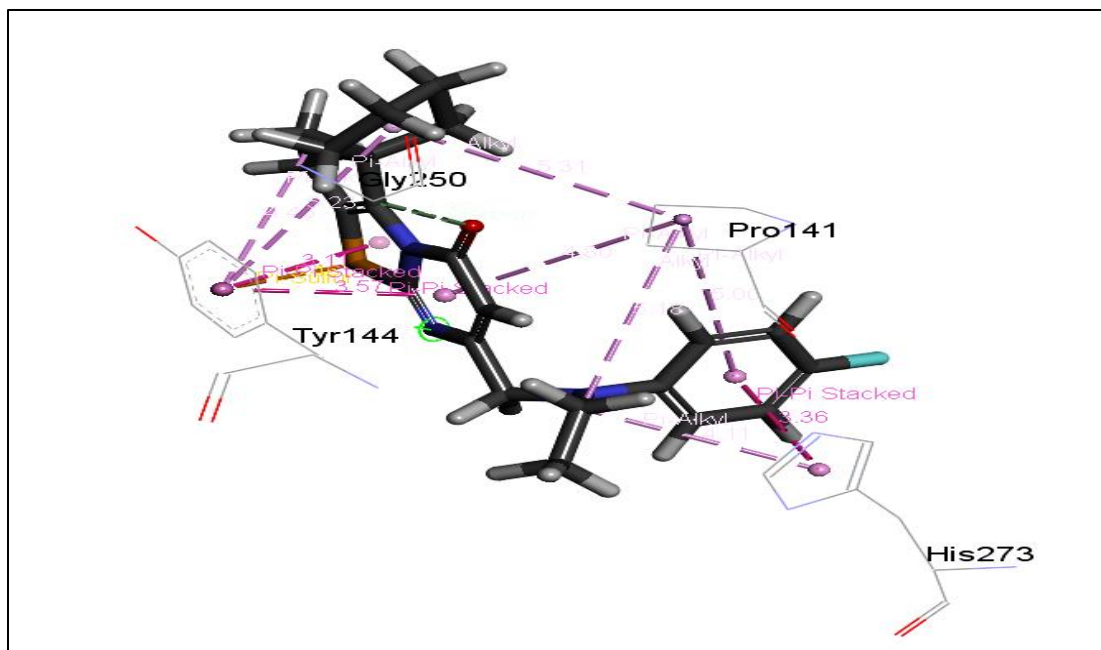


Figure 33 :Biovia Discovery Visualizer visual analysis of ligand interaction mode of S82 with the active site of 5h8q.

CHAPTER IV : RESULTS AND DISCUSSION

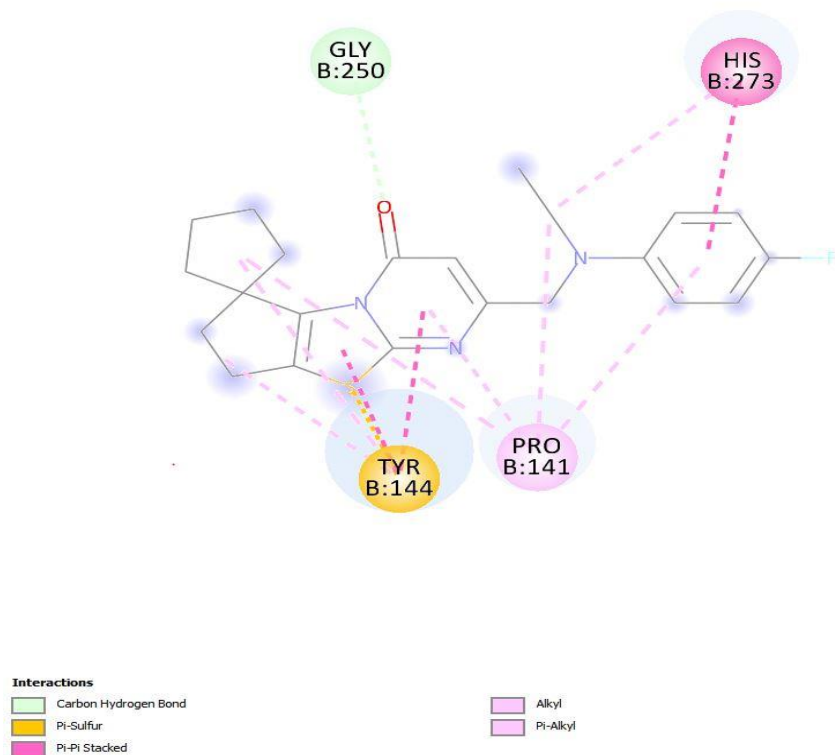


Figure 34 :Representation of receptor-ligand 1 interactions in 2D diagram.

Table 9: bonds established by S82 interacting with the active site.

Liaison	Mode of binding of the ligand with active site residues	Types	Distance (Å)
1	B:HIS273 – S82	Pi-Pi stacking	3.36
2	B:HIS273-:C S82	Pi- Alkyl	4.11
3	B:PRO141 – S82	Pi- Alkyl	5.00
4	S82 C – B:PRO141	Alkyl	5.18
5	S82 -B:PRO141	Pi-Alkyl	4.80
6	B:PRO141-S82	Alkyl	5.31
7	B:TYR144 -S82	Pi-Pi stacking	3.57
8	B:GLY250:CA - :O S82	Carbon Hydrogen	3.32
9	B:TYR144-S82	Pi-Pi stacking	3.11
10	S82 :S – B:TYR144	Pi-Sulfur	3.46
11	B:TYR144- S82	Pi-Alkyl	5.23

12	B:TYR144- S82	Pi-Alkyl	4.45
----	---------------	----------	------

4.5.1 Result discussion:

The interactions predicted by docking are, in general, non-covalent. With the exception of the Carbon-Hydrogen bond which is a covalent bond.

We note different types of interactions:

- Hydrophobic interaction produced by the apolar Alkyl hydrocarbons found between:
 - o Pi-Pi Stacking between:
 - Ligand benzene cycle and the amino acid Histidine273 imidazole ring.
 - Two between two of the ligand's cycles and the aromatic ring of the amino acid Tyrosine144.
 - Pi-Sulfur between the ligand's cycle with sulfur and the aromatic ring of the amino acid Tyrosine144.
 - o Pi-Alkyl between:
 - Ligand cycles and amino acid Proline141 cycle.
 - Ligand cycles and amino acid Tyrosine144 aromatic ring.
 - Ligand cycle and amino acid Histidine273 aromatic ring.
 - o Alkyl between ligand cycles and Proline141 cycle.
- Carbon Hydrogen interaction between ligand's oxygen atom and the Glycine250 carbon.

CONCLUSION

The primary objective of our work is to develop in silico through docking molecule of new structures acting as more potent ligands of NMDAR(GluN2A).

In order to confirm that Surflex is a suitable program for our study, we have tested the ability of this program to predict the correct location of a ligand during the interaction with its receptor. For this, we used the RMSD test (Root Mean Square Deviation) which is used to evaluate the deviation of the ligand geometry simulated by Surflex comparing it to its reference conformation found in the PDB.

