

胆固醇酯转移蛋白天然产物抑制剂虚拟筛选和分子动力学模拟验证

缪晓帆¹, 李碧霞¹, 尚文斌^{2,3*}

1. 南京中医药大学附属医院 心内科, 江苏 南京 210029

2. 南京中医药大学第一临床医学院 代谢病中医研究重点实验室, 江苏 南京 210023

3. 南京中医药大学附属医院 内分泌科, 江苏 南京 210029

摘要: **目的** 开发胆固醇酯转移蛋白 (CETP) 的天然产物抑制剂。 **方法** 采用计算机辅助技术, 对高通量筛选天然产物数据库 L6000 分别进行 3 个精度梯度的分子对接、结合自由能计算、分子动力学模拟 (MD 模拟) 等多轮虚拟筛选的策略, 从中筛选 CETP 抑制剂。 **结果** 共筛选得到 19 个候选化合物, 其中前 3 位化合物分别为肉苁蓉苷 A、茶黄素、丹酚酸 B 二甲酯, 结合模式分析显示上述化合物与靶标活性口袋之间形成了较强的相互作用; MD 模拟的参数也证实上述蛋白-配体复合物结合的稳定性。 **结论** 肉苁蓉苷 A、茶黄素、丹酚酸 B 二甲酯可作为 CETP 抑制剂的先导化合物。

关键词: 开发胆固醇酯转移蛋白; 血脂异常; 天然化合物; 小分子抑制剂; 虚拟筛选; 分子对接; 分子动力学模拟; 肉苁蓉苷 A; 茶黄素; 丹酚酸 B 二甲酯

中图分类号: R972 文献标志码: A 文章编号: 1674-5515(2024)12-3021-08

DOI: 10.7501/j.issn.1674-5515.2024.12.004

Virtual screening and molecular dynamics simulation verification of cholesterol ester transfer protein from natural product inhibitors

MIAO Xiaofan¹, LI Bixia¹, SHANG Wenbin^{2,3}

1. Department of Cardiology, The Affiliated Hospital of Nanjing University of Tradition Chinese Medicine, Nanjing 210029, China

2. Key Laboratory for Metabolic Diseases in Chinese Medicine, First College of Clinical Medicine, Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing 210023, China

3. Department of Endocrinology and Metabolism, Affiliated Hospital of Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing 210029, China

Abstract: Objective To develop natural product inhibitors of cholesterol ester transfer protein (CETP). **Methods** By using computer-aided technology, the high-throughput natural product database L6000 was screened for CETP inhibitors by multi-round virtual screening strategies such as molecular docking with three precision gradients, combined free energy calculation and molecular dynamics simulation (MD simulation). **Results** A total of 19 candidate compounds were screened, of which the first three compounds were cistanoside A, theaflavin and dimethylthiospermate B. Binding mode analysis showed that there was a strong interaction between the above compounds and the active pocket of the target, and the MD simulation parameters also confirmed the stability of the protein-ligand complex mentioned above. **Conclusion** Cistanoside A, theaflavin, and dimethylthiospermate B can be used as the lead compounds of possible CETP inhibitors.

Key words: CETP protein; dyslipidemia; natural compound; small molecular inhibitors; virtual screening; molecular docking; molecular dynamics simulation; cistanoside A; theaflavin; dimethylthiospermate B

血脂异常与动脉粥样硬化和心血管疾病的发展有关, 对人类健康构成严重威胁。他汀类药物作为目前降低总胆固醇 (TC) 和低密度脂蛋白胆固醇

(LDL-C) 的主要药物而广泛应用于临床, 但在许多经过治疗的血脂异常患者中, 心血管病发病率和死亡率仍然很高^[1]。因此, 寻找其他方法进一步降低

收稿日期: 2024-07-17

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (81873060)

作者简介: 缪晓帆, 女, 副主任医师, 研究方向为中西医结合防治心血管及代谢疾病。E-mail: iamgreen@126.com

*通信作者: 尚文斌, 主任中医师, 博士研究生导师, 研究方向为中西医结合防治内分泌代谢疾病。E-mail: wbshang@njucm.edu.cn

心脑血管疾病的风险和死亡率十分必要。流行病学研究表明,高密度脂蛋白胆固醇(HDL-C)是心脏病风险的一个独立且强大的反向预测因子,提高HDL-C水平可降低使用他汀的血脂异常患者中的残余心血管风险^[2]。人血浆中的HDL根据水合密度被分为HDL2和HDL3 2个主要亚组分,具有不同的代谢途径和生物学特性^[3]。胆固醇酯转移蛋白(CETP)是一种主要与HDL3颗粒结合的血浆糖蛋白,并在循环脂蛋白之间传递甘油三酯和胆固醇酯^[4-5]。胆固醇逆向转运(RCT)是指将多余的胆固醇从动脉粥样硬化病变中的巨噬细胞经由HDL逆向转移到肝脏的过程^[5]。经CETP处理后HDL易受肝脂肪酶和内皮脂肪酶的脂肪分解修饰,进而形成较小HDL颗粒,易于快速分解代谢。研究证实,代谢综合征患者体内CETP活性增高,并与过早的动脉粥样硬化和高心血管风险密切相关^[6]。因此,抑制CETP是提高HDL-C和减少动脉粥样硬化的重要靶点^[7]。

