



République Algérienne Démocratique et Populaire
وزارة التعليم العالي و البحث العلمي
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
جامعة أبو بكر بلقايد – تلمسان
Université ABOU BEKR BELKAID - Tlemcen

كلية علوم الطبيعة والحياة، وعلوم الأرض والكون
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, et Sciences de la Terre et de l'Univers

Département de Biologie

MÉMOIRE

Présenté par :
Mr. MIDOUN Ahmed
Mlle. CHERKI Farah Hidayette

En vue de l'obtention
du diplôme de **Master**
en Biologie Moléculaire et Cellulaire

Thème :

Contrôle du processus tumoral et métastatique par inhibition du récepteur CD44

Soutenu le 28 septembre 2022, Devant le jury composé de :

Présidente	Mme. GUERMOUCHE Baya Chahinez	Professeur	Université de Tlemcen
Encadrant	Mr. CHERRAK Sabri Ahmed	MC A	Université de Tlemcen
Examinatrice	Mme. DENNOUNI Nouria	Professeur	Université de Tlemcen

Année universitaire : 2021-2022

Abstract

CD44 is a glycoprotein receptor that binds hyaluronic acid (HA) in most cell types. They have important roles including primary tumor cells and cancer-initiating cells and has roles in cell adhesion, survival and migration. Therefore, CD44 is a target for controlling and tumoral and metastatic process by developing potential inhibitors. In order to discover new potential CD44 antagonists and repurpose drugs, we performed molecular docking studies on CD44 binding domain structure and 21 ligands structurally similar to hyaluronic acid, the results showed good binding site and docking values for the compounds DB13540 and DB04736 ($\Delta G = -7.7$), which possess potential CD44 inhibition activities.

Keywords: CD44, hyaluronan, hyaluronic acid, cancer, metastasis, tumoral process

Résumé

Le CD44 est un récepteur glycoprotéique qui se lie à l'acide hyaluronique (HA) dans la plupart des types de cellules. Il joue un rôle important, notamment dans les cellules tumorales primaires et les cellules initiatrices de cancer, et joue un rôle dans l'adhésion, la survie et la migration des cellules. Par conséquent, la CD44 est une cible pour contrôler les processus tumoraux et métastatiques en développant des inhibiteurs potentiels. Afin de découvrir de nouveaux antagonistes potentiels de CD44 et des médicaments polyvalents, nous avons réalisé des études de docking moléculaire sur la structure du domaine de liaison de CD44 et 21 ligands structurellement similaires à l'acide hyaluronique, les résultats ont montré un bon site de liaison et des valeurs de docking pour les composés DB13540 et DB04736, qui possèdent des activités potentielles d'inhibition de CD44 ($\Delta G = -7.7$).

Mots clé: CD44, hyaluronane, acide hyaluronique, cancer, métastase, processus tumoral

ملخص

يعد CD44 من البروتينات السكرية المستقبلية التي ترتبط بحمض الهيالورونيك (HA) في معظم أنواع الخلايا. لديه أدوار مهمة بما في ذلك الخلايا السرطانية الأولية والخلايا المسببة للسرطان ولها أدوار في التصاق الخلايا والبقاء على قيد الحياة والهجرة. لذلك يعد CD44 هدفًا للتحكم و السيطرة على العملية الورمية و هجرة الخلايا السرطانية من خلال تطوير مثبطات محتملة. من أجل اكتشاف مضادات CD44 جديدة محتملة وإعادة استخدام العقاقير المختلفة، أجرينا دراسات الالتحام الجزيئي على بنية مجال ربط CD44 و 21 رابطاً مشابهاً هيكلياً لحمض الهيالورونيك ، وأظهرت النتائج موقع ربط جيد وقيم تثبيت للمركبين DB13540 و DB04736 ($\Delta G = -7.7$) ، والتي تمتلك أنشطة تثبيط محتملة لـ CD44.

الكلمات الرئيسية: CD44، هيالورونان، حمض الهيالورونيك، السرطان، إنتشار السرطان، عملية التورم

Introduction

La progression des cellules cancéreuses est définie par une augmentation de la prolifération, de l'invasion, de la migration et des métastases des cellules cancéreuses vers d'autres parties du corps^{1,2}.

CD44 est une famille de glycoprotéines de surface cellulaire, exprimées dans une variété de cellules et de tissus, notamment les cellules tumorales et les tissus carcinomateux. La CD44 également appelée P-glycoprotéine 1, codée par un seul gène sur le locus chromosomique 11p13³, ayant un poids moléculaire de 85-200 kDa, elle est exprimée de manière ubiquitaire dans tout le corps⁴.

Les analyses de séquences nucléotidiques révèlent que de nombreux isoformes de CD44 (issus d'épissage alternatif) qui sont des variants de la forme standard, les isoformes CD44s ont un poids moléculaire qui varie entre 85 et 90 kDa qui sont produits de la transcription des exons épissés 1-5 et 16-20. La présence de niveaux élevés d'isoformes de variants de CD44 (CD44v) apparaît comme un important marqueur de tumeurs métastatiques dans certain nombre de cancers⁵ (Figure 1).

