

مطالعه مدل‌سازی مولکولی و آزمایشگاهی مهارکننده‌های پیشنهادی آنزیم لیپاز

سعیده خلیلی^۱، آرمین مددکار سبحانی^۲، عبد الله هلالی^۳، باقر لاریجانی^۳، آزاده ابراهیم حبیبی^{۳*}

چکیده

مقدمه: لیپاز، آنزیم محلول در آب است که هیدرولیز پیوندهای شیمیایی استری در سوبستراهای لیپیدی نامحلول در آب را انجام می‌دهد. لیپاز یک زیر شاخه از استرازاها می‌باشد با توجه به ساختار آنزیم، ترکیبات آروماتیک می‌توانند به عنوان مهارکننده‌های لیپاز پستانداران مطرح باشند و کاربرد آنها به عنوان داروی بالقوه در درمان چاقی است. در این مطالعه بر آن شدیم تا ترکیبات آروماتیکی جدیدی را برای اثرگذاری روی عمل لیپاز بیابیم تمامی ترکیبات مورد استفاده در این تحقیق دارای حداقل یک حلقه فنلی در ساختار خود می‌باشند.

روش‌ها: تاثیر ترکیبات آروماتیک شامل استراگول، یدپامید، وانیلیل نونامید و وانیلیل استون بر فعالیت آنزیم لیپاز پانکراس خوک در حضور سوبسترای صنعتی، پارا نیتروفنیل استات بررسی شد. جهت یافتن جایگاه احتمالی برهم کنش این ترکیبات با آنزیم از روش داکینگ (مدل‌سازی مولکولی) استفاده شد.

یافته‌ها: در حضور سوبسترای پارانیتر و فنیل استات (یک سوبسترای مصنوعی) و ترکیبات فوق وانیلیل نونامید و وانیلیل استون در غلظت پایین‌تر اثر قابل توجهی دارند در حالی که یدپامید مجموعاً تاثیر فعال‌کنندگی نشان می‌دهد و تاثیر استراگول چندان قابل توجه نیست. بنابراین وانیلیل نونامید و وانیلیل استون برای مطالعات بیشتر با استفاده از روش مدل‌سازی مولکولی انتخاب شدند.

نتیجه‌گیری: این نتایج اثر بالقوه وانیلیل نونامید و وانیلیل استون رادر بین ترکیبات فوق در کاهش فعالیت آنزیم نشان می‌دهد، همچنین این مطالعه با توجه به نتایج به دست آمده از روش‌های مدل‌سازی مولکولی وجود محل‌هایی مشابه در آنزیم برای اتصال به «مهارکننده‌ها» را نشان می‌دهد، به گونه‌ای که محل اتصال مهارکننده به آنزیم در جایگاه فعال یا مکانی نزدیک به جایگاه فعال می‌باشد.

واژگان کلیدی: سترگول، یدپامید، وانیلیل نونامید، وانیلیل استون، لیپاز پانکراسی، مهارکننده

۱- گروه زیست شناسی، دانشکده علوم پایه، واحد علوم و تحقیقات دانشگاه آزاد اسلامی، تهران

۲- مرکز تحقیقات بیوشیمی و بیوفیزیک دانشگاه تهران

۳- مرکز تحقیقات غدد/ پژوهشکده علوم غدد و متابولیسم، دانشگاه علوم پزشکی تهران

* **نشانی:** تهران، خیابان کارگر شمالی، بیمارستان دکتر شریعتی، طبقه پنجم، مرکز تحقیقات غدد درون‌ریز و متابولیسم دانشگاه علوم پزشکی تهران، کد پستی ۱۴۱۱۴۱۳۱۳۷ تلفن: ۸۸۲۲۰۰۳۷، نمابر: ۸۸۲۲۰۰۵۲، پست الکترونیک: aehabibi@sina.tums.ac.ir

تاریخ پذیرش: ۹۱/۰۱/۲۸

تاریخ درخواست اصلاح: ۹۱/۰۱/۲۰

تاریخ دریافت: ۹۰/۱۱/۲۶

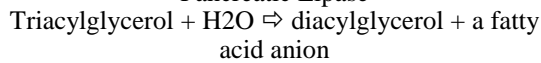
مقدمه

لیپاز (EC ۳.۱.۱.۳) هیدرولیز پیوندهای استری داخلی را در ترکیبات لیپیدی تری اسیل گلیسرول و مشتقات آنها را در موقعیت‌های مشابه به عهده دارد. این آنزیم‌های حفاظت شده متعلق به خانواده استرازاها می‌باشند و در طیف وسیعی از موجودات از آغازیان، پروکاریوت‌ها و یوکاریوت‌ها دیده می‌شوند. گرچه درتوالی ژنی اینها شباهت کمی دیده می‌شود. اما ساختارهای سه بعدی آنها شباهت بسیار زیادی به هم دارند [۱، ۲].

