



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 ABOUBEKR BELKAID – TLEMEN

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

**Marref Sabrina & Alem Bochra**

*En vue de l'obtention du*

**Diplôme de MASTER**

En Biologie Moléculaire et Cellulaire

## Thème

**Inhibition de la protéine TWIST dans la prévention  
du processus prolifératif**

Soutenu le 29 juin devant le jury composé de :

Présidente                      Mme. SAHI-DALI YUCEF Majda                      Pr Université de Tlemcen

Encadreur                      Mr. CHERRAK Ahmed Sabri                      MCA Université de Tlemcen

Examineur                      Mme. Medjati Nouria                      Pr Université de Tlemcen

**Année universitaire 2021/2022**

## **Résumé :**

TWIST, le facteur de transcription de base hélice-boucle-hélice (bHLH), a été bien établi en tant que régulateur de la transcription de l'embryogenèse et des programmes de développement des lignées des cellules mésenchymateuses. Il est impliqué dans la formation de métastases via la transition épithélio-mésenchymateuse (TEM), facilitant ainsi l'invasion des cellules cancéreuses. Nos données indiquaient que le complexe Twist/BRD4 activé occupait les régions super-enhancer des oncogènes et maintenait leur expression.

Aujourd'hui la prise en charge des patients atteints de cancer est en pleine transformation, le cancer a été traité avec des composés pharmacologiques qui tuent les cellules proliférantes. Dans ce cadre, nous avons tenté d'identifier des « candidat médicament » pouvant aboutir à de nouvelles thérapies ciblées et de pallier les résistances liées à l'utilisation des molécules BET inhibitrices tels que MS436.

Pour atteindre notre objectif, nous avons eu recours à l'approche par le docking moléculaire à l'aide du programme AutoDock vina intégré dans le logiciel UCSF Chimera pour étudier *in silico* les interactions de 15 analogues de MS436 avec la protéine cible. Enfin, le serveur SwissADME a été utilisé pour prédire les propriétés pharmacocinétiques de ces analogues.

Il en ressort que les deux composés portant les codes 135566900 et 145721898 sont les meilleurs candidats comme des inhibiteurs potentiellement actifs envers le complexe Twist/BRD4.

## **Mots clés :**

TWIST, la transition épithélio-mésenchymateuse (TEM), le complexe Twist/BRD4, cancer, MS436, docking moléculaire, *in silico*.

## **Abstract :**

TWIST, the basic helix-loop-helix transcription factor (bHLH), has been well established as a regulator of embryogenesis transcription and mesenchymal cell line development programs. It is involved in the formation of metastases via the epithelial-mesenchymal transition (TEM), thus facilitating the invasion of cancer cells. Our data indicated that the activated Twist/BRD4 complex occupied the super-enhancer regions of oncogenes and maintained their expression.

Today the management of cancer patients is in full transformation, cancer has been treated with pharmacological compounds that kill proliferating cells. In this context, we tried to identify "drug candidates" that could lead to new targeted therapies and to overcome resistance related to the use of inhibitory BET molecules such as MS436.

To achieve our goal, we used the molecular docking approach using the AutoDock vina program integrated into the UCSF Chimera software to study *in silico* the interactions of the 15 MS436 analogues with the target protein. Finally, the SwissADME server was used to predict the pharmacokinetic properties of these analogues.

It appears that the two compounds with the codes 135566900 and 145721898 are the best candidates as a potentially active inhibitor towards the Twist/BRD4 complex.

## **Keywords :**

TWIST, epithelial-mesenchymal transition (TEM), the Twist/BRD4 complex, cancer, MS436, molecular docking, *in silico*.

## المخلص :

TWIST، عامل نسخ من عائلة (bHLH) تم اعتباره كمنظم لعملية النسخ أثناء التطور الجنيني كذلك أثناء برامج تطور الخلايا الوسيطة. يشارك تويست في تشكل النقايل عن طريق التحول الظهاري الوسيطي (TEM) و بالتالي يساهم في تسهيل غزو الخلايا السرطانية. أشارت بياتتنا أن المركب النشط Twist/BRD4 يحتل مناطق فائقة التحسين للجينات السرطانية و بالتالي يحافظ على تعبير هاته الخلايا.

إن التعامل مع مرضى السرطان في تطور كامل حيث قد تم علاج السرطان بمركبات دوائية تعمل على قتل خلايا التكاثر الخاصة بهذا المرض. في هذا السياق، حاولنا تحديد "أدوية مرشحة" و التي يمكن أن تؤدي إلى علاجات مستهدفة جديدة و تتمكن من التغلب على المقاومة المتواعدة باستخدام جزيئات BET المثبطة كجزيء MS436 مثلا.

لتحقيق هدفنا، إستخدمنا نهج الإلتحام الجزيئي بواسطة برنامج AutoDock Vina المدمج في UCSF Chimera لإنجاز دراسة *in silico* لتفاعلات 15 مركب نظير لجزيء MS436 مع البروتين المستهدف. و أخيرا تم استخدام موقع SwissADME للتنبؤ بالخصائص الدوائية لهاته النظائر.

بناء على ذلك فإن المركبين اللذان يحملان الرمز 135566900 و 145721898 هـ ما أفضل مرشحين لأن يكونا مثبطين محتملين فعالين إتجاه المركب Twist/BRD4.

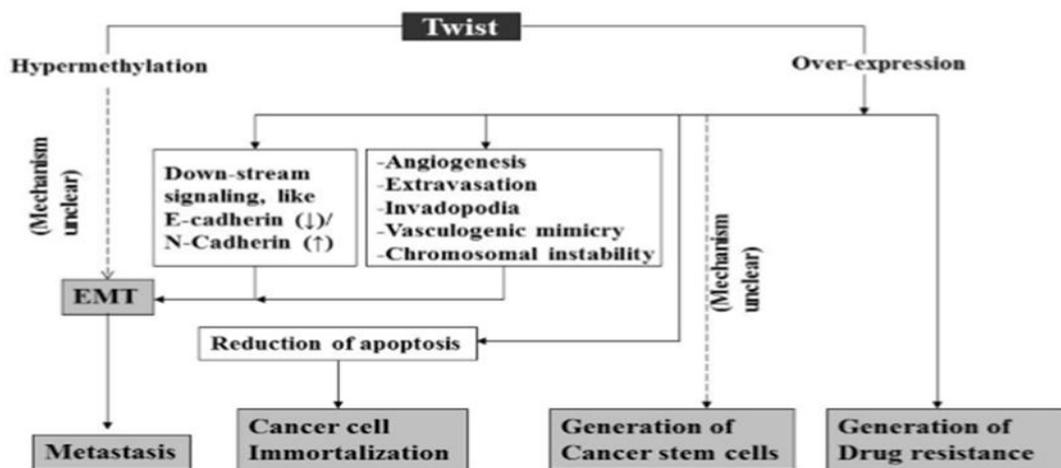
## الكلمات المفتاحية :

تويست، التحول الظهاري الوسيطي (TEM)، المركب Twist/BRD4، السرطان، MS436، الإلتحام الجزيئي، دراسة *in silico*.

# **INTRODUCTION**

Au cours de l'embryogenèse, plusieurs cycles d'EMT et de transition mésenchymateuse-épithéliale (TEM) se produisent et sont fondamentaux pour la différenciation cellulaire finale et la génération d'organes internes dans l'EMT[1]. La transition épithélio-mésenchymateuse (TEM) est un processus biologique et dynamique dans lequel les cellules épithéliales perdent leur polarité apico-basolatérale et leur adhésion cellule-cellule, entraînant la formation de cellules souches mésenchymateuses migratrices aux propriétés invasives[2], ainsi que leur caractéristiques morphologiques et fonctionnelles épithéliales et acquièrent des caractéristiques mésenchymateuses semblables à celles des fibroblastes[3]. Cette transition est accompagnée d'une diminution de l'expression de l'épithélium spécifique des biomarqueurs tels que la E-cadhérine; la  $\beta$ -caténine; l'occludine, et une augmentation de l'expression de mésenchymateux spécifiques biomarqueurs tels que la N-cadhérine; la vimentine; la fibronectine. Plusieurs facteurs sont impliqués dans l'induction de la TEM tels que TWIST[4].

TWIST est impliquée dans le développement embryonnaire et le développement mésodermique, ainsi que dans le développement des gènes codant pour les protéines du destin cellulaire les liant inévitablement au cancer et à la tumorigenèse[5]. Lors de la progression du cancer, TWIST confère aux cellules cancéreuses des capacités de prolifération persistante, une motilité accrue et peut aider à antagoniser les signaux défavorables à la survie des cellules cancéreuses qui proviennent du microenvironnement[6]. Comme ceci, la surexpression de TWIST est courante dans une variété de cancers notamment le cancer du sein, le cancer de la prostate, le cancer colorectale, le cancer de la vessie, le mélanome, le carcinome hépatocellulaire, le carcinome du cou et le cancer gastrique. Il est impliqué dans le déclenchement, le développement et les métastases du cancer[7].



**Figure-01** :Mécanismes d'action de TWIST dans les cellules cancéreuses[8].

TWIST est un facteur de transcription appartenant à la famille de classe B de type hélice-boucle-hélice (bHLH) de base[9].Ce facteur est caractérisé par la présence d'un domaine de fixation à l'ADN de type basique et d'un domaine de dimérisation en Hélice-Boucle-Hélice. Au-delà de ces deux domaines, on peut noter deux séquences d'adressage nucléaire et la présence d'un domaine d'interaction protéique connu sous le nom de domaine WR (ou boîte

TWIST)[10]. La famille de TWIST est codée par des gènes du développement embryonnaire. Chez les vertébrés, les mieux caractérisés sont chez l'homme et la souris, chacune de ces deux espèces porte les deux gènes paralogues TWIST1 et TWIST2 lesquelles présentent une similarité de séquence élevée [11]. Le gène TWIST1 humain est cartographié sur le chromosome 7q2.2, il code pour une protéine de 202 a.a dont le poids moléculaire est d'environ 21 kDa et contient deux exons et un intron[12], alors que le gène de TWIST2 est localisé sur le chromosome 2q37.3, il code pour une protéine de 160 a.a d'environ 20 kDa [11]. Le motif bHLH de la famille TWIST est constitué d'acides aminés basiques suivis de deux hélices amphipathiques séparées par une boucle hélicoïdale. Les localisations nucléaires indiquent que l'extrémité N-terminale de la famille TWIST représente un motif fonctionnel, en plus du domaine bHLH et de la TWIST box[13]. Il est intéressant aussi de noter que TWIST box a été caractérisée à la fois comme un domaine d'activation avec le motif d'acides aminés LX3FX3R[14]. La similarité entre les deux protéines TWIST1 et TWIST2 passe de 54 % dans l'extrémité N-terminale à 95 % dans la région bHLH et 100 % dans la TWIST Box C-terminale. Malgré leurs similitudes structurelles, TWIST1 et TWIST2 présentent des différences significatives, notamment leur taille et leurs domaines N-terminaux ; TWIST1 possède deux régions riches en glycine à son extrémité N-terminale que TWIST2 ne possède pas[11], de plus l'hélice de TWIST1 a médie sa liaison à un deuxième facteur bHLH pour former un dimère, qui se lie ensuite spécifiquement à la séquence de E-box pour initier la transcription des gènes cibles spécifique contrairement à TWIST2 qui ne possède pas cette caractéristique[15].

Les protéines TWIST1 et TWIST2 peuvent fonctionner soit comme activateur de la transcription, soit comme répresseur, par le biais de mécanismes à la fois directs et indirects[16]. Leur réglementation complexe fonctions en font des machines affinées pour contrôler le destin cellulaire aux premiers stades de l'embryogenèse, là que inhibent le développement des cellules mésenchymateuses[14].