Of the 100 complexes taken arbitrarily of the PDB, 76% exhibited an RMSD less than 2 Å. Visual analysis confirms these results since we observe a good superposition of the 2 conformations, that of the ligand calculated by Surflex and that of the reference ligand taken initially from the PDB for RMSD values below 2 Å. RMSD values greater than 2 Å corresponds to a bad superposition. This test proved that the Surflex program is highly effective and can be reliably used to simulate the interactions of other NMDAR(GluN2A) ligands.

In the search for new theoretical ligand with higher affinity than our reference ligand 5YE, 100 structures with a similarity rate of 89% to our reference ligand were downloaded from the "PubChem" chemical library in order to evaluate their affinity towards the NMDAR(GluN2A). Among the 100 structures, 6 compounds showed higher affinities than that of our ligand which is 1.57M^{-1} .

Further filtering was done via the of ADME prediction in order to inform us about the pharmacokinetic properties of the proposed molecules to deduce if our six compounds can act as a drug, using data obtained from SWISSADME webtool we reduced our potential drug down to 1, S82 for which we have made a detailed analysis of the various interactions involved: Pi-Sulfur, Pi-Pi stacking, Alkyl, Pi-Alkyl, Pi-Cation and Carbon Hydrogen bond.

Conclusion

In terms of future prospects, this work could be supplemented and extended by an experimental in vitro and/or in vivo study in order to validate our theoretical results and verify the effectiveness of the in-silico approach.

Conclusion

RÉFÉRENCES

RÉFÉRENCES

1. Schulze, E., & Bosshard, E. (1883). Ueber das Glutamin. *Berichte Der Deutschen Chemischen Gesellschaft*, 16(1), 312–315. <https://doi.org/10.1002/cber.18830160173>.
2. Krnjević, K. (1974). Chemical Nature of Synaptic Transmission in Vertebrates. *Physiological Reviews*, 54(2), 134–169. <https://doi.org/10.1152/physrev.1974.54.2.418>
3. Watkins, J. C., & Evans, R. H. (1981). Excitatory Amino Acid Transmitters. *Annual Review of Pharmacology and Toxicology*, 21(1), 165–204. <https://doi.org/10.1146/annurev.pa.21.040181.001121>
4. Hollmann, M., & Heinemann, S. (1994). Cloned Glutamate Receptors. *Annual Review of Neuroscience*, 17(1), 31–108. <https://doi.org/10.1146/annurev.ne.17.030194.000335>
5. Clements, J., & Westbrook, G. (1991). Activation kinetics reveal the number of glutamate and glycine binding sites on the N-methyl-d-aspartate receptor. *Neuron*, 7(4), 605–613. [https://doi.org/10.1016/0896-6273\(91\)90373-8](https://doi.org/10.1016/0896-6273(91)90373-8)
6. Laube, B., Hirai, H., Sturgess, M., Betz, H., & Kuhse, J. (1997). Molecular Determinants of Agonist Discrimination by NMDA Receptor Subunits: Analysis of the Glutamate Binding Site on the NR2B Subunit. *Neuron*, 18(3), 493–503. [https://doi.org/10.1016/s0896-6273\(00\)81249-0](https://doi.org/10.1016/s0896-6273(00)81249-0)
7. Sucher, N., Akbarian, S., Chi, C., Leclerc, C., Awobuluyi, M., Deitcher, D., Wu, M., Yuan, J., Jones, E., & Lipton, S. (1995). Developmental and regional expression pattern of a novel NMDA receptor- like subunit (NMDAR-L) in the rodent brain. *The Journal of Neuroscience*, 15(10), 6509–6520. <https://doi.org/10.1523/jneurosci.15-10-06509.1995>
8. de Blasi, A., Conn, P. J., Pin, J. P., & Nicoletti, F. (2001). Molecular determinants of metabotropic glutamate receptor signaling. *Trends in Pharmacological Sciences*, 22(3), 114–120. [https://doi.org/10.1016/s0165-6147\(00\)01635-7](https://doi.org/10.1016/s0165-6147(00)01635-7)
9. Thomson, A. M. (1989). Glycine modulation of the NMDA receptor/channel complex. *Trends in Neurosciences*, 12(9), 349–353. [https://doi.org/10.1016/0166-2236\(89\)90042-8](https://doi.org/10.1016/0166-2236(89)90042-8)

RÉFÉRENCES

10. Williams, K. (1997). Modulation and Block of Ion Channels: A New Biology of Polyamines. *Cellular Signalling*, 9(1), 1–13. [https://doi.org/10.1016/s0898-6568\(96\)00089-7](https://doi.org/10.1016/s0898-6568(96)00089-7)
11. Davidson, E. M., & Carlton, S. M. (1998). Intraplantar injection of dextrorphan, ketamine or memantine attenuates formalin-induced behaviors. *Brain Research*, 785(1), 136–142. [https://doi.org/10.1016/s0006-8993\(97\)01396-6](https://doi.org/10.1016/s0006-8993(97)01396-6)
12. Karakas, E.; Furukawa, H. (2014). Crystal structure of a heterotetrameric NMDA receptor ion channel. *Science*, 344(6187), 992–997. <https://doi:10.1126/science.1251915>
13. Nowak, L., Bregestovski, P., Ascher, P., Herbet, A., & Prochiantz, A. (1984). Magnesium gates glutamate-activated channels in mouse central neurones. *Nature*, 307(5950), 462–465. <https://doi.org/10.1038/307462a0>
14. Erratum for Paoletti et al., High-Affinity Zinc Inhibition of NMDA NR1-NR2A Receptors. (1997). *The Journal of Neuroscience*, 17(20), np. <https://doi.org/10.1523/jneurosci.17-20-j0001.1997>.
15. Miller, B., Sarantis, M., Traynelis, S. F., & Attwell, D. (1992). Potentiation of NMDA receptor currents by arachidonic acid. *Nature*, 355(6362), 722–725. <https://doi.org/10.1038/355722a0>.
16. Smith, C. C., Gibbs, T. T., & Farb, D. H. (2014). Pregnenolone sulfate as a modulator of synaptic plasticity. *Psychopharmacology*, 231(17), 3537–3556. <https://doi.org/10.1007/s00213-014-3643-x>
17. Shukla, V. K., & Lemaire, S. (1994). Non-opioid effects of dynorphins: possible role of the NMDA receptor. *Trends in Pharmacological Sciences*, 15(11), 420–424. [https://doi.org/10.1016/0165-6147\(94\)90091-4](https://doi.org/10.1016/0165-6147(94)90091-4)
18. Yamakura, T., & Shimoji, K. (1999). Subunit- and site-specific pharmacology of the NMDA receptor channel. *Progress in Neurobiology*, 59(3), 279–298. [https://doi.org/10.1016/s0301-0082\(99\)00007-6](https://doi.org/10.1016/s0301-0082(99)00007-6)