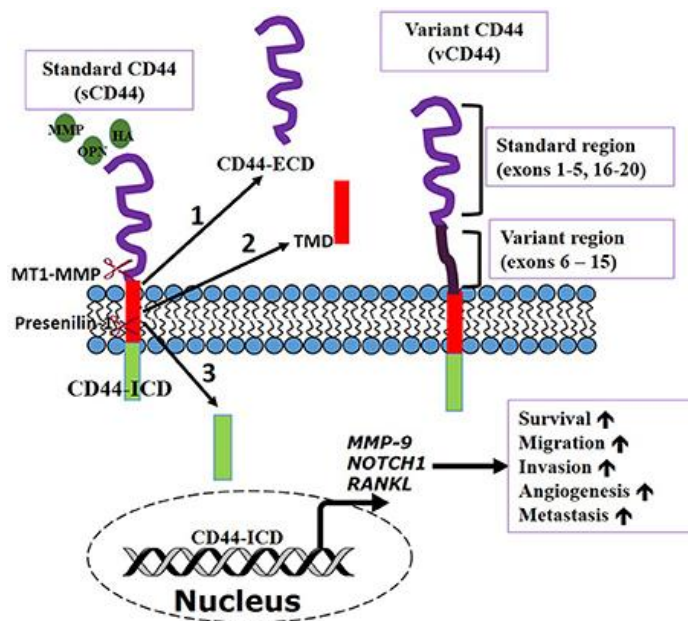
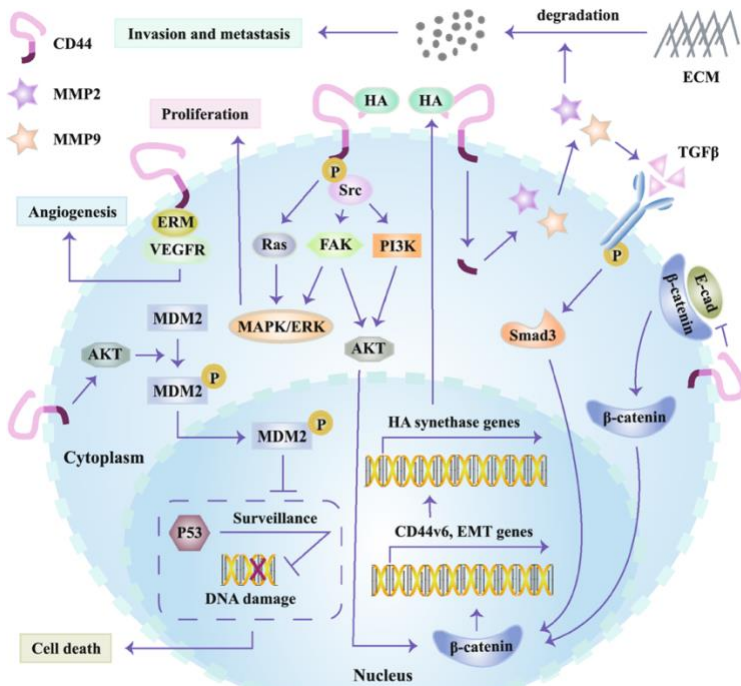


Figure 1 Fonction du récepteur transmembranaire CD44. Le CD44, un récepteur multifonctionnel, peut contrôler les fonctions biologiques impliquées dans la diffusion des cellules cancéreuses et les métastases. Le CD44 peut être clivé séquentiellement par la métalloprotéase matricielle de type 1 de la membrane (MT1-MMP), puis par la préséniline-1/γ sécrétase induite par la liaison de ligands [ostéopontine (OPN), acide hyaluronique (HA), etc.]. Le clivage produit (1) un fragment du domaine extracellulaire (ECD). (2) un peptide similaire au CD44β ou domaine transmembranaire (TMD), et (3) un fragment de domaine intracellulaire CD44 (ICD). Le CD44-ICD se transloque dans le noyau pour activer la transcription de gènes importants pour les métastases et la survie cellulaire. Adapté de Thorne et al. 2004.

La molécule CD44 est impliquée dans la régulation de diverses voies de signalisation vitales qui modulent la prolifération cellulaire, la différenciation cellulaire, la migration cellulaire, la présentation de cytokines, de chimiokines et des facteurs de croissance aux récepteurs correspondants⁶, ainsi que l'activation des voies de survie qui protègent les cellules cancéreuses contre l'apoptose⁷ (Figure 2). Elle a aussi des rôles clés dans l'évasion et la suppression immunitaires⁸, la transition épithélio-mésenchymateuse

(TEM)², la résistance aux médicaments, les métastases⁸ ainsi que le maintien de niveaux normaux d'angiogénèse⁹.

Figure 2 Voies de signalisation que le CD44 régule.