TWIST possède des boîtes électroniques qui se trouvent dans la région régulatrice des inhibiteurs de la kinase dépendant de la cycline p21, P15(INK4B) et p16 qui peuvent induire un arrêt du cycle cellulaire en cas de dommage de l'ADN[5] et être à la fois nécessaire et suffisante pour la trans-activation des gènes cibles[17]. De plus, la protéine TWIST est responsable de la transition du stade bénin au stade malin en supprimant les deux obstacles naturels à la croissance cellulaire effrénée : l'induction de la mort cellulaire (apoptose) et l'arrêt permanent de la prolifération cellulaire (un processus connu sous le nom de sénescence prématurée)[18]. TWIST inhibe la voie p53 à la fois transcriptionnellement et post-traductionnellement, aussi interagit avec HOXA5 ; un puissant trans-activateur de p53 et module négativement son activité. En revanche, il réduit l'expression d'ARF menant à la déstabilisation de p53 et prévention de la phosphorylation de l'activation de Ser20 de p53. Ainsi, TWIST contribue au développement de tumeur en arrêtant la réponse apoptotique[19].

L'activité et la stabilité de TWIST1 sont contrôlées par la phosphorylation; la dimérisation de TWIST1. Les liaisons à l'ADN sont renforcées par la phosphorylation PKA à Thr125 et Ser127, et la protéine phosphatase 2 empêche ces sites de phosphorylation de se produire alors que la stabilité de TWIST1 est améliorée par la phosphorylation MAPK à Ser68 dans les

cellules cancéreuses du sein[20]. Dans le cas du cancer de type basal (BLBC), plusieurs avancées ont été réalisées dans le domaine des modifications de la protéine TWIST, en particulier la phosphorylation. La protéine kinase B (PKB/AKT) favorise la TEM et les métastases du cancer du sein en stimulant l'activité de signalisation du TGF, ce qui permet à la protéine TWIST phosphorylée en Ser42 de conférer une résistance à la mort cellulaire médiée par p53 en réponse aux lésions de l'ADN. L'interleukine-6 stimule la caséine kinase 2 et phosphoryle TWIST en Ser 18 et Ser 20, améliorant ainsi la motilité des cellules cancéreuses[6].

**Tableau-01** : La régulation de TWIST[20].

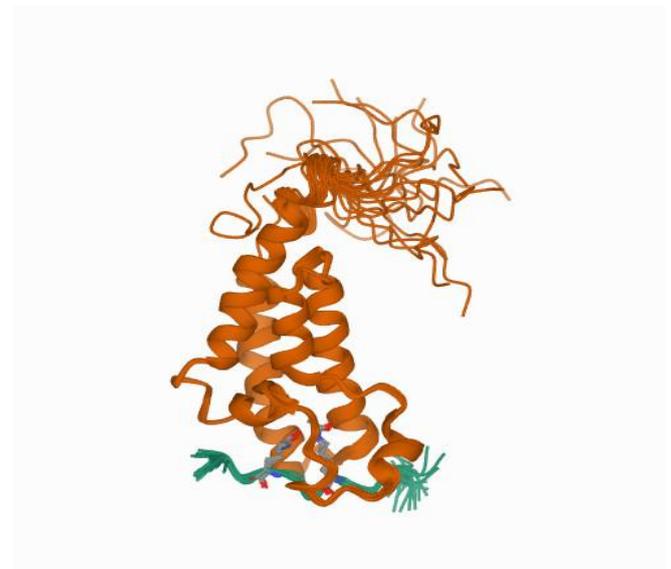
Facteur de transcription	Fonction	Effets sur TEM-TFs	Facteur de régulation	Rôle ou mécanisme
<b>TWIST1</b>	<b>Phosphorylation</b>	Stabilization	MAPK	Phosphorylation sur Ser68
			Akt2	Phosphorylation sur Ser42
			CK2 $\alpha$	Phosphorylation sur Ser18 et Ser20
			PKC $\alpha$	Phosphorylation sur Ser144
			Aurora A	Phosphorylation sur Ser123, Ser148, Ser184
		Translocation nucléaire	CD44	c-Src-dépendant la phosphorylation sur tyrosine
	Dégradation	Akt1	Phosphorylation sur Ser42, Thr121, et Ser123	
		IKK $\beta$	Phosphorylation sur Ser125 et Ser127	
	<b>Déphosphorylation</b>	Dégradation	SCP1	Déphosphorylation sur Ser68
	<b>Ubiquitination</b>	Dégradation	$\beta$ -TrCP	Ubiquitination sur Thr121 et Ser123
			FBXL14	C-terminal de Twist box dépendant l'ubiquitination
<b>Acetylation</b>	Translocation nucléaire	PCAF	Acetylation sur Lys73, Lys76, et Lys77	
<b>Methylation</b>	Translocation nucléaire	Tip60	Acetylation sur Lys73 et Lys76	
		PRMT1	Methylation sur Arg34	

L'activation des gènes embryonnaires TWIST permet simultanément de favoriser l'émergence et la dissémination des cellules cancéreuses. D'une autre part, TWIST peut également être un facteur positif dans le promouvoir de la résistance aux médicaments anticancéreux, qui est l'une des caractéristiques de cancers avancés. Il été démontré que l'amplification du gène TWIST est associée au développement de résistance acquise à un

médicament anticancéreux (taxol)[21] utilisé dans le traitement du cancer de l'ovaire, cancer du sein, cancer du poumon, le myélome, les cancers des cellules germinales, cancer de l'œsophage et autres types de tumeurs[22]. De plus, TWIST est également suggéré comme un biomarqueur utile pour prédire la résistance à la doxorubicine, largement utilisée pour la chimiothérapie adjuvante du cancer du sein[23].

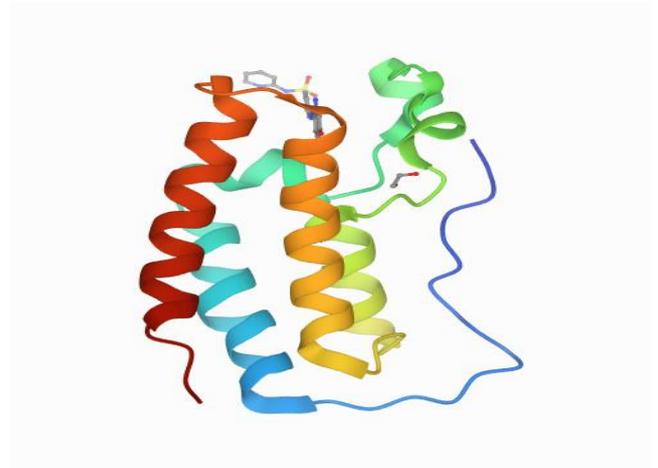
La thérapeutique du cancer en ciblant TWIST1 ou une molécule liée à TWIST1 s'est révélée prometteuse[24]. Actuellement il existe plusieurs stratégies majeures; l'inactivation de TWIST par les technologies à petit ARN conduit à la promotion de la sénescence cellulaire et à l'arrêt de la croissance. Aussi le succès du ciblage de TWIST par les agents chimiothérapeutiques montre un espoir de contrôler la croissance des cellules tumorales ou métastases cancéreuses médiées par TWIST. En outre, pour contrôler l'activation de TWIST induite par l'hypoxie; la thérapie antioxydante est une approche prometteuse pour traiter le cancer. D'une autre part, certaines stratégies pourraient être bénéfiques tels que l'inactivation de TWIST en appliquant des antagonistes des activateurs de TWIST, le blocage de la liaison Twist-nucléosome, la dégradation de TWIST par ubiquitination et la modification épigénétique du gène TWIST1 pour faire taire son expression[8].

TWIST induit l'expression génique ; c'est un mécanisme par lequel TWIST recrute BRD4 pour diriger l'expression de *wnt5A* dans le cancer BLBC[25]. BRD4 fait partie de la famille BET (bromodomaine et domaine extra-terminal) qui est caractérisée par deux tandems bromodomaines (BDs) situés dans l'extrémité N-terminale[26] et considéré comme un médiateur clé de l'activation transcriptionnelles des gènes ciblés par TWIST[6]. TWIST possède un motif GKEX-GK " Histone h4 -minic " qui est di-acétylé par TIP60, et le TWIST di-acétylé se trouve au second bromodomaine, formant un complexe TWIST/BRD4/PTEF6/RNA-POL2 activé au niveau du promoteur et amplificateur WNT5A. L'inhibition pharmacologique de l'association TWIST/BRD4 a réduit l'expression de WNT5 et supprimé l'itération, les propriétés de type cellule souche cancéreuse et la tumorigénicité des cellules BLBC. La connexion avec BRD4 est critique pour la fonction oncogène de TWIST dans les BLBC ainsi que dans le reste de l'organisme[25].



**Figure-02 :** Structure RMN en solution du deuxième bromodomaine de Brd4 avec le peptide Twist diacétylé[25].

Notre projet se fait à la base de cibler TWIST par la perturbation de l'interaction TWIST/BRD4 par l'inhibiteur MS436 ; c'est un inhibiteur puissant et sélectif du BRD4 qui bloque effectivement la liaison de BRD4 à NF- $\kappa$ B et inhibe l'activité transcriptionnelle de BRD4 dans le lipopolysaccharide qui induit la production d'oxyde nitrique et de cytokine pro-inflammatoire interleukine-6 dans les macrophages murins, comme illustré dans un test ELISA dont laquelle MS436 a montré l'activité inhibitrice la plus profonde. Dans un essai anisotropie de fluorescence *in vitro*, MS436 est déterminé avec une valeur  $K_i$  supérieure à 85 nM pour BRD4-BrD1 (limité par l'affinité de liaison du test sonde; le  $K_i$  estimé est de 30 à 50 nM) et une sélectivité environ de 10 fois pour BrD1 sur BrD2 de BRD4. MS436 est le premier inhibiteur de la BrD à une faible affinité nanomolaire avec une nette sélectivité entre ces deux BrD de BRD4[26].



**Figure-03** : Conception guidée par la structure de puissants inhibiteurs de diazobenzène pour les bromodomains BET[26].

L'objectif des travaux de recherche actuels est la validation de ce modèle de prédiction, en ayant recours au docking moléculaire qui est adopté principalement pour évaluer l'interaction *in silico* entre le complexe TWIST/BRD4 et l'inhibiteur MS436 afin de mesurer l'efficacité de ce dernier selon le site de fixation de la protéine cible.

MATÉRIELS  
ET  
MÉTHODES

### **1. Préparation de la protéine :**

La structure tridimensionnelle de la protéine 2MJV ( le complexe BRD4-TWIST) a été téléchargée à partir du site Web de la banque de données sur les protéines « RCSB PDB (Protein Data Bank) » <https://www.rcsb.org> , et résolue par RMN [25].

Le processus d'amarrage moléculaire se fait à l'aide du programme «ChimeraUCSF »[27] (**version 1.14**). L'objectif de ce programme est la visualisation des graphiques moléculaires et la modification sur la protéine. Il permet aussi d'ajouter des atomes d'hydrogène, des charges et d'appliquer une énergie minimale  $\Delta G$ , car la cible extraite du RCSB PDB ne contenait aucune charge.

Enfin, la structure 3D préparée de la protéine 2MJV a été enregistrée au format de fichier PDB.

### **2. Téléchargement de ligands « inhibiteurs » :**

Les structures tridimensionnelles des analogues de MS463 ont été téléchargées à partir de la base de données PubChem sous format de fichier SDF <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov>.