RÉFÉRENCES

19. Meldrum, B. S. (1998). Chapter 29 The glutamate synapse as a therapeutical target: Perspectives for the future. *Progress in Brain Research*, 441–458. [https://doi.org/10.1016/s0079-6123\(08\)60454-9](https://doi.org/10.1016/s0079-6123(08)60454-9)
20. Zhou, Q., & Sheng, M. (2013). NMDA receptors in nervous system diseases. *Neuropharmacology*, 74, 69–75. <https://doi.org/10.1016/j.neuropharm.2013.03.030>
21. Chen, M., Lu, T. J., Chen, X. J., Zhou, Y., Chen, Q., Feng, X. Y., Xu, L., Duan, W. H., & Xiong, Z. Q. (2008). Differential Roles of NMDA Receptor Subtypes in Ischemic Neuronal Cell Death and Ischemic Tolerance. *Stroke*, 39(11), 3042–3048. <https://doi.org/10.1161/strokeaha.108.521898>
22. Hunt, D. L., & Castillo, P. E. (2012). Synaptic plasticity of NMDA receptors: mechanisms and functional implications. *Current Opinion in Neurobiology*, 22(3), 496–508. <https://doi.org/10.1016/j.conb.2012.01.007>
23. Franklin, S. O., Elliott, K., Zhu, Y. S., Wahlestedt, C., & Inturrisi, C. E. (1993). Quantitation of NMDA receptor (NMDAR1) mRNA levels in the adult and developing rat CNS. *Molecular Brain Research*, 19(1–2), 93–100. [https://doi.org/10.1016/0169-328x\(93\)90153-g](https://doi.org/10.1016/0169-328x(93)90153-g)
24. Lu, Y. (2018). Anatomy and Physiology of Metabotropic Glutamate Receptors in Mammalian and Avian Auditory System. *Trends in Anatomy and Physiology*, 1(1), 1–13. <https://doi.org/10.24966/tap-7752/100001>
25. Kim, A. H., Kerchner, G. A., & Choi, D. W. (2002). Blocking Excitotoxicity. *CNS Neuroprotection*, 3–36. https://doi.org/10.1007/978-3-662-06274-6_1
26. EVANS, R., FRANCIS, A., HUNT, K., OAKES, D., & WATKINS, J. (1979). ANTAGONISM OF EXCITATORY AMINO ACID-INDUCED RESPONSES AND OF SYNAPTIC EXCITATION IN THE ISOLATED SPINAL CORD OF THE FROG. *British Journal of Pharmacology*, 67(4), 591–603. <https://doi.org/10.1111/j.1476-5381.1979.tb08706.x>

RÉFÉRENCES

27. Ferkany, J., Willetts, J., Borosky, D., Clissold, E., Karbon, & Hamilton, G. (1993). Pharmacology of (2R, 4R, 5S)-2-amino-4,5-(1,2-cyclohexyl)-7-phosphonoheptanoic acid (NPC 17742); a selective, systemically active, competitive NMDA antagonist. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 3(1), 33–38. [https://doi.org/10.1016/s0960-894x\(00\)80087-6](https://doi.org/10.1016/s0960-894x(00)80087-6)
28. Meldrum, B. S. (1997). Excitatory amino acids—Clinical results with antagonists. *Neuropharmacology*, 36(11–12), 1802. [https://doi.org/10.1016/s0028-3908\(97\)00199-8](https://doi.org/10.1016/s0028-3908(97)00199-8)
29. Laurie, D., & Seeburg, P. (1994). Ligand affinities at recombinant receptors depend on subunit composition. *European Journal of Pharmacology: Molecular Pharmacology*, 268(3), 335–345. [https://doi.org/10.1016/0922-4106\(94\)90058-2](https://doi.org/10.1016/0922-4106(94)90058-2)
30. Gorelick D. A., Balster R. L. Phencyclidine (PCP) // *Psychopharmacology: the fourth generation of progress*/ Eds. Bloom F. E., Kupfer D. J. - New York: Raven Press, 1995. - P. 1767-1776.
31. Seeman, P., Ko, F., & Talerico, T. (2005). Dopamine receptor contribution to the action of PCP, LSD and ketamine psychotomimetics. *Molecular Psychiatry*, 10(9), 877–883. <https://doi.org/10.1038/sj.mp.4001682>
32. Jansen, M., & Dannhardt, G. (2003). Antagonists and agonists at the glycine site of the NMDA receptor for therapeutic interventions. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 38(7–8), 661–670. [https://doi.org/10.1016/s0223-5234\(03\)00113-2](https://doi.org/10.1016/s0223-5234(03)00113-2)
33. Carter, C., Avenet, P., Benavides, J., Besnard, F., Biton, B., Cudennec, A., Duverger, D., Frost, J., Giroux, C., Graham, D., Langer, S., Nowicki, J., Oblin, A., Perrault, G., Pigasse, S., Rosen, P., Sanger, D., Schoemaker, H., Thénot, J., & Scatton, B. (1997). Ifenprodil and Eliprodil. *Excitatory Amino Acids*, 57–80. <https://doi.org/10.1016/b978-012546820-6/50008-6>
34. Avenet, P., Léonardon, J., Besnard, F., Graham, D., Depoortere, H., & Scatton, B. (1997). Antagonist properties of eliprodil and other NMDA receptor antagonists at rat

REFÉRENCES

- NR1A/NR2A and NR1A/NR2B receptors expressed in *Xenopus* oocytes. *Neuroscience Letters*, 223(2), 133–136. [https://doi.org/10.1016/s0304-3940\(97\)13422-x](https://doi.org/10.1016/s0304-3940(97)13422-x)
35. Schmidt, C., & Hollmann, M. (2009). Molecular and functional characterization of *Xenopus laevis* N-methyl-d-aspartate receptors. *Molecular and Cellular Neuroscience*, 42(2), 116–127. <https://doi.org/10.1016/j.mcn.2009.06.004>
36. Meldrum, B. (1985). Possible Therapeutic Applications of Antagonists of Excitatory Amino acid Neurotransmitters. *Clinical Science*, 68(2), 113–122. <https://doi.org/10.1042/cs0680113>
37. Ghasemi, M., & Schachter, S. C. (2011). The NMDA receptor complex as a therapeutic target in epilepsy: a review. *Epilepsy & Behavior*, 22(4), 617–640. <https://doi.org/10.1016/j.yebeh.2011.07.024>
38. GULER, G., ERDOGAN, F., GOLGELI, A., AKIN, A., & BOYACI, A. (2005). KETAMINE REDUCES LIDOCAINE-INDUCED SEIZURES IN MICE. *International Journal of Neuroscience*, 115(8), 1239–1244. <https://doi.org/10.1080/00207450590914617>
39. Matsumoto, K., Lo, E. H., Pierce, A. R., Halpern, E. F., & Newcomb, R. (1996). Secondary Elevation of Extracellular Neurotransmitter Amino Acids in the Reperfusion Phase following Focal Cerebral Ischemia. *Journal of Cerebral Blood Flow & Metabolism*, 16(1), 114–124. <https://doi.org/10.1097/00004647-199601000-00014>
40. Globus, M. Y. T., Busto, R., Martinez, E., Valdés, I., Dietrich, W. D., & Ginsberg, M. D. (1991). Comparative Effect of Transient Global Ischemia on Extracellular Levels of Glutamate, Glycine, and γ -Aminobutyric Acid in Vulnerable and Nonvulnerable Brain Regions in the Rat. *Journal of Neurochemistry*, 57(2), 470–478. <https://doi.org/10.1111/j.1471-4159.1991.tb03775.x>