Le CD44v6 peut inscrire des protéines ERM qui peuvent interagir avec le VEGFR, contribuant ainsi à l'angiogénèse. CD44 active AKT pour promouvoir la phosphorylation et la translocation nucléaire de MDM2, qui bloque la réponse de surveillance génomique de p53. Par la suite, les hépatocytes endommagés échappent à l'apoptose par p53, et les mutations induites par les carcinogènes sont maintenues et transférées aux cellules filles, contribuant finalement au processus tumoral. L'association de l'HA et du CD44v6 favorise la phosphorylation du domaine intracellulaire du CD44v6, qui active ensuite Ras et FAK via Src et active la signalisation MAPK/ERK. CD44v6 en combinaison avec HA favorise également la voie de signalisation PI3K/Akt et augmente l'apoptose. La queue intracellulaire de CD44v6 augmente MMP2 et MMP9, ce qui dégrade l'ECM et favorise la maturation du TGFβ. Après s'être lié à son récepteur, le TGFβ stabilise la β-caténine de manière intracellulaire via Smad3 en même temps qu'Akt activé. La stabilisation de la β-caténine au niveau du noyau renforce l'expression des gènes liés à l'EMT et du gène codant pour CD44v6. La régulation à la hausse de CD44v6 renforce l'expression des gènes de l'HA synthase, ce qui favorise la production d'HA. CD44 contribue à la dissociation de la E-cadherine et de la β-caténine par la suppression de la E-cadherine, puis la β-caténine se transloque dans le noyau.

Les cellules souches cancéreuses (CSC) exprimant le CD44 nécessitent une régulation négative de p53 et une régulation positive de ErbB2¹⁰. Ces événements contribuent à l'auto-renouvellement des CSC, à la formation de clones, à l'anti-apoptose / survie, à la résistance aux radiations et à la chimiorésistance, ce qui entraîne la progression de la tumeur.

Le CD44 est un récepteur de l'acide hyaluronique (AH) (hyaluronane), un composant majeur de la matrice extracellulaire (MEC), qui est abondamment présent dans de nombreux types de tumeurs¹¹ et impliqué dans le développement des CSC¹². L'interaction AH-CD44 joue un rôle crucial dans la progression tumorale, elle régule l'apoptose via les protéines de la famille Bcl-2 et les caspases. Chez les patients atteints de cancer, les concentrations du CD44 et d'AH sont généralement plus élevées dans les tumeurs malignes, le niveau d'AH est considéré comme un indice de malignité.

Une abondance d'AH peut favoriser la prolifération des cellules malignes et le développement du cancer, tandis que les antagonistes de la signalisation AH-CD44 inhibent la croissance des cellules tumorales *in vitro* et *in vivo* en interférant avec l'interaction AH-CD44¹³.

La chimiothérapie est actuellement le traitement le plus efficace pour les patients atteints de cancer. La chimiothérapie a été la première thérapie à laquelle les cellules tumorales ont répondu efficacement¹⁴. L'interaction du CD44 avec le hyaluronane est responsable du développement des tumeurs, des métastases et de l'expression du phénotype chimiorésistant¹⁵. L'inhibition de CD44 a été associée à une sensibilité chimique accrue des cellules tumorales¹⁶.

De nombreux chercheurs ont montré une efficacité accrue dans des modèles cellulaires et animales de tumeurs en conjuguant des médicaments au hyaluronane ou à l'anticorps CD44 ou en incorporant des médicaments ou des shARN dans des supports tels que des liposomes, des hydrogels et des nanoparticules décorées de hyaluronane ou d'anticorps anti-CD44¹⁷.

La production de nouveaux médicaments est un processus qui requiert un temps considérable, et l'approbation clinique implique généralement de nombreuses années de recherche, il est donc favorable d'utiliser des études in-silico.

Ce travail a pour objectif de trouver un candidat pharmaceutique potentiel pour inhiber l'interaction AH-CD44 en trouvant une liaison efficace entre le ligand et la protéine CD44. Des techniques d'amarrage moléculaire (*Molecular Docking*) ont été appliquées en utilisant les ressources de DrugBank¹⁸. 21 inhibiteurs ayant une structure plus ou moins similaire à l'AH ont été utilisés pour générer des pharmacophores communs pour le criblage virtuel.

Matériel et méthodes

Nous allons ici décrire les procédures et les logiciels utilisées pour le Docking des complexes CD44/ligands.

Une étude du docking moléculaire a été réalisée pour étudier plus en détail les modes de liaison des ligands aux sites actifs de la cible et identifier un meilleur candidat. Le docking permet de prédire l'orientation et l'activité préformées de la molécule sur la protéine ciblée

a- Préparation du récepteur

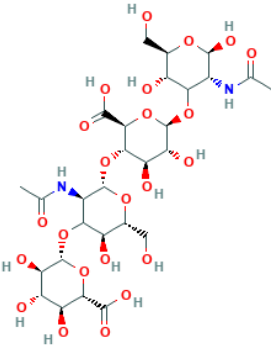
Pour effectuer le Docking moléculaire entre la CD44 et les inhibiteurs potentiels, nous avons récupéré le fichier *pdb* de la structure cristallographique du domaine de liaison à l'AH du CD44 humain à partir de RCSB *Protein Data Bank* (PDB code: 1UUH)¹⁹(rcsb.org/structure/1UUH). La structure contient deux chaînes A et B similaires d'un poids moléculaire de 35.39 kDa.