Une banque de molécules a été constituée, contenant des molécules dont la structure de base est celle de MS436.

### **3. L'amarrage moléculaire :**

Avant les simulations d'amarrage, la structure de la protéine doit être préparée par l'outil Dock prep du programme « ChimeraUCSF », Ensuite, les quinze molécules ont été ajoutées pour la préparation de l'amarrage moléculaire, à savoir la détermination du degré d'affinités de liaison des différents ligands avec la protéine principale.

Pour l'étude des interactions entre la protéine 2MJV et ses inhibiteurs à l'aide de docking moléculaire, l'outil « AutoDockVina » <http://vina.scripps.edu> [28] (**version 1.1.2**) développé par le laboratoire de graphisme moléculaire de l'Institut de Recherche Scripps aux États-Unis va enregistrer la meilleure interaction avec le ligand tandis que les meilleurs conformères ont été représentés avec la plus faible énergie de liaison (kcal /mol) sur le site actif.

### **4. Identification des interactions :**

Les résultats de l'amarrage moléculaire présentant une conformation énergétique minimale avec un nombre maximal ont servi à étudier les interactions ligand-protéines.

Les quinze ligands sont chargés directement l'un après l'autre dans le logiciel « Discovery Studio visualize »[29] (**version 21.1**); c'est un logiciel qui permet de modifier des structures moléculaires, et d'étudier les acides aminés impliqués dans le site de liaison ligand, les liaisons hydrogène et les liaisons hydrophobes par une visualisation en 2D. DSV est développée et distribuée par « Dassault Systemes BIOVIA ».

### **5. Détermination des paramètres pharmacocinétique :**

Les ligands sélectionnés ont été soumis à une analyse online sur le site « SwissADME »; c'est un site web qui permet le calcul de descripteurs physico-chimiques ainsi que la

prédiction des paramètres ADME, les propriétés pharmacocinétiques, la nature médicamenteuse et la facilité d'utilisation en chimie médicinale d'une ou plusieurs petites molécules afin de faciliter la découverte de médicaments <http://www.swissadme.ch>.

**RÉSULTATS**  
**ET**  
**DISCUSSION**

On a tout d'abord examiné l'inhibition de la protéine 2MJV par les analogues de MS436 à l'aide du Docking moléculaire qui est une des méthodes de la modélisation moléculaire les plus répandues actuellement.

La structure tridimensionnelle (3D) de la protéine 2MJV provient de site Web de la banque de données sur les protéines « RCSB PDB (Protein Data Bank) » <https://www.rcsb.org/>.

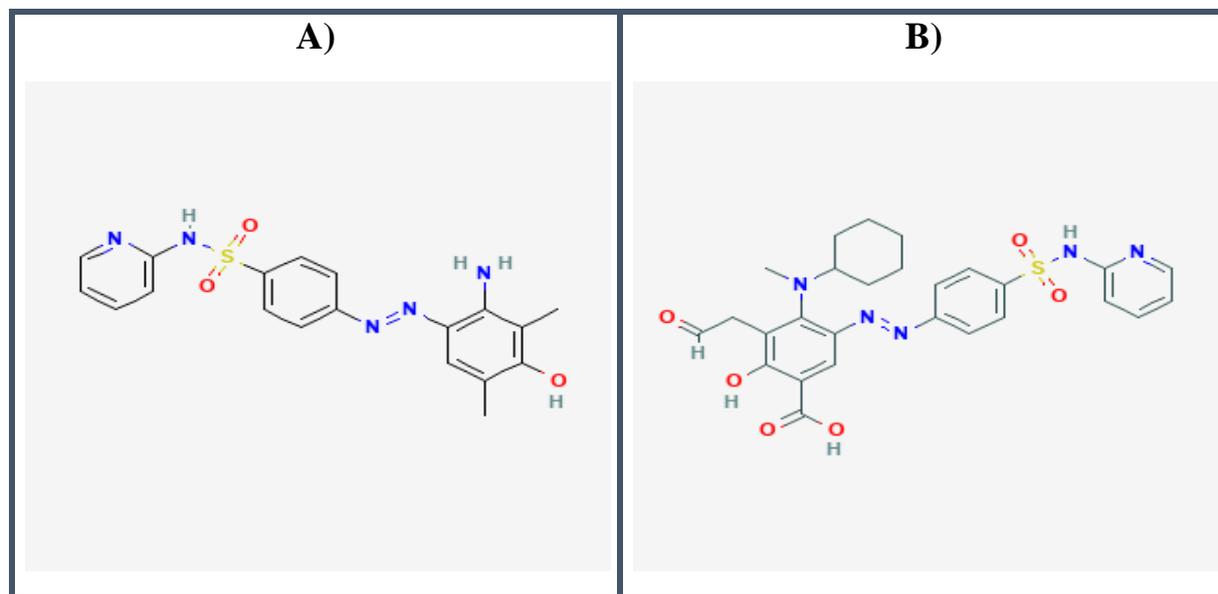
Des détails sur quinze analogues de MS436 sont listés dans le **Tableau 02**. Le Docking de ces ligands permet de dégager plusieurs configurations retenues comme définissant des formes de liaison avantageuses et favorables énergétiquement parlant.

**Tableau-02** : Coordonnées et énergies de liaison de quinze analogues de MS436.

Nom	PubChem ID	Formule moléculaire	Masse Molaire (g/mol)	$\Delta G$ (kcal/mol)
4-[(2-amino-4-hydroxy-5-methylphenyl)diazenyl]-N-pyridin-2-ylbenzenesulfonamide (MS436)	135566899	C <sub>18</sub> H <sub>17</sub> N <sub>5</sub> O <sub>3</sub> S	383.4	-6.7
4-[(2-amino-4-hydroxy-3,5-dimethylphenyl)diazenyl]-N-pyridin-2-ylbenzenesulfonamide	135566900	C <sub>19</sub> H <sub>19</sub> N <sub>5</sub> O <sub>3</sub> S	397.5	-7.2
4-[(2-amino-3-chloro-4-hydroxy-5-methylphenyl)diazenyl]-N-pyridin-2-ylbenzenesulfonamide	136226511	C <sub>18</sub> H <sub>16</sub> ClN <sub>5</sub> O <sub>3</sub> S	417.9	-6.8
6-carboxy-3-[methyl(propyl)amino]-2-(2-oxoethyl)-4-[[4-(pyridin-2-ylsulfamoyl)phenyl]diazenyl]phenolate	151992001	C <sub>24</sub> H <sub>24</sub> N <sub>5</sub> O <sub>6</sub> S	510.5	-6.2
3-[butyl(ethyl)amino]-6-carboxy-2-(2-oxoethyl)-4-[[4-(pyridin-2-ylsulfamoyl)phenyl]diazenyl]phenolate	151671650	C <sub>26</sub> H <sub>28</sub> N <sub>5</sub> O <sub>6</sub> S	538.6	-6.0
6-carboxy-3-[cyclohexyl(methyl)amino]-2-(2-oxoethyl)-4-[[4-(pyridin-2-ylsulfamoyl)phenyl]diazenyl]phenolate	150943843	C <sub>27</sub> H <sub>28</sub> N <sub>5</sub> O <sub>6</sub> S	550.6	-7.0
6-carboxy-3-[ethyl(methyl)amino]-2-(2-oxoethyl)-4-[[4-(pyridin-2-ylsulfamoyl)phenyl]diazenyl]phenolate	150573593	C <sub>23</sub> H <sub>22</sub> N <sub>5</sub> O <sub>6</sub> S	496.5	-6.1
6-carboxy-3-[cyclohexyl(ethyl)amino]-2-(2-oxoethyl)-4-[[4-(pyridin-2-ylsulfamoyl)phenyl]diazenyl]phenolate	149930834	C <sub>28</sub> H <sub>30</sub> N <sub>5</sub> O <sub>6</sub> S	564.6	-6.9

4-amino-2-hydroxy-5-[[4-(pyridin-2-ylsulfamoyl)phenyl]diazenyl]benzoic acid	<b>145721898</b>	C <sub>18</sub> H <sub>15</sub> N <sub>5</sub> O <sub>5</sub> S	413.4	-6.9
2-[[4-[[2-[[difluoro(oxo)-lambda6-sulfanylidene]amino]-4-fluorosulfonyloxy-5-methylphenyl]diazenyl]phenyl]sulfonylamino]pyridine	<b>139507027</b>	C <sub>18</sub> H <sub>14</sub> F <sub>3</sub> N <sub>5</sub> O <sub>6</sub> S <sub>3</sub>	549.5	-7.0
4-[cyclohexyl(ethyl)amino]-2-hydroxy-3-(2-oxoethyl)-5-[[4-(pyridin-2-ylsulfamoyl)phenyl]diazenyl]benzoic acid	<b>149930835</b>	C <sub>28</sub> H <sub>31</sub> N <sub>5</sub> O <sub>6</sub> S	565.6	-6.8
4-[ethyl(methyl)amino]-2-hydroxy-3-(2-oxoethyl)-5-[[4-(pyridin-2-ylsulfamoyl)phenyl]diazenyl]benzoic acid	<b>150573594</b>	C <sub>23</sub> H <sub>23</sub> N <sub>5</sub> O <sub>6</sub> S	497.5	-6.2
4-[cyclohexyl(methyl)amino]-2-hydroxy-3-(2-oxoethyl)-5-[[4-(pyridin-2-ylsulfamoyl)phenyl]diazenyl]benzoic acid	<b>150943844</b>	C <sub>27</sub> H <sub>29</sub> N <sub>5</sub> O <sub>6</sub> S	551.6	-7.2
4-[2,2-dimethylpropyl(methyl)amino]-2-hydroxy-3-(2-oxoethyl)-5-[[4-(pyridin-2-ylsulfamoyl)phenyl]diazenyl]benzoic acid	<b>151281705</b>	C <sub>26</sub> H <sub>29</sub> N <sub>5</sub> O <sub>6</sub> S	539.6	-6.6
2-hydroxy-4-[methyl(propyl)amino]-3-(2-oxoethyl)-5-[[4-(pyridin-2-ylsulfamoyl)phenyl]diazenyl]benzoic acid	<b>151992002</b>	C <sub>24</sub> H <sub>25</sub> N <sub>5</sub> O <sub>6</sub> S	511.6	-6.3

Dans la présente étude, la meilleure affinité avec la protéine 2MJV est estimée avec une énergie de liaison de  $-7.2$  kcal/mol présente chez les deux composés portant les codes **135566900** et **150943844**. L'interaction des ligands dans le site actif est maintenue par une énergie de liaison. Plus celle-ci est réduite, plus l'efficacité de la liaison est élevée, résultant en une inhibition accrue.



**Figure-04** : Structure des deux composés avec le score delta G le plus élevé par rapport au site actif de la protéine 2MJV. **A)** Structure de CID 135566900 **B)** Structure de CID 150943844.

Les inhibiteurs (135566900 et 150943844) ayant la meilleure affinité pour 2mjv, possèdent le même  $\Delta G^\circ = -7.2$  kcal/mol traduisant une même affinité apparente avec une origine biosynthétique commune et donc possèdent le même élément structural de base, leur structure s'organise toujours autour d'un même squelette ; la molécule 135566900 de formule  $C_{19}H_{19}N_5O_3S$  a une masse molaire de 397.5 g/mol est caractérisée par 3 cycles, par contre la molécule 150943844 de la formule  $C_{27}H_{29}N_5O_6S$  a une masse molaire de 551.6 g/mol et caractérisée par 4 cycles.

