

# 降脂药物筛选方法的研究进展

纪旭<sup>1</sup> 陈雪娇<sup>1,2,\*</sup> 罗丹<sup>1,2</sup> 李洁<sup>1</sup>

(1 中国科学院昆明植物研究所 植物化学与西部植物资源持续利用国家重点实验室,昆明 650201;

2 中国科学院大学 存济医学院 北京 101407)

**摘要** 指出了高脂血症是心脑血管疾病的主要危害因素之一,容易诱发动脉粥样硬化、冠心病、脑卒中等多种疾病,严重威胁人类健康。通过文献调研,对近年来国内外降脂药物的作用靶点和筛选方法进行了综述,为降脂活性成分的筛选研究提供参考。

**关键词** 高脂血症; 药用靶点; 筛选方法

中图分类号 Q493.5; TQ469; R965.1 文献标识码 A 文章编号 1672-4321(2017)03-0043-06

## Research Progress of Screening Models for Lipid Lowering Drugs

Ji Xu<sup>1</sup>, Chen Xuejiao<sup>1,2,\*</sup>, Luo Dan<sup>1,2</sup>, Li Jie<sup>1</sup>

(1 State Key Laboratory of Phytochemistry and Plant Resources in West China, Kunming Institute of Botany, Chinese Academy of Sciences, Kunming, Yunnan 650201, China; 2 Savaid Medical School, University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 101407, China)

**Abstract** Hyperlipidemia is one of the main risk factors of cardiovascular and cerebrovascular disease, and it may trigger serious diseases, such as atherosclerosis, coronary heart disease and stroke etc., which represent a substantial global threat to human health. In this review, the pharmacological targets and screening methods of hypolipidemic drugs developed in recent years have been reviewed, which will provide references for further research of hypolipidemic drugs.

**Keywords** hyperlipidemia; pharmacological targets; screening methods

### 1 降脂药物筛选方法建立的背景及意义

随着人们生活水平的提高和饮食结构的改变,高脂血症的发病率呈逐年上升趋势<sup>[1]</sup>。高脂血症是体内脂类代谢紊乱导致血脂水平增高的一种疾病,是指各种原因导致的血浆中胆固醇(TC)、甘油三酯(TG)、极低密度脂蛋白(VLDL)、低密度脂蛋白(LDL)升高、和(或)高密度脂蛋白(HDL)降低的一种全身脂代谢异常疾病<sup>[2]</sup>。高脂血症是心脑血管疾病的主要危害因素之一,容易诱发动脉粥样硬化、冠状动脉粥样硬化性心脏病、脑卒中等多种心脑血管疾病。最近,有研究显示高脂血症对认知障碍也有影响。高脂血症已经严重威胁着人类的健康<sup>[3]</sup>。

现在临床常用的降脂药物,疗效低且常伴有一定副作用。因此,寻找更加安全、有效的降脂药物一

直是医药工作者的研究热点。对于新药物的研究,合适的药物作用靶点和筛选方法显得至关重要,不仅有助于缩短药物的研发时间,也能节约人力物力资源。本文将对目前已上市或正在研发的降脂药物及其筛选方法进行综述,目的是帮助科研人员在了解该领域研究进展的基础上,建立一种快速、简便、低成本且能实现高内涵、高通量筛选的药物筛选方法。

### 2 降脂药物的主要作用靶点

目前治疗高脂血症的药物主要有以下几大类:胆酸螯合剂类(树脂类)、烟酸及其衍生物类、多烯脂肪酸类(鱼油类)、苯氧芳酸类(贝特类)和羟甲基戊二酰辅酶A(HMG-CoA)还原酶抑制剂类(他汀类)<sup>[4]</sup>。虽然这些药物降脂效果明显,但长期服用具有较大的毒副作用。因此,国内外越来越重视对中药降脂作用

收稿日期 2017-05-24 \* 通讯作者 陈雪娇 研究方向:心血管药物的筛选及其作用机制 E-mail: chenxuejiao@mail.kib.ac.cn

作者简介 纪旭(1979-)男 研究员 博士 研究方向:心血管药物的筛选及其作用机制 E-mail: jixu@mail.kib.ac.cn

基金项目 国家自然科学基金资助项目(81300609) 云南省应用基础研究计划项目(2014FB170) 中国科学院青年创新促进会科研项目 植物化学与西部植物资源持续利用国家重点实验室自主课题(Y3728211Z1)

的研究. 近年来, 用中药治疗高脂血症已成为该领域研究的热点, 很多中药被证实具有很好的降脂作用, 如: 山楂、绞股蓝、人参、大黄、何首乌、决明子、泽泻、丹参及大豆等<sup>[5]</sup>. 此外, 还有一些新靶点和作用机制

的药物, 如微粒体三酰甘油转运蛋白抑制剂、酰基辅酶 A-胆固醇酰基转移酶抑制剂等. 表 1 是目前已有的和正在研发的降脂药物及其作用靶点.

