

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
وزارة التعليم العالي و البحث العلمي
MINISTRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE
جامعة عمار تليجي بالأغواط
UNIVERSITE AMAR TELIDJI LAGHOUAT

كلية العلوم
FACULTE DES SCIENCES
قسم البيولوجيا
DEPARTEMENT DE BIOLOGIE



Mémoire

En vue de l'obtention du diplôme de Master

Filière: Sciences Biologiques

Option: Biochimie Appliquée

THEME

**Étude *in silico* et *in vitro* de l'effet inhibiteur de
quelques médicaments anti-inflammatoires sur la
lipase**

Présenté par :

ABDELALIM Fatima Zahra

CHELLALI Khadidja Nour El yakine

Devant le jury:

Présidente : NEBEG Halima (MAA)

Examinatrice : BENGUECHOUA Madjeda (MCB)

Rapporteur : BENAROUS Khedidja (MCA)

Co-Rapporteur : NIA Samira (MCB)

Soutenu publiquement le :13 juin 2019.

Dédicaces

Avec beaucoup de gratitude et un cœur plein de plaisir, je dédie ce modeste travail à mes parents, je n'oublie pas tous les sacrifices réalisés pour que je puisse de telles études, vous avez toujours cru en moi alors que mon parcours scolaire était assez chaotique et j'ai atteint ce point grâce à eux.

À ma mère bien-aimée, la lumière de mes jours, ma reine qui a partagé avec moi mes moments difficiles et heureux avec toute sa force et ses encouragements pour moi.

À mon précieux père, mon roi qui fait scintiller et briller mon monde, mon héros et ma source de force et de joie, grâce à toi, je peux tout surmonter.

Ce travail clôture mes longues années d'étude, durant lesquelles vous m'avez donné la force de ne rien lâcher et de toujours repousser mes limites, j'espère pouvoir vous rendre fiers et ne jamais vous décevoir.

À mes chers grands frères, j'apprécie tout ce qu'ils ont fait pour moi, merci d'être à mes côtés toujours je suis reconnaissante pour cela sincèrement.

À mes jeunes frères qu'ils ont m'a également aidé tout à sa manière.

À chaque personne que j'ai trouvée à mes côtés pendant les difficultés.

À ma grande famille.

À tous ceux que j'aime et à tous ceux que m'aiment.

Fatima.Z

Dédicaces

Avec l'aide d'Allah, j'ai pu réaliser ce travail que je dédie :

A la mémoire de mon père que dieu lui apporte ses indulgences

A ma mère qui m'a soutenu et encouragé durant ces années d'études.

A mes frères et sœurs pour tout leur soutien moral et leur amour et affection

A tous mes amis pour les souvenir des plus beaux instants

A tous ceux que j'aime et qui m'aiment.

Merci

Khadija

Remerciements

Avant toute chose, nous remercions Allah, le tout puissant, pour nous avoir donné la force et la patience pour mener à terme ce travail.

En premier lieu, nous tenons à remercier notre rapporteur Dr. BENAROUS Khedidja, pour avoir accepté de diriger ce travail, de nous avoir toujours soutenus, et mis à notre disposition tout le matériel nécessaire afin de réaliser cette étude, ainsi que pour son aide et ses conseils.

Nos remerciements vont conjointement au Dr. NIA Samira, pour sa gentillesse et pour l'aide qu'elle nous a apportée au cours de ce travail.

Nous tenons également à remercier les membres de jury pour avoir accepté de lire et examiner notre travail.

Nos profondes reconnaissances à M. Abderrahmane LINANI pour l'accueil au sein de laboratoire. Sans oublier l'ensemble des enseignants du département de biologie, qui nous ont soutenu et dirigé durant notre parcours à L'université.

Nos remerciements sincères et profonds à nos familles et à toute la promotion.

RÉSUMÉ :

Le présent travail a pour objectif, de mettre en évidence l'effet inhibiteur *in vitro* et *in silico* de six médicaments anti-inflammatoires sur l'activité enzymatique de la lipase. Les médicaments utilisés sont : le celecoxib, l'aspirine DL-lysine, l'acide niflumique, le naproxen sodique, l'ibuprofène et le bétaméthasone. Ce dernier est le seul qui représente un effet d'inhibition important avec une valeur d'IC₅₀ de 0,36±0,01 mg/ml tandis que les autres médicaments représentent un effet inhibiteur très faible avec des valeurs d'IC₅₀ > 2 mg/ml. Ces expériences ont montré que le bétaméthasone peut être utilisé dans le traitement de l'obésité et autres maladie liées à l'activité de la lipase. Le Docking moléculaire est effectué en utilisant l'autodock vina pour ces médicaments, et deux enzymes lipase de *Candida rugosa* et lipase pancréatique humaine, cela nous a permis à comprendre les interactions inhibiteur-enzymes et de confirmer les résultats obtenus *in vitro*.

Mots clés : Lipase, inhibition, IC₅₀, anti-inflammatoires, Docking moléculaire, autodock vina, *Candida rugosa*, lipase pancréatique humaine.

Liste des figures

Figure 1. Représentation de la structure 3D de la lipase (images réalisés par le PyMol).	6
Figure 2. Acné inflammatoire du visage : papules et papulo-pustules.....	6
Figure 3. Image de <i>Propionibacterium acnes</i> par microscope atomique associé à un microscope optique inversé à l'échelle 512 pixels par ligne (Mak et al., 2013).....	7
Figure 4. Photos de <i>H. pylori</i> prises en microscopie électronique à l'échelle 1 µm. A. Une bactérie <i>H. pylori</i> , B. Amas de <i>H. pylori</i> au niveau des cellules épithéliales gastriques (Tan et al., 2009).....	8
Figure 5. Le mécanisme d'inhibition de la lipase pancréatique humaine par l'Orlistat (Benarous., 2014).....	10
Figure 6. Coupe transversale d'une artère avec athérome visible dans la partie supérieure. (Thanassoulis et Afshar, 2017).....	11
Figure 7. Structures 2D des médicaments étudiés obtenu de la PubChem (dessiné par le logiciel Chemdraw professionnel v16).	17
Figure 8. Schéma réactionnel de l'hydrolyse de p-NPL par la lipase de <i>C. rugosa</i>	18
Figure 9. Représentation graphique de l'inhibition de la bétaméthasone de la réaction catalysée par la lipase de <i>C. rugosa</i>	22
Figure 10. Représentation de la meilleure pose obtenue par Docking de l'aspirin DL-lysine dans la lipase de <i>C. rugosa</i>	29
Figure 11. Représentation de la meilleure pose obtenue par Docking de célécoxib dans la lipase de <i>C. rugosa</i>	29
Figure 12. Représentation de la meilleure pose obtenue par Docking de Bétaméthasone dans la lipase de <i>C. rugosa</i>	30
Figure 13. Représentation de la meilleure pose obtenue par Docking de Naproxen sodique dans la lipase de <i>C. rugosa</i>	30
Figure 14. Représentation de la meilleure pose de Docking de l'acide nuflimique dans la lipase de <i>C. rugosa</i>	31
Figure 15. Représentation de la meilleure pose de Docking de l'Ibuprofène dans la lipase de <i>C. rugosa</i>	31
Figure 16. Représentation de la meilleure pose obtenue par Docking pour l'aspirine DL-lysine dans la lipase pancréatique humaine (LPH).....	35
Figure 17. Représentation de la meilleure pose obtenue par Docking pour le célécoxib dans la LPH.....	35
Figure 18, Représentation de la meilleure solution obtenue par Docking pour le Bétaméthasone dans LPH.	36
Figure 19. Représentation de la meilleure pose obtenue par Docking pour Naproxen sodique dans la LPH.	36
Figure 20. Représentation de la meilleure pose obtenue par Docking pour l'acide niflumique dans LPH.....	37
Figure 21. Représentation de la meilleure pose obtenue par Docking pour l'ibuprofène dans la LPH.	37

Liste des tableaux

Tableau 1. Anti inflammatoires, leur utilisation et mécanisme d'action.	15
Tableau 2. Valeurs d'IC ₅₀ des médicaments anti inflammatoires.....	23
Tableau 3. Valeurs d'IC ₅₀ pour quelques molécules selon la littérature sur la lipase de <i>C. rugosa</i>	23
Tableau 4. Acides aminées impliquées, les types d'interactions, Énergie d'affinité, taux de répétition, et les distances des liaisons hydrogènes de nos médicaments.....	26
Tableau 5. Acides aminées impliquées, types d'interactions, Énergie d'affinité, taux de répétition, distances des liaisons hydrogènes des médicaments.	33

Liste des abréviations

AGL : les acides gras libres

AINS : anti-inflammatoire non stéroïdiens

BMI : Body Masse Index

COX : cyclooxygénase

HPL : Human pancreatic lipase

IC₅₀ : la concentration nécessaire d'inhibiteur pour réduit l'activité enzymatique à 50%

IMC : indice de la masse corporelle

IOTF : international obesity task force

LCR : la lipase de *Candida rugosa*

OMS : organisation mondiale de la santé

TG: triglycérides

PDB: Protein Data Bank

PL : la lipase pancréatique humaine

p-NPL : Para-nirophényl laurate

Table des matières

<i>Introduction générale</i>	1
<i>Synthèse bibliographique</i>	4
1. Généralité sur les lipases :	5
2. maladies causées par la lipase :	6
2.1. Acné par la lipase de <i>Propionibacterium acnes</i> :	6
2.2. Ulcère par la lipase de <i>Helicobacter pylori</i> :	8
2.3. Obésité par la lipase pancréatique humaine :	9
3. Anti-inflammatoires :	12
3.1. Anti-inflammatoires stéroïdiens :	12
3.2. Anti-inflammatoires non stéroïdiens :	12
<i>Matériels et méthodes</i>	14
I. Matériels	15
1. médicaments anti inflammatoires :	15
2. Matériel chimique :	17
II. Protocole expérimentale :	18
1. Activité enzymatique de la lipase de <i>Candida rugosa</i> :	18
2. Tests d'inhibition de l'activité de la lipase :	18
3. Docking moléculaire :	19
4. Analyse statistique :	20
<i>Résultats et discussion</i>	21
1. Inhibition de la réaction catalysée par la lipase :	22
2. Docking moléculaire des inhibiteurs	25
i. Docking des inhibiteurs sur la lipase de <i>Candida rugosa</i> :	25
ii. Docking des inhibiteurs dans la lipase pancréatique humaine (LPH) :	32
<i>Conclusion générale</i>	38
<i>Références bibliographiques</i>	40

Introduction générale

La prévalence de l'obésité et le surpoids a considérablement augmenté dans les pays développés et en développement, en raison du mode de vie moderne et de la consommation accrue de régimes alimentaires riches en graisses et en sucres. L'obésité et le surpoids sont systématiquement associés aux niveaux élevés du glucose dans le sang et de lipides qui sont des facteurs de risques importants pour le développement des maladies métaboliques, notamment l'hypertension, l'artériosclérose.

Au cours des trente dernières années, des nombreux efforts ont été déployés pour trouver des cibles plus prometteuses ou des médicaments pratiques pour le traitement de l'obésité. L'une des stratégies pratiques de prévention de l'obésité consiste à réduire la digestion et l'absorption des graisses par les organes digestives (**Liu et al., 2018**).

L'athérosclérose est une pathologie aux débuts insidieux, elle touche tous les individus sans distinction de race, de sexe ou de milieux sociaux. En effet , par le passé les populations moins aisées étaient épargnées mais avec l'augmentation de l'obésité et de la sédentarité, cette pathologie devient universelle (**Clément, 2017**).

Les lipases (triacyl glycérol hydrolases EC: 3.1.1.3) sont des sérines hydrolases atypiques (Rouillard H., 2012), sont largement répandus dans la nature ou elles ont un rôle physiologiques important dans le métabolisme des graisses. On les retrouve aussi bien dans les règnes végétales, chez les invertébrés et les vertébrés mais également chez nombreux microorganismes principalement sous forme des protéines extracellulaires (**Rihani, 2012**). Nativement utilisées dans la régulation du métabolisme des triglycérides et lipoprotéines , ces sérines hydrolases permettent notamment la dégradation des triglycérides pour le passage à travers la barrière intestinale chez les vertébrés.(**Rouillard, 2012**).En biotechnologie, la lipase produite a été purifiée et caractérisées, ciblant certaines industries potentielles applications. L'enzyme a une bonne stabilité en organique solvants ainsi que dans des conditions alcalines douces (**Aliyu et al., 2012**).

Plusieurs champignons sécrètent des isozymes de lipase dont les propriétés biochimiques et dans certains cas, la spécificité du substrat est différente. Dans la levure *Candida rugosa*, une famille de gènes apparentés code pour de multiples protéines de lipase, hautement homologues en séquence mais partiellement différentes dans les régions en interaction avec la molécule substrat. L'analyse de ces substitutions effectuée sur la base d'alignements multiples et en utilisant un modèle tridimensionnel de l'enzyme permet l'identification d'un nombre restreint d'acides aminés éventuellement impliqués dans la spécificité de substrats des lipides de *Candida* (**Lotti et al., 1994**).

Candida est omniprésent et plus de 200 espèces ont été décrites. Certaines espèces font partie de notre flore microbiologique et seulement 10% sont responsables d'infections chez l'homme (**Benarous et Linani., 2014**). Est un habitat normal de la flore microbiologique des peaux, gastro-intestinales et des voies génito-urinaires. Chez l'homme et peut également être vu dans les voies respiratoires. Il est également récupéré de l'environnement, en particulier sur les surfaces (**Eggimann et al., 2003**).