Le logiciel Discovery Studio visualizer a été utilisé pour identifier les résidus d'acides aminés impliqués dans les interactions entre le site actif de la protéine cible 2MJV et les différents analogues de MS436. Ces interactions protéine-ligand se caractérisent en particulier à travers les liaisons hydrogène et les interactions hydrophobes, lesquelles jouent un rôle majeure dans la prévision et l'évaluation de la force de liaison entre ligand et protéines, sachant que plus le nombre de liaisons hydrogène est élevée, plus l'efficacité de la liaison et de l'inhibition est élevée.

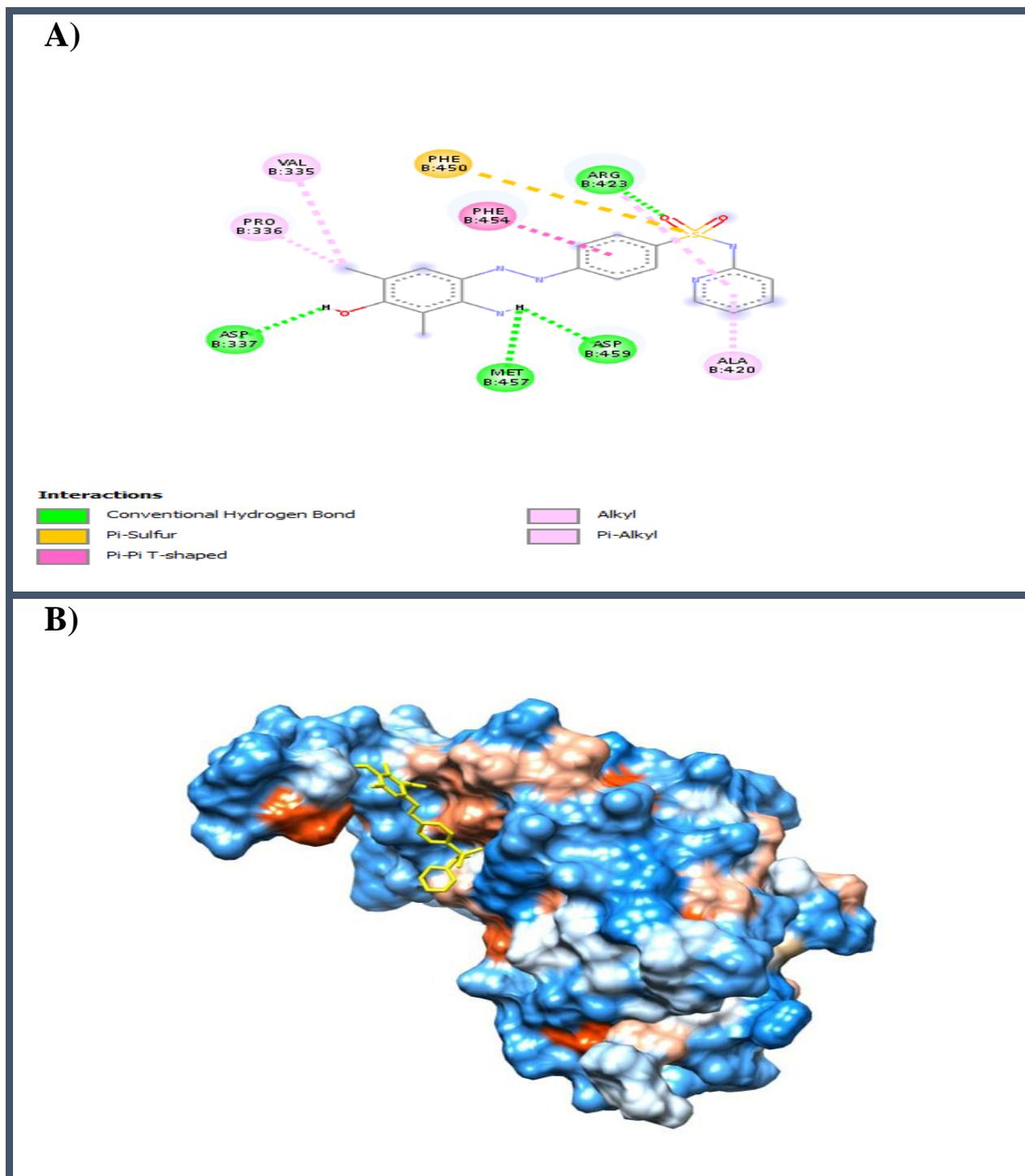
Nous avons choisi les 6 meilleurs ligands portant les codes :135566900,150943844, 150943843,139507027, 149930834, 145721898 parmi 15 ligands dont l'énergie d'interaction été calculée lors des expériences de docking, le tableau ci-dessous présente ces 6 meilleurs ligands :

**Tableau-03 :** Interactions des 6 ligands les mieux ancrés contre le site actif de la protéine 2MJV.

PubChem ID	Liaison	Intéraction
135566900	ARG B :423	Conventional Hydrogen Bond - Alkyl - Pi-Alkyl
	ASP B :459	Conventional Hydrogen Bond
	MET B :457	Conventional Hydrogen Bond
	ASP B :337	Conventional Hydrogen Bond
	PHE B :450	Pi-Sulfur
	PHE B :454	Pi-Pi T-shaped
	PRO B :336	Alkyl - Pi-Alkyl
	VAL B :335	Alkyl - Pi-Alkyl
	ALA B :420	Alkyl - Pi-Alkyl
150943844	GLU B :417	Conventional Hydrogen Bond
	GLN B :416	Conventional Hydrogen Bond - Amide-Pi Stacked
	LYS B :349	Conventional Hydrogen Bond
	ASP B :414	Pi-Anion
	ALA B :420	Alkyl - Pi-Alkyl
	VAL B :350	Alkyl - Pi-Alkyl
	ALA B :343	Alkyl - Pi-Alkyl

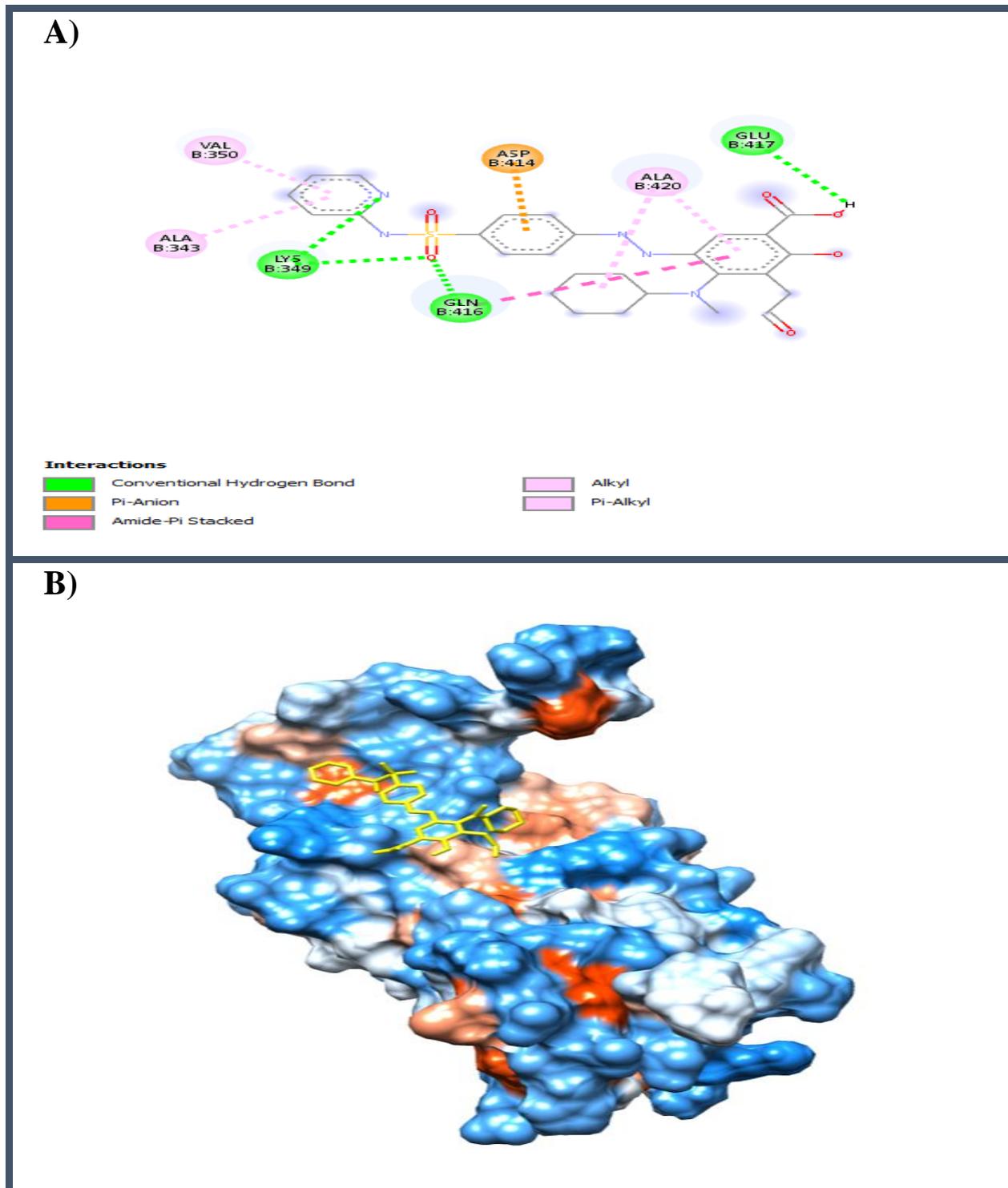
150943843	ARG B :423	Conventional Hydrogen Bond
	ALA B :455	Conventional Hydrogen Bond-Carbon Hydrogen Bond
	MET B :457	Conventional Hydrogen Bond
	PHE B :454	Unfavorable Acceptor-Accepto-Pi-Pi T-shape-Pi-Alkyl
	ASP B :459	Pi-Anion
139507027	ALA B :343	Conventional Hydrogen Bond
	LYS B :349	Conventional Hydrogen Bond
	GLN B :416	Conventional Hydrogen Bond
	ASP B :414	Pi-Anion
	ARG B :413	Pi-Alkyl
	VAL B :350	Pi-Alkyl
	ALA B :420	Pi-Alkyl
	ARG B :423	Pi-Alkyl
149930834	HIS B :341	Carbon Hydrogen Bond
	GLU B :417	Van der Waals
	LYS B :349	Conventional Hydrogen Bond
	GLN B :416	Conventional Hydrogen Bond - Amide-Pi Stacked
	ASP B :414	Pi-Anion
	ALA B :420	Alkyl - Pi-Alkyl
145721898	ASP B :337	Conventional Hydrogen Bond
	ASP B :459	Conventional Hydrogen Bond
	ARG B :423	Conventional Hydrogen Bond
	PHE B :454	Pi-Pi T-shaped
	ALA B :420	Pi-Alkyl

Le composé **135566900** a présenté un score de liaison de -7.2 kcal/mol avec la création d'une liaison Hydrogène et d'une liaison alkyl et d'une liaison Pi-alkyl avec les acides aminés ARG423, trois liaisons hydrogènes avec les acides aminés (ASP459- MET457- ASP337 ), une liaison Pi-sulfur avec les acides aminés PHE450, une liaison Pi-Pi T-shaped avec les acides aminés PHE454, et trois liaisons Alkyl et Pi-Alkyl avec les acides aminés (PRO336 - VAL335 - ALA420) (**Figure-05**) (**Tableau-03**).