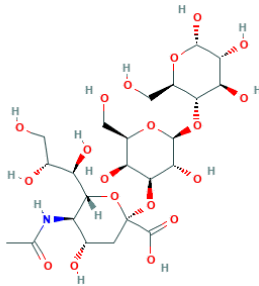
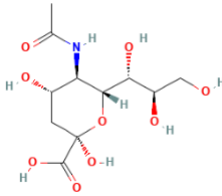
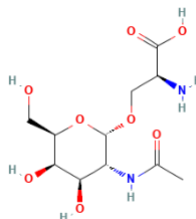
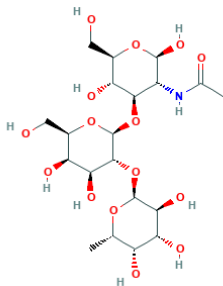
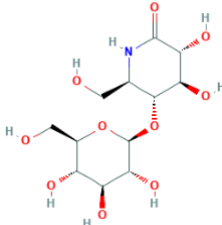
La chaîne A de la molécule 1UUH a été utilisée comme référence, les atomes d'hydrogène polaires et les charges de *Kollman* ont été ajoutés en utilisant Auto-Dock Tools²⁰. Le résultat est enregistré en format *pdbqt* qui inclue les charges partielles atomiques et les types d'atomes.

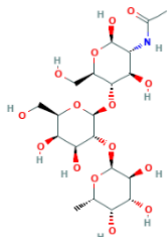
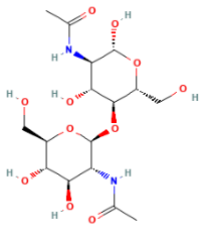
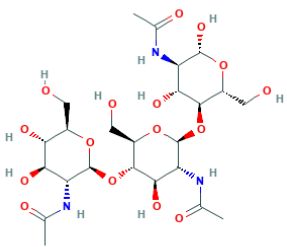
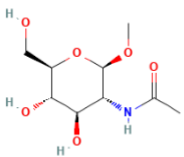
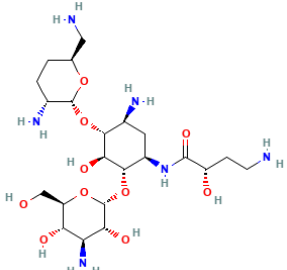
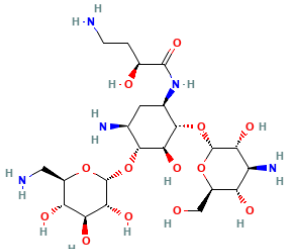
b- Préparations des ligands

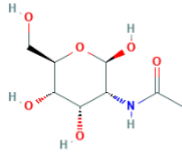
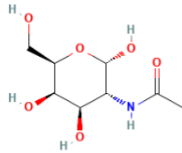
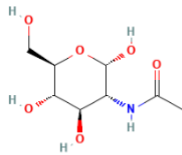
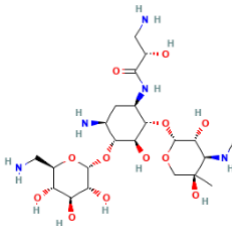

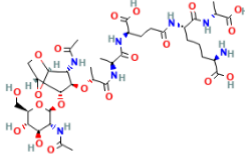
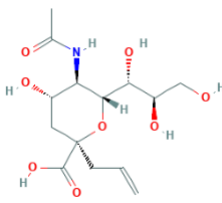
Les ligands ont été obtenus à partir de DrugBank¹⁸ en parcourant les molécules similaires à l'acide hyaluronique(go.drugbank.com/drugs/DB08818), nous avons opté pour 21 composants en plus du ligand principal qui est l'AH, avec seuil de similarité de 0,7 à l'AH (Tableau 1), parmi ces composants, il y en a qui sont déjà approuvés et d'autres qui sont en phase d'expérimentation.

Tableau 1 - Potentiels ligands antagonistes du CD44

ID DrugBank	PubChem CID	Nom générique	Structure chimique	Formule chimique	Poids moléculaire (g/mol)
DB08818	24759	Hyaluronic acid		C ₂₈ H ₄₄ N ₂ O ₂₃	776,6486

DB03296	448469	3'-beta-Sialyl-beta-lactose		$C_{23}H_{39}NO_{19}$	633.5511
DB03721	444885	N-acetyl-alpha-neuraminic acid		$C_{11}H_{19}NO_9$	309.2699
DB04265	445063	N-acetyl-beta-neuraminic acid		$C_{11}H_{19}NO_9$	309.2699
DB02397	447272	O-(N-acetyl-alpha-D-galactosaminy)-L-serine		$C_{11}H_{20}N_2O_8$	308.2851
DB04679	5326971	Human blood group H type 1 trisaccharide		$C_{20}H_{35}NO_{15}$	529.4896
DB04096	447325	(2R,3R,4R,5R)-4,5-Dihydroxy-2-(hydroxymethyl)-6-oxo-3-piperidinyl beta-D-glucopyranoside		$C_{12}H_{21}NO_{10}$	339.2958
DB03618	656944	2-(acetylamino)-2-deoxy-4-O-beta-D-galactopyranosyl-alpha-D-glucopyranose		$C_{14}H_{25}NO_{11}$	383.3484

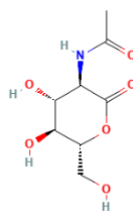
DB04678	5288910	H TYPE II TRISACCHARIDE		$C_{20}H_{35}NO_{15}$	529.4896
DB03013	439326	N-acetyl-beta-D-glucosaminyl-(1->4)-N-acetyl-beta-D-glucosamine		$C_{16}H_{28}N_2O_{11}$	424.4003
DB04194	444514	Triacetylchitotriose		$C_{24}H_{41}N_3O_{16}$	627.5928
DB04426	445750	Alpha-Methyl-N-Acetyl-D-Glucosamine		$C_9H_{17}NO_6$	235.2344
DB06696	68682	Arbekacin		$C_{22}H_{44}N_6O_{10}$	552.619
DB00479	37768	Amikacin		$C_{22}H_{43}N_5O_{13}$	585.6025