Le Docking (amarrage) moléculaire est une méthode empirique qui permet de prédire l'affinité entre deux molécules. Il est généralement utilisé pour prédire l'affinité d'un ligand pour une protéine, entre autre, la position et l'orientation la plus favorable pour un ligand venant en interaction avec une protéine cible. Cet outil est actuellement très sollicité dans la recherche de nouvelles molécules à visée thérapeutique. Il est utilisé pour faire des criblages très rapides et peu coûteux afin d'identifier une molécule pouvant avoir une forte activité sur une protéine cible ou au contraire d'identifier la cible d'une molécule ayant des activités biologiques intéressantes (**Traore., 2006**).

Ce travail consiste principalement à évaluer l'effet inhibiteur de quelques médicaments anti inflammatoires sur la lipase microbienne de *Candida rugosa* et la lipase pancréatique humaine.

La première partie est consacrée à une introduction générale puis une analyse bibliographique décrit le contexte scientifique de l'étude. Elle décrit brièvement une définition de notre enzyme étudié ainsi que les différents médicaments anti inflammatoires, leurs principes actifs et une vue générale sur leurs utilisation et leurs mécanismes d'action. De plus quelques pathologies associées aux différents types de lipase telles que l'obésité, artériosclérose, l'acné et l'ulcère.

Ultérieurement, nous présenterons le protocole expérimental utilisé pour la réalisation de cette étude. Suivi par la description et l'analyse des résultats obtenus de l'étude *in vitro* et *in silico*. Enfin, on terminera notre travail par une conclusion générale et des perspectives.

Synthèse bibliographique

1. Généralité sur les lipases :

Les triacylglycérol acyl hydrolases, ou lipases, sont des enzymes atypiques de par leur mécanisme d'action et leur spécificité de substrats. En fonction du micro-environnement de l'enzyme, elles peuvent agir en tant qu'hydrolases en milieu aqueux ou comme catalyseurs en synthèse organique, leurs substrats préférentiels, en acide gras et en glycérol. Chez nombreux êtres vivants, cette réaction est capitale de par son rôle physiologique majeur dans le métabolisme des graisses et des lipides. De plus, certaines lipases sont capables d'hydrolyser des phospholipides, des esters de cholestérol et même parfois certains esters synthétiques. En milieu solvant, elles peuvent catalyser un bon nombre de réactions allant de l'estérification à l'acidolyse ou l'alcoolyse, les lipases forment une classe d'enzymes hétérogène de par leur origine qu'elles soient animales, végétales ou microbiennes ce qui augmente encore leurs potentialités (**Fickers et al., 2007**).

Les lipases sont largement répandues dans la nature où elles ont un rôle physiologique important dans le métabolisme des graisses. On les retrouve aussi bien dans le règne végétale, chez les invertébrés et les vertébrés et chez nombreux micro-organismes, principalement sous forme des protéines extracellulaires (**Fickers et al., 2007**).

Les lipases sont définies comme étant des carboxyle-estérase catalysent l'hydrolyse et la synthèse d'esters. Ces enzymes présentent une grande spécificité au substrat et dégradent souvent des esters du p-nitrophényl de l'acyle, Tweens et phospholipides avec sélectivité vis-à-vis de position stéréo, et de longueur de chaîne (**Fickers et al., 2007**).

Les lipases ressemblent aux estérases, mais elles se différencient par leur capacité d'agir sur les esters insolubles dans l'eau (**Rihani, 2012**). Toutes ces propriétés ont conduit au développement de nombreuses applications aussi bien que au point de vue industriel, notamment dans l'industrie agro-alimentaire et dans l'industrie chimique, qu'en médecine humaine (**Fickers et al., 2007**). Deux exemples de structures spatiales des lipases (humaine et microbienne) sont représentés dans la (**figure 1**).

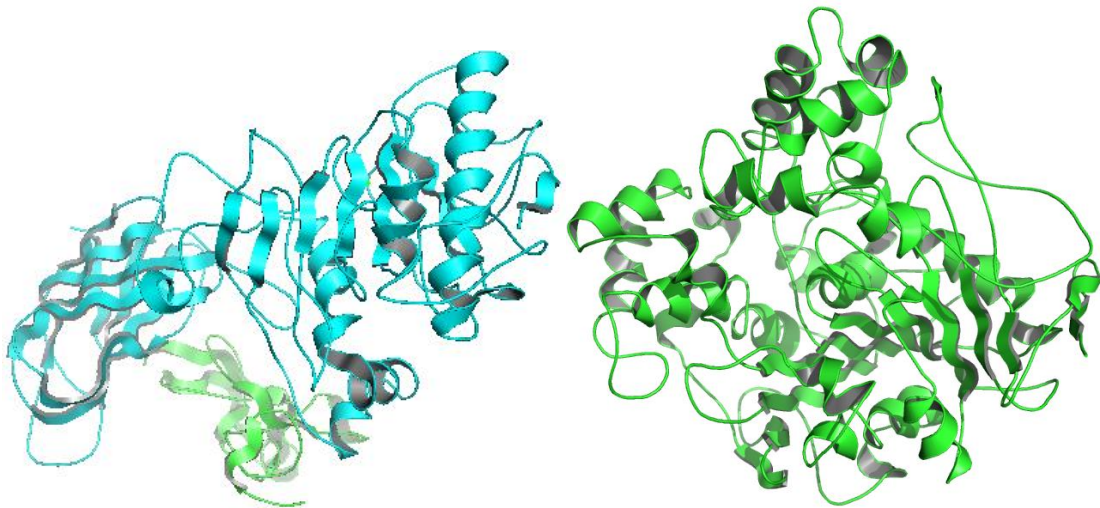


Figure 1. Représentation de la structure 3D de la lipase (images réalisés par le PyMol).

À droite : représentation de la structure 3D de la lipase pancréatique humaine (code pdb:1lpb).

À gauche : représentation de la structure 3D de la lipase de *candida rugosa* (code pdb: 1lpp).

2. maladies causées par la lipase :

2.1. Acné par la lipase de *Propionibacterium acnes* :

L'acné vulgaire est le trouble cutané le plus répandu chez les adolescents et les jeunes adultes. Il est l'un des motifs de consultation les plus fréquents en dermatologie (20% des consultations) et touche environ 80 % des adolescents dans le monde (Seité et al., 2012).

L'acné est une maladie inflammatoire des follicules pilo-sébacés. Il se traduit souvent par la formation de « boutons », comédons, dont il tire l'origine de son nom (Acné (n.f.): mot emprunté à l'anglais; forme erronée du mot grec « akmé » qui signifie pointe, somme (Figure 2).



Figure 2. Acné inflammatoire du visage : papules et papulo-pustules

(Extrait de <http://e-medicaltextbook.blogspot.com/2008/09/acne-vulgaris.html>).

Le lien entre *P. acnes* (**Figure 3**) et l'acné est connu depuis plus d'un siècle. La place de cette bactérie commensale parmi les autres *Propionibacterium* et sa place sur la peau est décrite ici. Puis les études qui ont mené à son association avec l'acné.

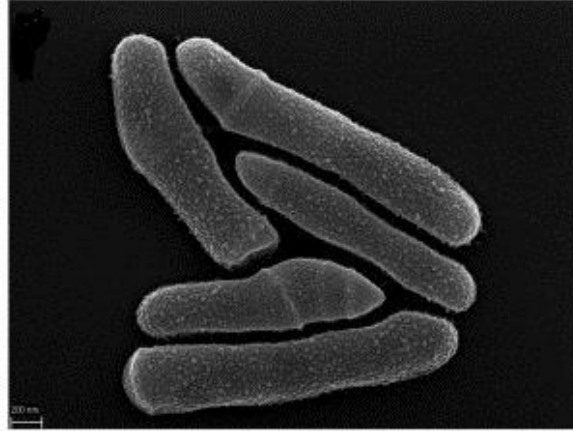


Figure 3. Image de *Propionibacterium acnes* prises par microscopie atomique associée à un microscope optique inversé à l'échelle 512 pixels par ligne (**Mak et al., 2013**).

Plusieurs mécanismes sont impliqués dans l'action de *P. acnes* sur le sébum et les sébocytes. La présence de *P. acnes* entraîne la synthèse d'une prostaglandine (15d-PGJ2) par les sébocytes. Cette prostaglandine stimule les sébocytes et entraînant une augmentation de la lipogenèse. De plus, *P. acnes* modifie la biologie des sébocytes en augmentant leur différenciation et leur viabilité (**Schaller et al., 2005**).

P. acnes sécrète des lipases qui hydrolysent, dans le canal pilo-sébacé, les triglycérides du sébum et les transforment en glycérol et acides gras libres qui présentent une activité pro-inflammatoire et chimiotactique pour les polynucléaires. En effet, les acides gras libres et d'autres fragments de *P. acnes* diffusent à travers la paroi du comédon et induisent un afflux de polynucléaires neutrophiles par chimiotactisme. Ces derniers produisent aussi des enzymes, notamment des métalloprotéases qui entraînent la rupture de la paroi du follicule pilo-sébacé diffusant ainsi l'inflammation en profondeur (**Schaller et al., 2005**).

2.2. Ulcère par la lipase de *Helicobacter pylori*:

L'ulcère gastrique est l'un des désordres gastro-intestinaux les plus répandus, il touche approximativement 10 % de la population mondiale, particulièrement les populations des pays non industrialisés (Borelli et Izzo, 2000). C'est une affection chronique, d'une étiologie multifactorielle qui se produit en raison d'un déséquilibre entre les facteurs agresseurs et les facteurs de défense (Lakshmi et al., 2013).

Les ulcères gastriques et duodénaux se caractérisent par des lésions d'au moins 0.5 cm de diamètre pénétrant jusqu'à la couche musculaire. Ces deux types d'ulcères sont fortement associés à *H. pylori* et se développent dans les sites où l'inflammation est la plus sévère.

L'ulcère gastrique : est localisé vers l'antré, plus précisément dans la région de transition entre le corps de l'estomac et l'antré. L'ulcère gastrique résulte d'une pangastrite associée à une normochlorhydrie ou une hypochlorhydrie.

L'ulcère duodéal : est localisé au niveau du bulbe duodéal qui le plus exposé à l'acidité gastrique. La gastrite à prédominance antrale associée à une hyperchlorhydrie entraîne le développement de l'ulcère duodéal (Pascale, 2014).

H. pylori est un pathogène qui colonise sélectivement l'épithélium gastrique humain, C'est un bacille Gram-négatif spiralé mesurant 2 à 4 µm de long et 0,5 à 1 µm de large et qui peut également exister sous une autre forme ronde dite coccoïde viable mais non cultivable (Figure 4). *H. pylori* est une bactérie microaérophile, uréase, catalase et oxydase positive. Elle possède 3 à 5 flagelles polaires et engainés conférant une motilité et permettant un mouvement rapide dans la muqueuse gastrique visqueuse lui assurant ainsi une meilleure colonisation (Pascale, 2014).

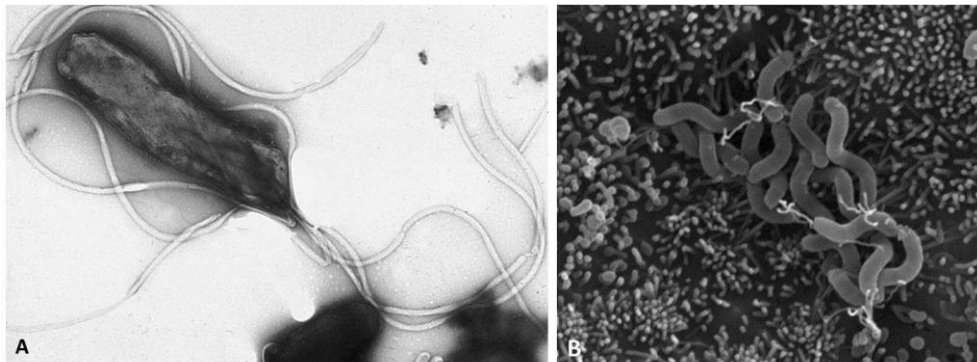


Figure 3. Photos de *H. pylori* prises par microscopie électronique à l'échelle 1 µm. **A.** Une bactérie *H. pylori*, **B.** Amas de *H. pylori* au niveau des cellules épithéliales gastriques (Tan et al., 2009).

Les médicaments synthétiques tels que les inhibiteurs de la pompe à proton, les antihistaminiques H2, les agents cytoprotecteurs, les anticholinergiques, les antiacides et les analogues des prostaglandines sont employés pour le traitement de l'ulcération mais ces médicaments produisent plusieurs effets secondaires (**Lakshmi et al., 2013**).

2.3. Obésité par la lipase pancréatique humaine :

La lipase pancréatique (triacylglycérol acyl hydrolase, PL), catalyse l'hydrolyse des triacylglycérides dans le tractus gastro-intestinal, est une enzyme clé de l'absorption des lipides, cette est sécrétée par le pancréas et est responsable de l'hydrolyse de 50 à 70% des graisses alimentaires (**Liu et al., 2018**).

L'obésité est définie comme « une accumulation anormale ou excessive de graisse corporelle qui représente un risque pour la santé » (**Hernandez., 2016**). C'est une maladie chronique, entraînant des inconvénients pour la santé somatique, psychologique et sociale. Initialement, la prise de poids est liée à des facteurs comportementaux et environnementaux. (**Basdevant, 2006**). C'est un terme médical caractérisant une personne ayant une masse corporelle (adipeuse) plus importante que la plupart des gens, répartie de façon généralisée dans plusieurs zones de l'organisme.

Les spécialistes définissent l'obésité comme un excès pondéral dû à l'accumulation de tissus adipeux (**Keita, 2012**). Plusieurs méthodes ont été proposées pour évaluer un excès de poids ou une obésité. La méthode la plus fiable et la plus utilisée est la mesure de l'IMC (indice de masse corporelle).