در پستانداران، لیپازها در معده، ترشحات پانکراس و روده باریک دیده می‌شوند. ساختار سه بعدی نوع خوکی و نوع انسانی بسیار به هم شبیه هستند و بنابراین الگوهای واکنش آنها با لیپدها و مهارکننده‌های لیپیدی مشابه است. هضم لیپدها طی مراحل مختلفی در انسان انجام می‌شود. در ابتدا لیپازهای معدی یک هضم جزئی انجام می‌دهند، که سبب شکستن تری‌گلیسریدها به منو و دی‌گلیسریدها می‌شود. وقتی فراورده‌های هضم چربی‌ها به روده باریک وارد می‌شوند، هورمونی به نام کولیسیتوکینین از مخاط روده آزاد می‌شود. این هورمون از راه خون به کیسه صفرا می‌رسد و به انقباض ریتیک آن می‌انجامد و همراه با امواج دودی روده کوچک، به تخلیه کیسه صفرا منجر می‌شود [۳]. کیسه صفرا بر اثر تحریک عصب واگ نیز منقبض می‌شود. صفرا هیچ نوع آنزیم گوارشی ندارد و فقط به اعتبار وجود املاح صفراوی برای هضم اهمیت دارد. اولاً، املاح صفراوی به امولسیون کردن (مخلوط مایع شکل) چربی‌ها کمک می‌کند تا بتوانند با افزایش سطح تماس به کمک لیپازهای روده هضم شوند، و ثانیاً، فراورده‌های نهایی هضم چربی‌ها را به پرزهای روده‌ای حمل می‌کنند تا به راحتی جذب خون شوند. در مرحله بعد با ترشح لیپاز پانکراسی به داخل روده باریک به طور عمده و همچنین لیپاز روده‌ای، تری اسیل گلیسرول‌های روده‌ای به طور گسترده‌ای به اسیده‌های چرب و گلیسرول تبدیل می‌شوند، سپس با تشکیل میسل توسط املاح صفراوی اسیده‌های چرب و منوگلیسریدهای آزاد با بخش چربی میسل ترکیب می‌شوند و از آنجا که قسمت دیگر میسل محلول در آب است فراورده‌ها از خلال لایه موکوسی به

غشای پوشیده از میکروویلی سلول‌های روده می‌رسند و با عبور از این سلول‌ها وارد خون شده و از طریق ورید باب به کبد منتقل می‌شوند [۴].

Pancreatic Lipase



از آنجا که هدف مطالعه حاضر، یافتن ترکیباتی است که در نهایت بر روی لیپاز انسانی مؤثر باشند و لیپاز خوکی هم شباهت زیادی به نوع انسانی دارد، در اینجا صرفاً خصوصیات دو آنزیم لیپاز پانکراتیک انسان و خوگ، بررسی می‌شود. لیپاز پانکراس، شامل یک زنجیره پلی پپتیدی به وزن ۵۰ کیلو دالتون است ساختار کریستالی نشان می‌دهد که لیپاز پانکراس خوگ شامل ۴۴۹ آمینو اسید و دو دمین با عمل ویژه است: دمین N- ترمینال شامل سه تایی کاتالیتیکی آسپارتیک اسید ۱۷۷، هیستیدین ۲۶۴ و سرین ۱۵۳ می‌باشد و از آمینو اسید اتا ۳۳۶ را شامل می‌شود و مسوول هیدرولیز تری‌گلیسرید است. دمین C- ترمینال که با کولیپاز (پروتئین ۱۰ کیلو دالتونی ترشح شده توسط پانکراس) همراه است با توالی مشابه و با دو سایت متمایز شامل ناحیه غنی از تیروزین و ناحیه اتصال آن به لیپاز که غنی از باقیمانده‌های آمینو اسیدی قطبی است) درگیر است از آمینو اسید ۳۳۷ تا ۴۴۹ را شامل می‌شود [۵]. یکی از ویژگی‌های خاص لیپاز پانکراسی این است که سایت کاتالیتیکی آن در محلول در مقایسه با سایر آنزیم‌های دارای سرین کاتالیتیک، در حالت معمول خود برای سوسترها غیر قابل دسترس است. تفاوت لیپاز پانکراس انسان نسبت به خوگ مربوط می‌شود به تشکیل یک هلیکس سطحی که دسترسی به جایگاه فعال را برای لیپاز پانکراسی انسان بلوکه می‌کند. لیپاز پانکراس در آسپاراژین ۱۶۷ گلیکوزیله می‌باشند. که زنجیره گلیکانی دور از جایگاه فعال است و به نظر نمی‌رسد که در فعالیت کاتالیتیکی نقشی داشته باشد سوسترهای طبیعی این آنزیم تری‌گلیسریدها می‌باشند [۶].