RÉFÉRENCES

41. Castillo, J., Dávalos, A., & Noya, M. (1997). Progression of ischaemic stroke and excitotoxic aminoacids. *The Lancet*, 349(9045), 79–82. [https://doi.org/10.1016/s0140-6736\(96\)04453-4](https://doi.org/10.1016/s0140-6736(96)04453-4)
42. Obrenovitch, T. P., & Urenjak, J. (1997). Altered glutamatergic transmission in neurological disorders: From high extracellular glutamate to excessive synaptic efficacy. *Progress in Neurobiology*, 51(1), 39–87. [https://doi.org/10.1016/s0301-0082\(96\)00049-4](https://doi.org/10.1016/s0301-0082(96)00049-4)
43. Zhang, L., Rzigalinski, B. A., Ellis, E. F., & Satin, L. S. (1996). Reduction of Voltage-Dependent Mg²⁺ Blockade of NMDA Current in Mechanically Injured Neurons. *Science*, 274(5294), 1921–1923. <https://doi.org/10.1126/science.274.5294.1921>
44. Léveillé, F., Gaamouch, F. E., Gouix, E., Lecocq, M., Lobner, D., Nicole, O., & Buisson, A. (2008). Neuronal viability is controlled by a functional relation between synaptic and extrasynaptic NMDA receptors. *The FASEB Journal*, 22(12), 4258–4271. <https://doi.org/10.1096/fj.08-107268>
45. Kew, J. N., Trube, G., & Kemp, J. A. (1996). A novel mechanism of activity-dependent NMDA receptor antagonism describes the effect of ifenprodil in rat cultured cortical neurones. *The Journal of Physiology*, 497(3), 761–772. <https://doi.org/10.1113/jphysiol.1996.sp021807>
46. Mutel, V., Buchy, D., Klingelschmidt, A., Messer, J., Bleuel, Z., Kemp, J. A., & Richards, J. G. (2002). In Vitro Binding Properties in Rat Brain of [3H]Ro 25–6981, a Potent and Selective Antagonist of NMDA Receptors Containing NR2B Subunits. *Journal of Neurochemistry*, 70(5), 2147–2155. <https://doi.org/10.1046/j.1471-4159.1998.70052147.x>
47. Johnson, K., Conn, P., & Niswender, C. (2009). Glutamate Receptors as Therapeutic Targets for Parkinsons Disease. *CNS & Neurological Disorders - Drug Targets*, 8(6), 475–491. <https://doi.org/10.2174/187152709789824606>
48. Greenamyre, J. T., & O'Brien, C. F. (1991). N-Methyl-d-Aspartate Antagonists in the Treatment of Parkinson's Disease. *Archives of Neurology*, 48(9), 977–981. <https://doi.org/10.1001/archneur.1991.00530210109030>

RÉFÉRENCES

49. Ferro, M., Angelucci, M., Anselmo-Franci, J., Canteras, N., & da Cunha, C. (2007). Neuroprotective effect of ketamine/xylazine on two rat models of Parkinson's disease. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*, 40(1), 89–96. <https://doi.org/10.1590/s0100-879x2007000100012>
50. Stoof, J., Booij, J., & Drukarch, B. (1992). Amantadine as receptor antagonist: new possibilities for therapeutic applications? *Clinical Neurology and Neurosurgery*, 94, 4–6. [https://doi.org/10.1016/0303-8467\(92\)90006-o](https://doi.org/10.1016/0303-8467(92)90006-o)
51. Herring, W. J., Assaid, C., Budd, K., Vargo, R., Mazenko, R. S., Lines, C., Ellenbogen, A., & Verhagen Metman, L. (2017). A Phase Ib Randomized Controlled Study to Evaluate the Effectiveness of a Single-Dose of the NR2B Selective N-Methyl-d-Aspartate Antagonist MK-0657 on Levodopa-Induced Dyskinesias and Motor Symptoms in Patients With Parkinson Disease. *Clinical Neuropharmacology*, 40(6), 255–260. <https://doi.org/10.1097/wnf.0000000000000241>
52. Boussicault, L., Kacher, R., Lamazière, A., Vanhoutte, P., Caboche, J., Betuing, S., & Potier, M. C. (2018). CYP46A1 protects against NMDA-mediated excitotoxicity in Huntington's disease: Analysis of lipid raft content. *Biochimie*, 153, 70–79. <https://doi.org/10.1016/j.biochi.2018.07.019>
53. MCGEER, E. G., & MCGEER, P. L. (1976). Duplication of biochemical changes of Huntington's chorea by intrastriatal injections of glutamic and kainic acids. *Nature*, 263(5577), 517–519. <https://doi.org/10.1038/263517a0>
54. Isacson, O., Brundin, P., Gage, F., & Björklund, A. (1985). Neural grafting in a rat model of huntington's disease: Progressive neurochemical changes after neostriatal ibotenate lesions and striatal tissue grafting. *Neuroscience*, 16(4), 799–817. [https://doi.org/10.1016/0306-4522\(85\)90095-8](https://doi.org/10.1016/0306-4522(85)90095-8)
55. Shaw, P. J., & Ince, P. G. (1997). Glutamate, excitotoxicity and amyotrophic lateral sclerosis. *Journal of Neurology*, 244(S2), S3–S14. <https://doi.org/10.1007/bf03160574>

REFÉRENCES

56. Mota, S. I., Ferreira, I. L., & Rego, A. C. (2014). Dysfunctional synapse in Alzheimer's disease – A focus on NMDA receptors. *Neuropharmacology*, 76, 16–26. <https://doi.org/10.1016/j.neuropharm.2013.08.013>
57. L. Ferreira, I., Resende, R., Ferreira, E., C. Rego, A., & F. Pereira, C. (2010). Multiple Defects in Energy Metabolism in Alzheimers Disease. *Current Drug Targets*, 11(10), 1193–1206. <https://doi.org/10.2174/1389450111007011193>
58. Avila, J., Llorens-Martín, M., Pallas-Bazarrá, N., Bolós, M., Perea, J. R., Rodríguez-Matellán, A., & Hernández, F. (2017). Cognitive Decline in Neuronal Aging and Alzheimer's Disease: Role of NMDA Receptors and Associated Proteins. *Frontiers in Neuroscience*, 11. <https://doi.org/10.3389/fnins.2017.00626>
59. Deardorff, William James; Grossberg, George T. (2016). Pharmacotherapeutic strategies in the treatment of severe Alzheimer's disease. *Expert Opinion on Pharmacotherapy*, 17(13), 1789–1800. doi:10.1080/14656566.2016.1215431
60. Stahl, S. M. (2008). *Depression and Bipolar Disorder: Stahl's Essential Psychopharmacology*. Cambridge: Cambridge University Press. Stephenson, F. A., Cousins, S. L., and Kenny, A. V. (2008). Assembly and forward trafficking of NMDA receptors (review). *Mol. Membr. Biol.* 25, 311–320. doi:10.1080/09687680801971367.
61. Deardorff, W. J., & Grossberg, G. T. (2016). Pharmacotherapeutic strategies in the treatment of severe Alzheimer's disease. *Expert Opinion on Pharmacotherapy*, 17(13), 1789–1800. <https://doi.org/10.1080/14656566.2016.1215431>
62. Zarate, C. A., Singh, J. B., Carlson, P. J., Brutsche, N. E., Ameli, R., Luckenbaugh, D. A., Charney, D. S., & Manji, H. K. (2006). A Randomized Trial of an N-methyl-D-aspartate Antagonist in Treatment-Resistant Major Depression. *Archives of General Psychiatry*, 63(8), 856. <https://doi.org/10.1001/archpsyc.63.8.856>
63. Andreasen, J. T., Gynther, M., Rygaard, A., Bøgelund, T., Nielsen, S. D., Clausen, R. P., Mogensen, J., & Pickering, D. S. (2013). Does increasing the ratio of AMPA-to-NMDA receptor mediated neurotransmission engender antidepressant action? Studies in the mouse