Selon l'OMS, que l'on nomme aussi BMI (Body Masse Index), est le rapport du poids en kilogrammes sur la taille en mètres au carré : $IMC = \text{kg} / \text{m}^2$. Les valeurs obtenues ont permis à l'IOTF (international obesity task force) d'établir une classification des différents types d'obésité. Les seuils sont identiques pour les deux sexes.

- $IMC < 18,5$ maigreur
- $18,5 \leq IMC < 25$ poids normale
- $25 \leq IMC < 30$ surpoids
- $30 \leq IMC < 35$ obésité I (modérée)
- $35 \leq IMC < 40$ obésité II (sévère)
- $IMC \geq 40$ obésité III (morbide) (**Tcheriatchoukine, 2010**).

Un seul traitement médicamenteux est actuellement disponible en France comme en Europe ou aux États-Unis dans la prise en charge de l'obésité, pour une utilisation à long terme : l'orlistat ou tétrahydrolipstatine (Xenical ®, Alli ®), qui agit dans l'estomac et dans l'intestin grêle en inhibant les lipases gastro-intestinales, limitant ainsi l'absorption des triglycérides alimentaires qui sont alors éliminés dans les selles. Il est indiqué en association à un régime modérément hypocalorique, dans le traitement de l'obésité ou de surpoids, avec un IMC supérieure ou égale à 28 Kg/ m², associé à l'autre facteur de risque cardiovasculaires. Ce traitement doit être arrêté après 12 semaines si le patient n'a pas perdu au moins 5% du poids initial mesuré au début du traitement (Fayemendy, 2012).

Orlistat (tétrahydrolipstatine) est un inhibiteur covalent des lipases digestives , in produit naturel de *stretomyces toxytricini* . Il s'agit d'un inhibiteur dirigé vers un site actif qui réagit avec le résidu sérine nucléophile de la triade catalytique de la lipase pancréatique. En bloquant de manière covalente le site actif de la lipase (**figure 5**). Orlistat inhibe l'hydrolyse des TG alimentaires et réduit ainsi l'absorption intestinale ultérieure des produits de lipolyse. Les monoglycérides (MG) et les acides gras libres (AGL). Il inhibe également la lipase gastrique (Benarous., 2014).

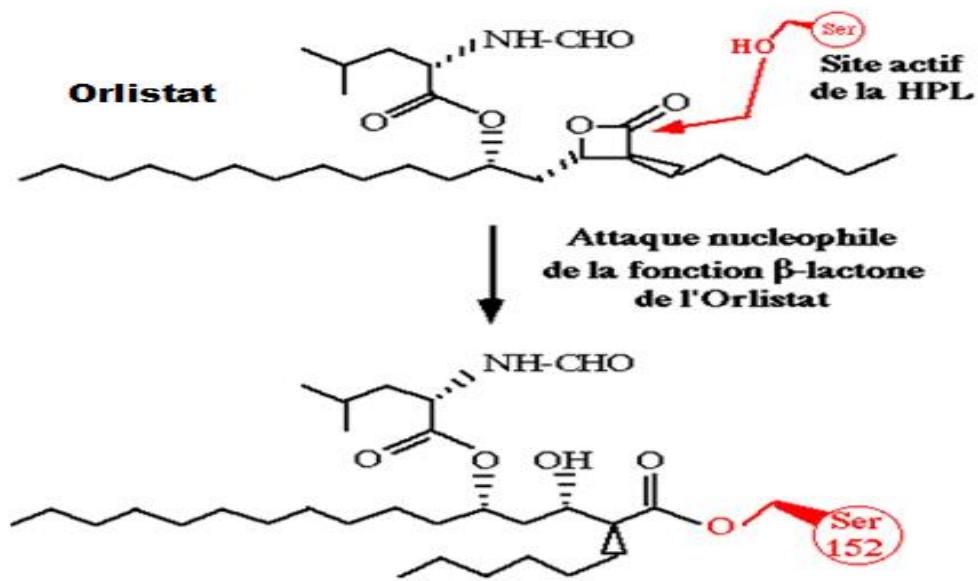


Figure 4. Le mécanisme d'inhibition de la lipase pancréatique humaine par l'Orlistat (Benarous., 2014).

2.4. Artériosclérose par la lipase pancréatique humaine :

L'artériosclérose, terme générique pour désigner un épaississement de la paroi vasculaire artérielle, représente la principale cause de mortalité et de morbidité dans les pays occidentaux. Cette observation s'étendra également dans un avenir proche aux populations des pays en voie de développement.

L'athérosclérose est une forme d'artériosclérose touchant les vaisseaux sanguins de moyen et gros calibre, est de loin la première cause de mortalité dans les pays développés, que ce soit avant ou après 65 ans et ceci pour les deux sexes (**Mach, 2000**).

Les causes de de l'athérosclérose sont diversement évalués. Pour certains, l'épidémiologie a mis au jour plusieurs grands facteurs de risque, anomalie lipidique, hypertension artérielle (**Benjamin et Loïc, 2004**).

L'athérosclérose est la cause principale pour les malades cardiovasculaires au monde, elle touche les vaisseaux sanguins et conduit à la formation de dépôts anormaux appelés athérome. C'est une pathologie qui évolue sur plusieurs années voire plusieurs dizaines d'années, ce dépôt va augmenter progressivement, réduisant ainsi la lumière de l'artère (**Figure6**) (**Clément, 2017**).

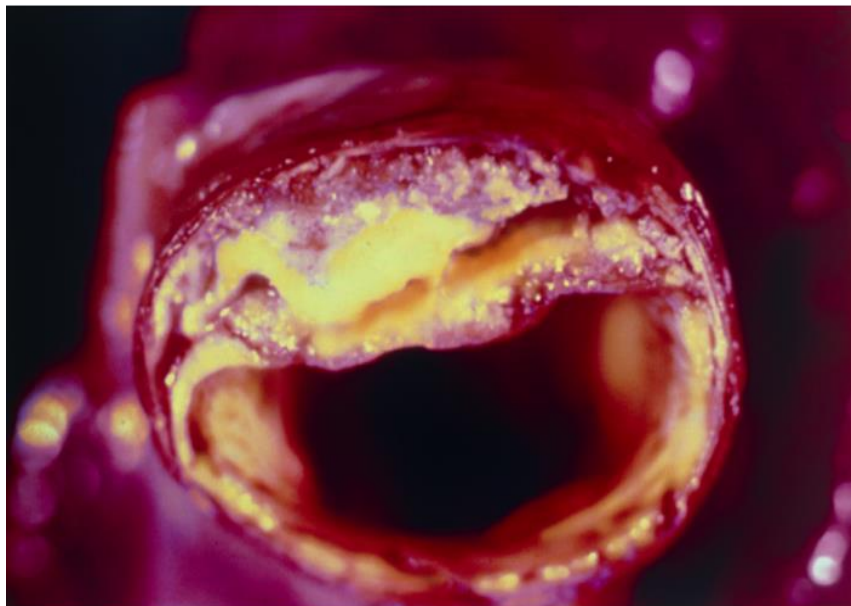


Figure 5. Coupe transversale d'une artère avec athérome visible dans la partie supérieure. (**Thanassoulis et Afshar, 2017**).

3. Anti-inflammatoires :

Les anti-inflammatoires appartiennent à des classes chimiques très variées et agissent de façon purement symptomatique sur la réaction aspécifique des tissus à un agent agresseur et évitent la transformation de la phase aiguë de l'inflammation en phase chronique (Muster, 2005).

Les médicaments sont souvent regroupés en fonction de l'effet biologique qu'ils exercent. On distingue généralement deux catégories d'anti-inflammatoires: les uns sont hormonaux(les anti-inflammatoires stéroïdiens AIS) et les autres ne sont pas (les anti-inflammatoires non stéroïdiens AINS).

3.1. Anti-inflammatoires stéroïdiens :

Les anti-inflammatoires stéroïdiens sont des dérivés des hormones stéroïdiens de la corticosurrénale, principalement les glucocorticoïdes [cortisol (hydrocortisone) et la cortisone] qui sont biosynthétisés à partir du cholestérol.

Les anti-inflammatoires stéroïdiens agissent en inhibant la réaction inflammatoire par l'inactivation de la phospholipase membranaire, ils empêchent la libération de l'acide arachidonique précurseur des prostaglandines et ils induisent la formation d'une protéine appelée lipocortine qui se fixe sur la phospholipase et la rend inactive (Amamra, 2009).

Les anti-inflammatoires stéroïdiens AIS comprennent:

AIS à demi-vie courte (< 12 heures) :

Cortisol (Hydrocortisone®), Cortisone (Cortisone Roussel®)

AIS à demi-vie moyenne (18 à 36 heures) :

Prednisone (Cortancyl®), Prednisolone (Solupred®)

AIS à demi-vie longue : (36 à 54 heures) :

Dexaméthasone (Soludécadron®), Cortivazol (Altim®), Triamcinolone (Kénacort®). (El baghdadi, 2013).

3.2. Anti-inflammatoires non stéroïdiens :

Les AINS sont des médicaments dépourvus de noyau stéroïde, ce sont des Acides faibles, Liposolubles, et de faible poids moléculaire ce qui facilite leur absorption par la muqueuse digestive (El baghdadi , 2013).

Les anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS) sont des médicaments symptomatiques actifs sur la fièvre, les douleurs par excès de nociception et la composante vasculaire de la réaction inflammatoire. Ces trois propriétés résultent pour l'essentiel de leur mécanisme d'action commun l'inhibition de l'isoenzyme COX-2 de la cyclo-oxygénase ou prostaglandine (PG) synthétase. **(Bannwarth, 2005).**

Anti-inflammatoires non stéroïdiens AINS comprennent:

1-Dérivés salicylés :

Sont généralement des analgésiques et des antipyrétiques utilisés pour traiter les maladies rhumatismales, exemple : Aspirine (acide acétylsalicylique): est l'un des médicaments les plus fréquemment employé dans les douleurs d'origines diverses.

Aspégic (l'acétyl salicylique de lysine): est utilisé comme antipyrétique et antalgique.

2- Dérivés de l'acide propionique et de l'acide butyrique:

Cette classe d'anti-inflammatoire a une efficacité probablement moindre que les autres médicaments anti-inflammatoires, mais sa tolérance est meilleure, dans ce type on trouve: Ibuprofène (BRUFEN, FENALGIC), Naproxen (APRAMAX, NAPROXYNE), Kétoprofène (PROFENID) et Fénoprofène (NALGESIC).

3- Dérivés de l'acide anthranilique ou fénamates:

Classe d'AINS peu différente des précédentes, donnant plutôt davantage d'incidents et d'accidents digestifs, le diclofénac (VOLTARENE), l'acide méfénamique (PONSTYL) et l'acide niflumique (NIFLURIL).

4- Autres AINS:

Dérivé acéto-indoliques et apparentés (indométacine): utilisés pour le traitement chronique des affections rhumatismales, ses effets toxiques sont nombreux.

dans ce type on trouve: Oxicams : piroxicam, tonoxicam, méloxicam **(Amamra, 2009).**

Matériels et méthodes

I. Matériels

1. médicaments anti inflammatoires :

Nous avons utilisé des médicaments anti-inflammatoires qui sont : L'acide niflumique, le naproxène sodique, l'ibuprofène, le célécoxib, Bétaméthasone et l'Aspirine DL-lysine, qui sont commercialisés sous le nom (Niflumene®, Nopain®, Antalfen®, Celebrex®, Celestene® et Aspegic ®) respectivement, nous avons les acheté d'une pharmacie. Le **tableau 1** regroupe les médicaments utilisés dans notre travail et leurs caractéristiques, les structures chimiques des principes actifs des six médicaments sont représentées dans la (**figure 7**).

Tableau 1. Anti inflammatoires, leur utilisation et mécanisme d'action.

Formule brute de principe actif , Solubilité et l'état physique	Utilisation	Mécanisme d'action
L'acide niflumique $C_{13}H_9F_3N_2O_2$ Solubilité dans l'eau : 19 mg / l à T=25°C	L'acide niflumique est un agent analgésique et anti-inflammatoire utilisé dans le traitement de polyarthrite rhumatoïde	L'acide niflumique est capable d'inhiber à la fois les phospholipases A2 et la COX-2, agissant ainsi comme agent anti-inflammatoire et anti douleur
Bétaméthasone $C_{22}H_{29}FO_5$ Solubilité dans l'eau : 66,5 mg / l à T=25°C	Un glucocorticoïde administré par voie orale, parentérale, par injection local, par inhalation ou par voie topique pour la prise en charge de divers troubles dans lesquels les corticostéroïdes sont indiqués. son absence des propriétés minéralocorticoïdes rend la bétaméthasone particulièrement adapté au traitement de l'œdème cérébrale et de l'hyperplasie surrénalienne congénitale	Cible : récepteur de glucocorticoïde Acte : agoniste Organisme : humain
Ibuprofène $C_{13}H_{18}O_2$ Solubilité dans l'eau : 21 mg/l à T=25°C	Un anti inflammatoire non stéroïdien (AINS) dérivé de l'acide propionique, est considéré comme le premier des propioniques, un médicament contre la polyarthrite rhumatoïde	Le mécanisme d'action exact de l'ibuprofène est inconnu. est un inhibiteur non sélectif de la COX et par conséquent, il inhibe l'activité de COX-1 et COX-2. L'inhibition de la COX-2 diminue la synthèse des prostaglandines impliquées

		dans la médiation de l'inflammation, de la douleur, de la fièvre et de gonflement, tandis que l'inhibition de la COX-1 serait à l'origine certains des effets indésirables de l'ibuprofène notamment l'ulcère gastro-intestinal
<p>Célécoxib $C_{17}H_{14}F_3N_3O_2S$ 100mg Solubilité dans l'eau : peu soluble</p>	<p>Est un anti-inflammatoire non stéroïdien (AINS) utilisé dans le traitement de l'arthrose, de polyarthrite rhumatoïde, de douleurs aiguë, de la menstruation douloureuse et des symptômes menstruels</p>	<p>Le Célécoxib est inhibiteur sélectif non compétitif de l'enzyme COX-2. leur mécanisme d'action est l'inhibition de la synthèse de prostaglandines par l'inhibition de COX-2</p>
<p>Naproxen sodique $C_{14}H_{14}O_3$ Solubilité dans l'eau : 15,9 mg/l à T=25°C</p>	<p>L'acide et son sel de sodium sont utilisés dans le traitement de polyarthrite rhumatoïde et d'autres troubles rhumatismaux ou musculosquelettiques, de la dysménorrhée et de la goutte aiguë.</p>	<p>Le mécanisme d'action du naproxène, à l'instar de celui des autres AINS, serait associé à l'inhibition de la cyclooxygénase</p>
<p>Aspirine DL-lysine $C_{15}H_{22}N_2O_6$ Solubilité dans l'eau : facilement soluble dans l'eau</p>	<p>Agent anti inflammatoire non stéroïdien, en plus d'une action anti inflammatoire, il a une action analgésique, antipyrétique et inhibitrice des plaquettes.</p>	<p>Analgésique : composés capables de soulager la douleur sans perte de conscience Inhibiteurs de COX : Des agents qui se combinent avec la COX (prostaglandin-endoperoxide synthases) et empêchent ainsi sa combinaison substrat -enzyme avec l'acide arashidinique et la formaton d'eicosanoides, de prostaglandines et de thromboxanes Inhibiteurs de l'agrégation plaquettaire : Médicament ou agent antagoniste ou altérant tout mécanisme conduisant à l'agrégation des plaquettes sanguines</p>