سوسترهای صناعی شامل استرهای پارانیتروفنیل اسیل به عنوان سوسترهای کروموزنیک هستند. استفاده از این سوسترها سبب می‌شد تا از آنزیم کمکی استفاده نشود [۷]. تعداد و انواع داروهای لاغری که در کتب مرجع تغذیه معرفی شده‌اند انگشت شمار بوده و به دو دسته

روش های تجربی

این تحقیق با یک سوبسترای صنعتی انجام گرفته است؛ در هر بخش یک مهارکننده متفاوت با آنزیم مشترک لیپاز پانکراس خوک استفاده شده است. بافر مورد استفاده، بافر فسفات حاوی KH_2PO_4 : 100mM و pH : 7.2 ± 0.01 بود.

در این نوع روش سنجش کینتیکی می توان همزمان با پیشرفت واکنش، تغییرات آن را پیگیری و دنبال نمود. این به دلیل آن است که سوبسترا یا محصول رنگی دارند که در اسپکتروفومتر جذب آن خوانده می شود. در استفاده از سوبسترای صنعتی لیپاز چنین امکانی فراهم شده است [۷]. هنگام بررسی اثر ترکیبات روی آنزیم در حضور سوبسترای پارانیتروفنیل- استات محصول پارانیتروفنیل آزاد می شود که در 410 نانومتر جذب دارد. پیگیری آزمایش کینتیک، محاسبه فعالیت، محاسبه K_m و رسم منحنی ها در دستگاه اسپکتروفوتومتر شیمادزو UV-1800 انجام شد. فعالیت باقیمانده نمونه (پس از مجاورت) به صورت درصدی از فعالیت نمونه کنترل بیان شده است. تمام تست ها سه بار انجام شد. SD و CV محاسبه شد و نتایجی با $CV \leq 5/5$ (سوبسترای صنعتی) و $CV \leq 6$ (نشاسته) قابل قبول تلقی شده اند.

داکینگ (Docking)

داکینگ با Auto dock vina انجام شد [۱۳]. فایل 2L3L.pdb ابتدا پردازش شد: مولکول های اضافی همراه آنزیم نظیر حلال حذف شدند و ساختار پروتونه شده برای pH خنثی تنظیم شد. محفظه مکعبی شکلی (Grid box) با ابعاد $68 \times 80 \times 70$ با فضای ۱ آنگسترومی و مرکز مکعب تعریف شد. ۱۰۰ جایگیری برای ترکیبات آروماتیک فوق به دست آمد.

یافته ها

قبلاً از لیپستاتین و مشتق اشباع شده آن اورلیستات اثر مهارتی بر روی لیپاز پانکراتیک مشاهده شده است [۹،۱۲]. در اینجا با توجه به حضور گروه آروماتیک در جایگاه فعال

اصلی و البته چند زیرگروه فرعی تقسیم می شوند. گروه اول داروهای ضد اشتها هستند که با تحریک تولید هورمون های سروتونین و سایر کاته کولامین ها باعث مهار مرکز اشتها می شوند. این داروها عوارضی چون افزایش فشارخون، افزایش ضربان قلبی و اضطراب داشته و گزارش شده است که در نهایت در صورت مصرف بی رویه سبب سکتته های قلبی یا مغزی می شوند [۸]. گروه دوم داروهایی هستند که باعث جلوگیری از جذب چربی در دستگاه گوارشی می شوند. این داروها تاثیری در جذب کربوهیدرات ها ندارند و فقط جذب ۳۰ درصد از چربی های مصرف شده را مهار می کنند. [۹]. ترکیبات طبیعی مهار کننده لیپاز به عنوان مثال در گیاهان یافت شده اند (ترکیبات پلی فنلی) [۱۰،۱۱]. لیپستاتین و اورلیستات از داروهای مهار کننده لیپاز هستند که با برقراری پیوند کووالان با جایگاه فعال آنزیم آن را به صورت برگشت ناپذیر مهار می کنند [۹،۱۲]. فرضیه ای که به عنوان پشتوانه این تحقیق قرار گرفته است، احتمال بروز عوارض جانبی کمتر در صورت استفاده از ترکیبات مهار کننده غیر کووالان است، و ترکیبات آروماتیک مختلف با این دیدگاه مورد مطالعه قرار گرفته اند.