DB03109	445246	2-acetylamino-2-deoxy-b-D-allopyranose		C ₈ H ₁₅ NO ₆	221.2078
DB03567	84265	alpha-N-Acetyl-D-galactosamine		C ₈ H ₁₅ NO ₆	221.2078
DB03740	82313	N-acetyl-alpha-D-glucosamine		C ₈ H ₁₅ NO ₆	221.2078
DB13540	3037209	Isepamicin		C ₂₂ H ₄₃ N ₅ O ₁₂	569.6031
DB04211	448471	5-(acetylamino)-3,5-dideoxy-3-fluoro-D-erythro-alpha-L-manno-non-2-ulopyranosonic acid		C ₁₁ H ₁₈ FNO ₉	327.2603
DB04736	163626	2-ACETAMIDO-2-DEOXY-BETA-D-GLUCOPYRANOSE(BETA1-4)-2-ACETAMIDO-1,6-ANHYDRO-3-O-[(R)-1-CARBOXYETHYL]-2-DEOXY-BETA-D-GLUCOPYRANOSE-L-ALANYL-GAMMA-D-GLUTAMYL-MESO-DIAMINOPIMELYL-D-ALANINE		C ₃₇ H ₅₉ N ₇ O ₂₀	921.8993
DB01716	449535	2-propenyl-N-acetyl-neuramic acid		C ₁₄ H ₂₃ NO ₈	333.3343

DB02813

87901

2-Acetamido-2-Deoxy-D-
Glucono-1,5-Lactone



C₈H₁₃NO₆

219.1919

c- Docking moléculaire

Pour le criblage virtuel, le docking moléculaire est réalisé avec le récepteur et ligands préparés. La Gridbox, région dans laquelle se base l'amarrage moléculaire. Cependant, il est important d'identifier le site actif dans la protéine. En effet, deux régions (acides aminés 21-45 et acides aminés 144-167) du domaine extracellulaire de CD44 ont été impliquées dans la liaison HA^{21,22}, la Gridbox a été définie donc autour de ces résidus et fixée sur $72\text{\AA} \times 78\text{\AA} \times 98\text{\AA}$ avec 0.375-\AA d'espacement et avec des coordonnées ($\text{center_x} = 4.242$, $\text{center_y} = 9.716$, $\text{center_z} = 16.69$), le processus du docking est ainsi réalisé avec AutoDock Vina 1.1.2²³ pour tous les ligands.

Résultats et discussion

Le résultat de l'amarrage moléculaire de l'AH et les 21 ligands similaires avec le récepteur CD44 est résumé dans le Tableau 2.

Un ensemble de 6 ligands ayant une meilleure affinité est retenu du total des 21 ligands candidats : DB13540, DB04736, DB04678, DB00479, DB03296 et DB03013 qui possèdent une énergie libre de liaison allant de **-7,1** kcal/mol jusqu'à **-7,7** kcal/mol.

Pour chaque opération de docking protéine-ligand, la première conformation, ayant une affinité maximale est choisie (*Tableau 3*).

On voit bien que l'AH (DB08818) a présenté un score maximal du groupe étudié avec une énergie libre $\Delta G = -8,4$ kcal/mol.

Les interactions récepteur-ligand ont été visualisés sur Discovery Studio²⁴, le *Tableau 4* montre les résidus d'acides aminés impliqués dans l'interaction avec les ligands étudiés.

Tableau 2 - Ligands et résultats du docking

ID DrugBank	Poids moléculaire (g/mol)	Affinité (kcal/mol)
DB08818	776.600	-8,4
DB13540	569.6031	-7,7
DB04736	921.8993	-7,7
DB04678	529.4896	-7,5
DB03296	633.5511	-7,4
DB00479	585.6025	-7,4
DB03013	424.4003	-7,1
DB04194	627.5928	-6,9
DB04679	529.4896	-6,8
DB04096	339.2958	-6,7
DB03618	383.3484	-6,6
DB06696	552.619	-6,6
DB01716	333.3343	-6,4
DB03721	309.2699	-6,2
DB04211	327.2603	-6,0
DB04265	309.2699	-5,8
DB02397	308.2851	-5,7
DB04426	235.2344	-5,1
DB03740	221.2078	-5,0
DB03567	221.2078	-4,9
DB02813	219.1919	-4,9
DB03109	221.2078	-4,8

Tableau 3 : affinité de liaison des ligands retenus avec le récepteur

Ligands	Modes de conformations générés , valeurs d'affinité pour chaque conformation , ΔG (kcal/mol)								
	1 (RMSD=0.00)	2	3	4	5	6	7	8	9
DB08818	-8,4	-8	-7,7	-7,7	-7,5	-7,4	-7,4	-7,3	-7,2
DB13540	-7,7	-7,7	-7,5	-7,4	-7,3	-7,3	-7,2	-7,2	-7,1
DB04736	-7,7	-7,6	-7,6	-7,5	-7,5	-7,5	-7,4	-7,4	-7,4
DB04678	-7,5	-7,2	-7,2	-6,9	-6,7	-6,7	-6,6	-6,4	-6,4
DB00479	-7,4	-7,3	-7,1	-7,1	-7,0	-7,0	-7,0	-7,0	-6,8
DB03296	-7,4	-7,4	-7,2	-7,1	-7,1	-6,9	-6,8	-6,7	-6,7
DB03013	-7,1	-7,1	-7,0	-6,9	-6,7	-6,6	-6,6	-6,5	-6,5