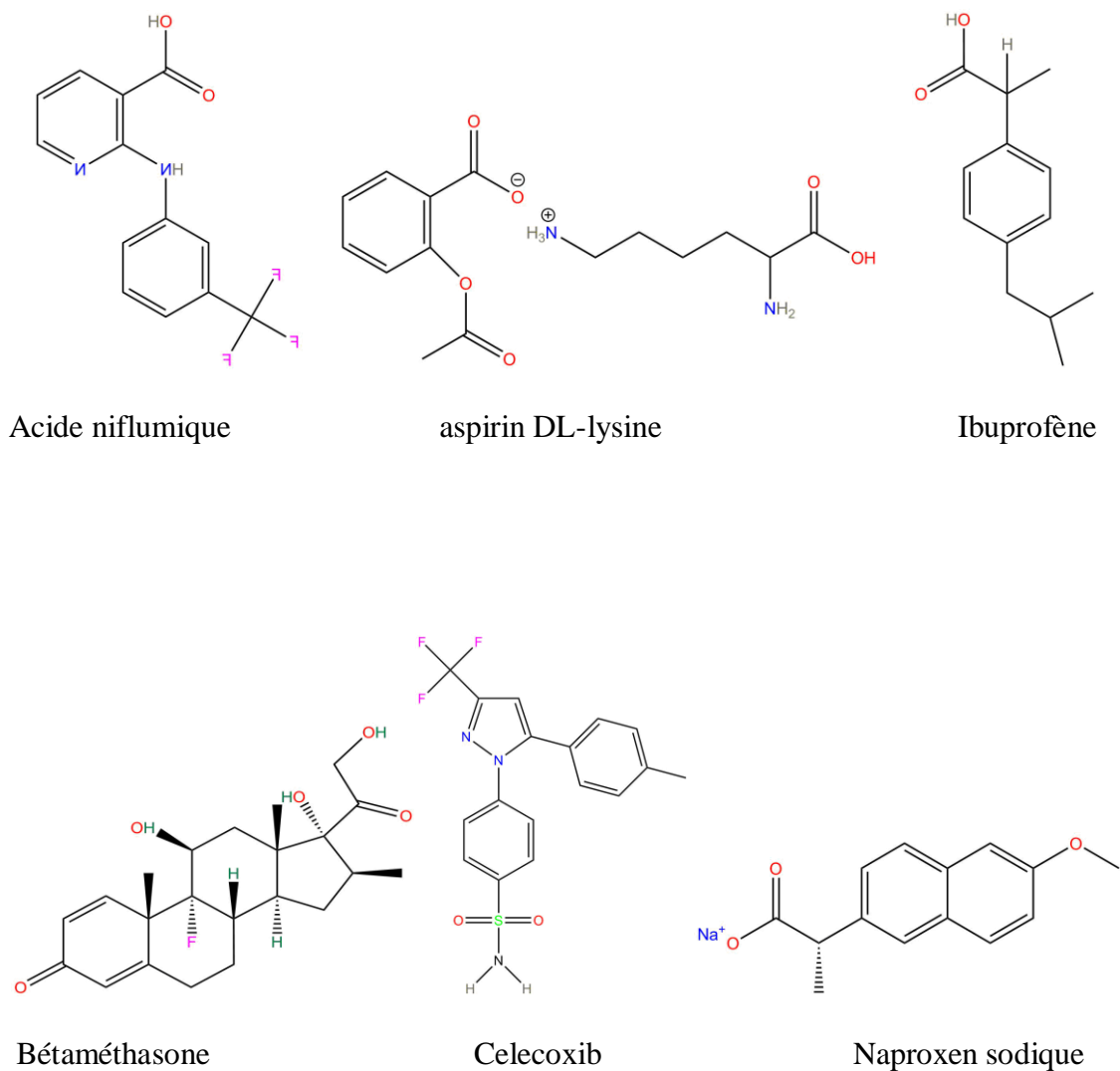


Figure 6. Structures 2D des médicaments étudiés obtenu de la PubChem (dessiné par le logiciel Chemdraw professionnel v16).

2. Matériel chimique :

L'enzyme «la lipase pure de *Candida rugosa* avec une concentration final de 0,5g/l», Le substrat paranitrophenyllaurate (sous forme poudre) « une concentration final de 0,1mM », Le tampon utilisé est constitué de : gomme arabique (1g), K_2HPO_4 (0,87 g), KH_2PO_4 (0,68 g), Kcl (9 g) dilués dans 1 litre d'eau distillée dont le pH final égale à 7, l'isopropanol, Sont obtenus de Sigma Aldrich.

II. Protocole expérimentale :

1. Activité enzymatique de la lipase de *Candida rugosa* :

La technique physico-chimique utilisée pour étudier la cinétique de l'hydrolyse de l'ester par la lipase microbienne est la spectroscopie UV-Visible à longueur d'onde 405 nm. Dans cette étude, nous s'intéressons à l'apparition du produit d'une coloration jaune. p-NP en suivant l'évolution de sa densité optique. Le p-NP se produit de l'hydrolyse de p-NPL en présence de la lipase microbienne selon l'équation suivante (**Figure 8**) (**Benarous., 2014**).

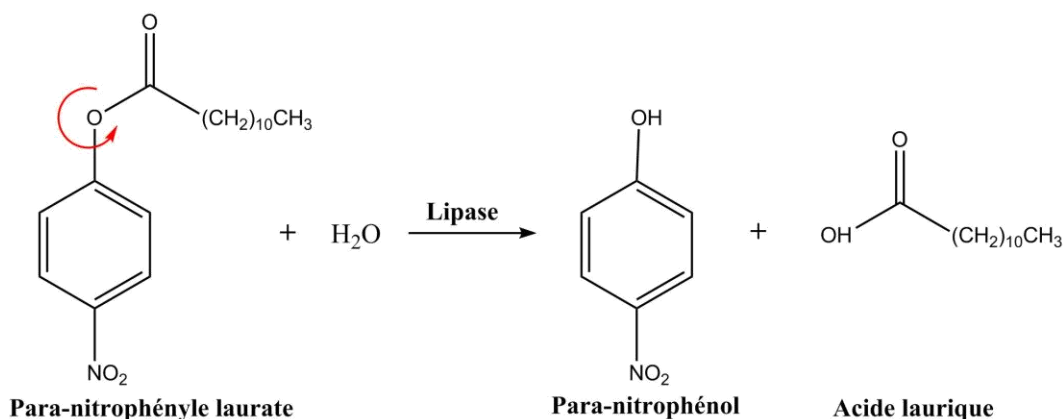


Figure 7. Schéma réactionnel de l'hydrolyse de p-NPL par la lipase de *C. rugosa*.

2. Tests d'inhibition de l'activité de la lipase :

La méthode utilisée pour *Candida rugosa* lipase était auparavant décrite et exécuté dans (**Benarous, 2015**). avec quelques modifications dans la détection de l'activité inhibitrice de la lipase par les molécules pures.

Pour déterminer l'activité inhibitrice des lipases, 20µl de solutions de médicament (1mg/ml) ont été préalablement incubés avec 20 µl de solution d'enzyme (0,1mM) pendant 20 min à 37 ° C. Ensuite, la réaction enzymatique est déclenché avec l'ajout d'un volume 180 µl de substrat p-NPL, ce mélange réactionnel a été incubé pendant 20 minutes supplémentaires à 37 ° C. L'absorbance du p-nitrophénol (le produit jaune de la réaction) a été immédiatement mesurée dans un lecteur de microplaques Biotek ELX 800 UV à 405 nm.

Les valeurs d'IC₅₀ (la concentration inhibitrice nécessaire pour inhiber l'enzyme à la moitié 50%) ont été déterminées à partir de la représentation graphique I % = f(I), I % a été calculée par la relation suivants:

$$I\% = \left(1 - \left(\frac{A_{\text{médicament}}}{A_{\text{control}}} \right) \right) \times 100$$

Tel que :

I (%) : le pourcentage d'inhibition.

A_{Control} : l'absorbance de l'activité lipolytique en absence de médicament.

A_{Médicament} : l'absorbance de l'activité lipolytique en présence de médicament.

L'activité d'inhibition a été exprimée dans la valeur d'IC₅₀ pour chaque échantillon, IC₅₀ représente la concentration nécessaire pour inhiber 50% de l'activité enzymatique. Plus la valeur de l'IC₅₀ est faible, plus la capacité inhibitrice de l'inhibiteur est forte et plus efficace (**serseg et Benarous, 2018**).

3. Docking moléculaire :

Le Docking ou amarrage protéine-protéine est un problème de biologie structurale qui, à partir de structures tridimensionnelles (3D) des protéines et de leurs propriétés physico-chimiques, consiste à prédire comment les protéines s'associent entre elles pour former des complexes fonctionnels au niveau de la cellule. La connaissance de la structure des complexes protéine-protéine permet aux chercheurs de mieux comprendre les mécanismes clés mis en jeu lors d'une interaction entre protéines, ce qui constitue un enjeu scientifique majeur, autant en termes fondamentaux (expliquer une fonction cellulaire) que pour la recherche appliquée (inhiber spécifiquement une fonction cellulaire) (**Férey et al., 2008**).

Dans ce travail, des expériences d'amarrage ont été effectuées pour acquérir une compréhension plus profonde des aspects structuraux principaux de ces inhibiteurs. Les programmes utilisés sont : Auto dock-Vina, Discovery studio 2016 client, Auto dock Tools.

Les fichiers des molécules : bétaméthasone, acide niflumique, ibuprofène, aspirine DL-lysine, célécoxib et Naproxen sodique sont téléchargés à partir de la base des données PubChem et ChemSpider. Le fichier de LCR et de PL sont téléchargés de la PDB (Protein Data Bank) avec ces codes pdb : 1lpp et 1lpb, respectivement. Tous les ligands ont été éliminés avec le Discovery studio, ainsi les molécules d'eau, les hydrogènes polaires ont été ajoutés. Le nombre de tour effectué dans le Docking est égale à 50 avec l'obtention d'une seule solution dans chaque tour ce qui nous donne 50 solutions. Toutes ces solutions sont bien traitées et nous avons accepté que les conformations avec une faible énergie de liaison ainsi qui se trouve dans le site actif.

4. Analyse statistique :

Les analyses de la variance ont été réalisées par le logiciel statistique office Microsoft Excel 2016. Toutes les expériences ont été faites en quadruplet, les résultats ont été présentés par la moyenne avec son écart type ($n = 4$) pour chaque cas.

Résultats et discussion

1. Inhibition de la réaction catalysée par la lipase :

A partir de l'étude bibliographique sur la fonction physiologique de la lipase et le rôle de ses inhibiteurs dans le traitement de plusieurs maladies. Nous avons évalué le pouvoir inhibiteur de nos six médicaments sur l'activité de cette enzyme dans le but de trouver leurs inhibiteurs.

Les résultats obtenus montrent que les médicaments présentent une activité inhibitrice négligeable dont les valeurs d'IC₅₀ sont supérieures à 2 mg/ml sauf le bétaméthasone qui possède une activité inhibitrice importante.

Nous avons tracé la courbe représente la variation du pourcentage d'inhibition (I %) en fonction des concentrations différentes de bétaméthasone exprimé en (mg/ml) pour une seule concentration de substrat (0,1mM), la courbe est présentée dans la (**figure 9**). Cette représentation graphique nous permet de déterminer la valeur d'IC₅₀ de notre médicament. Les résultats obtenus sont consignés dans le (**tableau 2**).