روش ها

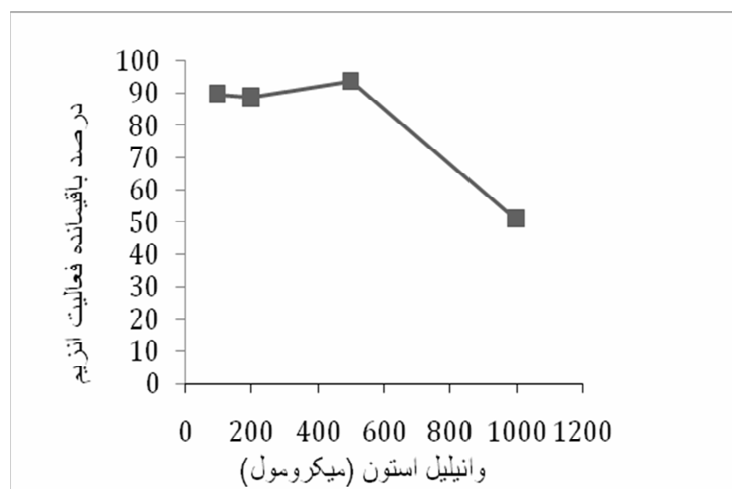
وسایل و تجهیزات شامل اسپکتروفوتومتر شیمادزو UV-1800، ترازوی آنالیتیک، دستگاه pH متر Jenway، هیتر استیرر و نرم افزارهای مورد استفاده شامل MOE 2010.10، Auto Dock Vina، MGL TOOLS می باشند.

مواد

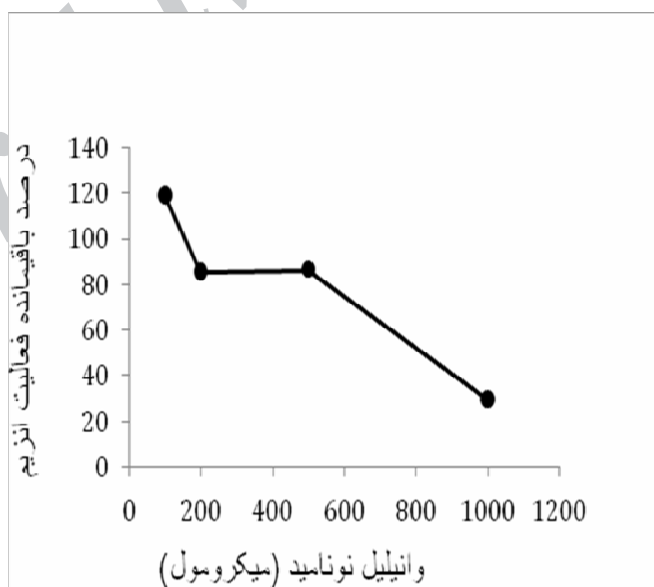
فسفات پتاسیم KH_2PO_4 ، هیدروژن کلرید، هیدروکسید سدیم، محلول دی متیل سولفوکساید (DMSO)، از مرک (Merck; Darmstadt) تهیه شده اند و لیپاز پانکراتیک خوک (PPA)، پارانیتروفنیل استات (PNPA)، متانول، استراگول، یدپامید، وانیلیل نونامید، وانیلیل استون، تایمول، نوردی هیدرو گوارتیک اسید از شرکت سیگما (Sigma, St Louis) خریداری شده اند.

شده است. غلظت های مختلف این ترکیبات با آنزیم مجاور شدند و جذب محصول به عنوان نشانگر فعالیت آنزیم پیگیری شد و بر اساس آن فعالیت آنزیم محاسبه شد. نمونه کنترل با فعالیت صد در صد و بقیه فعالیت شان به نسبت کنترل محاسبه شد. در مورد وانیلیل استون و وانیلیل نونامید با افزایش غلظت، میزان فعالیت آنزیم کاهش می یابد و این کاهش فعالیت در مورد وانیلیل نونامید محسوس تر و مناسب تر است (شکل ۱ و ۲).