在过去的几十年里,多种新发现的CETP抑制剂在临床研究中证实具有显著提高HDL水平的作用,但几乎均因药物开发过程中未能达到预期临床获益点而终止^[8-9]。研究指出,现有CETP抑制剂可能存在结构相关的脱靶效应,导致患者血压升高、激素生成异常,且这类CETP抑制剂在升高HDL-C的同时对LDL-C水平的降幅不大,这可能成为现有CETP抑制剂未达到主要心血管终点或增加心血管风险的原因^[8]。天然产物中蕴藏了大量的生物活性物质,一直都是药物开发的重要来源,其提供的独特生物相关化学空间可以影响多种蛋白靶点的功能,对很多疾病都有一定的治疗潜力。本研究以高通量天然产物数据库为筛选对象,通过计算机辅助筛选技术,针对与血脂异常相关的CETP靶点进行药物筛选研究,通过分子对接以及结合自由能计算等手段,筛选出特异性强且安全性高的CETP抑制剂,随后根据分子动力学模拟技术进行验证,探寻特异性强的天然产物小分子,为新型高效的CETP抑制剂开发提供一定的理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料

本研究虚拟筛选过程主要采用美国Schrödinger公司的Schrödinger-v2023.2软件完成,靶点蛋白信息由PDB数据库(<https://www.rcsb.org/>)获得,配体化合物信息由Topscience数据库

(<https://www.screeningcompound.com/>)获得。根据虚拟筛选结果,使用GROMACS 2020.6(GPU)进行分子动力学模拟,参数设置除非特殊指明,均为默认值。

1.2 靶点蛋白的准备

从PDB数据库中下载CETP蛋白的晶体结构,并对CETP结构进行分析,种属为人,UniProt ID为P11597,序列长度为493个氨基酸。使用Schrödinger软件的Protein Preparation Wizard模块进行蛋白准备^[10]。进行分配键级、加氢等操作,若有缺失的侧链,使用Prime模块进行补充,接着去除蛋白中的水分子和辅因子,随后采用PROPKA方法,pH 7.0下进行蛋白氨基酸残基氢键网络优化,最后采用OPLS_4力场进行蛋白质能量最小化,只对氢原子进行优化,方均根偏移(RMSD)收敛于0.3 Å(1 Å=0.1 nm)。

1.3 化合物库 3D 结构的准备

下载Topscience数据库中的高通量筛选天然产物库(L6000 Natural Product Library for HTS),该数据库共有4 320种天然产物单体,来源丰富,结构多样,具有很强的代表性。将2D sdf文件导入Schrödinger软件,用Ligprep模块基于OPLS_4力场准备每个底物的3D结构并确定坐标,并利用Epik模块确定所有可能的立体异构体和相关的质子化状态。

1.4 虚拟筛选

采用Schrödinger中的Virtual Screening Workflow模块进行分子对接^[10]。将准备好的化合物导入后,虚拟筛选过程依次采用4种模式进行。(1)高通量筛选(HTVS),保留每个配体的所有立体异构状态,并选择每个配体的不同立体异构状态只生成1个构象,对接完成后,保留打分最好的前50%的化合物进行下一步筛选;(2)标准精度(standard precision, SP)进行对接,只保留每个配体的具有好的打分的立体异构状态,并选择每个配体的不同立体异构状态只生成1个构象,对接完成后,保留打分最好的前20%的化合物进行下一步筛选;(3)超精度(extra precision, XP),只保留每个配体具有最好的打分立体异构状态,并选择每个配体的不同立体异构状态只生成1个构象,对接完成后,保留前100个化合物进行下一步筛选;(4)分子力学广义波恩表面积(molecular mechanics/generalized born surface area, MM/GBSA)方法计算结合自由能重新

打分。对于最终筛选到的候选化合物与 4EWS 的结晶配体进行基于相似性的聚类分析。分析过程主要使用 Schrödinger 中 clustering of ligand 模块实现, 采用模式为 volume overlap。随后通过 MM-GBSA 对候选化合物重打分, 并根据结合自由能排序后选择匹配度高的化合物用于后续分析。

1.5 分子动力学模拟

基于上述对接获得的小分子与蛋白复合物作为初始结构分别进行分子动力学模拟^[11]。分子动力学模拟所使用的蛋白质力场为 AMBER14SB, 水分子为三点模型 TIP3P。每组动力学体系都被置于一个由水分子填充的立方体盒中, 定义周期边界条件, 通过添加钠、氯离子来实现系统电荷平衡。模拟中, 分别通过 100 ps 的 NVT 系综和 NPT 系综模拟对体系进行预平衡, 在基于上述恒温恒压的平衡条件下以 2.0 fs 的时间步长进行 50 ns 的生产模拟, 后通过计算均方根偏差 (root mean square deviation, RMSD)、均方根波动 (root Mean square fluctuation, RMSF) 及蛋白质的表面溶剂接触面积 (solvent accessible surface area, SASA) 分析蛋白质-配体复合物的相互作用和结合稳定性; 通过二级结构构象分析蛋白质结构的变化情况。

2 结果

2.1 蛋白结构调研

目前在 PDB 数据库 CETP 蛋白有 3 个晶体结构 (2OBD、4EWS、4F2A), 本研究使用的 4EWS 晶体结构, 分辨率最高且结合了一个强效抑制剂, 活性达到单纳摩尔级别, 分辨率为 2.59 Å。其中蛋白和小分子抑制剂结合的位置也是蛋白的唯一结合口袋, 口袋的 surface 见图 1A, 可见小分子结合位置有个较大的疏水口袋。因此, 针对此结合口袋, 进行基于结构的虚拟筛选。对接格点的生成基于小分子抑制剂所在的口袋位点将对接格点中心设置为结晶配体, 对接外盒的大小设置为与结晶配体大小类似, 尺寸为 $10 \times 10 \times 10 \text{ \AA}^3$, 内盒的大小设置为 10 \AA^3 , 见图 1B。