表 1 已有和正在研发的降脂药物及其作用靶点

Tab.1 The existing and developing lipid-lowering drugs and their targets

编号	靶点	作用机制	代表性药物	研发状态	文献
1	羟甲基戊二酰辅酶 A (HMG-CoA) 还原酶抑制剂	竞争性抑制胆固醇合成途径的限速酶(HMG-CoA 还原酶), 抑制胆固醇的合成	他汀类, 如: 洛伐他汀、辛伐他汀、普伐他汀等	上市	[6, 7]
2	过氧化物酶增殖物激活受体 (PPAR) $\alpha$ 激动剂	激活 PPAR $\alpha$ , 从而降低血浆中 LDL 和 TG 水平, 升高 HDL 水平; 还能调节炎症反应, 改善胰岛素的耐受性	贝特类, 如: 吉非贝齐、氯贝特、非诺贝特等	上市	[8, 9]
3	胆固醇吸收抑制剂	在肠道内与胆酸呈不可逆结合, 阻碍胆酸的重吸收, 促进其排出, 从而加速胆固醇向胆酸的转化, 降低血浆和肝脏中胆固醇的含量 通过阻断小肠上皮刷状缘上的 NPC1L1 受体而特异地抑制胆固醇的吸收	树脂类, 如: 考来烯胺、考来替泊 依泽替米贝	上市	[10, 11]
4	酰基辅酶 A-胆固醇酰基转移酶 (ACAT) 抑制剂	抑制 ACAT 的活性, 可以减少胆固醇在肠道的吸收, 抑制胆固醇酯的蓄积和脂蛋白的形成	Pyripyropene A	临床前	[12, 13]
5	微粒体三酰甘油转运蛋白 (MTP) 抑制剂	抑制 MTP 能阻止肠上皮细胞和肝细胞内 ApoB 的组装和分泌, 抑制乳糜微粒和 VLDL 的合成, 从而降低血浆 LDL、VLDL 和 TG 的水平	洛美他派	上市	[14-16]
6	胆固醇酯转移蛋白 (CETP) 抑制剂	抑制 CETP 可以阻断胆固醇从 HDL 转移至 VLDL/LDL, 发挥降脂作用	Dalcetrapib Evacetrapib Anacetrapib	临床 III 期	[17, 18]
7	ApoB 合成抑制剂	抑制 ApoB 的合成可减少 VLDL、IDL 和 LDL 的合成与分泌, 从而产生降脂作用	Mipomerson	上市	[19, 20]
8	前蛋白转化酶枯草溶菌素 9 (PCSK-9) 抑制剂	PCSK-9 可与肝细胞表面的 LDL 受体结合, 影响 LDL 降解代谢, 抑制 PCSK-9 蛋白活性可降低体内 LDL-C 水平	Alirocumab Evolocumab Bococizumab	临床 III 期	[21, 22]
9	$\omega$ -3 不饱和脂肪酸	$\omega$ -3 不饱和脂肪酸可以显著地降低血浆中 TG 和 VLDL 的水平, 而对 HDL 几乎没有作用	Lovaza Vascepa	上市	[23, 24]
10	脂蛋白脂酶 (PLP) 激活剂	PLP 是催化乳糜微粒和 LDL 中 TG 水解为游离脂肪酸的限速酶, 激活后可降低血浆中 TG 的水平和升高 HDL-C 的水平	NO-4886	临床前	[25, 26]
11	重组载脂蛋白 AI (ApoA-Imilano) 脂质体	ApoAI 是 HDL 的主要组成蛋白, 是胆固醇逆向转运的载体. ApoA-Imilano 是 ApoAI 的天然突变体, 具有更高的活性, 可以加速胆固醇的外流及促进胆固醇逆向转运	ETC-216	临床 II 期	[27, 28]
12	甘油二酯酰基转移酶 (DGAT) 抑制剂	DGAT 催化 TG 生物合成的最后一步, 抑制 DGAT 可减少 TG 的合成	AZD7687	临床 I 期	[29, 30]
13	脂肪酶抑制剂	抑制脂肪酶的活性, 从而抑制甘油三酯的水解, 使单甘油酯和游离脂肪酸的摄入减少	奥利司他 新利司他	上市	[31, 32]
14	脂蛋白相关磷脂酶 A2 (Lp-PLA2) 抑制剂	Lp-PLA2 能水解 LDL 分子中氧化修饰的磷脂, 产生溶血卵磷脂和氧化性游离脂肪酸两种促炎介质, 抑制 Lp-PLA2 可延缓炎症及动脉粥样硬化的发生	Darapladib Varespladib	临床 III 期	[33]