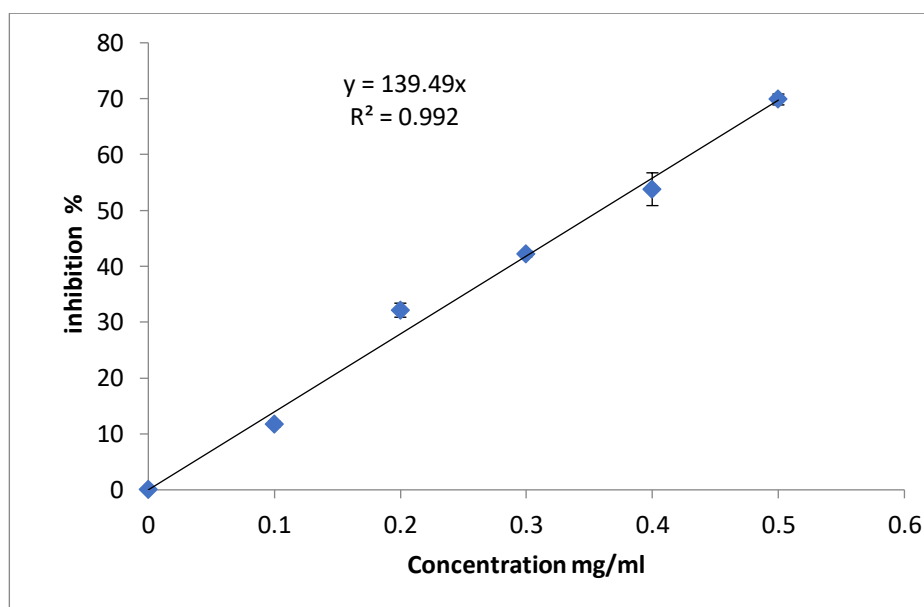


Figure 8. Représentation graphique de l'inhibition de la bétaméthasone de la réaction catalysée par la lipase de *C. rugosa*.

Tableau 2. Valeurs d'IC₅₀ des médicaments anti inflammatoires.

Les médicaments (C= 2mg/ml)	IC ₅₀ (mg/ml)
Celécoxib	>2
Acide niflumique	>2
Bétaméthasone	0,36±0,01
Naproxen sodique	>2
Aspirine DL-lysine	>2
Ibuprofène	>2

Les résultats obtenus montrent que le bétaméthasone est le seul médicament qui présente un pouvoir inhibiteur important de l'activité enzymatique de la lipase avec une valeur d'IC₅₀= 0,36 mg/ml±1,30 tandis que les autres médicaments (celecoxib, acide niflumique, ibuprofène, Naproxen sodique, Aspirine DL-lysine) possèdent IC₅₀>2 mg/ml.

Dans le but de comparer nos résultats avec les travaux antérieurs, nous avons groupé dans le tableau suivant. Les résultats sont déjà publiés.

Tableau 3. Valeurs d'IC₅₀ pour quelques molécules selon la littérature sur la lipase de *C. rugosa*.

Molécule	IC ₅₀ (mg/ml)	Références
Acide folique	0,64	(Serseg et Benarous., 2018)
Febuxostat	0,66	(Serseg et Benarous., 2018)
Orlistat	0,06	(Serseg et Benarous., 2018)
β-Aescin	7,1×10 ⁻⁹	(Ruiz et al., 2006)
Digitonin	1,95×10 ⁻⁸	(Ruiz et al., 2006)
(±)-Catechin	0,15×10 ⁻²	(Ruiz et al., 2006)
Kaempferol	1,5×10 ⁻⁴	(Ruiz et al., 2006)
Aspidospermine	2,8×10 ⁻⁶	(Ruiz et al., 2006)
Trigonelline	1,4×10 ⁻⁴	(Ruiz et al., 2006)
Reserpine	6,5×10 ⁻⁷	(Ruiz et al., 2006)

Plusieurs molécules pures ont présenté leur pouvoir inhibiteur de la lipase de *Candida rugosa* à savoir l'acide folique, une des vitamines du groupe B et Febuxostat qui est un médicament inhibiteur sélectif de la xanthine oxydase (**Serseg et Benarous., 2018**). Si nous comparons notre médicament étudié Bétaméthasone à ces molécules en tenant compte la dose testé de ces médicaments, nous pouvons dire que le Bétaméthasone à un effet inhibiteur important (IC₅₀=0,36 mg/ml) par rapport aux ceux de l'acide folique et le fébuxostat qui ont un effet inhibiteur dix fois inférieur à celui de l'Orlistat, avec des valeurs de CI₅₀ de 0,64 et 0,66 mg/ ml, respectivement.

Nous avons comparé notre inhibiteur avec plusieurs saponines, flavonoïdes et alcaloïdes sur la lipase de *Candida rugosa* pour évaluer leur potentiel en tant que médicaments anti-lipases. Les résultats montrnt que les saponines étaient très actives, les flavonoïdes présentaient une inhibition plus faible et les alcaloïdes, le groupe le plus hétérogène, présentaient une large plage d'inhibition.

Les saponines sont des composés caractérisent par des activités antimicrobiennes, hypocholestérolémiantes, anti-inflammatoires et autres, ainsi que par une faible toxicité ,Ils ont également une certaine activité contre les ulcères ,Une inhibition in vitro par des formulations contenant de la saponine sur la lipase de *P. acnes* ,et par des saponines purifiées (platycodine D et dioscine) sur des lipases pancréatiques (**Ruiz et al., 2006**). Cependant, Toutes les saponines ont montré une forte inhibition de LCR, constituant le groupe d'inhibiteurs le plus actif en termes généraux. Le β -aescine et la digitonine étaient des inhibiteur plus forts avec les valeurs (IC₅₀ = $7,1 \times 10^{-9}$ mg/ml) et (IC₅₀ = $1,95 \times 10^{-8}$ mg/ml) respectivement par rapport le Bétaméthasone.

Les flavonoïdes sont capables de moduler l'activité de nombreux enzymes et systèmes cellulaires produisant, entre autres, des effets antitumoraux, cardioprotecteurs ou anti-inflammatoires (**Ruiz et al., 2006**). Comme ((\pm)-Catechin, Kaempferol), avec les valeurs (IC₅₀ = $0,15 \times 10^{-2}$ mg/ml), (IC₅₀ = $1,5 \times 10^{-4}$ mg/ml), ainsi les alcaloïdes (Aspidospermine, Trigonelline) avec les valeurs (IC₅₀ = $12,8 \times 10^{-6}$ mg/ml), (IC₅₀ = $1,4 \times 10^{-4}$ mg/ml) respectivement. Présentent des effets inhibiteurs plus efficaces par rapport l'inhibiteur Bétaméthasone.

2. Docking moléculaire des inhibiteurs

i. Docking des inhibiteurs sur la lipase de *Candida rugosa* :

Le Docking moléculaire a pour but de déterminer le mode d'interaction d'un complexe formé de deux ou plusieurs molécules, en cherchant des orientations dans l'espace et des conformations favorables pour la fixation d'un ligand à un récepteur.

Les résultats de Docking des médicaments étudiée et leur traitement nous permet de représenter la nature des interactions avec les acides aminés impliqués ainsi que le taux de répétitions qui sont représentés dans le **(tableau 4)**.

Tableau 4. Acides aminées impliquées, les types d'interactions, Énergie d'affinité, taux de répétition, et les distances des liaisons hydrogènes de nos médicaments.

Médicament	Acides aminées impliqués	Interactions hydrophobes	Énergie d'affinité (Kcal/mol)	Taux de répétition (%)	distances des liaisons hydrogènes (°Å)
Aspirin DL-lysine	Leu 410	Carbone	-4,5	34	3,50
Célécoxib	Phe133 Tyr 132 Gln62 Val127 Phe296 Ser450	Pi-alkyl Pi-Donor Fluorine Pi-alkyl, alkyl –alkyl. Pi-Sulfur, Conventional	-6,8	86	2,42
Bétaméthasone	Val127 Pro65	alkyl -alkyl alkyl –alkyl	-7,4	100	/
Naproxen sodique	Leu302 Leu304 Leu410 Pro246 Met213	Pi-alkyl, Pi-alkyl Conventional Pi-alkyl Pi –sigma	-8,3	90	2,81
Acide nuflimique	Leu 302 Leu304 Leu 307 Leu410 Leu413 Met213 Val245 Phe532	Pi-alkyl, alkyl-alkyl Pi-alkyl, alkyl -alkyl Pi-alkyl Pi-alkyl , Carbone Pi-alkyl Pi-alkyl Pi-alkyl Conventional	-8,6	94	3,40
Ibuprofène	Pro246 Ser300 Leu302 Leu307 Tyr361 Leu410 Leu413 Val534	Alkyl-alkyl Conventional Pi-alkyl, Conventional Alkyl-alkyl Conventional Pi-alkyl Pi-alkyl Pi-alkyl, alkyl–alkyl	-7,9	92	2,14 3,16 3,21

Après le Docking, nous avons obtenu de nombreuses solutions, nous allons accepter et refuser les solutions selon des critères bien déterminées qui se manifeste dans l'énergie de liaison la plus faible correspondant à la conformation la plus stable ainsi l'insertion des molécules dans le site actif de l'enzyme Nous avons testé pour la première fois le docking de ces inhibiteurs sur la lipase de *Candida rugosa*.

- L'aspirine DL-lysine

Nous avons obtenu un faible taux de répétition égale à 34% de la même interaction, et d'une énergie affinité de -4,5 Kcal/mol. L'aspirine DL-lysine n'interagit qu'avec un seul acide aminé Leu 410 de site actif de l'enzyme forme une liaison de type hydrogène avec l'extrémité carbonyle de l'inhibiteur l'aspirin DL-lysine par une distance mesuré de 3,50 Å. Ces faibles interactions confirment le pouvoir inhibiteur négligeable obtenu dans l'étude *in vitro* (**figure 10**).

- Célécoxib

Nous avons trouvé un taux de répétition égale à 86 %, et d'une énergie affinité de -6,8 Kcal/mol. Le célécoxib interagit avec six acides aminés de site actif, sont Phe133, Tyr132, Gln62, Val127, Phe296, Ser450 avec des liaisons de type Pi-alkyle, Pi-Donor, Fluorine, Pi-alkyle, alkyle -alkyle et Pi-Sulfure, respectivement. L'acide aminé Ser450 forme une liaison hydrogène par son groupement OH et l'atome d'hydrogène de groupement fonctionnel NH de l'inhibiteur célécoxib. Une distances été enregistré entre le célécoxib et l'acide aminé Ser450 est 2,99Å. Ces faibles interactions confirment le pouvoir inhibiteur négligeable obtenu dans l'étude *in vitro* (**figure 11**).

- Bétaméthasone

Nous avons obtenu un taux de répétitions élevé égale à 100 % de la même interaction, et d'une énergie affinité de -7,4 Kcal/mol. L'étude *in vitro* de Bétaméthasone montre qu'il présente un pouvoir inhibiteur importante pour la lipase de *Candida rugosa*, le même résultat est montré par l'étude *in silico* où il interagit avec deux acides aminés de site actif Val127et Pro65, les types d'interactions impliqué dans cette interaction sont alkyle-alkyle dans le même site avec les cycles de Bétaméthasone, c'est-à-dire le Bétaméthasone est très bien inséré dans le site actif de l'enzyme LCR. aucune distance n'est enregistrée dans cette position d'après le tableau 4, cela signifie qu'il n'y a pas des interactions de type hydrogène (**figure 12**).

- Naproxen sodique

Nous avons trouvé un taux de répétition égale à 90 %, et d'une énergie d'affinité de -8,3 Kcal/mol. Le Naproxen sodique interagit avec les acides aminés du site actif de l'enzyme par Leu 410 qui forme une liaison de type hydrogène par son extrémité carboxylique, Une mesure de distance est

enregistrée de 2,81 Å. Pas seulement la Leu410 qui forment des liaisons par le site actif de l'enzyme LCR, mais il y a autres acides aminés comme Leu302, Leu304 et Pro246 présentent des interactions de type Pi-Alkyle, Pi-Alkyle, Pi-sigma, respectivement (**figure 13**).

- Acide nuflimique

Nous avons trouvé un taux de répétitions égales à 94 %, et une énergie d'affinité de -8,6 Kcal/mol. L'acide aminé Phe532 forme une liaison hydrogène par leur atome d'oxygène et groupement fonctionnel OH de l'inhibiteur par une distance interatomiques d'une valeur de 3,40Å. D'autres acides aminés sont responsables de cette interaction comme Leu 302, Leu 304, Leu 307, Leu 410, Leu 413, Met 213 et Val 245 où forment 7 liaisons de type Pi-alkyle (**figure 14**).

- Ibuprofène

Nous avons trouvé un taux de répétitions égales à 92 %, et une énergie d'affinité de -7,9 Kcal/mol, les acides aminé impliquées dans l'interaction sont Ser300, Leu302, Tyr361 forme des liaisons alkyle –alkyle, Pi-alkyle, respectivement avec des extrémités de l'inhibiteur Ibuprofène. Ce dernier n'interagit pas seulement avec les acides aminés du site actif de l'enzyme mais aussi avec d'autres tels que Leu 302, Ser300, Tyr361 qui forme une liaison de type hydrogène et par une liaison de type Pi-alkyle. Trois distances sont enregistrées entre l'Ibuprofène et les acides aminés de la lipase de *Candida rugosa* dans l'image obtenue. L'un des deux est 2,14 Å entre l'hydrogène du radical OH de l'Ibuprofène et l'atome d'oxygène de SER 300, l'autre est 3,16 Å entre Leu302 de l'atome d'oxygène de groupement OH et l'atome d'azote de Leu302, la dernière distance entre le groupement OH de Tyr 361 et l'atome d'oxygène de l'Ibuprofène est 3,21 Å (**figure 15**).

Nous concluons de ce qui précède que la bétamétasone a présenté plusieurs types d'interactions avec des valeurs des distances importantes en le comparant avec les autres médicaments, ce résultat concorde avec les résultats obtenu *in vitro* où nous avons trouvé que cette molécule est un bon inhibiteur.