2.2 基于对接的虚拟筛选

基于以上口袋, 对 L6000 数据库进行了多轮筛选, 具体流程见图 2。经过高通量虚拟筛选、标准精度的虚拟筛选、超精度的虚拟筛选, 最后保留 100 个化合物, 其中分子对接打分值最高为 -16.991 kcal/mol ($1 \text{ cal} = 4.2 \text{ J}$), 最低为 -13.009 kcal/mol , 平均值为 -14.396 kcal/mol 。利用 MM-GBSA 对保留

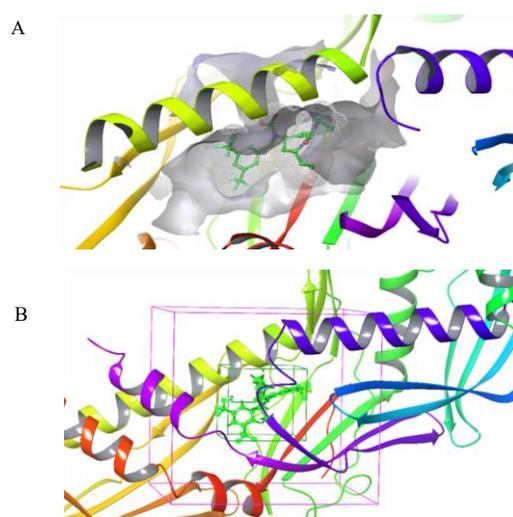


图 1 CETP 蛋白结合口袋示意图 (A)、CETP 蛋白结合位点示意图 (B)

Fig. 1 Schematic diagram of CETP protein binding pocket (A), Schematic diagram of CETP protein binding site (B)

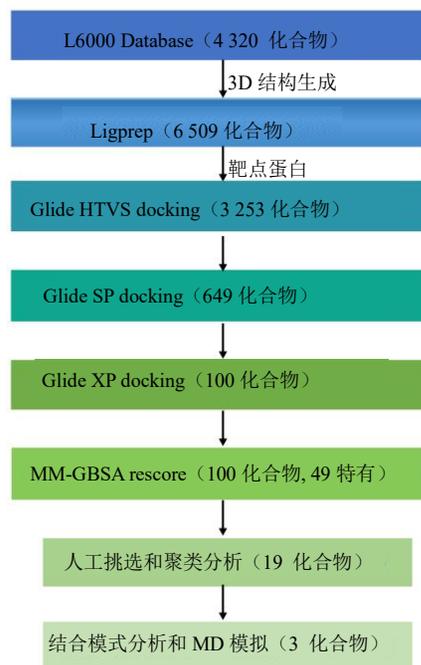


图 2 虚拟筛选和分子动力学模拟流程图

Fig. 2 Flow chart of virtual screening and molecular dynamics simulation

的 100 个化合物进行重新打分, 最终得到 49 个唯一化合物, 经过聚类和构象分析, 并且和原有结晶小分子进行位置叠合, 得到匹配度最佳的 19 个化合物作为候选化合物, 见表 1、图 3。

2.3 聚类分析

对筛选出的 19 个化合物化合物与 4EWS 的结晶配体进行基于相似性的聚类分析后, 按照分子结

表 1 19 个候选化合物

Table 1 19 Candidate compounds

L6000 ID	化合物中文名称	CAS	化学结构式	类别	来源
T5S0285	肉苁蓉苷 A	93236-42-1	C ₃₆ H ₄₈ O ₂₀	苯及其取代衍生物	肉苁蓉
T7602	茶黄素	4670-05-7	C ₂₉ H ₂₄ O ₁₂	黄酮类	茶树
T8299	丹酚酸 B 二甲酯	875313-64-7	C ₃₈ H ₃₄ O ₁₆	苯及其取代衍生物	丹参
T3S1088	异连翘酯苷	1357910-26-9	C ₂₉ H ₃₆ O ₁₅	苯及其取代衍生物	连翘
T2791	大蓟苷	28978-02-1	C ₂₉ H ₃₄ O ₁₅	苷类; 黄酮类	大蓟
T3415	亚麻木酚素	148244-82-0	C ₃₂ H ₄₆ O ₁₆	木脂素类	亚麻属
T3854	山茶苷 A	135095-52-2	C ₃₃ H ₄₀ O ₂₀	黄酮类	油茶
T6S2227	棘苷	72063-39-9	C ₂₈ H ₃₂ O ₁₅	黄酮类	酸枣
T0878	地奥司明	520-27-4	C ₂₈ H ₃₂ O ₁₅	苷类; 黄酮类	芸香属
T3S2312	枸橼苷	14941-08-3	C ₂₈ H ₃₄ O ₁₄	黄酮类	三叶海棠
TN2165	红链霉素-龙胆二糖苷	24577-90-0	C ₂₇ H ₃₂ O ₁₅	酚类	决明子
T12651	咖啡酸四聚体异构体	263397-69-9	C ₃₆ H ₃₀ O ₁₆	酚类	日本香茶菜
TN7085	杨梅常山苷	76076-04-5	C ₃₄ H ₄₄ O ₁₉	糖苷	红杨梅
T3897	夏佛塔苷	52012-29-0	C ₂₆ H ₂₈ O ₁₄	黄酮类	广金钱草
T3851	新西兰牡荆苷	23666-13-9	C ₂₇ H ₃₀ O ₁₅	黄酮类	野菊花属药用植物
T6102	2-乙酰基洋丁香酚苷	94492-24-7	C ₃₁ H ₃₈ O ₁₆	苯及其取代衍生物	肉苁蓉
T8277	连翘苷 I	1177581-50-8	C ₂₉ H ₃₆ O ₁₅	酚类	连翘
TN2011	商陆苷	20188-85-6	C ₂₉ H ₃₄ O ₁₆	黄酮类	半枝莲
T4130	沙苑子苷	116183-66-5	C ₂₈ H ₃₂ O ₁₆	黄酮类	沙打旺