آنزیم (هیستیدین ۲۶۴) و احتمال بر هم کنش ترکیبات آروماتیک دیگر با این گروه، اثر تعدادی از مشتقات آروماتیک مشابه بر روی فعالیت لیپاز بررسی شد. اولین سری آزمایش ها با استفاده از سوبسترای صناعی پارا نیترو فنیل استات انجام شد. در بعضی غلظت های ترکیبات فوق، اثری مهاری بر فعالیت آنزیم مشاهده شد. غلظت های مورد استفاده به طور متوسط از ۱۰۰ تا ۱۰۰۰ میکرومولار از همه لیگاندها انتخاب شدند تا اثر آنها در حضور سوبسترای صناعی بررسی شوند. نتایج در شکل های ۱-۴ نشان داده

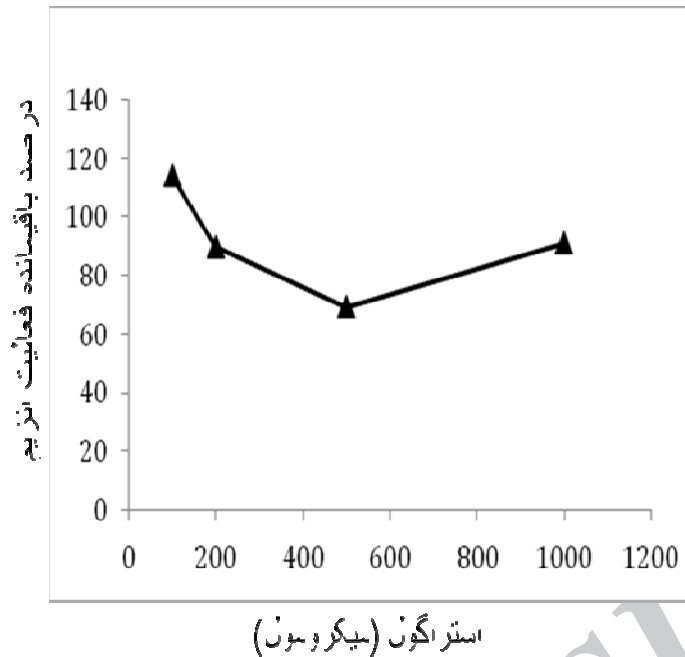


شکل ۱- تاثیر غلظت های مختلف وانیلیل استون بر لیپاز



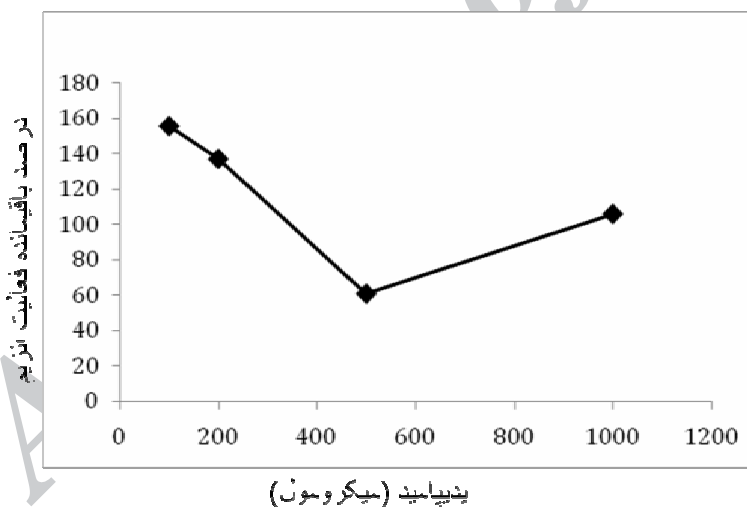
شکل ۲- تاثیر غلظت های مختلف وانیلیل نونامید بر لیپاز

در مورد استراگول، کاهش فعالیت آنزیم تا حدود ۸۰٪ فعالیت اول آن دیده می شود (شکل ۳)



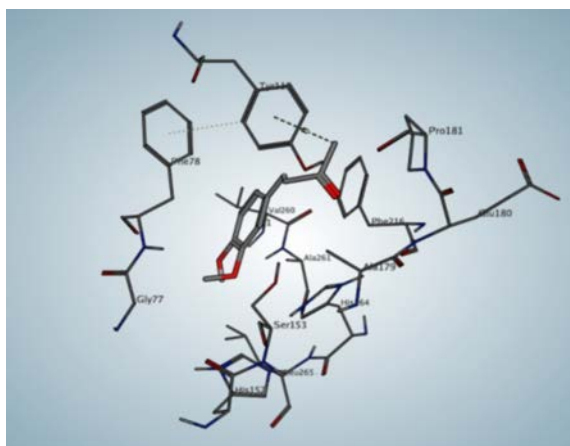
شکل ۳- تاثیر غلظت‌های مختلف استراگونول بر لیپاز

در مورد یدپامید، در غلظت‌های پایین‌تر، افزایش فعالیت آنزیم مشاهده می‌شود، و با افزایش غلظت ترکیب، تاثیر مهاری مختصری بوجود می‌آید (شکل ۴)