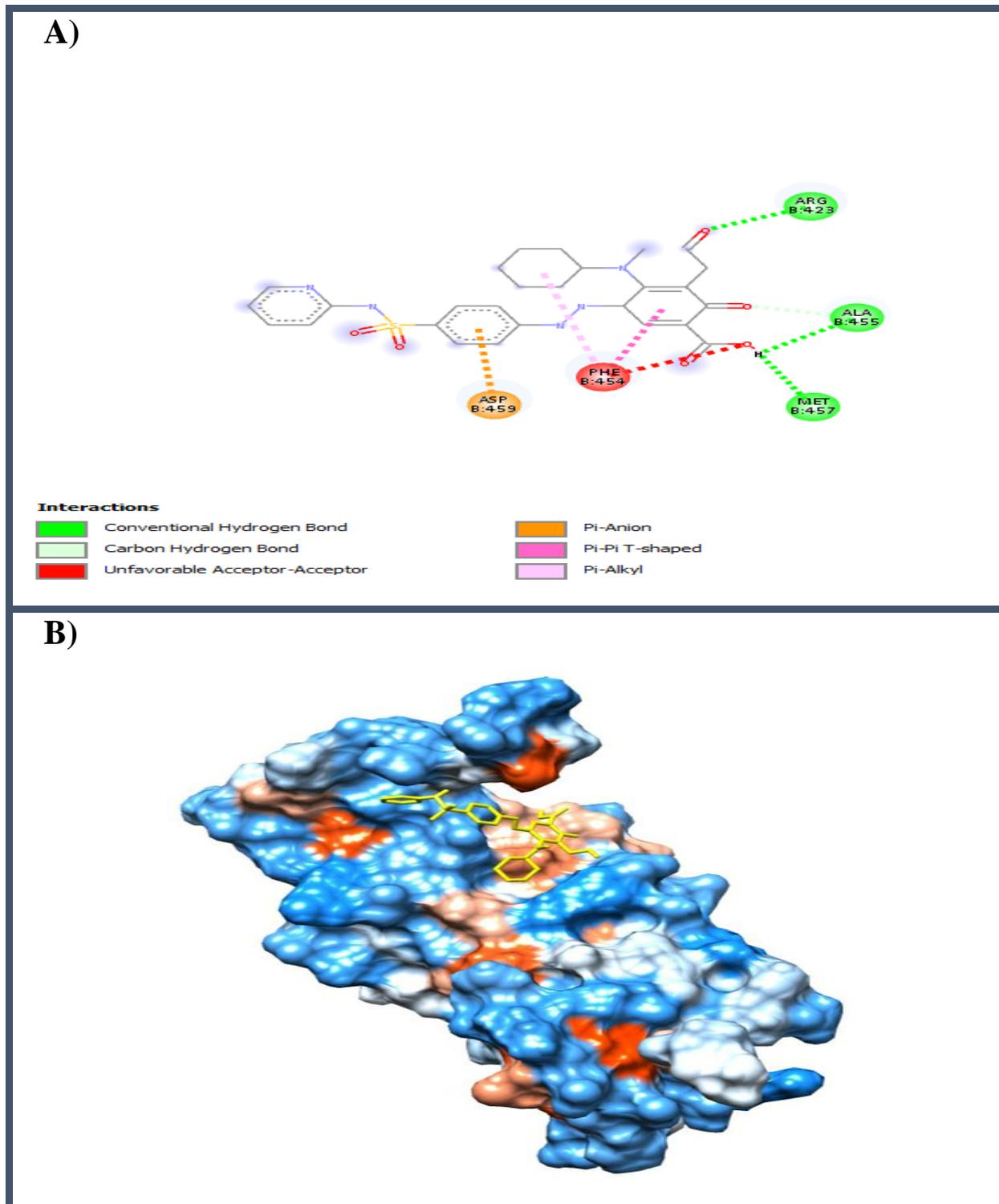
**Figure-05 :** **A)** Interaction 2D de composé portant le code 135566900 avec la protéine 2MJV (-7.2 kcal/mol). **B)** Représentation d'interaction du composé portant le code 135566900 dans le site actif de la protéine 2MJV.

Le composé **150943844** a présenté un score de liaison de -7.2 kcal/mol avec la création d'une liaison Hydrogène avec les acides aminés GLU417, une liaison Hydrogène et une liaison Amide-Pi Stacked avec les acides aminés GLN416, une liaison Hydrogène avec les acides aminés LYS349, une liaison Pi-Anion avec les acides aminés ASP414, et trois liaisons Alkyl et Pi-Alkyl avec les acides aminés (ALA420 - VAL350 - ALA343) (**Figure-06**)(**Tableau-03**).



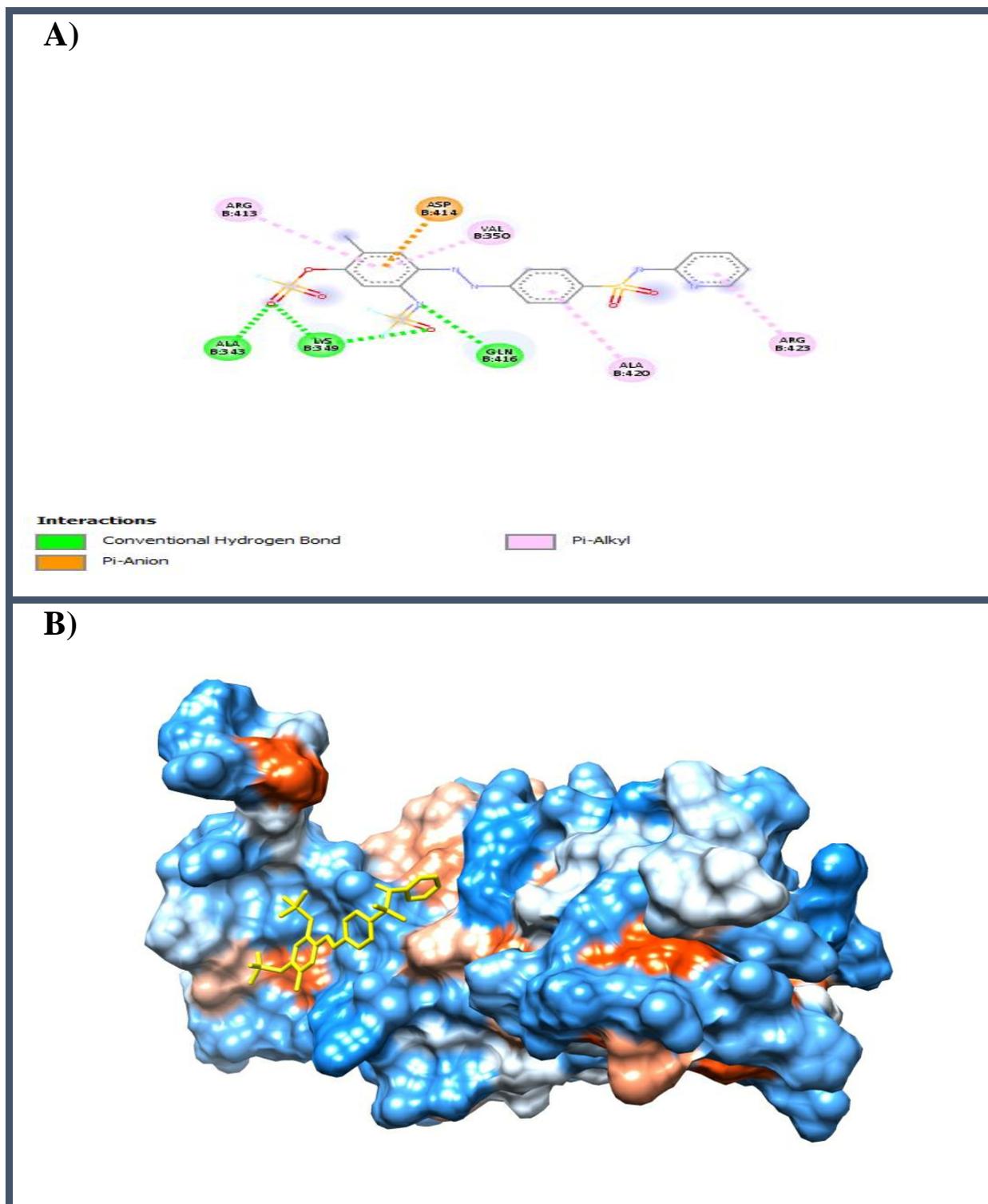
**Figure-06:** **A)** Interaction 2D de composé portant le code 150943844 avec la protéine 2MJV (-7.2 kcal/mol). **B)** Représentation d'interaction du composé portant le code 150943844 dans le site actif de la protéine 2MJV.

Le composé **150943843** a présenté un score de liaison de -7.0 kcal/mol avec la création d'une liaison carbone-hydrogène avec les acides aminés ALA455, deux liaisons Hydrogène avec les acides aminés (ARG423 – MET457), une liaison Pi-Anion avec les acides aminés ASP459, et trois liaisons Unfavorable Acceptor-Acceptor + Pi-Pi T-shaped+ Pi-Alkyl avec les acides aminés PHE454 (**Figure-07**) (**Tableau-03**).



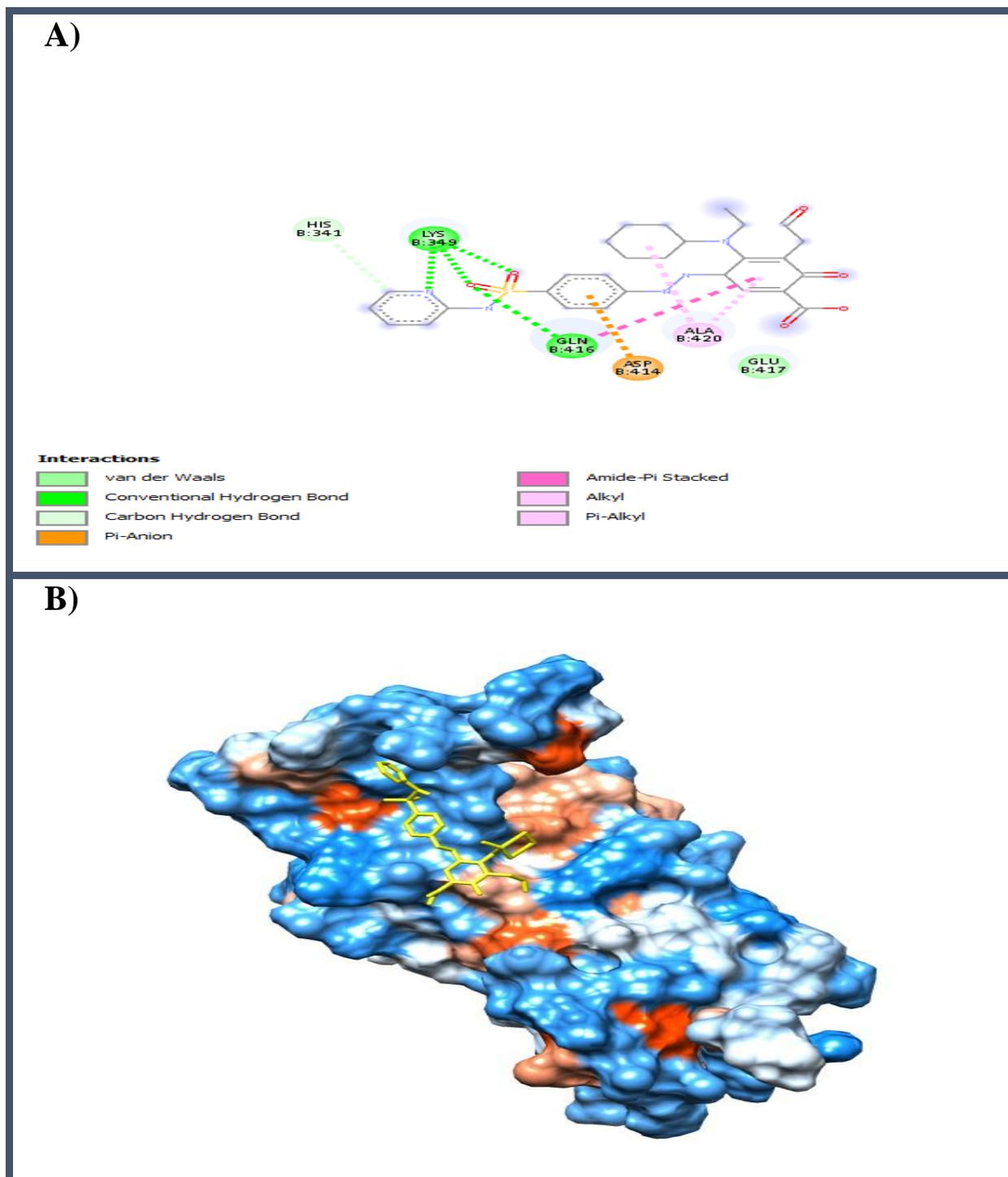
**Figure-07 :** **A)** Interaction 2D de composé portant le code 150943843 avec la protéine 2MJV (-7.0 kcal/mol). **B)** Représentation d'interaction du composé portant le code 150943843 dans le site actif de la protéine 2MJV.