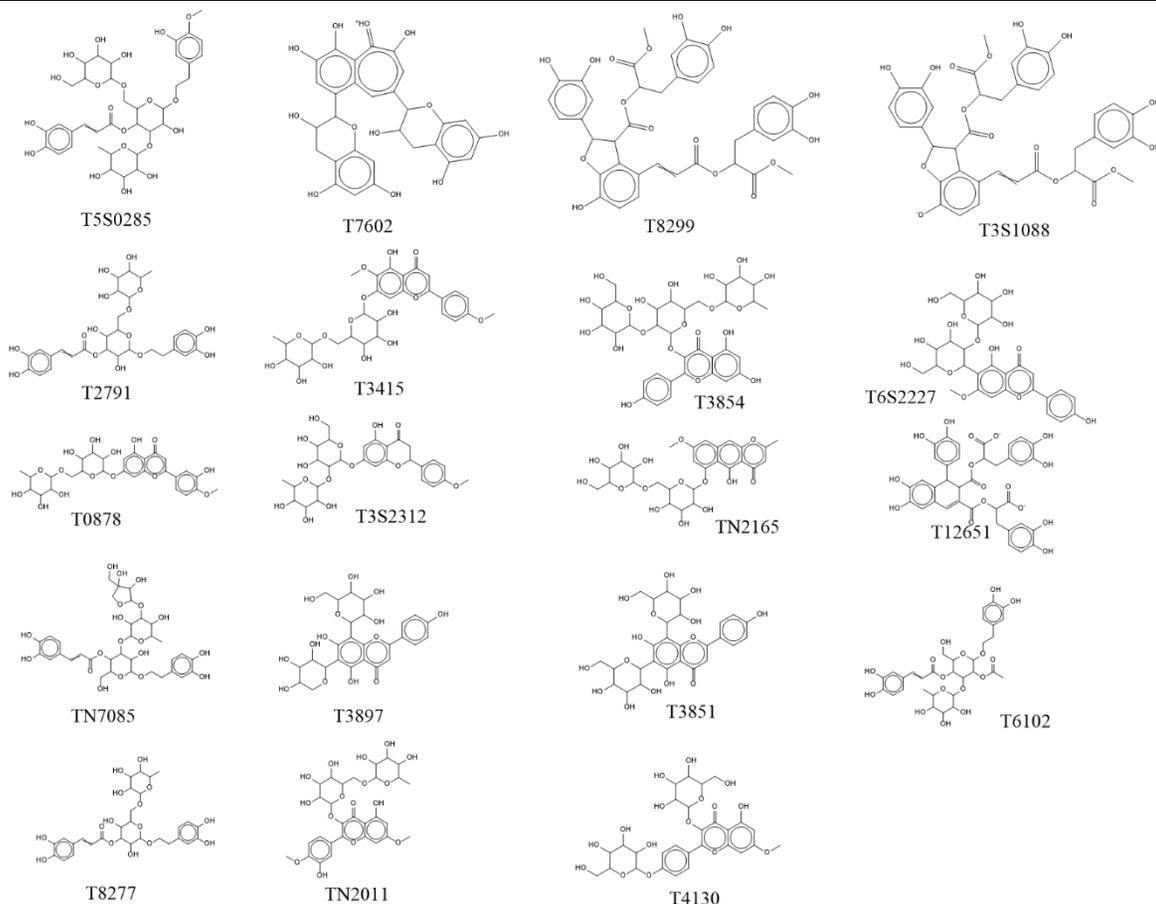


图 3 19 个候选化合物的结构、分子对接打分及结合自由能打分

Fig. 3 Structure, molecular docking score and binding free energy score of 19 candidate compounds