RÉFÉRENCES

forced swim and tail suspension tests. *Neuroscience Letters*, 546, 6–10.

<https://doi.org/10.1016/j.neulet.2013.04.045>

64. Martucci, L., Wong, A. H., de Luca, V., Likhodi, O., Wong, G. W., King, N., & Kennedy, J. L. (2006b). N-methyl-d-aspartate receptor NR2B subunit gene GRIN2B in schizophrenia and bipolar disorder: Polymorphisms and mRNA levels. *Schizophrenia Research*, 84(2–3), 214–221. <https://doi.org/10.1016/j.schres.2006.02.001>

65. Cortese, B. M., & Phan, K. L. (2005b). The Role of Glutamate in Anxiety and Related Disorders. *CNS Spectrums*, 10(10), 820–830. <https://doi.org/10.1017/s1092852900010427>

66. Wiley, J. L., Cristello, A. F., & Balster, R. L. (1995). Effects of site-selective NMDA receptor antagonists in an elevated plus-maze model of anxiety in mice. *European Journal of Pharmacology*, 294(1), 101–107. [https://doi.org/10.1016/0014-2999\(95\)00506-4](https://doi.org/10.1016/0014-2999(95)00506-4)

67. Cull-Candy, S., Brickley, S., & Farrant, M. (2001). NMDA receptor subunits: diversity, development and disease. *Current Opinion in Neurobiology*, 11(3), 327–335. [https://doi.org/10.1016/s0959-4388\(00\)00215-4](https://doi.org/10.1016/s0959-4388(00)00215-4)

68. Chizh, B., & Headley, P. (2005). NMDA Antagonists and Neuropathic Pain - Multiple Drug Targets and Multiple Uses. *Current Pharmaceutical Design*, 11(23), 2977–2994. <https://doi.org/10.2174/1381612054865082>

69. Gagnon B, Almahrezi A, Schreier G. Methadone in the treatment of neuropathic pain. *Pain Res Manag*. 2003;8:149–154.

70. Gagnon, B., Almahrezi, A., & Schreier, G. (2003). Methadone in the Treatment of Neuropathic Pain. *Pain Research and Management*, 8(3), 149–154. <https://doi.org/10.1155/2003/236718>

71. DuPen, A., Shen, D., & Ersek, M. (2007). Mechanisms of Opioid-Induced Tolerance and Hyperalgesia. *Pain Management Nursing*, 8(3), 113–121. <https://doi.org/10.1016/j.pmn.2007.02.004>

RÉFÉRENCES

72. Sang, C. N. (2000). NMDA-Receptor Antagonists in Neuropathic Pain. *Journal of Pain and Symptom Management*, 19(1), 21–25. [https://doi.org/10.1016/s0885-3924\(99\)00125-6](https://doi.org/10.1016/s0885-3924(99)00125-6)
73. Huang, E. Y. K., Liu, T. C., & Tao, P. L. (2003). Co-administration of dextromethorphan with morphine attenuates morphine rewarding effect and related dopamine releases at the nucleus accumbens. *Naunyn-Schmiedeberg's Archives of Pharmacology*, 368(5), 386–392. <https://doi.org/10.1007/s00210-003-0803-7>
74. Trujillo, K.A. (2002). The Role of NMDA Receptors in Opiate Tolerance, Sensitization, and Physical Dependence. In: Herman, B.H., Frankenheim, J., Litten, R.Z., Sheridan, P.H., Weight, F.F., Zukin, S.R. (eds) *Glutamate and Addiction*. Contemporary Clinical Neuroscience. Humana Press, Totowa, NJ. https://doi.org/10.1007/978-1-59259-306-4_20
75. Steppuhn, K. G., & Turski, L. (1993). Diazepam dependence prevented by glutamate antagonists. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 90(14), 6889–6893. <https://doi.org/10.1073/pnas.90.14.6889>
76. Jain, R., Mukherjee, K., & Balhara, Y. P. S. (2008). The Role of NMDA Receptor Antagonists in Nicotine Tolerance, Sensitization, and Physical Dependence: A Preclinical Review. *Yonsei Medical Journal*, 49(2), 175. <https://doi.org/10.3349/ymj.2008.49.2.175>
77. Hoffman, P. L., & Tabakoff, B. (1994). The role of the NMDA receptor in ethanol withdrawal. *Toward a Molecular Basis of Alcohol Use and Abuse*, 61–70. https://doi.org/10.1007/978-3-0348-7330-7_7
78. Thorat, S. N., & Bhargava, H. N. (1994). Effects of NMDA receptor blockade and nitric oxide synthase inhibition on the acute and chronic actions of Δ^9 -tetrahydrocannabinol in mice. *Brain Research*, 667(1), 77–82. [https://doi.org/10.1016/0006-8993\(94\)91715-9](https://doi.org/10.1016/0006-8993(94)91715-9)
79. Medical gallery of Blausen Medical 2014. (2014). *WikiJournal of Medicine*, 1(2). <https://doi.org/10.15347/wjm/2014.010>