Le composé **139507027** a présenté un score de liaison de -7.0 kcal/mol avec la création de trois liaisons Hydrogène avec les acides aminés (ALA343 - LYS349 -GLN416), une liaison Pi-Anion avec les acides aminés ASP414, et quatre liaisons Pi-Alkyl avec les acides aminés (ARG413 - VAL350 – ALA420 – ARG423) (**Figure-08**) (**Tableau- 03**).



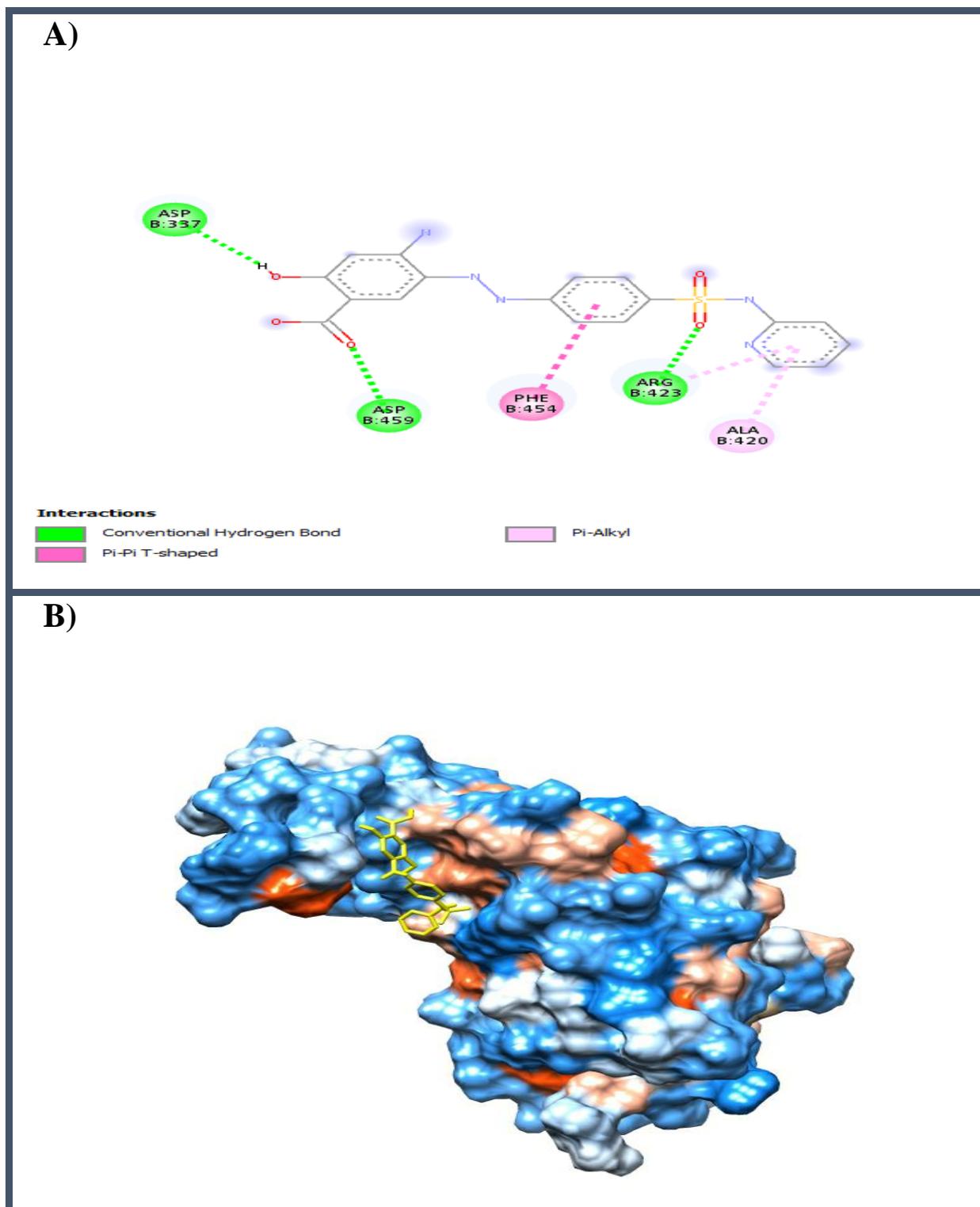
**Figure-08:** **A)** Interaction 2D de composé portant le code 139507027 avec la protéine 2MJV (-7.0 kcal/mol). **B)** Représentation de l'interaction du composé portant le code 139507027 dans le site actif de la protéine 2MJV.

Le composé **149930834** a présenté un score de liaison de -6.9 kcal/mol avec la création d'une liaison carbone avec les acides aminés HIS341, une liaison Van der Waals avec les acides aminés GLU417, une liaison Hydrogène avec les acides aminés LYS343, deux liaisons Amide-Pi Stacked+hydrogène avec les acides aminés GLN416, une liaison Pi-Anion avec les acides aminés ASP414, et deux liaisons Alkyl et Pi-Alkyl avec les acides aminés ALA420 (Figure-09) (Tableau-03).



**Figure-09:** **A)** Interaction 2D de composé portant le code 149930834 avec la protéine 2MJV (-6.9 kcal/mol). **B)** Représentation de l'interactions du composé portant le code 149930834 dans le site actif de la protéine 2MJV.

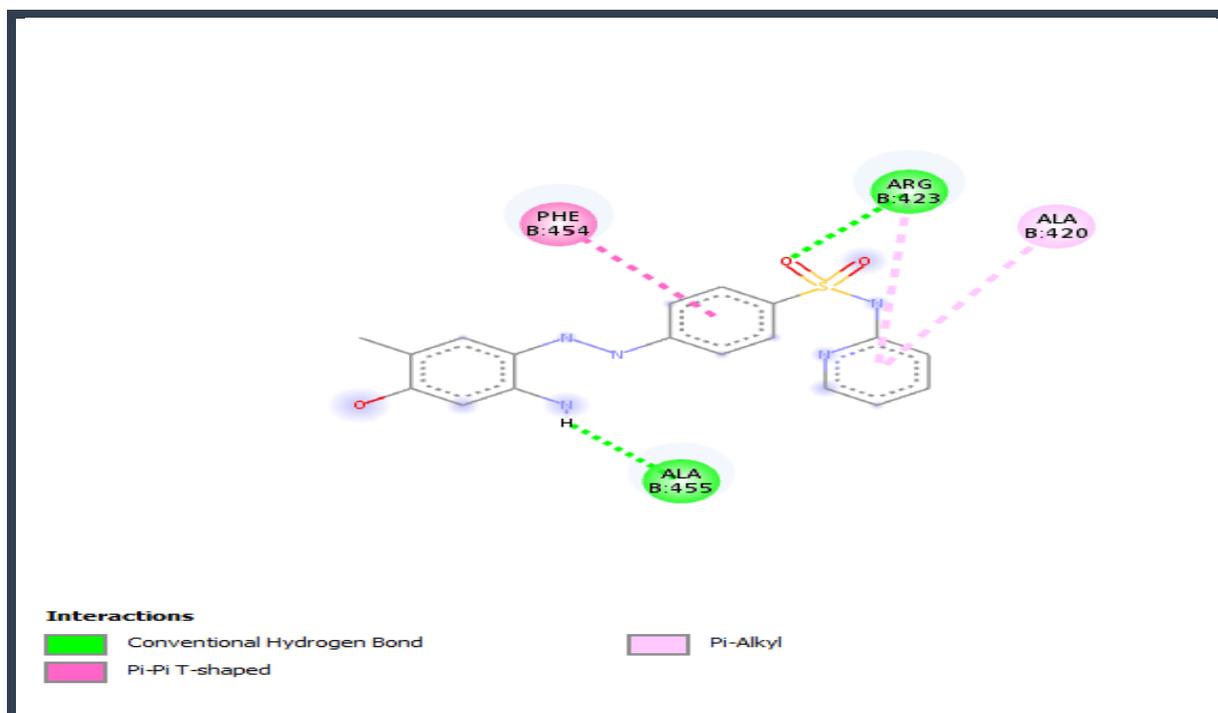
Le composé **145721898** a présenté un score de liaison de -6.9 kcal/mol avec la création de trois liaisons Hydrogène avec les acides aminés (ASP337-ASP45-ARG423), une liaison Pi-Pi T-shaped avec les acides aminés PHE454, et une liaison Pi-Alkyl avec les acides aminés ALA420 (**Figure-10**) (**Tableau-03**).



**Figure-10:** **A)** Interaction 2D de composé portant le code 145721898 avec la protéine 2MJV (-6.9 kcal/mol). **B)** Représentation d'interaction du composé portant le code 145721898 dans le site actif de la protéine 2MJV.

Dans le but de savoir le site de fixation dans la protéine cible 2MJV, nous avons comparé la similitude entre les acides aminés par lesquels le ligand MS436 se fixe avec la protéine 2MJV, et les acides aminés de chacun de 6 composés ayant les meilleures affinités par lesquels ils sont mieux ancrés contre le site actif de la protéine 2MJV.

Le ligand MS436 interagit avec la protéine 2MJV par le biais de 4 résidus d'acides aminés : ARG423, ALA 455, PHE454 et ALA420.