构的重叠程度分为以下 3 类。其中图 4A 为第 1 个聚类, 含 14 个小分子, 说明大部分小分子的骨架较

为相似; 图 4B 为第 2 个聚类, 含 1 个小分子, 图 4C 为第 3 个聚类, 含 4 个小分子。图中黑色的为结

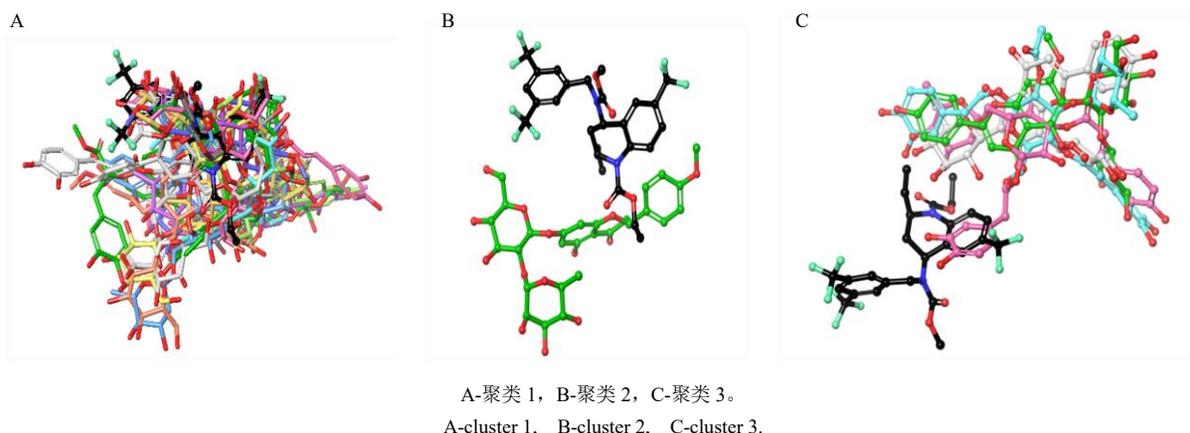


图 4 19 个候选化合物的聚类分析

Fig. 4 Cluster analysis of 19 candidate compounds

晶配体, 其余为虚筛得到的小分子。

2.4 结合模式分析

通过综合考虑 19 个候选化合物的对接打分和结合自由能, 结合自由能排名前 3 位的化合物最终被挑选用于分析结合模式, 包括肉苁蓉苷 A、茶黄素、丹酚酸 B 二甲酯。采用 PyMol 软件绘制出这 3 种化合物和 CETP 蛋白的结合模式图, 3 种配体氨基酸残基之间与靶蛋白 CETP 的作用力促进了蛋白-配体复合物的结合, 使其形成更加稳定的复合物。其中肉苁蓉苷 A 与靶蛋白的 phe463 形成芳香氢键,

和 phe263 行成芳香氢键和 π - π 堆积作用; 茶黄素与靶蛋白的 HIS232 形成经典氢键, 与 PHE263 形成芳香氢键, 与 PHE461 形成阳离子- π 相互作用; 丹酚酸 B 二甲酯与靶蛋白的 HIS232、PHE441 形成芳香氢键, 与 PHE463 形成 π - π 堆积作用。其他蛋白-配体的作用力还包括疏水作用和盐桥等, 结果见图 5。

2.5 分子动力学模拟

2.5.1 RMSD 值计算 由图 6A 可知, 肉苁蓉苷 A - CETP 体系在模拟运行 10 ns 后, RMSD 涨落范围

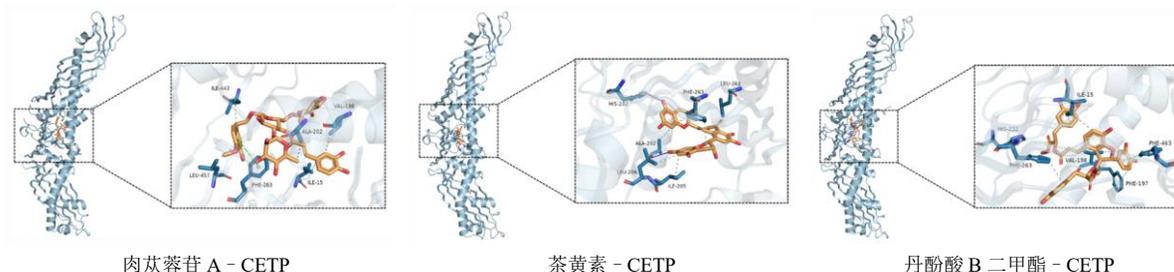


图 5 CETP 蛋白与化合物的结合模式图

Fig. 5 Binding pattern of CETP protein to compounds

稳定在 ± 0.1 nm 以下, RMSD 的平衡状态表明该体系的结合强度良好。茶黄素 - CETP 体系在模拟运行 25 ns 之后波动开始出现显著放缓, 涨落范围同样稳定在 ± 0.1 nm 以下, 达到了平衡状态; 丹酚酸 B 二甲酯 - CETP 体系的 RMSD 值在模拟运行 10 ns 之后波动变小, RMSD 平均值为 $0.2 \sim 0.3$ nm, 且涨落范围都稳定在 0.1 nm 以下, 均达到了平衡状态。另外, 本研究也同时计算了配体的 RMSD 值, 由图可知, 茶黄素 - CETP 在模拟初始阶段就处于稳定状态, 肉苁蓉苷 A - CETP 和丹酚酸 B 二甲酯 - CETP 则在经过快速的波动期后迅速回稳, 该差别

可能是由于不同的分子构型以及在结合腔的相互作用力差异造成的, 三者总体上处于平衡状态。

2.5.2 RMSF 值计算 基于不同药物分子与 CETP 蛋白复合物体系, 本研究计算了各组的蛋白质氨基酸残基的 RMSF 值。从图 6B 可以看出, 3 种小分子化合物与 CETP 作用的关键残基的 RMSF 值处于一个相对较低的水平, 平均值约为 0.16 nm, 表明 CETP 蛋白与小分子配体结合促进了蛋白质的空间结构稳定性, 进而表明配体与蛋白结合的稳定性。