Tableau 4 - Interactions récepteur-protéine

Ligand	Affinité [kcal/mol]	Résidus de liaison	Interactions ligand-protéine
DB08818 (Hyaluronan)	-8,4	ASN:25 ILE:26 THR:27 HIS:35 THR:76 CYS:77 ARG:90 ARG:150	<p>Interactions</p> <ul style="list-style-type: none"> Conventional Hydrogen Bond Carbon Hydrogen Bond Pi-Pi T-shaped Amide-Pi Stacked
DB13540	-7,7	ILE:26 THR:27 CYS:28 HIS:35 GLU:75 CYS:77 CYS:97 THR:111 SER:112	<p>Interactions</p> <ul style="list-style-type: none"> Attractive Charge Conventional Hydrogen Bond Carbon Hydrogen Bond Pi-Anion
DB04736	-7,7	ASN:25 THR:27 HIS:35 GLU:75 ARG:78 ARG:90 HIS:92 GLU:127	<p>Interactions</p> <ul style="list-style-type: none"> Attractive Charge Conventional Hydrogen Bond Pi-Cation Pi-Anion Pi-Donor Hydrogen Bond Pi-Pi Stacked

Ligand	Affinité [kcal/mol]	Résidus de liaison	Interactions ligand-protéine
DB04678	-7,5	ASN:25 ILE:26 THR:27 PHE:30 HIS:35 GLY:73 PHE:74 GLU:75 THR:76 CYS:77 ARG:150	<p>Interactions</p> <ul style="list-style-type: none"> Conventional Hydrogen Bond Carbon Hydrogen Bond Pi-Donor Hydrogen Bond
DB03296	-7,4	THR:27 HIS:35 THR:76 ARG:90 HIS:92 ASN:94	<p>Interactions</p> <ul style="list-style-type: none"> Conventional Hydrogen Bond Pi-Donor Hydrogen Bond Pi-Pi Stacked

Ligand	Affinité [kcal/mol]	Résidus de liaison	Interactions ligand-protéine
DB00479	-7,4	ASN :25 THR :27 HIS :35 GLY :73 THR :76 CYS :77 ARG :90 ARG :150	<p>Interactions</p> <ul style="list-style-type: none"> Conventional Hydrogen Bond Carbon Hydrogen Bond Unfavorable Positive-Positive Unfavorable Donor-Donor Pi-Donor Hydrogen Bond Pi-Sigma Pi-Sulfur Pi-Alkyl
DB03013	-7,1	ASN:25 ILE:26 THR:27 PHE:30 HIS:35 GLU:75 THR:76 CYS:77 ARG:78 ARG:90	<p>Interactions</p> <ul style="list-style-type: none"> van der Waals Attractive Charge Conventional Hydrogen Bond Carbon Hydrogen Bond

Les propriétés physicochimiques et pharmacocinétiques des composés d'intérêt ont été obtenus depuis le serveur SwissADME accessible sur (<http://www.swissadme.ch>) afin de prédire les propriétés physicochimiques et la pharmacocinétique régissant les critères ADME (Tableau 5).

Tableau 5 - Propriétés physicochimiques et pharmacocinétiques des ligands

Ligands	TPSA	XLOGP3	Rotatable bonds	H-bond acceptors	H-bond donors	Veber violations	Lipinski violations	Score Biodisponibilité
DB13540	297.72	-6.94	10	16	12	1	3	0.17
DB04736	419.36	-7.62	30	21	13	2	3	0.11
DB04678	257.32	-5.83	8	15	10	1	3	0.17
DB00479	331.94	-7.89	11	17	13	2	3	0.17
DB03296	335.08	-7.20	12	19	13	2	3	0.11
DB03013	207.27	-4.74	8	11	8	1	2	0.17

Les règles de Lipinski et Veber n'étant pas respectés²⁵, les composés sont susceptibles de poser des problèmes d'absorption par voie orale. Cependant, les voies intra-veineuse (IV) ou intra-musculaire (IM) sont donc recommandés.

Dans le présent travail, nous avons cherché à repositionner des médicaments en tant qu'antagonistes de CD44 par un criblage virtuel.

D'après les résultats de docking, Nous avons remarqué que les résidus Asn25, Thr27, His35, Glu75, Thr76, Cys77 Et Arg90 sont impliqués dans la majorité des interactions.

En effet, en analysant l'emplacement de ces acides aminés dans la surface de la protéine, on voit que ça représente bien une cavité, donc il s'agit bien d'un site actif (Figure 3).