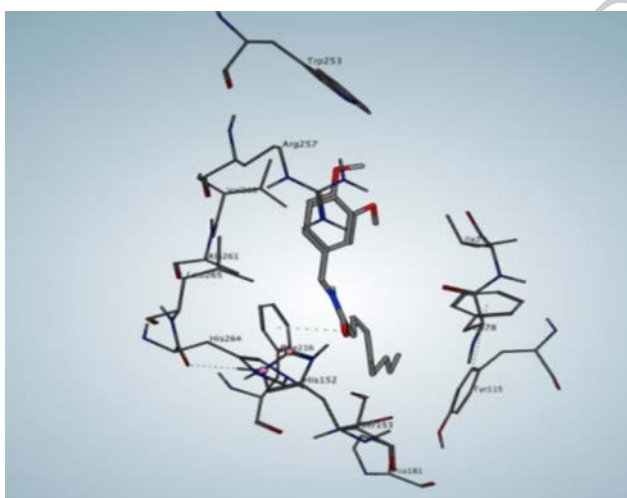


شکل ۴- تاثیر غلظت‌های مختلف یدپامید بر لیپاز

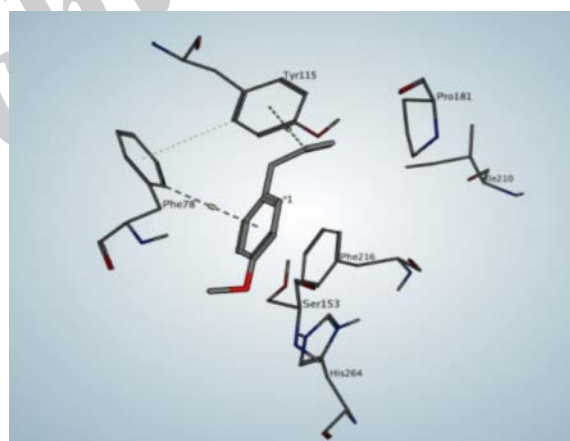
برای درک چگونگی تعامل ترکیبات آروماتیک فوق بر لیپاز، داکینگ انجام شد. با استفاده از روش داکینگ، بدون تعریف محلی خاص برای اتصال لیگاند برای نرم‌افزار، محل اتصال احتمالی در سطح آنزیم پیدا شد. محل فرضی اتصال لیگاندها در این محل در شکل نشان داده شده‌اند (شکل ۸-۵).



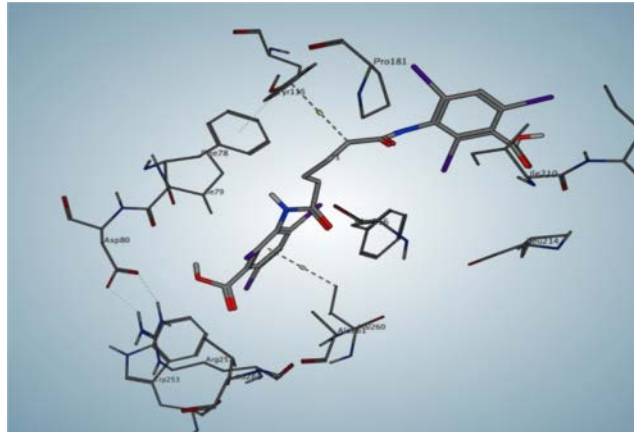
شکل ۵- برهم کنش های احتمالی وانیلیل استون با لیپاز