2.5.3 SASA 值计算 由图 6C 可知, 肉苁蓉苷 A - CETP 和茶黄素 - CETP 2 组复合物在 $0 \sim 15$ ns 附近

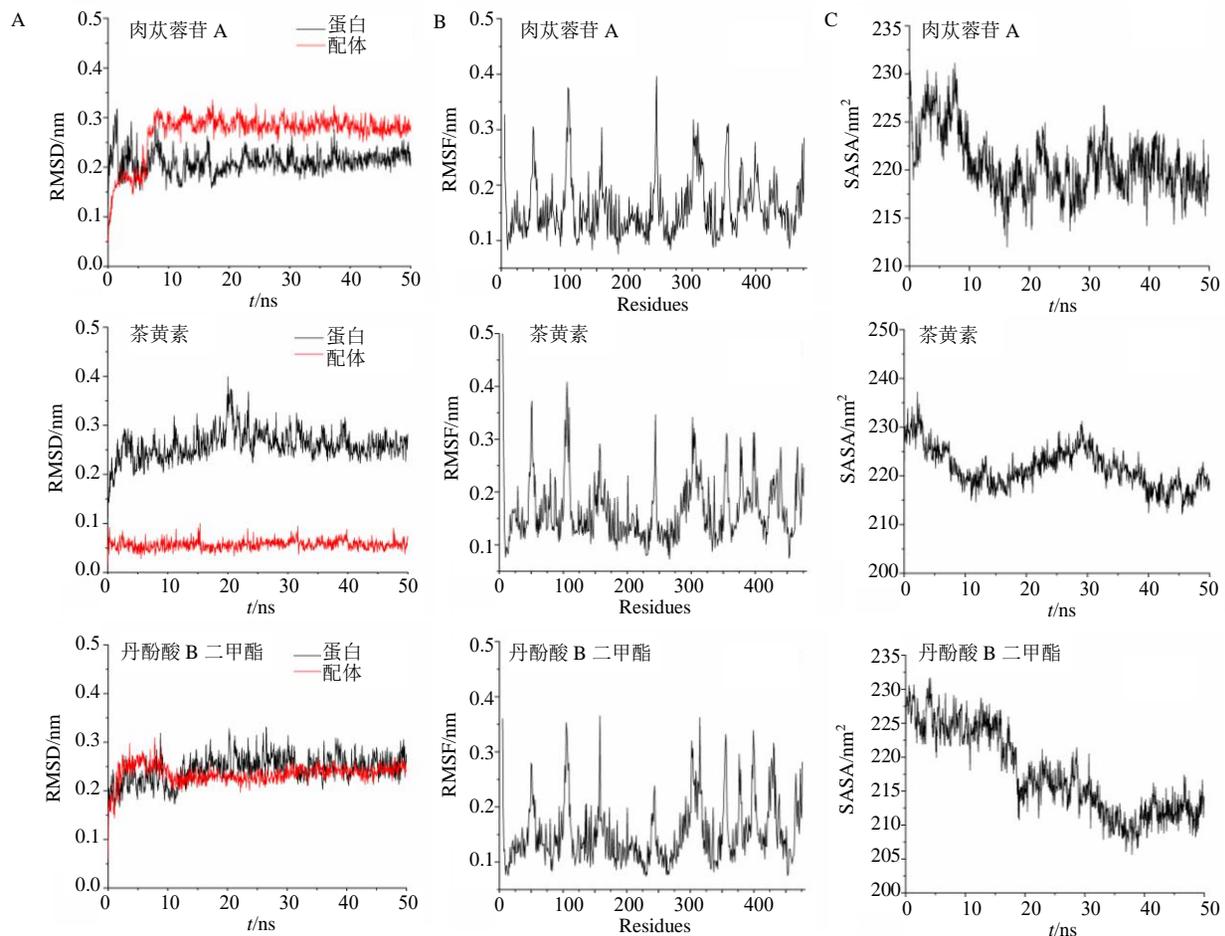


图 6 CETP - 配体复合物的 RMSD (A)、RMSF (B) 和 SASA (C) 图

Fig. 6 RMSD (A) and RMSF (B) and SASA (C) of protein and complex

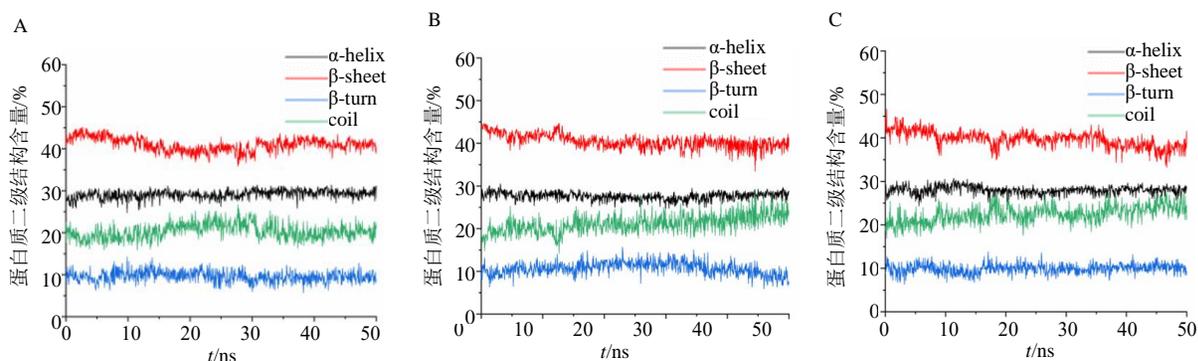
的模拟初期的 SASA 出现了快速下降, 这直观的表明了配体的快速结合, 并由于结合行为导致蛋白质表面暴露在溶剂中的面积减少, 通过 SASA 的下降可以推测配体与蛋白质的活性位点进行了紧密结合, 并可能伴随这结合口袋的构象变化甚至是蛋白质的构象变化。随着模拟的继续, 由于蛋白质和配体二者原子的共同滚转动, 导致在模拟中期阶段 SASA 出现了一定幅度的增加, 推测在该阶段二者的结合变弱。这可能是由于蛋白质构象扰动造成的阶段性的稳定性下降, 在此之后, SASA 进入第 3 阶段, 迅速降低, 直至模拟结束。丹酚酸 B 二甲酯 - CETP 组复合物的 SASA 则全程下降, 并在约 40 ns 后进入稳定状态。