Les composés DB13540 (isepamicin) et DB04736 (2-Acetamido-2-Deoxy-Beta-D-Glucopyranose(Beta1-4)-2-Acetamido-1,6-Anhydro-3-O-[(R)-1-Carboxyethyl]-2-Deoxy-Beta-D-Glucopyranose-L-Alanyl-Gamma-D-Glutamyl-Meso-Diaminopimelyl-D-Alanine) présentent un bon score d'affinité avec une énergie libre de -7,7 kcal/mol, la plus proche par rapport au ligand primaire, l'AH d'une affinité de -8,4 kcal/mol. L'isepamicine (DB13540) présente des interactions avec 8 résidus dont : Ile26, Thr27, Cys28, His35, Glu75, Cys77, Cys97, Thr111 et Ser112, on y trouve le plus grand nombre de liaisons hydrogènes (8) parmi les autres ligands, en plus d'une liaison π -anion et une de charge attractive avec Glu75, une illustration de l'emplacement sur la protéine est visible sur la Figure 4.

Une étude similaire réalisée in-silico avec des composants à base de Tetrahydroisoquinoline a abouti à des composés qui peuvent provoquer le blocage de CD44²⁶. Une autre étude menée sur les cellules cancéreuse du sein, basée sur la même protéine (1UUH) et sur le repositionnement de l'étoposide en tant qu'antagoniste du CD44 a donné une affinité stable impliquant principalement les résidus Glu75 et Glu127²⁷.

Nos résultats sont en accord avec ces études, on trouve plusieurs résidus en commun impliqués dans les interactions ligand-CD44, notamment His35 et Glu75.

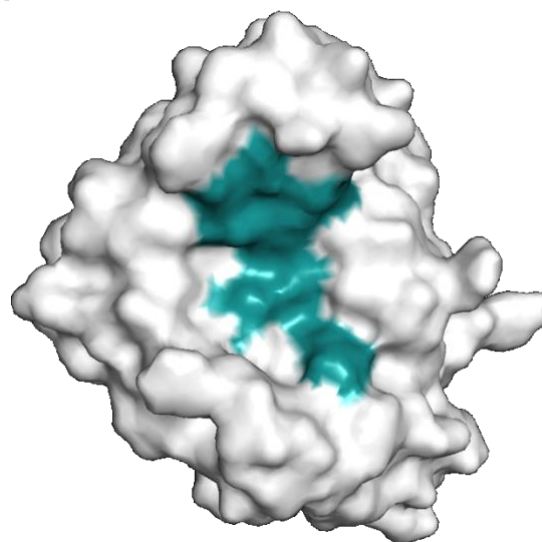


Figure 3 - Résidus pertinents dans les interactions récepteur-ligands

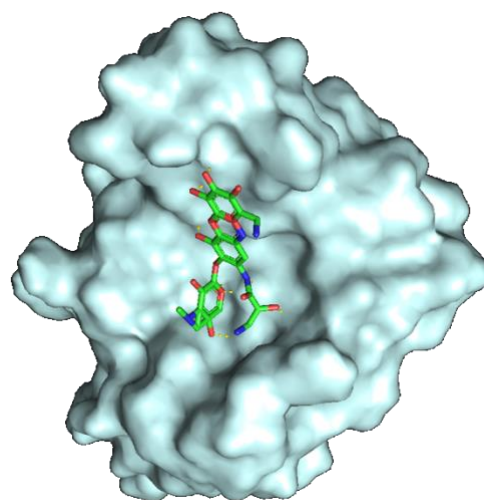


Figure 4 Ligand DB13540 ancré sur la protéine CD44

Conclusion

Notre recherche avait pour objectif de découvrir de nouvelles molécules inhibitrices du récepteur CD44, visant à bloquer le processus de prolifération des métastases. Le criblage virtuel de 21 ligands a identifié des composants qui pourraient avoir un effet inhibiteur du CD44, l'isépamicine étant un antibiotique approuvé contre les infections bactériennes a montré une bonne affinité avec le récepteur CD44 avec des fortes liaisons et peut par conséquent en être un inhibiteur promettant.

En termes de perspectives, une étude expérimentale complémentaire *in vitro* et/ou *in vivo* devra permettre de vérifier ces résultats théoriques obtenus *in silico*.

Remerciements

Nous sommes reconnaissants envers notre encadreur Mr CHERRAK Sabri pour son soutien ainsi que les membres de jury Mme DENNOUNI Nouria et Mme GUERMOUCHE Baya Chahinez pour leur disponibilité.