شکل ۶- برهم کنش های احتمالی وانیلیل نونامید با لیپاز



شکل ۷- برهم کنش های احتمالی استراگول با لیپاز



شکل ۸- برهم کنش‌های احتمالی یدیپامید با لیپاز

بحث

قرار گیرد مهارکننده بسیار خوبی به شمار می‌رود اما مطالعات آزمایشگاهی نشان داد که تاثیر این ترکیب بر روی آنزیم وابسته به غلظت نیست. همچنین در مطالعه انجام گرفته اسید آمینه کلیدی در برهمکنش با مهارکننده فنیل آلانین ۷۸ می‌باشد این ترکیب همچنین دارای برهمکنش با تیروزین ۱۱۵، فنیل آلانین ۲۱۶، هیستیدین ۲۶۴ نیز می‌باشد. وانیلل استون هم مانند استراگول مولکول کوچکی است و تقریباً در وضعیت مشابهی نسبت به آن به سر می‌برد اما این ترکیب دارای تاثیر قوی‌تری است و احتمال دارد که در غلظت‌های بالاتر بتواند تاثیر مهارکنندگی بیشتری نشان دهد. در مدل‌سازی مولکولی برهمکنش این ترکیب با تیروزین ۱۱۵ از آنزیم مشاهده می‌شود. در یدیپامید با وجود بزرگ بودن لیگاند و داشتن ۲ حلقه بنزنی دارای ۶ گروه ید است که طبق نتیجه داکینگ، در معرض حلال و برهمکنش با آن قرار می‌گیرد. در مدل‌سازی مولکولی برهمکنش آن با والین ۲۶۰ و تیروزین ۱۱۵ مشاهده می‌شود. وانیلل نونامید هم دارای برهمکنش با مولکول‌های حلال است اما اثر آن وابسته به دوز بوده و در مدل‌سازی مولکولی برهمکنش آن با فنیل آلانین ۲۱۶ مشاهده می‌شود. به نظر می‌رسد وانیلل نونامید و وانیلل استون دارای اثر مهاری محسوس‌تری نسبت به دو ترکیب دیگر بر روی آنزیم لیپاز می‌باشند به نظر می‌رسد دلیل این موضوع به نحوه جایگیری این دو ترکیب در جایگاه فعال آنزیم و برهمکنش مناسب با آمینو اسیدهای این جایگاه است. در مدل‌سازی مولکولی انجام شده این دو ترکیب برای مطالعه اثر مهاری آنها بر روی آنزیم همانطور که در

ترکیبات دارای ساختار آروماتیک به عنوان موثر در کاهش وزن گزارش شده‌اند و در برخی موارد احتمال داده می‌شود این ترکیبات بواسطه کاهش بیان آنزیم‌های مرتبط با متابولیسم چربی‌ها این نقش را ایفا کنند (۱۴، ۱۵). ترکیب دیگری که اخیراً به عنوان مهارکننده لیپاز مطرح شده‌اند ترکیبات تریپنی موجود در جینکو بیلوبا می‌باشند (۱۶). لیکن به نظر نمی‌رسد در مورد ترکیبات ساده آروماتیک نظیر استراگول و وانیلل نونامید گزارشی در مورد تاثیر مهارکنندگی بر آنزیم لیپاز موجود باشد. بررسی بیشتر در مورد محل برهم کنش احتمالی این ترکیبات با آنزیم می‌تواند در پیشنهاد ترکیبات بالقوه موثرتر کمک کننده باشد. ناحیه‌ای که با روش داکینگ یافت شده است، نزدیک به جایگاه فعال سه تایی کاتالیتیک آنزیم است، که محل اتصال مهارکننده‌های گزارش شده آنزیم لیپاز نیز می‌باشد [۱۷]. هر ترکیب مهارکننده با پیوندهای هیدروژنی و هیدروفوبیک به جایگاه فعال لیپاز متصل می‌شود. تقریباً در مورد تمامی مهارکننده‌های پیشنهادی اسیدهای آمینه مشابه‌ای در برهمکنش با آنزیم عمل می‌کنند. به عنوان مثال آمینو اسیدهای تیروزین ۱۱۵، فنیل آلانین ۲۱۶، فنیل آلانین ۷۸ و همچنین در بعضی موارد هیستیدین ۲۶۴ در اطراف لیگاند و در برهمکنش با آن قرار دارد.

استراگول از جهت اینکه اندازه کوچکی دارد و با امکان چرخش حلقه می‌تواند در جایگاه بهتری در ساختار آنزیم

برگشت ناپذیری این نوع مهار بر روی آنزیم فوق مستلزم مطالعات آزمایشگاهی دقیق تر می باشد.

مطالعه حاضر احتمال تاثیرگذاری ساختارهای آروماتیک کوچک را به عنوان مهارکننده های آنزیم لیپاز نشان داده است. با توجه به تفاوت موجود بین نحوه تاثیر وانیلیل استون و وانیلیل نونامید می توان احتمال داد که اندازه و گروه جانبی موجود در وانیلیل نونامید بتواند دلیل تاثیر بیشتر آن بر آنزیم لیپاز باشد. لذا انجام مطالعات بیشتر بر مشتقات این ترکیب گام بعدی در این سلسله تحقیقات خواهد بود.

سپاسگزاری

این مطالعه در قالب یک طرح مرکز تحقیقات غدد و متابولیسم دانشگاه علوم پزشکی تهران انجام شده است.