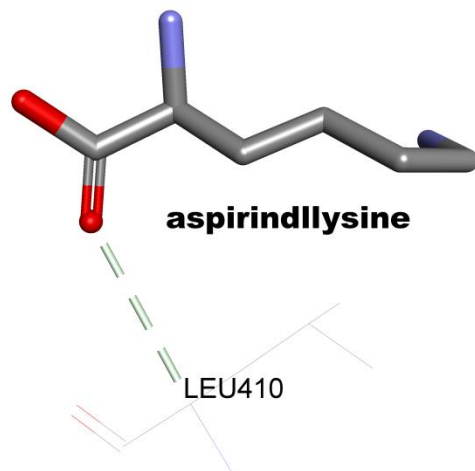


Figure 9. Représentation de la meilleure pose obtenue par Docking de l'aspirin DL-lysine dans la lipase de *C. rugosa*.

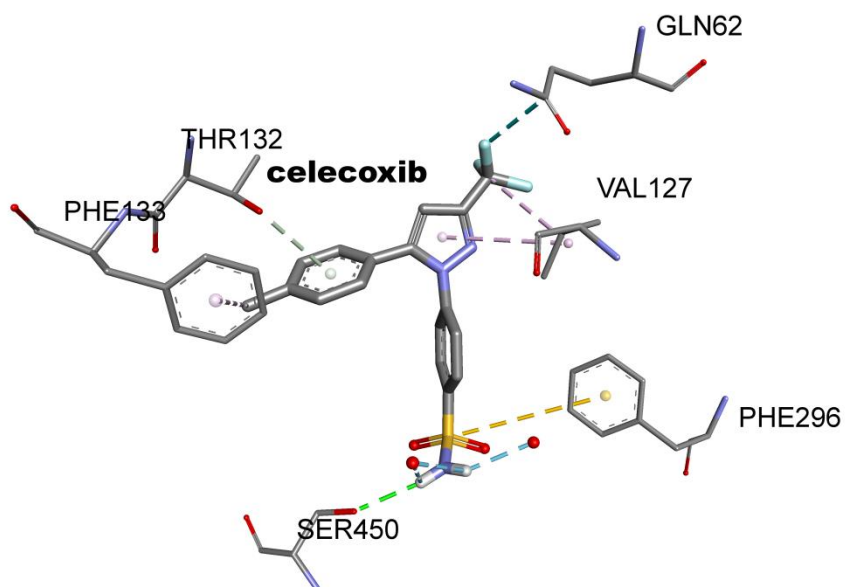


Figure 10. Représentation de la meilleure pose obtenue par Docking de célécoxib dans la lipase de *C. rugosa*.

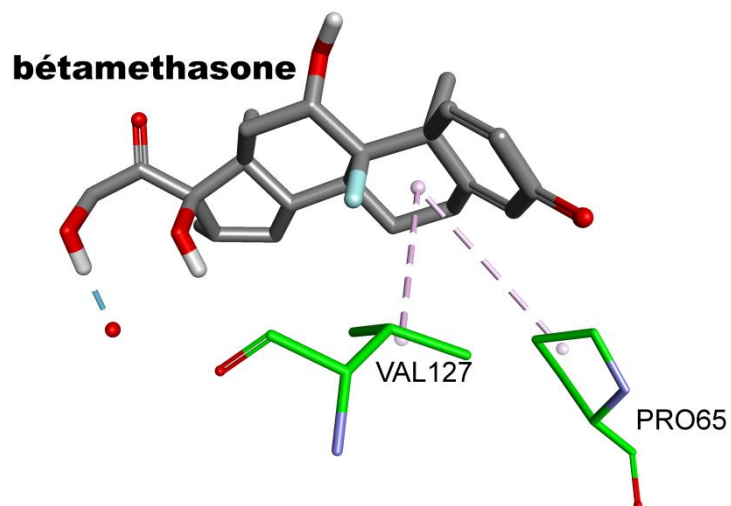


Figure 11. Représentation de la meilleure pose obtenue par Docking de Bétaméthasone dans la lipase de *C. rugosa*.

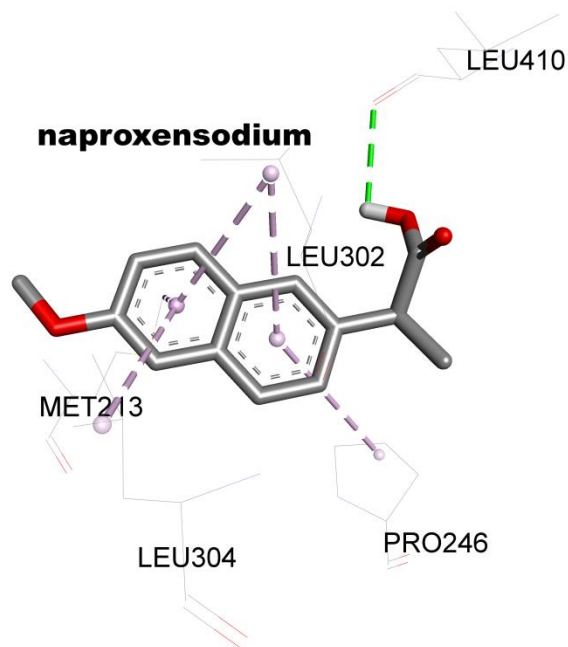


Figure 12. Représentation de la meilleure pose obtenue par Docking de Naproxen sodique dans la lipase de *C. rugosa*.

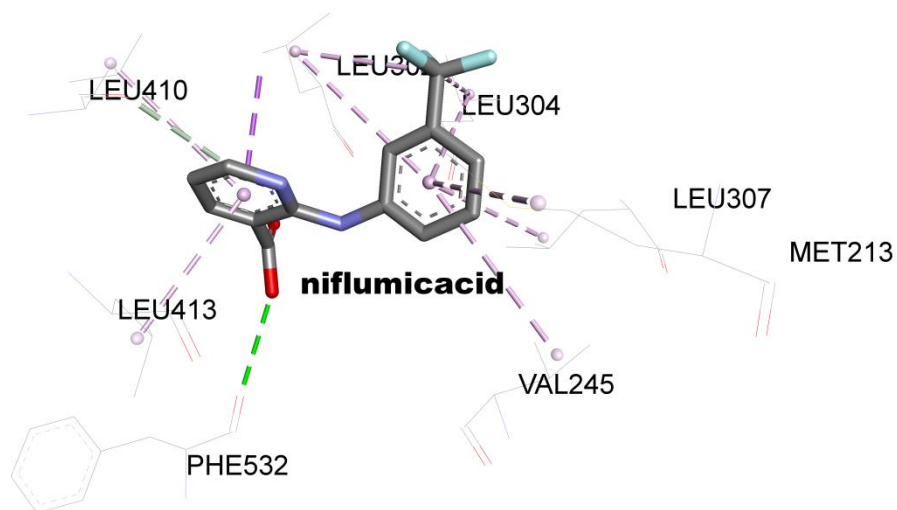


Figure 13. Représentation de la meilleure pose de Docking de l'acide niflumique dans la lipase de *C. rugosa*.

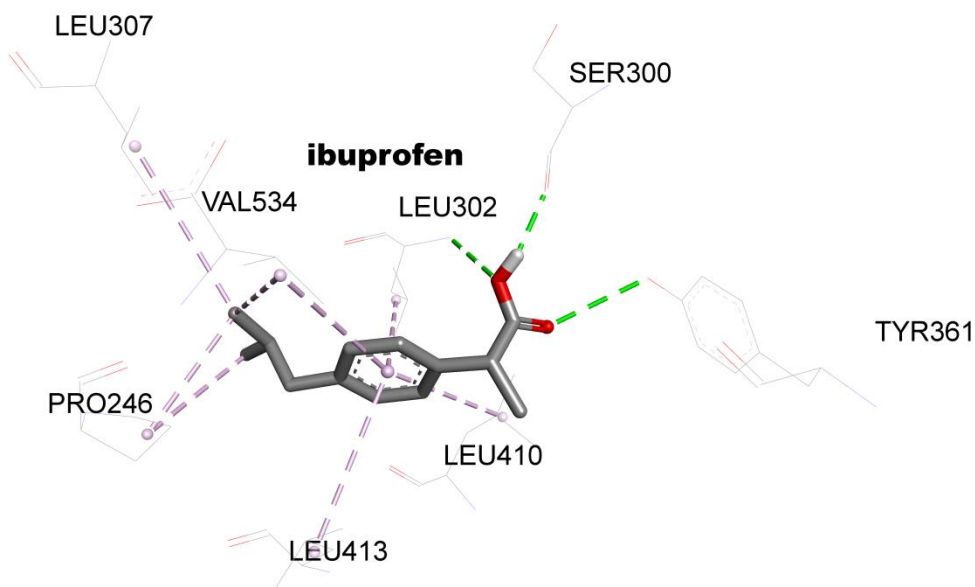


Figure 14. Représentation de la meilleure pose de Docking de l'Ibuprofène dans la lipase de *C. rugosa*.

ii. Docking des inhibiteurs dans la lipase pancréatique humaine (LPH) :

Dans le but d'étudier les interactions chimiques dans le complexe inhibiteur-enzyme humaine, nous avons réalisé le docking moléculaire. Donc, nous avons déterminé le taux de répétition des interactions entre les AA de site actif et catalytique et l'inhibiteur, ainsi que les liaisons hydrogènes et leurs distances, ces résultats sont résumés dans le (**tableau 5**), nous avons sélectionné par la suite la meilleure solution de chaque inhibiteur en se basant sur le taux de répétition et le type d'interaction hydrophobe qui existe dans cette solution .

Les résultats de l'amarrage moléculaire (représentés dans les figures 16 à 21) liés au nombre des solutions obtenues montrent que les sept médicaments ont une activité inhibitrice sur la lipase pancréatique humaine.

La capacité de l'aspirine DL-lysine d'inhiber la LPH est due à la présence de Gly76, Phe77 et His151 qui forment des interactions hydrophobes avec cet inhibiteur avec un taux de répétition 96% et une énergie d'affinité égale à -4,6 Kcal/mol. Toutes les liaisons formées entre l'aspirine et la LPH sont des liaisons hydrogènes, trois distances ont été enregistrés 2,75, 2,49 et 2,48 Å avec les trois AA Gly76, Phe77 et His151, respectivement (**figure 16**).

Nous avons observé que le célécoxib interagit avec le Phe77, Ile78, Tyr114, Ser152, Ala178, Pro 180, Ph 215, Arg256 et Ala260 avec des interactions hydrophobes : Pi – Pi T-shaped, Pi-alkyle, (Pi-alkyle, conventionnel, Fluorine), conventionnel, Fluorine, Alkyle-Alkyle, Carbone (Pi-Pi stacked Pi-Pi stacked, Pi-Pi T-shaped, Pi-alkyle, Fluorine et Fluorine), (conventionnel, conventional) et Pi-alkyle, respectivement. Cet inhibiteur représente un taux de répétition égale à 100% et une énergie d'affinité de -8,8 Kcal/mol, trois liaisons hydrogènes ont été trouvés, deux liaisons par les deux NH de l'Arg285 et deux SO de célécoxib avec des distances de 2,63 et 2,68 Å, la Ser152 présente une liaison hydrogène avec le célécoxib, formée par l'O de CO de l'AA et N de CN de l'inhibiteur, une distance de 2,97 Å a été enregistrée (**figure 17**).

Tableau 5. Acides aminées impliquées, types d'interactions, Énergie d'affinité, taux de répétition, distances des liaisons hydrogènes des médicaments.

Médicament	Acides aminées impliqués	Interactions hydrophobes	Énergie d'affinité (Kcal/mol)	Taux de répétition (%)	distances des liaisons hydrogènes
Aspirine DL-lysine	Gly76, Phe77 His151	Conventional	-4,6	96	2,75 2,49 2,48
Célécoxib	Phe77, Ile78 Tyr114 Ser152 Ala178 Pro180 Phe215 Arg256 Ala260	Pi-Pi T-shaped. Pi-alkyl. Pi-alkyl, conventional, Fluorine. Conventional, fluorine. Alkyl-Alkyl., Carbone. Pi-Pi stacked, Pi-pi T shaped, Pi-Alkyl, Fluorine. Conventional, Pi-alkyl	-8,8	100	2,63 2,68 2,97
Betamethasone	Phe 77, Ile 78 Tyr 114, Phe 215, Ala 259	Pi-alkyl Alkyl- alkyl	-8,2	100	/
Naproxen sodique	Phe 77 Tyr 114 Pro 180 Phe 215 His 263	conventional, conventional Pi -Pi stacked Pi -alkyl Pi -Pi stacked Pi -Pi T shaped	-8,1	100	1,98 2,71
Acide nuflimique	Tyr 114 Ser 152 Ala 178 Pro 180 Phe215 His 263	Pi -alkyl, conventional, Fluorine. Conventional, fluorine. Alkyl- alkyl Alkyl- alkyl Pi -alkyl, Pi -Pi stacked. Conventional	-8,8	100	2,76 2,95 2,53
Ibuprofène	Phe77 Tyr 114,Phe 215 Arg256 Ala260 His 263	Conventional, Pi -alkyl Pi -alkyl, Pi-alkyl Conventional, charge- charge. Pi -alkyl Pi -Pi stacked, Pi- C action	-7,9	100	2,84 3,00

De plus, le bétaméthasone est capable de faire des interactions hydrophobes (Pi-alkyle, Pi-alkyle), (alkyle-alkyle, alkyle-alkyle et alkyle -alkyle), (Pi-alkyle, Pi-alkyle) et alkyle-alkyle avec les acides aminés du site actif de la LPH Phe77, Ile78, Tyr114, Phe215 et Ala259, respectivement, avec un taux de répétition égale à 100 % et une Energie d'affinité de -8,2 Kcal/mol. Cet inhibiteur ne forme aucune liaison hydrogène (**figure 18**).