Abréviations

AH : Acide hyaluronique, hyaluronan

CSC : Cellules souches cancéreuses

MEC : Matrice extracellulaire

TEM : Transition épithélio-mésenchymateuse

Références

1. Jordan, A. R., Racine, R. R., Hennig, M. J. P. & Lokeshwar, V. B. The Role of CD44 in Disease Pathophysiology and Targeted Treatment. *Front. Immunol.* **6**, (2015).
2. Hassn Mesrati, M., Syafruddin, S. E., Mohtar, M. A. & Syahir, A. CD44: A Multifunctional Mediator of Cancer Progression. *Biomolecules* **11**, 1850 (2021).
3. Iczkowski, K. A. Cell adhesion molecule CD44: its functional roles in prostate cancer. *Am. J. Transl. Res.* **3**, 1–7 (2010).
4. Basakran, N. S. CD44 as a potential diagnostic tumor marker. *Saudi Med. J.* **36**, 273–279 (2015).
5. Günthert, U. CD44: A Multitude of Isoforms with Diverse Functions. in *Adhesion in Leukocyte Homing and Differentiation* (eds. Dunon, D., Mackay, C. R. & Imhof, B. A.) vol. 184 47–63 (Springer Berlin Heidelberg, 1993).
6. Konstantopoulos, K., Dimiropoulos, A. & Zagris, N. Hyaluronan receptor CD44: developmentally regulated expression and role in the early chick embryo. *Int. J. Dev. Biol.* **66**, 243–252 (2022).
7. Chen, C., Zhao, S., Karnad, A. & Freeman, J. W. The biology and role of CD44 in cancer progression: therapeutic implications. *J. Hematol. Oncol.* **11**, 64 (2018).
8. Dzobo, K. & Sinkala, M. *The Cancer Stem Cell Marker CD44 Play Key Roles in Immune Suppression/Evasion, Drug Resistance, Epithelial-Mesenchymal Transition, and Metastasis in Several Human Cancers.* <https://www.preprints.org/manuscript/202101.0490/v1> (2021) doi:10.20944/preprints202101.0490.v1.
9. Pink, A., Školnaja, M., Päll, T. & Valkna, A. *CD44 Controls Endothelial Proliferation and Functions as Endogenous Inhibitor of Angiogenesis.* <http://biorxiv.org/lookup/doi/10.1101/049494> (2016) doi:10.1101/049494.
10. Pályi-Krekk, Z. *et al.* Hyaluronan-induced masking of ErbB2 and CD44-enhanced trastuzumab internalisation in trastuzumab resistant breast cancer. *Eur. J. Cancer* **43**, 2423–2433 (2007).
11. Bourguignon, L. Y. W., Shiina, M. & Li, J.-J. Hyaluronan-CD44 interaction promotes oncogenic signaling, microRNA functions, chemoresistance, and radiation resistance in cancer stem cells leading to tumor progression. *Adv. Cancer Res.* **123**, 255–275 (2014).
12. Morath, I., Hartmann, T. N. & Orian-Rousseau, V. CD44: More than a mere stem cell marker. *Int. J. Biochem. Cell Biol.* **81**, 166–173 (2016).
13. Misra, S., Hascall, V. C., Markwald, R. R. & Ghatak, S. Interactions between Hyaluronan and Its Receptors (CD44, RHAMM) Regulate the Activities of Inflammation and Cancer. *Front. Immunol.* **6**, (2015).
14. Liu, F.-S. Mechanisms of Chemotherapeutic Drug Resistance in Cancer Therapy—A Quick Review. *Taiwan. J. Obstet. Gynecol.* **48**, 239–244 (2009).
15. Yaghoobi, Z. *et al.* The role of CD44 in cancer chemoresistance: A concise review. *Eur. J. Pharmacol.* **903**, 174147 (2021).
16. Wu, K. *et al.* The role of CD44 in epithelial–mesenchymal transition and cancer development. *OncoTargets Ther.* 3783 (2015) doi:10.2147/OTT.S95470.

17. Skandalis, S. S., Gialeli, C., Theocharis, A. D. & Karamanos, N. K. Advances and Advantages of Nanomedicine in the Pharmacological Targeting of Hyaluronan-CD44 Interactions and Signaling in Cancer. in *Advances in Cancer Research* vol. 123 277–317 (Elsevier, 2014).
18. Wishart, D. S. DrugBank: a comprehensive resource for in silico drug discovery and exploration. *Nucleic Acids Res.* **34**, D668–D672 (2006).
19. Teriete, P. *et al.* Structure of the Regulatory Hyaluronan Binding Domain in the Inflammatory Leukocyte Homing Receptor CD44. *Mol. Cell* **13**, 483–496 (2004).
20. Morris, G. M. *et al.* AutoDock4 and AutoDockTools4: Automated docking with selective receptor flexibility. *J. Comput. Chem.* **30**, 2785–2791 (2009).
21. Bajorath, J., Greenfield, B., Munro, S. B., Day, A. J. & Aruffo, A. Identification of CD44 residues important for hyaluronan binding and delineation of the binding site. *J. Biol. Chem.* **273**, 338–343 (1998).
22. Puré, E. & Cuff, C. A. A crucial role for CD44 in inflammation. *Trends Mol. Med.* **7**, 213–221 (2001).
23. Trott, O. & Olson, A. J. AutoDock Vina: Improving the speed and accuracy of docking with a new scoring function, efficient optimization, and multithreading. *J. Comput. Chem.* NA-NA (2009) doi:10.1002/jcc.21334.
24. BIOVIA. *Discovery Studio*. (BIOVIA, 2021).
25. Walters, W. P. Going further than Lipinski's rule in drug design. *Expert Opin. Drug Discov.* **7**, 99–107 (2012).
26. Ruiz-Moreno, A. J., Reyes-Romero, A., Dömling, A. & Velasco-Velázquez, M. A. In Silico Design and Selection of New Tetrahydroisoquinoline-Based CD44 Antagonist Candidates. *Mol. Basel Switz.* **26**, 1877 (2021).
27. Aguirre-Alvarado, C. *et al.* Virtual screening-driven repositioning of etoposide as CD44 antagonist in breast cancer cells. *Oncotarget* **7**, 23772–23784 (2016).