RÉFÉRENCES

80. Grosdidier, A., « Conception d'un logiciel de docking et applications dans la recherche de nouvelles molécules actives ». Sciences pharmaceutiques. 2007
81. E. F. Schmid and D. A. Smith, "Keynote review: Is declining innovation in the pharmaceutical industry a myth?," *Drug Discov. Today*, vol. 10, no. 15, pp. 1031–1039, 2005, doi: 10.1016/S1359-6446(05)03524-5.
82. P. Muntha, "Drug Discovery & Development - A Review," *Res. Rev. Pharm. Pharm. Sci.*, vol. 5, no. 1, pp. 135–142, 2016, [Online]. Available: <http://www.rroij.com/open-access/drugdiscovery--development--a-review-.php?aid=78654>.
83. <https://www.synergielyoncancer.fr/les-enjeux/le-parcours-du-medicament>
84. H. Boucherit, A. Chikhi, A. Bensegueni, A. Merzoug, et E. H. Mokrani, « L'AMARRAGE MOLECULAIRE : UNE NOUVELLE APPROCHE POUR LUTTER CONTRE LE DEVELOPPEMENT DE LA TUBERCULOSE », vol. 7, p. 18, 2013.
85. D. B. Kitchen, H. Decornez, J. R. Furr, and J. Bajorath, "Docking and scoring in virtual screening for drug discovery: Methods and applications," *Nat. Rev. Drug Discov.*, vol. 3, no. 11, pp. 935–949, 2010, doi: 10.1038/nrd1549.
86. E. B. De Oliveira, "Simulations moléculaires appliquées à l'acétylation de flavonoïdes catalysée par des lipases : influence des structures de la lipase et du flavonoïde et sur la régiosélectivité de la bioconversion To cite this version : HAL Id : tel-01748779 soutenance," 2018.
87. <https://www.dockthor.lncc.br/v2/>
88. I. Halperin, B. Ma, H. Wolfson, et R. Nussinov, « Principles of docking: An overview of search algorithms and a guide to scoring functions », *Proteins*, vol. 47, no 4, p. 409-443, juin 2002, doi: 10.1002/prot.10115.
89. N. Lagarde, "Méthodes de criblage virtuel in silico : importance de l'évaluation et application à la recherche de nouveaux inhibiteurs de l'interleukine 6," p. 316, 2015.

RÉFÉRENCES

90. Alexandre Beautrait. Développement et validation de la plateforme de criblage virtuel VSM-G et étude du domaine FAT de la kinase d'adhérence focale FAK. Autre [cs.OH]. Université Henri Poincaré - Nancy I, 2008.
91. Nicolas C. Développement et application d'une approche de docking par fragments pour modéliser les interactions entre protéines et ARN simple-brin. Thèse de doctorat de l'Université Paris-Saclay Préparée à l'Université Paris-Sud .Spécialité de doctorat: Sciences de la vie et de la santé(2019).p38- 39.
92. A. M. Dar et S. Mir, « Molecular Docking: Approaches, Types, Applications and Basic Challenges », *J Anal Bioanal Tech*, vol. 08, no 02, 2017, doi: 10.4172/2155-9872.1000356.
93. R. Algerienne, D. Et, R. Scientifique, U. Des, S. Et, and D. E. L. A. Technologie 2008.
- (94.-Lewis DF. 57 varieties: the human cytochromes P450.*Pharmacogenomics*. (2004); 5 .p 18.
- 95.-Shibata, D.,Slusarenko, A.,Casey, R., Hildebrand, D., Bell, E. Lipoxygenases.*Plant Molecular Biology Reporter*.(1994); 12 .p41.
- 96.-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.
97. E. H. Mokrani, "Contribution à l' amélioration de l' activité biologique des inhibiteurs de la dipeptidyl-peptidase 4 dans le diabète de type 2 par simulation informatique thèse Magister Université Frères Mentouri Constantine.," pp. 2011–2012, 2012.
98. K. Onodera, K. Satou, and H. Hirota, "Evaluations of molecular docking programs for virtual screening," *J. Chem. Inf. Model.*, vol. 47, no. 4, pp. 1609–1618, 2007, doi: 10.1021/ci7000378.

RÉFÉRENCES

99. X.-Y. Meng, H.-X. Zhang, M. Mezei, and M. Cui, "Molecular Docking: A Powerful Approach for Structure-Based Drug Discovery," *Curr. Comput. Aided-Drug Des.*, vol. 7, no. 2, pp. 146– 157, 2012, doi: 10.2174/157340911795677602.
100. Guillaume Renvez. Application des modes statiques à l'étude de la flexibilité des protéines : vers un processus de docking. Micro et nanotechnologies/Microélectronique. Université Paul Sabatier - Toulouse III, 2010.
101. « Liaison hydrogène », physique et chimie, avr. 08, 2018.
<http://webphysique.fr/liaison-hydrogene/> (consulté le juin 09, 2021)
102. L. Hoffer, « Développement et validation du logiciel S4MPLE : application au docking moléculaire et à l'optimisation de fragments assistée par ordinateur dans le cadre du fragment-based drug design », phdthesis, Université de Strasbourg, 2013.
103. G. Renvez. Application des modes statiques à l'étude de la flexibilité des protéines : vers un processus de docking. THÈSE de doctorat. spécialité :Nanophysique. Université Toulouse III -Paul Sabatier. 2010.149 p.
104. M. khalil. Interactions et stabilité des protéines étudiées par spectroscopie infrarouge et Ramana. Thèse de doctorat. Spécialité: chimie. Université de Strasbourg. 2016. 166p.
- 105.https://www.researchgate.net/publication/10915694_Surflex_Fully_Automatic_Flexible_Molecular_Docking_Using_a_Molecular_Similarity-Based_Search_Engine
- 106 . <https://github.com/openbabel/openbabel>
- 107 .http://www.adrianomartinelli.it/Fondamenti/Tutorial_0.pdf
- 108 . <http://www.swissadme.ch/index.php>
- 109.<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC102472/#:~:text=The%20Protein%20>

RÉFÉRENCES

Data Bank (PDB) was established at Brookhaven National, a handful more were deposited.

110 . <https://pubchemdocs.ncbi.nlm.nih.gov/about>

111.Highlight of New Phosphodiesterase 10A Inhibitors Using Molecular Docking. Halla Belhoula et al.2019

112.J Med Chem. 2003 Feb 13;46(4):499-511. doi: 10.1021/jm020406h.

113. Lipinski CA (December 2004). "Lead- and drug-like compounds: the rule-of-five revolution". Drug Discovery Today: Technologies. 1 (4): 337–341. doi:10.1016/j.ddtec.2004.11.007. PMID 24981612.

114.Veber DF, Johnson SR, Cheng HY, Smith BR, Ward KW, Kopple KD (June 2002). "Molecular properties that influence the oral bioavailability of drug candidates". J. Med. Chem. 45 (12.: 2615–23. CiteSeerX 10.1.1.606.5270.doi:10.1021/jm020017n. PMID 12036371.

115.: Bodor N., Buchwald P. Recent advances in the brain targeting of neuropharmaceuticals by chemical delivery systems. Advanced Drug Delivery Reviews.36 (2-3): 229–254. doi: 10.1016/s0169-409x(98)00090-8.(1999).