Nous avons trouvé que le Naproxen sodique interagit avec le Phe77, Tyr 114, Pro180, Phe 215 et His263 de l'enzyme et forme des interactions hydrophobes (conventional, conventional), (Pi-Pi stacked, Pi-Pi stacked), Pi-alkyle,(Pi-Pi stacked, Pi-Pi stacked) et Pi-Pi T shaped, respectivement, avec une énergie d'affinité de-8.4 Kcal/mol et un taux de répétition égale à 100%. Deux liaisons hydrogénés ont été formées par le médicament et Phe77, deux distances ont été enregistrées 1,98 et 2,71 Å, premièrement l'O de CO de l'AA et H de OH de l'inhibiteur et deuxièmement le H de NH de Phe77 et O de CO du médicament (**figure 19**).

L'acide niflumique a interagit avec la lipase pancréatique humaine par des interactions hydrophobes (Pi-alkyle, conventional, Fluorine), conventional, Fluorine, alkyle-alkyle, alkyle-alkyle, (Pi-alkyle, Pi-Pi stacked) et conventional avec Tyr114, Ser152, Ala178, Pro180, Phe215 et His 263, respectivement, ainsi qu'il représente un taux de répétition égale à 100% et une énergie d'affinité de -8.8 Kcal/mol (**figure 20**). Les trois AA Tyr 114, Ser152et His263 ont formé des liaisons hydrogènes avec l'acide niflumique, le H de OH de Tyr114 a formé une liaison hydrogène avec le N de CN de ce médicament, une distance de 2,76 Å a été enregistrée. Une liaison hydrogène a été trouvée entre O de CO de Ser152 et N de CN de l'acide niflumique et a enregistré une distance de 2,95 Å. La troisième liaison hydrogène trouvée a été formé par H de NH de l'His263 et O de C=O de ce médicament avec une distance de 2,53 Å.

Nous avons noté que l'Ibuprofène a interagit avec les AA de la lipase pancréatique qui sont Phe77, Tyr114, Phe215, Arg256, Ala260 et His263 par des interactions hydrophobes (conventional, Pi-alkyle), (Pi-alkyle, Pi-alkyle),Pi-alkyle,(conventional, conventional, charge-charge), Pi-alkyle et (Pi-Pi stacked, Pi-C action) et le taux de répétition obtenu est égale à 100% avec une énergie d'affinité de -7,9 Kcal/mol. L'Arg 256 a été le seul AA qui forme des liaisons hydrogènes avec l'Ibuprofène et a enregistré deux liaisons hydrogènes trouvées entre la même molécule O de C=O de l'Ibuprofène et deux H de NH de l'AA. Les valeurs enregistrées sont 2,84 et 3,00 Å, respectivement (**figure 21**).

À partir de ces résultats nous pouvons prédire que ces médicaments anti-inflammatoires capables d'interagir avec la lipase pancréatique humaine mieux que la lipase de *Candida rugosa*, ainsi le bétaméthasone est un inhibiteur puissant de LCR, a bien interagit avec la LPH, il reste des études in vitro pour confirmer le pouvoir de ces médicaments contre la LPH. Aucune étude préalable n'a été trouvé sur l'effet de ces médicaments sur les lipases, ce travail a contribué de mieux comprendre ses pouvoirs inhibiteurs ainsi les mécanismes d'inhibition.

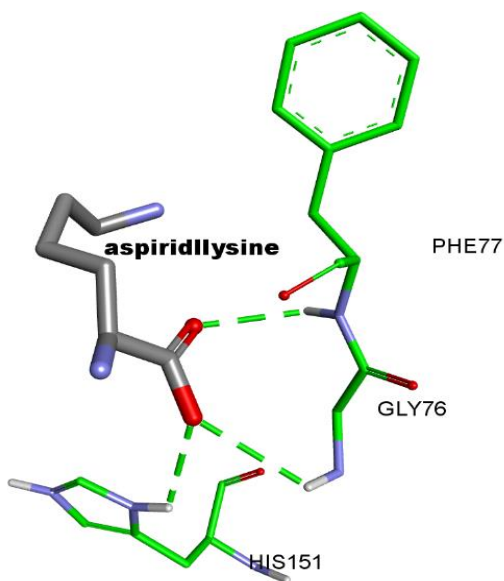


Figure 15. Représentation de la meilleure pose obtenue par Docking pour l'aspirine DL-lysine dans la lipase pancréatique humaine (LPH).

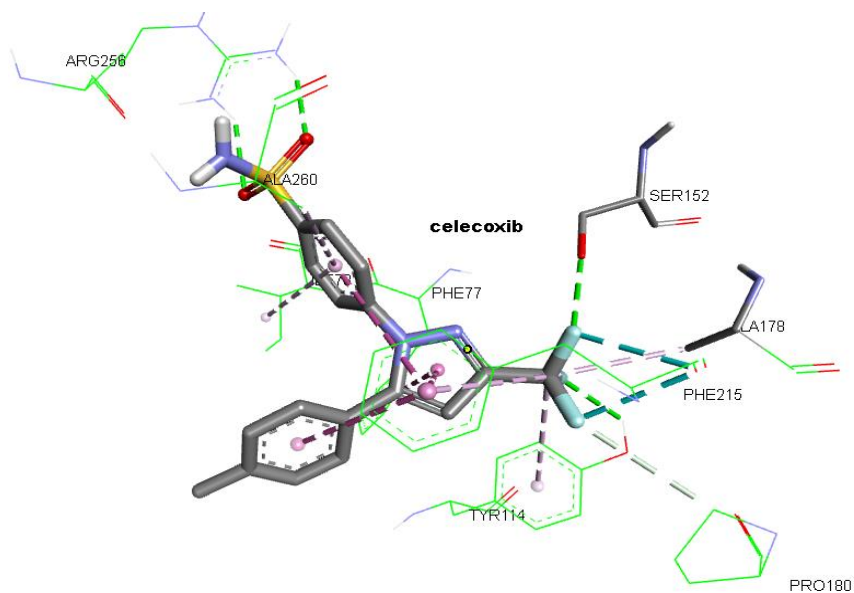


Figure 16. Représentation de la meilleure pose obtenue par Docking pour le célécoxib dans la LPH.

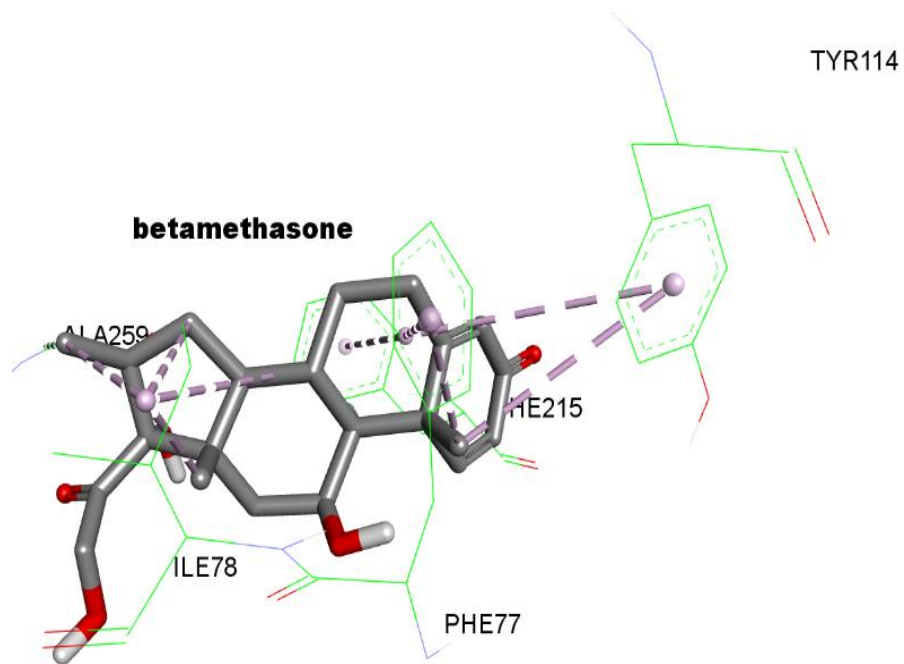


Figure 17, Représentation de la meilleure solution obtenue par Docking pour le Bétaméthasone dans LPH.

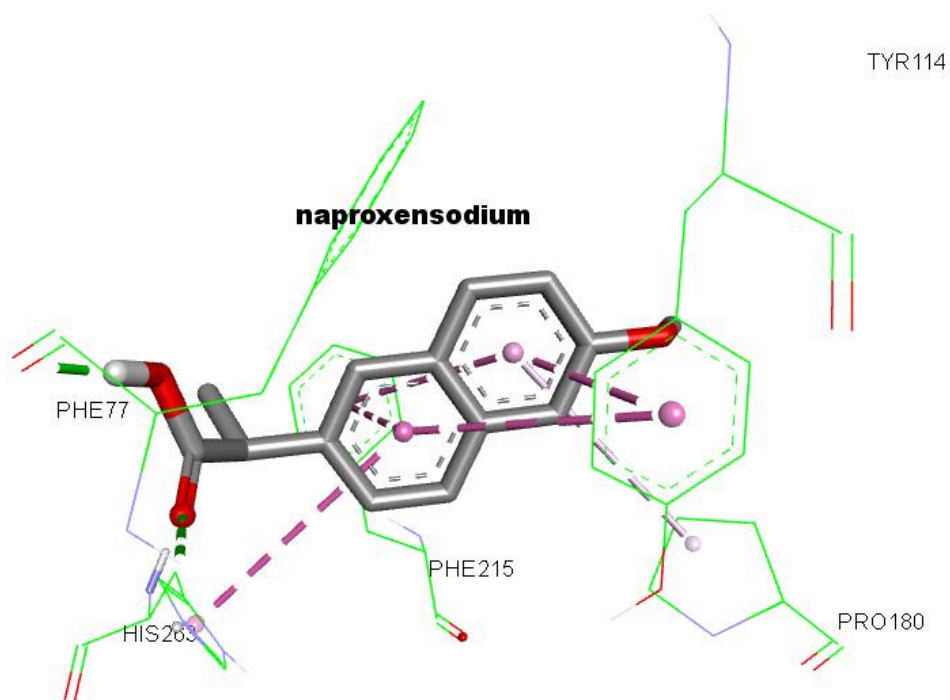


Figure 18. Représentation de la meilleure pose obtenue par Docking pour Naproxen sodique dans la LPH.

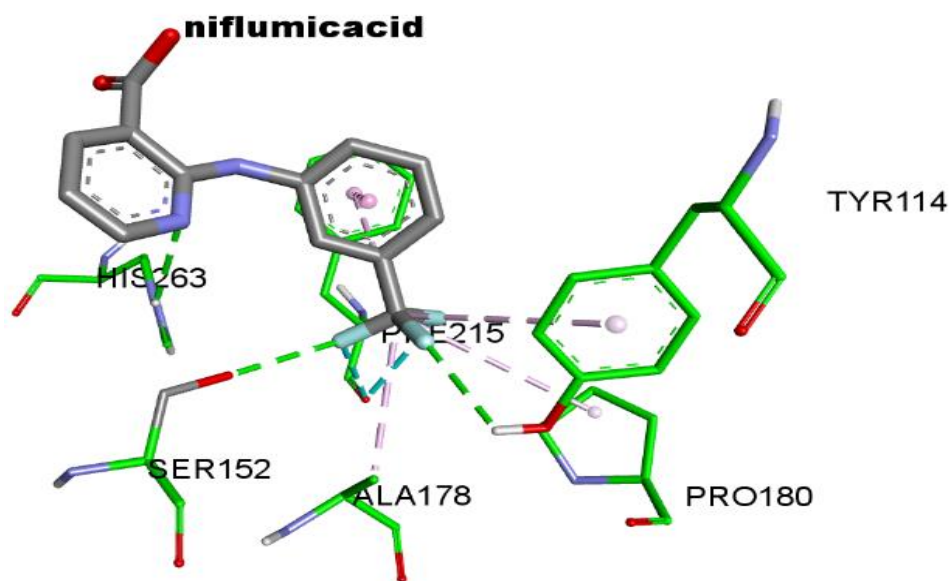


Figure 19. Représentation de la meilleure pose obtenue par Docking pour l'acide niflumique dans LPH.

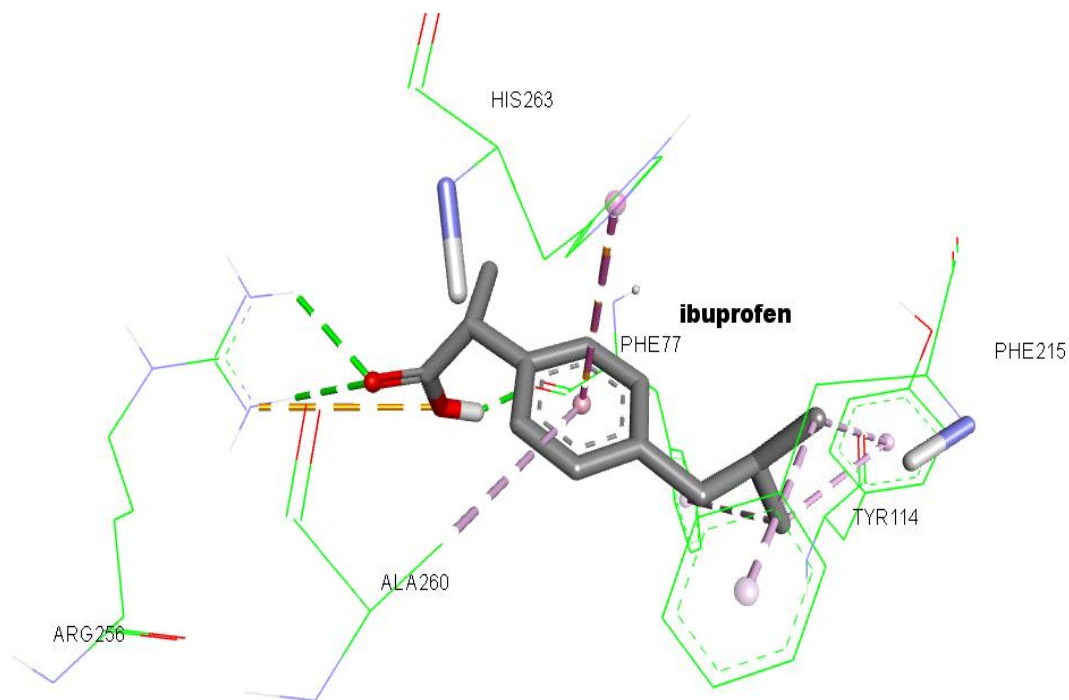


Figure 20. Représentation de la meilleure pose obtenue par Docking pour l'ibuprofène dans la LPH.