**Figure-11** : Interaction 2D de ligand MS436.

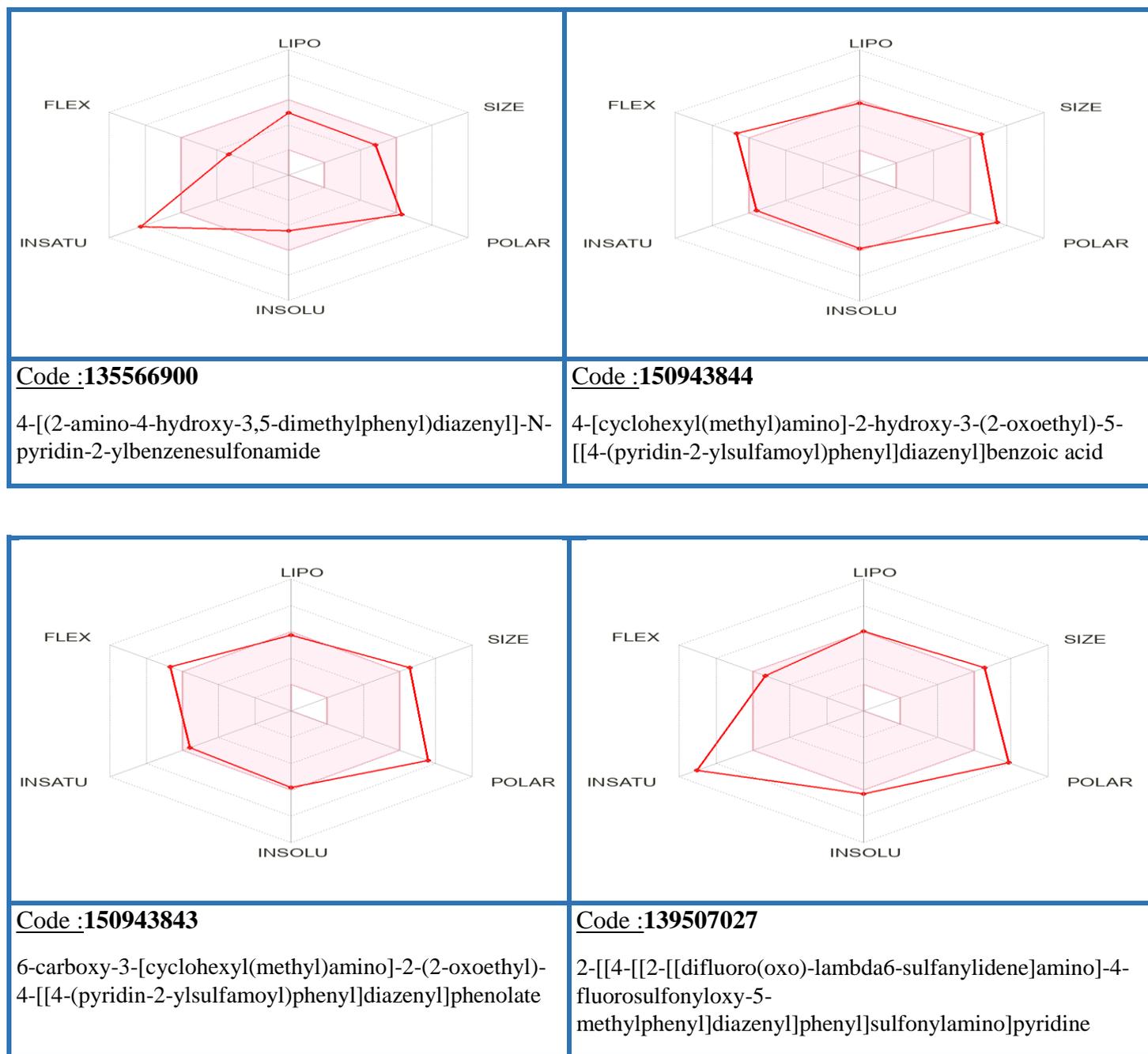
- Les acides aminés en commun avec le composé 135566900 par rapport au ligand MS436 sont : ARG423 - PHE454 - ALA420.
- Pour le composé 150943844, il s'agit d'un seule a.a en commun: ALA420.
- Pour le composé 150943843, il s'agit de 3 a.a en commun : ARG423- ALA455- PHE454.
- Pour le composé 139507027, il s'agit de 2 a.a en commun : ARG423- ALA420.
- Pour le composé 149930834, il s'agit d'un seule a.a en commun: ALA420.
- pour le composé 145721898, il s'agit de 3 a.a en commun : ARG423-PHE454-ALA420.

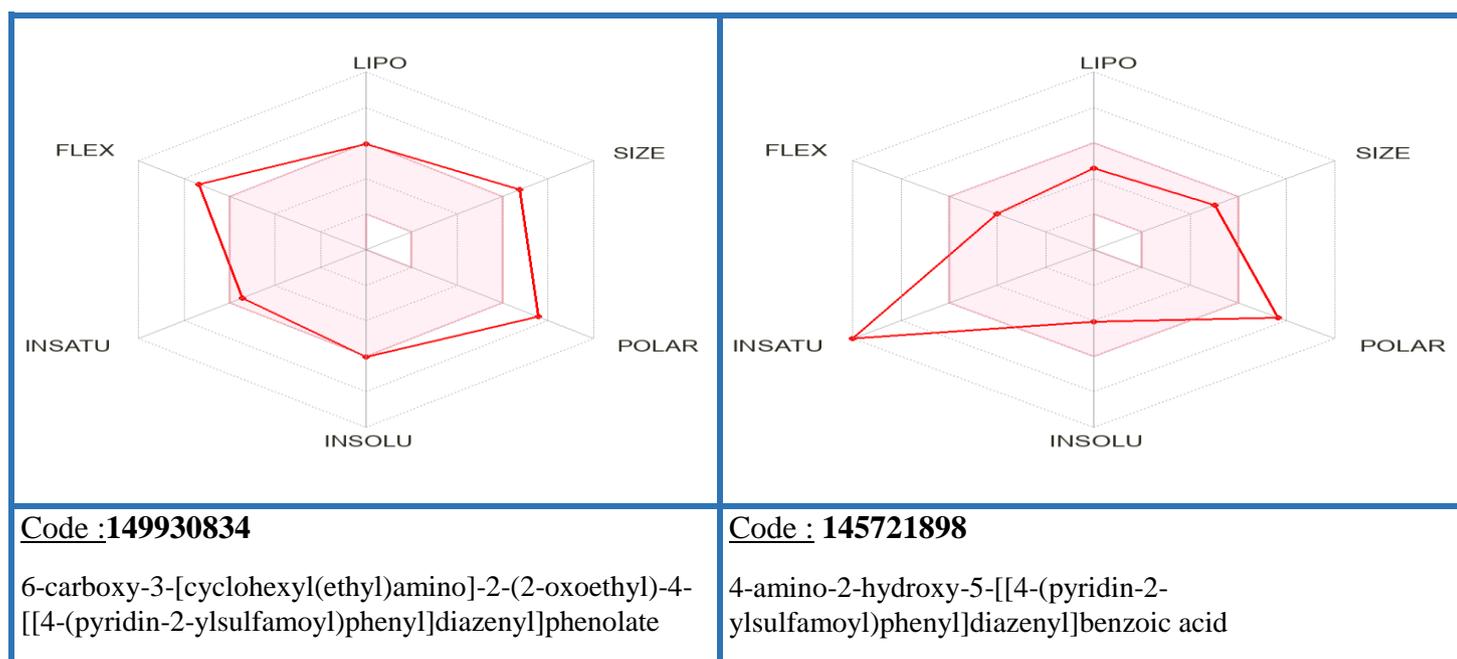
La similitude réside dans les trois acides aminés (**ARG423 - PHE454 - ALA420**) nous permis de suggérer que ces a.a appartient au site de fixation dans la protéine 2MJV. Il est aussi intéressant de noter qu'il ya certains d'acides aminés (ASP459 - ASP414 - VAL350 - PHE450 - GLN416) qui sont présents dans les liaisons de plusieurs ligands, ce qui suggère que ces a.a se trouve proximité de site de fixation.

Pour valider ces composés comme médicaments, il est intéressant d'évaluer leurs paramètres pharmacocinétiques.

Un bon candidat médicament doit être rapidement et complètement absorbé par voie gastro-intestinale, distribué spécifiquement vers son site d'action dans le corps, métabolisé d'une manière à ne pas altérer les fonctions de l'organisme, et éliminé de manière appropriée sans causer des dommages.

Dans ce contexte, les propriétés pharmacocinétiques (ADME) des 6 principaux ligands (**Figures-05-06-07-08-09-10**) ont été évaluées à l'aide de du site Web SwissADME (**figure-12**) en vue de déterminer le potentiel pharmacologique de chacun de ces composés sur la base de la règle de Lipinski (**tableau-04**).





**Figure-12 :** Les propriétés ADME des 6 principaux ligands portant les codes : 135566900,150943844,150943843, 13950702,149930834,145721898.La région rose illustre la gamme optimale pour chaque propriété.

**Tableau-04 :** Propriétés pharmacocinétiques des 6 principaux ligands.

Molécule	LIPO Lipophilicity	SIZE (g/mol)	POLAR(A <sup>2</sup> ) Polarity	INSOLUIn solubility	INSTATUIn saturation	FLEX Flexibility	Lipinski( Pfizer) filter
<b>135566900</b>	3.18	397.5	138.41	-4.45	0.11	5	Yes : 0 violation
<b>150943843</b>	4.54	550.6	172.83	-5.80	0.30	10	No : 2violations MW>500 , N or O>10
<b>149930834</b>	4.91	564.6	172.83	-6.04	0.32	11	No : 2violations MW>500 , N or O>10
<b>139507027</b>	5.09	549.5	181.72	-6.31	0.06	8	No : 2violations MW>500 , N or O>10
<b>145721898</b>	2.53	413.4	175.71	-4.06	0.00	6	Yes : 0 violation
<b>150943844</b>	4.54	551.6	170.00	-5.80	0.30	10	No :2violations MW>500 , N or O>10

La règle de Lipinski, également connue sous le nom de règle 5 ( $MW \leq 500$ ,  $MLOG \leq 4,15$ ,  $N_{OH} \leq 10$ ,  $N_{OH} \leq 5$ ), les diagrammes radar de biodisponibilité obtenus ont été analysés pour leurs propriétés de type médicamenteux, dont la lipophilie (XLOGP3 entre  $-0,7$  et  $+5,0$ ), le poids moléculaire (entre 150 et 500 g/mol), la polarité (entre 20Å et 130Å), l'insolubilité (log S ESOL entre 0 et 6), l'insaturation (fraction Csp3 entre 0.25 et 1) et la flexibilité (entre 0 et 9).

L'objectif de la règle de Lipinski est d'estimer la biodisponibilité par voie orale d'un composé par le biais de sa structure bidimensionnelle, dont le composé qui ne répond pas à au moins trois des cinq critères est susceptible de poser des problèmes d'administration orale[30].

Le tableau 04 montre que parmi les six composés, il y a que les deux portants les codes **135566900** et **145721898** qui ont des propriétés pharmacocinétiques optimales et répondent aux règles de Lipinski. En revanche, tous les autres composés ne satisfont pas leurs propriétés en suivant cette règles des cinq critères ou aux propriétés pharmacocinétiques.

Dans notre travail, nous avons constaté que les deux inhibiteurs **135566900** et **145721898** présentent l'absorption gastro-intestinale la plus élevée, ce qui indique que ces composés pourraient être administré par voie orale sans poser des problèmes.

# **CONCLUSION**

La présente étude consiste à proposer et développer *in silico* des inhibiteurs potentiels qui agissent sur la protéine cible 2MJV ce qui permet de neutraliser la prolifération des cellules cancéreuses causées par la protéine TWIST. Pour la réalisation de cette étude nous avons utilisé le docking moléculaire.

Les résultats de docking basé sur l'énergie de liaison entre la protéine 2MJV et 15 analogues du composé MS436; montrent que les composés 135566900, 150943844, 150943843, 139507027, 149930834, 145721898 sont les six meilleurs inhibiteurs de la protéine 2MJV, et que l'inhibiteur 4-[(2-amino-4-hydroxy-3,5-diméthylphényl)diazenyl]-N-pyridin-2-ylbenzenesulfonamide qui porte le code 135566900 et l'inhibiteur 4-amino-2-hydroxy-5-[[4-(pyridin-2-ylsulfamoyl)phényl]diazenyl]benzoic acid qui porte le code 145721898 présentent les meilleures énergies de liaison (-7.2 kcal/mol et -6.9 kcal/mol), ainsi que des propriétés pharmaceutiques intéressantes ce qui indique que ces deux composés sont des bons candidats médicaments sans effets indésirables pour le traitement du cancer.