شکل ۲ نشان داده شده است آمینو اسیدهای فنیل آلانین ۲۱۶، والین ۲۶۰، سرین ۱۵۳، هیستیدین ۲۶۴ و فنیل آلانین ۷۸ در مورد وانیلیل استون در جایگاه مناسبی نسبت به این لیگاند قرار گرفته اند و به نظر می رسد در صورتی که آنزیم در مدت زمان بیشتری در معرض مهارکننده قرار بگیرد با تغییر موقعیت قرارگیری آن نسبت به آنزیم امکان برقراری پیوند با هر یک از آمینو اسیدهای فوق وجود دارد در مورد وانیلیل نونامید نیز آمینو اسیدهای والین ۲۶۰، سرین ۱۵۳، هیستیدین ۲۶۴ و فنیل آلانین ۷۸ در موقعیت نسبتاً مناسبی نسبت به لیگاند قرار دارند و این احتمال وجود دارد که در اثر گذشت زمان با تغییر موقعیت جایگیری مهارکننده نسبت به آنزیم با هریک از آمینو اسیدهای فوق پیوند برقرار کنند. این موضوع یعنی قرارگیری مناسب این آمینو اسیدها در فاصله مناسب با مهارکننده در مورد سایر مهارکننده های مطالعه شده مشاهده نشد. اما مطالعه و بررسی برگشت پذیری و یا

مأخذ

- Colin DY, Deprez-Beauclair P, Allouche M, et al. (2008). "Exploring the active site cavity of human pancreatic lipase.". *Biochem Biophys Res Commun* 2008; 370 (3): 394-8.
- Bier M., (1955). Lipases. In: S.P. Colowick, N.O. Kaplan (Editors). *Methods in Enzymology Academic Press* 1955; 627-642.
- Lowe ME (1997). "Structure and function of pancreatic lipase and colipase." *Annu Rev Nutr* 1997; 17: 141-58.
- Terzyan S, Wang, C, Downs B (2000) Crystal structure of the catalytic domain of human bile salt activated lipase. *Protein Sci* 2000; 9:1783-90.
- Chahinian H, Sias B, Carriere F (2000). "The C-terminal domain of pancreatic lipase: functional and structural analogies with C2 domains." *Curr Protein Pept Sci* 2000; 1: 91-103.
- Benkouka F, Guidoni AA, De Caro JD, Bonicel JJ, Desnuelle PA, Rovey M Porcine Pancreatic Lipase. *European Journal of Biochemistry* 1982; 28:331-341.
- Sémériva, M., Chapus, C., Bovier, C., Desnuelle, P. The transient formation of an acetyl enzyme intermediate during the hydrolysis of para-nitrophenyl acetate by pancreatic lipase. *Biochemical and Biophysical Research Communication* 2006; 58:28-38.
- Scheen AJ. Cardiovascular risk-benefit profile of sibutramine. *Am J Cardiovasc Drugs* 2010; 10:321-34.
- Heck AM; Yanovski JA; Calis KA. Orlistat, a new lipase inhibitor for the management of obesity. *Pharmacother* 2000; 20:270-279.
- McDougall, G.J. and Stewart, D. The inhibitory effects of polyphenols on digestive enzymes. *Biofactors* 2005; 23:1-7.
- McDougall, G.J., Kulkarni, N. and Stewart, D. Berry polyphenols inhibit pancreatic lipase activity *in vitro*. *Food Chemistry* 2009; 115:193-199.
- Weibel EK, Hadvary P, Hochuli E, Kupfer E, Lengsfeld H. Lipstatin, an inhibitor of pancreatic lipase, produced by *Streptomyces toxytricini*. I. Producing organism, fermentation, isolation and biological activity. *International Journal of Obesity* 1987; 40:1081-1085.
- Trott O, Olson AJ AutoDock Vina: improving the speed and accuracy of docking with a new scoring function, efficient optimization, and multithreading. *J Comput Chem* 2010; 31:455-461.
- Ikarashi N, Toda T, Okaniwa T, Ito K, Ochiai W, Sugiyama K. Anti-Obesity and Anti-Diabetic Effects of Acacia Polyphenol in Obese Diabetic KKAY Mice Fed High-Fat Diet *Evid Based Complement Alternat Med* 2011; 2011; 952031
- Lee MS, Kim CT, Kim Y. Green tea (-)-epigallocatechin-3-gallate reduces body weight with regulation of multiple genes expression in

- adipose tissue of diet-induced obese mice. *Ann Nutr Metab* 2009; 54:151-7.
16. Bustanji, Y., Ihab, M., Mohamad, M., Hudaib, M., Tavaha K.H. Pancreatic Lipase Inhibition Activity of Trilactone Terpenes of Ginkgo biloba. *Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry* 2010; 26:453-459.
17. Hermoso J, Pignol D, Kerfelec B, Crenon I, Chapus C, Fontecilla-Camps JC. Lipase activation by nonionic detergents. The crystal structure of the porcine lipase-colipase-tetraethylene glycol mono-octyl ether complex. *J Biol Chem* 1996; 271:18007-18016.

Archive of SID