116.A.M. Taburet*, V. Furlan*.Le système des cytochromes P450 : définition, rôle et implication dans la pharmacocinétique des anti-infectieux 12-17.(2000)

117. Chikhi. A « Calculs et modélisations des interactions peptide déformylase-substances antibacteriennes à l'aide de techniques de " Docking" (arrimage) moléculaire », Thèse de Doctorat d'État en Microbiologie. Constantine : Université Mentouri Constantine, 2007,126 p

118. Dahlgren, D., & Lennernäs, H. (2019). Intestinal Permeability and Drug Absorption: Predictive Experimental, Computational and In Vivo Approaches. *Pharmaceutics*, 11(8), 411.<https://doi.org/10.3390/pharmaceutics11080411>

RÉFÉRENCES

119. Structure of the human GluN1/GluN2A LBD in complex with GNE83242016H.J.A. Wallweber, P.J. Lupardus 10.2210/pdb5h8q/pdb
120. Ertl, P., & Schuffenhauer, A. (2009). Estimation of synthetic accessibility score of drug-like molecules based on molecular complexity and fragment contributions. *Journal of Cheminformatics* (1). <https://doi.org/10.1186/1758-2946-1-8>

ANNEXES

Annexes

№	PDB	RMSD	№	PDB	RMSD	№	PDB	RMSD	№	PDB	RMSD
1	1H3A	4.813	26	4EY7	0.315	51	5EWJ	1.766	76	5TKP	0.839
2	1O79	4.514	27	4GMH	9.595	52	5EWL	0.532	77	5V6V	0.148
3	1APL	3.060	28	4M1Y	0.060	53	5EWM	1.000	78	5VXG	1.397
4	1ZHM	3.223	29	4M6X	0.955	54	5F1G	1.289	79	5WAF	0.577
5	1ZOM	3.746	30	4MLL	1.800	55	5FF7	0.658	80	5XPS	0.698
6	1ZXC	2.381	31	4MZO	2.024	56	5H8H	0.485	81	5ZK4	2.099
7	2IKH	1.675	32	4MZS	0.449	57	5H8N	2.508	82	6AY2	1.049
8	2PEV	4.160	33	4NPI	1.076	58	5H8Q	0.783	83	6B6D	1.824
9	2QT9	2.112	34	4O7D	1.352	59	5I2K	0.577	84	6DQ9	1.712
10	3DRP	1.619	35	4OOY	0.907	60	5I2N	2.633	85	6EIN	1.097
11	3HA8	1.149	36	4OUB	0.104	61	5I23	1.359	86	6GJK	1.397
12	3HJ0	0.924	37	4PE7	1.463	62	5IYT	2.010	87	6HHJ	1.270
13	3I06	1.231	38	4PHH	0.790	63	5J5D	0.912	88	6IC6	0.968
14	3I9N	1.512	39	4PID	0.750	64	5J8I	2.625	89	6IJS	1.590
15	3IC0	1.998	40	4PIS	2.068	65	5KCJ	2.044	90	6J2O	0.773
16	3IOQ	1.590	41	4PJE	1.620	66	5KWJ	1.998	91	6KU2	0.568
17	3ITA	1.920	42	4RSR	0.060	67	5LF7	2.592	92	6KGT	1.247
18	3K83	2.101	43	4S2K	1.096	68	5N0Y	1.134	93	6NZG	1.789
19	3KJF	1.712	44	4UIO	1.185	69	5OGQ	2.111	94	6P69	1.070
20	3KNE	3.451	45	5D11	1.936	70	5OSM	1.469	95	6Q5B	1.656

Annexes

21	3KWZ	1.779	46	5DG6	2.376	71	5QIZ	0.752	96	6RQZ	0.041
22	3SR6	0.054	47	5DP7	1.883	72	5REP	2.146	97	6SUK	0.602
23	4E73	0.536	48	5DVC	1.925	73	5RFJ	1.525	98	7EOT	1.783
24	4EPV	1.132	49	5EST	1.297	74	5RFQ	1.503	99	7GCH	0.633
25	4EQC	3.454	50	5EUA	1.314	75	5RGN	1.844	100	8EST	1.571

Table 4: List of 100 complexes used in RMSD test, green entries represent NMDA receptor crystal structures

Table 6: Results of virtual screening

Nom	CHEM_ID	Score	Nom	CHEM_ID	Score	Nom	CHEM_ID	Score	Nom	CHEM_ID	Score
Standard (5YE)			118017713					1.57			
S01	670993	1.48	S26	8098113	2.78	S51	118009410	2.21	S76	118010926	2.21
S02	756754	0.62	S27	9420254	1.60	S52	118009459	2.57	S77	118011027	2.92
S03	756755	1.11	S28	9420256	1.44	S53	118009533	1.95	S78	118011037	2.08
S04	1194648	1.11	S29	9420257	2.36	S54	118009559	2.48	S79	118017588	2.06
S05	1673326	1.10	S30	9420258	1.75	S55	118009650	1.43	S80	118017591	1.25
S06	2155400	0.73	S31	16229106	0.67	S56	118010095	2.48	S81	118017668	2.81
S07	3048922	2.15	S32	20939093	0.77	S57	118010112	1.11	S82	118017672	3.70
S08	3048922	2.15	S33	20939094	2.29	S58	118010115	2.11	S83	118017673	0.74
S09	3309827	1.99	S34	45508468	0.16	S59	118010117	2.12	S84	118017674	2.66
S10	3490354	1.35	S35	46300918	1.31	S60	118010167	1.65	S85	118017676	1.62
S11	4096502	1.24	S36	47547349	2.06	S61	118010174	0.86	S86	118017677	2.06
S12	4181377	0.63	S37	51105636	1.88	S62	118010185	2.07	S87	118017702	1.83
S13	4200101	0.00	S38	51167907	1.70	S63	118010369	0.75	S88	118017706	1.53

Annexes

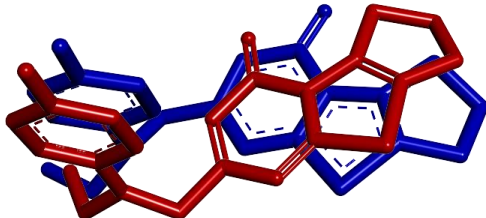
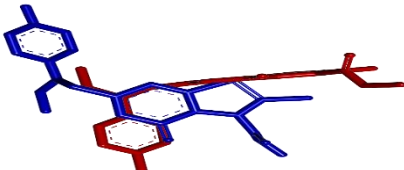
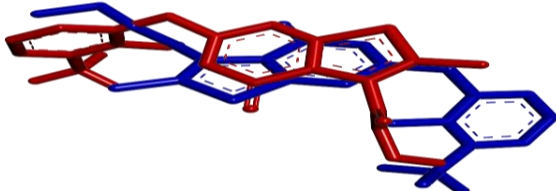
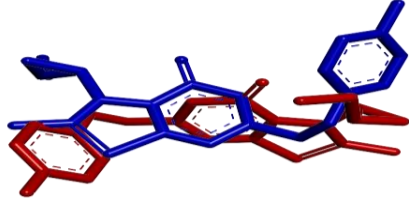
S14	4225270	0.69	S39	71819653	2.05	S64	118010445	1.66	S89	118017709	0.19
S15	4673325	1.50	S40	87018170	2.51	S65	118010452	1.98	S90	118017714	0.79
S16	7101224	0.65	S41	91843519	0.48	S66	118010476	2.32	S91	118017715	2.55
S17	7101225	0.18	S42	92323590	1.13	S67	118010484	0.86	S92	118017718	1.12
S18	7101226	0.52	S43	92323706	0.88	S68	118010485	0.86	S93	118017752	2.25
S19	7101227	0.33	S44	118009185	1.94	S69	118010557	0.97	S94	118017771	1.04
S20	7158685	0.69	S45	118009228	2.14	S70	118010607	1.57	S95	118017909	1.64
S21	7158686	0.80	S46	118009236	2.50	S71	118010609	2.34	S96	118017910	2.20
S22	7158687	1.22	S47	118009268	2.33	S72	118010631	0.77	S97	118017935	1.93
S23	7158689	0.96	S48	118009337	1.99	S73	118010676	1.55	S98	118017987	0.46
S24	7158690	1.42	S49	118009349	1.94	S74	118010744	0.77	S99	118017991	1.74
S25	7158692	1.84	S50	118009384	1.41	S75	118010789	1.07	S100	118017992	2.38