# **ANNEXES**

**Tableau-05:** Interactions des ligands les moins ancrés contre le site actif de la protéine 2MJV.

PubChem ID	Liaison	Intéraction
135566899	ARG B :423	Conventional Hydrogen Bond - Pi-Alkyl
	ALA B :455	Conventional Hydrogen Bond
	PHE B :454	Pi-Pi T-shaped
	ALA B :420	Pi-Alkyl
136226511	ARG B :423	Conventional Hydrogen Bond - Pi-Alkyl
	ALA B :455	Conventional Hydrogen Bond
	PHE B :454	Pi-Pi T-shaped
	ALA B :420	Pi-Alkyl
151992001	LYS B :349	Conventional Hydrogen Bond
	GLN B :416	Conventional Hydrogen Bond - Carbon Hydrogen Bond
	ASP B :414	Pi-Anion
	ARG B :413	Alkyl - Pi-Alkyl
	VAL B :350	Alkyl - Pi-Alkyl
	ALA B :343	Alkyl - Pi-Alkyl
	PHE B :450	Alkyl - Pi-Alkyl
	PHE B :454	Alkyl - Pi-Alkyl
	ARG B :423	Alkyl - Pi-Alkyl
	ALA B :420	Alkyl - Pi-Alkyl

151671650	ARG B :423	Conventional Hydrogen Bond - Alkyl - Pi-Alkyl
	SER B :427	Conventional Hydrogen Bond
	GLU B :451	Conventional Hydrogen Bond
	HIS B:396	Pi-Pi T-shaped -Amide-Pi Stacked
	PHE B :454	Pi-Pi T-shaped -Amide-Pi Stacked
	ALA B :420	Alkyl - Pi-Alkyl
	LEU B :424	Alkyl - Pi-Alkyl
150573593	ARG B :423	Conventional Hydrogen Bond - Pi-Alkyl
	ALA B :455	Carbon Hydrogen Bond
	PRO B :458	Carbon Hydrogen Bond
	PHE B :454	Pi-Pi T-shaped
	ALA B :420	Pi-Alkyl
149930835	LYS B :349	Conventional Hydrogen Bond
	GLN B :416	Conventional Hydrogen Bond - Amide-Pi Stacked
	GLU B :417	Conventional Hydrogen Bond
	ASP B :414	Pi-Anion
	ALA B :420	Alkyl - Pi-Alkyl
150573594	ARG B :423	Conventional Hydrogen Bond - Alkyl - Pi-Alkyl
	ASP B :337	Conventional Hydrogen Bond
	PRO B :458	Carbon Hydrogen Bond
	PHE B :454	Pi-Pi T-shaped
	ALA B :420	Pi-Alkyl

151281705	LYS B :346	Conventional Hydrogen Bond
	ASP B :459	Conventional Hydrogen Bond - Unfavorable Acceptor-Acceptor
	LYS B :349	Conventional Hydrogen Bond - Pi-Cation
	ALA B :343	Conventional Hydrogen Bond - Alkyl -Pi-Alkyl
	SER B :338	Carbon Hydrogen Bond - Unfavorable Acceptor- Acceptor
	ARG B :413	Alkyl - Pi-Alkyl
	VAL B :335	Alkyl - Pi-Alkyl
	VAL B :350	Alkyl - Pi-Alkyl
151992002	LYS B :349	Conventional Hydrogen Bond
	GLN B :416	Conventional Hydrogen Bond - Carbon Hydrogen Bond
	ASP B :414	Conventional Hydrogen Bond - Pi-Anion
	ARG B :423	Alkyl - Pi-Alkyl
	PHE B :454	Alkyl - Pi-Alkyl
	PHE B :450	Alkyl - Pi-Alkyl
	ARG B :413	Alkyl - Pi-Alkyl
	VAL B :350	Alkyl - Pi-Alkyl
	ALA B :420	Alkyl - Pi-Alkyl

**Tableau-06 :** Propriétés pharmacocinétiques des ligands ayant les moins faibles énergie de liaison .

<b>Molécule</b>	<b>LIPOLipophilicity</b>	<b>SIZE (g/mol)</b>	<b>POLAR(A<sup>2</sup>) Polarity</b>	<b>INSOLUInsolubility</b>	<b>INSTATU Insaturation</b>	<b>FLEX Flexibility</b>	<b>Lipinski( Pfizer) filter</b>
<b>135566899</b>	2.81	383.4	138.41	-4.15	0.06	5	Yes : 0 violation
<b>136226511</b>	3.44	417.9	138.41	-4.74	0.06	5	Yes : 0 violation
<b>151992001</b>	3.62	510.5	172.83	-4.93	0.21	11	No : 2violations MW>500 , N or O>10
<b>151671650</b>	4.35	538.6	172.83	-5.41	0.27	13	No : 2violations MW>500 , N or O>10
<b>150573593</b>	3.10	496.5	172.83	-4.59	0.17	10	Yes: 1violation : N or O>10
<b>149930835</b>	4.91	565.6	170.00	-6.05	0.32	11	No : 2violations MW>500 , N or O>10
<b>150573594</b>	3.10	497.5	170.00	-4.60	0.17	10	Yes: 1violation : N or O>10
<b>151281705</b>	4.46	539.6	170.00	-5.62	0.27	11	No : 2violations MW>500 , N or O>10
<b>151992002</b>	3.62	511.6	170.00	-4.94	0.21	11	No : 2violations MW>500 , N or O>10

**RÉFÉRENCES  
BIBLIOGRAPHIQUES**

- 1- Tania, Mousumi, Md Khan, and Junjiang Fu. "Epithelial to mesenchymal transition inducing transcription factors and metastatic cancer." *TumorBiology* 35.8 (2014): 7335-7342.
- 2- Ying, Yuan, et al. "Emodin: one main ingredient of ShufengJiedu capsule reverses chemoresistance of lung cancer cells through inhibition of EMT." *Cellular Physiology and Biochemistry* 42.3 (2017): 1063-1072.
- 3- Rondeau, Éric, et al. "La transition épithélio-mésenchymateuse dans le greffon rénal." *Bulletin de l'Académie nationale de médecine* 193.9 (2009): 2005-2015.
- 4- Zang, Chunbao, et al. "IL-6/STAT3/TWIST inhibition reverses ionizing radiation-induced EMT and radioresistance in esophageal squamous carcinoma." *Oncotarget* 8.7 (2017): 11228.
- 5- Merindol, N., et al. "The emerging role of Twist proteins in hematopoietic cells and hematological malignancies." *Blood cancer journal* 4.4 (2014): e206-e206.
- 6- Shi, Jian, Jingying Cao, and Binhua P Zhou. "Twist-BRD4 complex: potential drug target for basal-like breast cancer." *Current pharmaceutical design* 21.10 (2015): 1256-1261.
- 7- Zhu, Qing-Qing, et al. "The role of TWIST1 in epithelial-mesenchymal transition and cancers." *TumorBiology* 37.1 (2016): 185-197.
- 8- Khan, Md, et al. "Twist: a molecular target in cancer therapeutics." *Tumor biology* 34.5 (2013): 2497-2506.
- 9- Firulli, Anthony B., and Simon J. Conway. "Phosphoregulation of Twist1 provides a mechanism of cell fate control." *Current medicinal chemistry* 15.25 (2008): 2641-2647.
- 10- Jacqueroud, Laurent. *Identification et caractérisation des complexes transcriptionnels de la protéine TWIST1 essentiels à la progression tumorale*. Diss. Université Claude Bernard-Lyon I, 2015.
- 11- Selmi, Abdelkader. *Les gènes TWIST: cibles transcriptionnelles des gènes MYC dans le neuroblastome*. Diss. Université Claude Bernard-Lyon I, 2009.
- 12- Qin, Qian, et al. "Normal and disease-related biological functions of Twist1 and underlying molecular mechanisms." *Cell research* 22.1 (2012): 90-106.
- 13- Khanbabaie, Hashem, Ali Teimoori, and Milad Mohammadi. "The interplay between microRNAs and Twist1 transcription factor: a systematic review." *Tumor Biology* 37.6 (2016): 7007-7019.
- 14- Franco, Hector L., et al. "Redundant or separate entities?—roles of Twist1 and Twist2 as molecular switches during gene transcription." *Nucleic acids research* 39.4 (2011): 1177-1186.
- 15- Liu, Ai-ning, et al. "Twist expression associated with the epithelial-mesenchymal transition in gastric cancer." *Molecular and cellular biochemistry* 367.1 (2012): 195-203.
- 16- Khan, Md, et al. "Twist: a molecular target in cancer therapeutics." *Tumorbiology* 34.5 (2013): 2497-2506.
- 17- Gajula, Rajendra P., et al. "The twist box domain is required for Twist1-induced prostate cancer metastasis." *Molecular cancer research* 11.11 (2013): 1387-1400.

- 18-**Puisieux, Alain, and Stéphane Ansieau. "La dissémination précoce de cellules métastatiques-Une nouvelle donnée aux conséquences majeures!." *médecine/sciences* 25.1 (2009): 28-30.
- 19-**Cheng, George Z., Weizhou Zhang, and Lu-Hai Wang. "Regulation of cancer cell survival, migration, and invasion by Twist: AKT2 comes to interplay." *Cancer research* 68.4 (2008): 957-960.
- 20-**Kang, Eunjeong, et al. "The post-translational regulation of epithelial–mesenchymal transition-inducing transcription factors in cancer metastasis." *International Journal of Molecular Sciences* 22.7 (2021): 3591.
- 21-**Kwok, Wai Kei, et al. "Up-regulation of TWIST in prostate cancer and its implication as a therapeutic target." *Cancer research* 65.12 (2005): 5153-5162.
- 22-**Suffness, Matthew. *Taxol: science and applications*. CRC press, 1995.
- 23-**Seo, Jihye, et al. "The role of epithelial–mesenchymal transition-regulating transcription factors in anti-cancer drug resistance." *Archives of pharmacal research* 44.3 (2021): 281-292.
- 24-**Norozi, F., et al. "Twist as a new prognostic marker in hematological malignancies." *Clinical and translational oncology* 18.2 (2016): 113-124.
- 25-** Shi, Jian, et al. "Disrupting the interaction of BRD4 with diacetylated Twist suppresses tumorigenesis in basal-like breast cancer." *Cancer cell* 25.2 (2014): 210-225.
- 26-** Zhang, Guangtao, et al. "Structure-guided design of potent diazobenzene inhibitors for the BET bromodomains." *Journal of medicinal chemistry* 56.22 (2013): 9251-9264.
- 27-**Pettersen, Eric F., et al. "UCSF Chimera—a visualization system for exploratory research and analysis." *Journal of computational chemistry* 25.13 (2004): 1605-1612.
- 28-**Trott, Oleg, and Arthur J. Olson. "AutoDockVina: improving the speed and accuracy of docking with a new scoring function, efficient optimization, and multithreading." *Journal of computational chemistry* 31.2 (2010): 455-461.
- 29-**Studio, Discovery. "Discovery Studio." *Accelrys [2.1]* (2008).
- 30-**Lipinski, Christopher A., et al. "Experimental and computational approaches to estimate solubility and permeability in drug discovery and development settings." *Advanced drug delivery reviews* 23.1-3 (1997): 3-25.