2.5.4 二级结构构象分析 由图 7 可知, 3 组复合物中蛋白质的 α -helix 含量比例最为稳定, 未见明显增减。在肉苁蓉苷 A - CETP 中, 可以明显的观察到在 0~25 ns 阶段伴随着 β -sheet 含量的下降和 coil

的增加, 并在 25 ns 后该增减变化出现恢复。在茶黄素 - CETP 中可以看到, 较为明显的变化则主要出现在 β -turn 和 coil 的相互转换中。在丹酚酸 B 二甲酯 - CETP 中, 则主要是 β -sheet 的减少和 coil 的增加。蛋白质二级结构含量的变化主要受结合位点附近氨基酸类型的影响较大, 由于不同复合物中配体分子结合的具体位置和相互作用力类型、强弱的不同, 因此各组的蛋白质构象亦有差异。总体上, 各组的蛋白质二级结构含量均有明显变化, 这与配体的紧密结合关系密切。

3 讨论

血脂是血浆中的中性脂肪和类脂的总称。血脂代谢平衡对维持细胞和机体的生命活动至关重要; 血脂代谢异常则与心脑血管疾病、神经退行性疾病及肿瘤等的发生密切相关^[12-13]。中医对血脂异常的认识和治疗, 早在很久就有记录。中药具有资源丰富、结构多样、不良反应小, 价格低廉的优点, 在



A-肉苁蓉苷 A - CETP, B-茶黄素 - CETP, C-丹酚酸 B 二甲酯 - CETP。
A-cistanoside A - CETP, b-theaflavin - CETP, C-dimethyl lithospermate B - CETP.

图 7 蛋白 - 配体复合物的二级结构构象

Fig. 7 Secondary structure conformations of the complex and protein

脂质异常的调节方面具有良好效果,在国内外基础研究以及临床应用已经获得广泛认可^[14-16]。从高通量中药单体数据库中筛选可用于血脂异常的调节和治疗的中药成分小分子,具有实际意义。虚拟筛选技术和分子动力学模拟技术作为当前中药研究中最重要技术与手段之一,可对药物分子进行大范围筛选^[17]。CETP 是血液循环中参与脂代谢与 RCT 过程的重要调节酶,本研究聚焦于 CETP 蛋白的功能与作用,通过虚拟筛选研究,得到了与 CETP 蛋白有亲和力的 19 个候选配体,通过聚类分析验证了候选配体的骨架多样性,并选择排名前 3 位的配体小分子进行结合模式分析,配体与受体之间的疏水作用、 π - π 堆积和盐桥在维持蛋白质配体的较强亲和力发挥了重要作用。本研究也对 3 个候选的蛋白-配体复合物通过 MD 模拟探究了其稳定性,结果显示排名前 3 位的蛋白 - 配体复合物的 RMSD、RMSF、SASA 图经波动后均趋于稳定,且波动幅度小,蛋白质二级结构含量的明显变化也提示了蛋白配体的紧密结合,因此认为它们是与 CETP 蛋白具有较高亲和力的小分子抑制剂潜在候选者。

肉苁蓉苷 A 为苯乙醇苷类化合物,主要存在于肉苁蓉、地黄等中药材中,在肉苁蓉中的质量分数为 0.02%~0.44%,属于主要化合物,在地黄中的质量分数为 0.02%~0.07%,属于微量化合物^[18]。Shimoda 等^[19]报道了肉苁蓉提取物能影响饮食诱导的高胆固醇血症小鼠胆固醇转运和代谢相关分子的 mRNA 表达,并显示出降低胆固醇的活性。茶黄素是红茶发酵过程中形成的特有成分,在红茶中的含量固形物的 0.3%~1.5%^[20]。通过随机对照研

究发现富含茶黄素的茶叶提取物是低饱和脂肪饮食的有效辅助,可以降低高胆固醇血症成年人 LDL-C 水平,耐受性良好^[21]。丹酚酸 B 二甲酯是丹参中提取的脂溶性成分,为丹酚酸 B 的二甲酯化衍生物,两者在丹参中的含量约为 20 : 1,因此丹酚酸 B 二甲酯是丹参根中的微量化学成分^[22]。既往研究认为,丹酚酸 B 二甲酯具有与丹酚酸 B 相似的抗氧化、清除自由基以及抗心律失常的药理活性^[22-23]。

因此,本研究通过虚拟筛选和分子动力学模拟筛选出的天然小分子化合物肉苁蓉苷 A、茶黄素、丹酚酸 B 二甲酯不仅可用于 CETP 蛋白抑制剂先导化合物的发现和优化,也可以从分子机制更好理解中药调脂治疗的作用过程,帮助筛选含有关键化合物的中药药材,对这些中药进行归纳和分析,通过与中医整体观和辨证理论相结合,进行中药组方配伍。此外,本研究通过虚拟筛选得到的其他多种 CETP 蛋白抑制剂如异连翘酯苷、地奥司明、维采宁-2 等,以及天然化合物的来源中药如连翘、野菊花、芸香属植物等,可在今后的研究中进一步研究和验证。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] Libby P. The forgotten majority: Unfinished business in cardiovascular risk reduction [J]. *J Am Coll Cardiol*, 2005, 46(7): 1225-1228.
- [2] Luc G, Bard J M, Ferrieres J, et al. Value of HDL cholesterol, apolipoprotein A-I, lipoprotein A-I, and lipoprotein A-I/A-II in prediction of coronary heart disease: The PRIME study. prospective epidemiological study of myocardial infarction [J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2002, 22(7): 1155-1161.