Name	PubChem ID	Affinity	Structure
S82	118017672	3.70	

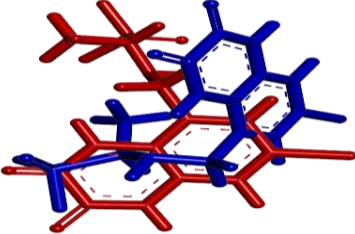
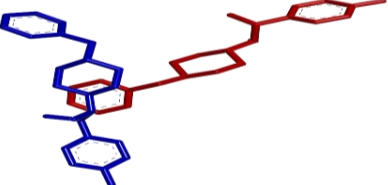
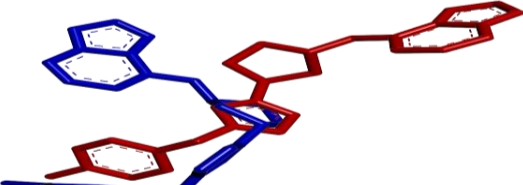
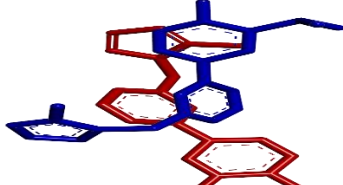
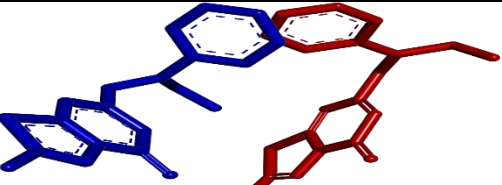
Annexes

S77	118011027	2.92	
S81	118017668	2.81	
S26	8098113	2.78	
S84	118017674	2.66	
S52	118009459	2.57	

Annexes

Code PDB	Code de l'inhibiteur	RSMD (Å)	Superposition
5h8q	5YE	0.485	
5i2k	67H	0.577	
5i2n	67J	2.633	
5kcj	6RM	2.044	

Annexes

7eot		J86	1.783	 A complex polycyclic chemical structure with multiple fused and linked rings, colored in blue and red.
5ewj		QEL	1.766	 A chemical structure consisting of several fused and linked rings, including a benzene ring, colored in blue and red.
5ewl		5SL	0.532	 A chemical structure with multiple fused and linked rings, including a benzene ring, colored in blue and red.
5ewm		5SM	1.000	 A chemical structure with several fused and linked rings, including a benzene ring, colored in blue and red.
5h8h		5YC	0.485	 A chemical structure with multiple fused and linked rings, including a benzene ring, colored in blue and red.

Annexes

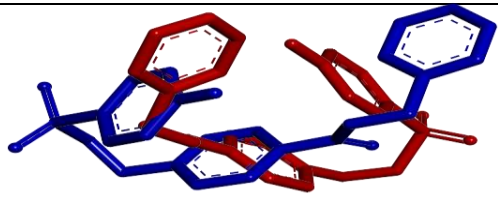
5h8n		5YD	2.508	
------	--	-----	-------	--

Table 05: RMSD values of the selected NMDA receptor ligands studied (colored in blue) and their superposition with the best predicted position obtained from Surflex (colored in red).

Résumés

Résumés :

Dans cette étude nous nous sommes intéressés à l'identification de nouveaux ligands NMDAR GluN2A. En utilisant une approche de docking moléculaire avec le programme surflex un criblage virtuel effectué par le serveur SuisseADME a été réalisé sur 100 structures avec un taux de similarité de 89% avec notre ligand de référence 5YE. Ce criblage nous a permis de offrir un composé plus puissant que le ligand de référence. La prédiction des paramètres pharmacocinétiques et des propriétés physicochimiques montre que ce composé prometteur possède de bons profils ADME et peut être proposé comme nouveau ligand potentiel NMDAR GluN2A.

Mots clés: NMDAR GluN2A, docking moléculaire, Surflex, 5YE

Abstract:

In this study we were interested in the identification of new NMDAR GluN2A ligands .Using a molecular docking approach with the surflex program a virtual screening was performed on a 100 structures with an 89% similarity rate with our reference ligand 5YE.This screening performed by SuisseADME server allowed us to propose one compound that's more powerful than the reference ligand. The prediction of pharmacokinetic parameters and physicochemical properties shows that this promising compound possesses good ADME profile and can be proposed as potential new NMDAR GluN2A ligand.

Keywords: NMDAR GluN2A, molecular docking, Surflex, 5YE.

المخلص

في هذه الدراسة كنا مهتمين بتحديد روابط NMDAR GluN2A الجديدة. باستخدام نهج الالتحام الجزيئي مع برنامج Surflex، تم إجراء فحص افتراضي على 100 بنية بمعدل تشابه بنسبة 89% مع مركبنا المرجعي YE5. سمح لنا هذا الفحص بتقديم مركب أكثر فعالية من الرابط المرجعي. يُظهر التنبؤ بالخصائص الدوائية والخصائص الفيزيائية والكيميائية بواسطة متصفح SuisseADME أن هذا المركب الواعد له ملامح ADME جيدة ويمكن اقتراحه على أنه رابط محتمل جديد لـ NMDAR GluN2.

كلمات مفتاحية: YE5, Surflex, الالتحام الجزيئي, NMDAR GluN2A.

Année universitaire : 2021-2022	Présenté par : BOUAKAZ Akram LEMOUCHI Mohammed El Amine
Conception in silico de nouveau ligands de la sous unité GluN2A d récepteur NMDA	
Mémoire pour l'obtention du diplôme de Master en Biochimie Appliquée.	
Résumés : <p>Dans cette étude nous nous sommes intéressés à l'identification de nouveaux ligands NMDAR GluN2A. En utilisant une approche de docking moléculaire avec le programme surflex un criblage virtuel effectué par le serveur SuisseADME a été réalisé sur 100 structures avec un taux de similarité de 89% avec notre ligand de référence 5YE. Ce criblage nous a permis de offrir un composé plus puissant que le ligand de référence. La prédiction des paramètres pharmacocinétiques et des propriétés physicochimiques montre que ce composé prometteur possède de bon profil ADME et peut être proposé comme de nouveau ligand potentiel NMDAR GluN2A</p>	
Mots-clefs : NMDAR GluN2A, docking moléculaire, Surflex, 5YE, Affinité, inhibiteurs	
Laboratoires de recherche : Laboratoire de Biochimie Appliquée (Université Frères Mentouri, Constantine 1).	
Encadreur : Mr BENSEGUENI A. (Professeur - Université Frères Mentouri, Constantine 1) Examineur 1 : Mr CHIKHI A (Professeur - Université Frères Mentouri, Constantine 1). Examineur 2 : Mr MOKRANIE.H (MCB - Université Frères Mentouri, Constantine 1).	