Conclusion générale

Les enjeux en relation avec les médicaments sont à la fois scientifiques, économique et de santé publique. Étudier les mécanismes d'action et les effets des différents médicaments permet d'avancer dans la connaissance des processus biologiques et des mécanismes physiopathologique mis en jeu dans la genèse et le développement des différentes maladies.

C'est un enjeu de santé publique car les objectifs thérapeutiques ne s'établissant pas à l'amélioration fonctionnelle des patients mais à la prévention des événements morbides conditionnant le pronostic d'une maladie. Un médicament peut présenter un effet supplémentaire sur l'organisme humain.

Ce travail a été réalisé dans le but d'identifier l'effet inhibiteur de quelques médicaments anti-inflammatoires sur la lipase qui sont le célécoxib, l'Ibuprofène, l'acide niflumique, la bétaméthasone, le Naproxen sodique et l'aspirine DL-lysine. Une étude *in vitro* a été réalisée pour la lipase de *Candida rugosa* ainsi que le Docking moléculaire a été réalisé pour la lipase de *Candida rugosa* et la lipase pancréatique humaine afin de comprendre les types d'interaction et le mécanisme d'inhibition.

Selon les résultats obtenus, la bethaméthasone est l'inhibiteur le plus puissant avec une activité très importante contre la LCR, après le docking moléculaire, les interactions effectuées avec les acides aminés du site actif de la lipase ont été déterminés et ce résultat est confirmé. Pour la lipase pancréatique humaine, l'étude *in silico* a montré que tous les médicaments étudiés interagissent d'une manière très intéressante avec les acides aminés du site actif, ce résultat nécessite une étude *in vitro* pour qu'il soit bien confirmé.

L'ensemble de ce travail a permis donc de mieux connaître l'intérêt de l'étude de l'effet hypolipidémie des anti-inflammatoires, ils sont capables de réduire l'absorption des lipides que ce qui conduit à la diminution des taux des lipides dans le sang. Ainsi de nombreuses perspectives peuvent être envisagées. Elles se présentent principalement dans l'étude des autres anti-inflammatoires sur la lipase humaine et de les tester *in vivo*. Ainsi, Il reste encore plusieurs classes des médicaments consommés qui n'ont pas été analysés jusqu'à maintenant et qui méritent d'être étudiés dans des futurs travaux de recherches.

Références bibliographiques

1. **Liu P-K., Weng Z M., Ge G B ., Li H-L ., Ding L-L ., Dai Z-R ., Hou X-D ., Leng Y-H., Yu Y., Hou J. (2018).** Biflavones from *Ginkgo Biloba* as novel pancreatic lipase inhibitors: inhibition and potentiel and mechanism. International journal of biological macromolecules. v118.p2216-2223.
2. **Clément,S. (2017).** Artériosclérose: photologie associées, prévention et traitement. université de Bourdeaux . p11
3. **Rouillard,H. (2012).** Etude de résolutions catalysées par des lipases sous irradiation micro-onde. université de Rochelle, p17.
4. **Rihani,A. (2012).** Screening de microorganismes producteurs de lipase : application dans la bio décontamination de surface. université Badji Mokhtar.p5-3.
5. **Aliyu S., Hamzah, M., Zahangir, A. (2012).** Characterization of *candida cylindraceae* lipase produced from palm oil milleffluent based medium. International journal of chemical and biochemical sciences.v2.p24-31.
6. **Traore, MDM. (2006).** Synthèse et études de modélisation moléculaire dans l'optimisation de la sélectivité de nouveaux agents antiparasitaires inspirés et de produits naturels. université Grenoble Alpes .p 28.
7. **Fickers, P., Destain,J., Thonart, P. (2007).** Les lipases sont des hydrolases atypiques. Biotechno.agron.soc.environ.v12.p119-130
8. **Hernandez, M. (2016).** Obésité de l'adulte : pratiques et attentes des médecins généralistes dans le dépistage et la prise en charge en Picardie en 2015. université de Picardie Juliers verne. p16.
9. **Fayemendy, PJM. (2012).** La prise en charge de l'obésité par les médecins généralistes du département de la haute vienne : Difficultés rencontrées suggestions d'amélioration. Université de Limoges. p38.
10. **Keita, B. (2012).** Obésité chez les personnes du CHU Gabriel Toure. Université des sciences et des technologies de Bamako.p9.
11. **Tcheriatchoukine, D. (2010).** l'obésité: Découverte récentes relative aux mécanismes moléculaires à l'origine de nouvelles stratégies thérapeutiques. Université Henri Poincaré - Nancy1.p12.
12. **Basdevant, A. (2006).** L'obésité : Origine et conséquence d'une épidémie. comptes rendus Biologies. V 329. p 562 – 569.
13. **Mach, F. (2000).** L'athérosclérose : une maladie inflammatoire. Medecalsuisse.v4.p204-210.
14. **Benjarnine, W., Loic, C. (2004).**Aspects infectieux de l'athérosclérose. Médecine science. V 20. p130 – 253.

15. **Ferey N., Bouyer G., Martin C., Drif A., Bourdot P., Ammi M., Nelson J., Burkhart J- M., Autin L. (2009).** Docking de protéines en réalité virtuelle: une approche hydrique et multi mode. V 28, P 983 – 1015.
16. **Benarous.k,Linani.A. (2011).** Selection of orlistat as a potential inhibitor for lipase from *Candida* species, biomedical informatics journal, biomedical informatics journal, p1.
17. **Benarous, K., Bombarda, T., Iriepa ,I., I. Moraleda, H. Gaetan, A.Linani, D. Tahri, M. Sebaa, M. Yousfi. 2015.** Harmaline and hispidin from *Peganum harmala* and *Inonotus hispidus* with binding affinity to *Candida rugosa* lipase: In silico and in vitro studies. *Bioorganic Chemistry*,vol, 62,p1-7.
18. **Serseg, T , Benarous, K. (2018).** The Inhibitory Effect of Some Drugs on *Candida rugosa* Lipase and Human Pancreatic Lipase:In vitro and In silico Studies, *Endocrine, Metabolic & Immune Disorders - Drug Targets*, Vol 18, P 2 .
19. **Ruiz, C , Falcocchio, S, Xoxi E, Villo L, Nicolosi G ,F.I. Pastor J , Diaz P, Saso L.(2006).** Inhibition of *Candida rugosa* lipase by saponins, flavonoids and alkaloids, *Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic* vol 40, p 2-6.
20. **Eggimann P., Garbino J., Pittet D. (2003).** Epidemiology of *Candida* species infections in critically ill non-immunosuppressed patients. *Lancet Infection Diseases*,vol 3.p2.
21. **Lotti,M., Tramontano,A., Longhi,S., Fusetti,F., Brocca,F., Pizzi,E, Alberghina.L.(1994).** Variability within the *Candida rugosa* Upases family, *Protein Engineering* vol.7. pp.531-535.
22. **Amamra,S. (2009).** Synthèse et caractérisation d'espèces nano confinées hôtes d'intercalation et d'encapsulation d'espèces actives dans des structures cationiques et anioniques. Application à des biomolécules, université de setif.p1-4.
23. **Bannwarth B. (2005).** Traitements anti-inflammatoires, place des AINS classiques et des coxibs. *Edition Elsevier*. p 525.
24. **Muster D. (2005).** Médicaments de l'inflammation. *Edition Elsevier*. p 21-29.
25. **El baghdadi, D. (2013).** Les anti-inflammatoires stéroïdiens et non stéroïdiens en odontostomatologie, université Hassan II,Casablanca,p 42-46.
26. **Lakshmi S, T., Mohana Lakshmi, S., Neelufar S, Reddy.k, G. et Prasanna, K.R. (2013).** Medicinal Plants as Anti-Ulcer Agents. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*.p 91-97.
27. **Kusters, J. G., A. H. van Vliet. (2006).** Pathogenesis of *Helicobacter pylori* infection.*Clin Microbiol Rev*,vol 19,p 449-490.
28. **Pascale M. (2011).** Etude des interactions entre *Helicobacter pylori* et les cellules épithéliales gastriques. *Université de Poitiers*,P 20-30.
29. **Atherton, J. C. (2006).** The pathogenesis of *Helicobacter pylori*-induced gastroduodenal Diseases. *Annu Rev Pathol*, vol 1,p 63-96.

30. **O'Toole, P. W., M. C. Lane. (2000).** "Helicobacter pylori motility." *Microbes Infect* **2**, vol 10.p 1207-1214.
31. **Tan, S., L. S. Tompkins, Manuel.R, Amieva. (2009).** Helicobacter pylori usurps cell polarity to turn the cell surface into a replicative niche. *PLoS Pathog.* P5.
32. **Seité, S., Rougier, A., Dréno, B. (2012).** Enquête sur la prise en charge des patients acnéiques en France. *Annales de Dermatologie et de Vénérologie*,vol 139 (10),p 611-616.
33. **Mak, T., Schmid,M., Brzuszkiewicz., E., Zeng, G., Meyer, R., Sfanos, K., Brinkmann, V., Meyer, T., Brüggemann, H. (2013),** Comparative genomics reveals distinct host-interacting traits of three major human-associated propionibacteria, *BMC Genomics*, p4.
34. **Schaller, M., Loewenstein, M., Borelli, C., Jacob, K., Vogeser, M., Burgdorf, W.H., Plewig,G., (2005).** Induction of a chemoattractive proinflammatory cytokine response after stimulation of keratinocytes with *Propionibacterium acnes* and coproporphyrin III. *British Journal of Dermatology*.vol 153.p 66-71.

RÉSUMÉ :

Le présent travail a pour objectif, de mettre en évidence l'effet inhibiteur *in vitro* et *in silico* de six médicaments anti-inflammatoires sur l'activité enzymatique de la lipase. Les médicaments utilisés sont : le celecoxib, l'aspirine DL-lysine, l'acide niflumique, le naproxen sodique, l'ibuprofène et le bétaméthasone. Ce dernier est le seul qui représente un effet d'inhibition important avec une valeur d'IC₅₀ de 0,36±0,01 mg/ml tandis que les autres médicaments représentent un effet inhibiteur très faible avec des valeurs d'IC₅₀ > 2 mg/ml. Ces expériences ont montré que le bétaméthasone peut être utilisé dans le traitement de l'obésité et autres maladie liées à l'activité de la lipase. Le Docking moléculaire est effectué en utilisant l'Autodock vina pour ces médicaments, et deux enzymes lipase de *Candida rugosa* et lipase pancréatique humaine ; cela nous a permis à comprendre les interactions inhibiteur-enzymes et de confirmer les résultats obtenus *in vitro*.

Mots clés : Lipase, inhibition, IC₅₀, anti-inflammatoires, Docking moléculaire, Autodock vina, *Candida rugosa*, lipase pancréatique humaine.

ABSTRACT

This work aims to demonstrate the inhibitory effect *in vitro* & *in silico* of six anti-inflammatory drugs on the enzymatic activity of lipase. The used drugs are: celecoxib, aspirin DL-lysine, niflumic acid, naproxen sodium, ibuprofen and betamethasone. The latter is the only one which represents an important inhibition effect with a value of IC₅₀ of 0.36±0.01 mg/ml, while the other drugs represent a very low inhibitory effect with a value of IC₅₀ > 2 mg/ml. These experiments showed that betamethasone can be used in the treatment of obesity and other diseases related to lipase activity. Molecular Docking is performed using the Autodock Vina for six drug molecules and two enzymes *Candida rugosa* lipase and human pancreatic lipase, allowed us to understand inhibitory – enzyme interactions and to confirm *in vitro* obtained results.

Keywords: Lipase, inhibition, IC₅₀, anti-inflammatory drugs, Molecular Docking, Autodock vina, diseases related to lipase, *Candida rugosa*, human pancreatic lipase.

ملخص

يهدف هذا العمل إلى إظهار تثبيط ستة أدوية مضادة للالتهابات للنشاط الأنزيمي للليباز، هذه الأدوية المستعملة هي: السيليكوكسيب؛ الأسبيرين د ل - ليزين، حمض النيفلوميك، نابروكسين الصوديوم، الايبوبروفان، البيتاميتازون. هذا الدواء الأخير هو الوحيد الذي يملك تأثيراً تثبيطياً معتبراً مع قيمة ت. م. 0,36±0,01 مغ/ مل، في حين أنّ الأدوية الأخرى تمتلك قيم ت. م. < 2 مغ/ مل. بيّنّت هذه التجارب أنّ البيتاميتازون يمكن أن يستعمل في علاج السمّة والأمراض المرتبطة بنشاط الليباز. وأمّا الارساء الجزيئي فتمّ تنفيذه للأدوية الستة والأنزيمين (ليباز كونديدا ريقوزا) والليباز البنكرياسي للإنسان، وسمحت لنا بفهم التفاعلات انزيم- مثبط.

الكلمات المفتاحية : الليباز، تثبيط، ت م (التركيز المثبط)، مضادات الالتهابات، الارساء الجزيئي، الأمراض المرتبطة بنشاط الليباز، ليباز كونديدا ريقوزا، الليباز البنكرياسي، تفاعلات أنزيم- مثبط .