- [3] Superko H R, Pendyala L, Williams P T, *et al.* High-density lipoprotein subclasses and their relationship to cardiovascular disease [J]. *J Clin Lipidol*, 2012, 6(6): 496-523.
- [4] Bruce C, Tall A R, *et al.* Cholesteryl ester transfer proteins, reverse cholesterol transport, and atherosclerosis [J]. *Curr Opin Lipidol*, 1995, 6(5): 306-311.
- [5] Marcel Y L, McPherson R, Hogue M, *et al.* Distribution and concentration of cholesteryl ester transfer protein in plasma of normolipemic subjects [J]. *J Clin Invest*, 1990, 85(1): 10-17.
- [6] Chapman M J, Goff W L, Guerin M, *et al.* Cholesteryl ester transfer protein: At the heart of the action of lipid-modulating therapy with statins, fibrates, niacin, and cholesteryl ester transfer protein inhibitors [J]. *Eur Heart J*, 2010, 31(2): 149-164.
- [7] Barter P J, Brewer Jr H B, Chapman M J, *et al.* Cholesteryl ester transfer protein: A novel target for raising HDL and inhibiting atherosclerosis [J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2003, 23(2): 160-167.
- [8] Deng S Y, Liu J W, Niu C G. HDL and cholesteryl ester transfer protein (CETP) [J]. *Adv Exp Med Biol*, 2022, 1377: 13-26.
- [9] Lincoff A M, Nicholls S J, Riesmeyer J S, *et al.* Evacetrapib and cardiovascular outcomes in high-risk vascular disease [J]. *N Engl J Med*, 2017, 376(20): 1933-1942.
- [10] Friesner R A, Banks J L, Murphy R B, *et al.* Glide: A new approach for rapid, accurate docking and scoring. 1. Method and assessment of docking accuracy [J]. *J Med Chem*, 2004, 47(7): 1739-1749.
- [11] Van Der Spoel D, Lindahl E, Hess B, *et al.* GROMACS: Fast, flexible, and free [J]. *J Comput Chem*, 2005, 26(16): 1701-1718.
- [12] Luo J, Yang H Y, Song B L. Mechanisms and regulation of cholesterol homeostasis [J]. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2020, 21(4): 225-245.
- [13] Shin H S, Jun B G, Yi S W. Impact of diabetes, obesity, and dyslipidemia on the risk of hepatocellular carcinoma in patients with chronic liver diseases [J]. *Clin Mol Hepatol*, 2022, 28(4): 773-789.
- [14] 鲁艳柳, 杜艺玫, 秦琳, 等. 基于胆汁酸代谢网络分析绞股蓝总皂苷降脂作用的机制 [J]. *天然产物研究与开发*, 2018, 30(7): 1143-1148.
- [15] Chen J T, Wesley R, Shamburek R D, *et al.* Meta-analysis of natural therapies for hyperlipidemia: Plant sterols and stanols versus policosanol [J]. *Pharmacotherapy*, 2005, 25(2): 171-183.
- [16] 张晟安, 刘志栋, 戴亮, 等. 苓桂术甘汤的临床应用: 1 项系统性评价与 Meta 分析 [J]. *中草药*, 2023, 54(14): 4599-4614.
- [17] Santos L H S, Ferreira R S, Caffarena E R. Integrating molecular docking and molecular dynamics simulations [J]. *Methods Mol Biol*, 2019, 2053: 13-34.
- [18] Yang D Q, Zhu Z, Yao Q, *et al.* ccTCM: A quantitative component and compound platform for promoting the research of traditional Chinese medicine [J]. *Comput Struct Biotechnol J*, 2023, 21: 5807-5817.
- [19] Shimoda H, Tanaka J, Takahara Y, *et al.* The hypocholesterolemic effects of *Cistanche tubulosa* extract, a Chinese traditional crude medicine, in mice [J]. *Am J Chin Med*, 2009, 37(6): 1125-1138.
- [20] Zuo X B, Kong J H, Song P P, *et al.* Study on the active efficacy, application and developing countermeasures of theaflavins [J]. *China Tea Processing*, 2023, 4: 57-64.
- [21] Maron D J, Lu G P, Cai N S, *et al.* Cholesterol-lowering effect of a theaflavin-enriched green tea extract: A randomized controlled trial [J]. *Arch Intern Med*, 2003, 163(12): 1448-1453.
- [22] 袁春平, 侯惠民, 曾杉. 丹酚酸 B 及二甲酯在 Caco-2 细胞模型中跨膜转运的对比研究 [J]. *中国新药杂志*, 2016, 25(6): 699-704.
- [23] Fish J M, Welchons D R, Kim Y S, *et al.* Dimethyl lithospermate B, an extract of Danshen, suppresses arrhythmogenesis associated with the Brugada syndrome [J]. *Circulation*, 2006, 113(11): 1393-1400.

[责任编辑 高源]