### 3 目前已建立的降脂药物筛选方法

对于降血脂功效成分的筛选和降血脂药物研发,国内外学者已经进行了广泛的研究和探讨. 本文将从分子水平、细胞水平和整体动物水平对已有的降脂药物筛选方法进行划分.

#### 3.1 基于分子水平的筛选方法

基于分子水平的筛选方法就是以相关酶和蛋白为药物作用靶点,寻找其抑制剂. 目前研究较多的参与脂质代谢的酶与蛋白质主要有: 脂蛋白脂肪酶、肝脂酶、卵磷脂胆固醇酰基转移酶、羟甲基戊二酰辅酶A (HMG-CoA) 还原酶、胆固醇酯转移蛋白等<sup>[34]</sup>.

HMG-CoA 还原酶是胆固醇生物合成的限速酶,也是目前最主要的高血脂症临床药物的作用靶点. 对 HMG-CoA 还原酶抑制剂的研究主要有以下 4 种方法: (1) 分光光度法. 采用分光光度法,李鹏等<sup>[35]</sup>比较了国产降血脂药血脂康与洛伐他汀、辛伐他汀对 HMG-CoA 还原酶的抑制作用. 结果表明,分光光度法于波长 339 nm 处测定 NADPH 光吸收的下降可代表酶活力大小及反应速度. (2) 同位素标记法. 如以<sup>[14C]</sup>-乙酸、D,L-<sup>[14C]</sup> HMG-CoA、D,L-<sup>[14C]</sup> 甲羟戊酸等同位素标记的合成前体作为反应底物,反应后测定形成的固醇中同位素的掺入率,样品抑制固醇脂质合成能力可以通过与对照组数据对比求得<sup>[36]</sup>. (3) 薄层色谱法. 胡海峰等<sup>[37]</sup>建立了体外酶反应系统,采用薄层色谱法分析胆固醇的合成量,筛选真菌次级代谢产物. (4) 液相色谱法. 吴琼等<sup>[38]</sup>利用超高效液相色谱串联质谱仪(UPLC-MS/MS)检测酶促反应体系中 NADPH 浓度变化,建立了快速筛选 HMG-CoA 还原酶抑制剂的方法.

脂肪酶是催化体内甘油三酯水解的关键酶,能将血液脂蛋白中的甘油三酯水解成游离脂肪酸. 脂肪酶抑制剂筛选已成为降血脂药物研究的重要方向. 目前,脂肪酶抑制剂的筛选方法主要包括: (1) 均相溶液酶法. 将游离酶和底物以及酶抑制剂共同孵育,通过检测溶液酶的活性,来评估抑制剂对酶的抑制效果<sup>[39]</sup>. Nakai 等<sup>[40]</sup>选择 4-甲基伞形酮油酸酯作为底物,将酶与底物孵育后,通过荧光检测的方法评估待测物对脂肪酶的抑制活性. (2) 固定化酶法. 将酶固定在某种合适的载体上,利用酶与抑制剂之间的亲和作用,筛选具有酶抑制活性的化合物<sup>[41]</sup>. 陈锥等<sup>[42]</sup>采用磁珠收集与液相色谱-质谱联用(LC-MS)结合的方法从枳壳提取物中筛选潜在的脂肪酶抑制剂. 近年来,基于薄层色谱的生物自显影方法被发展用于脂

肪酶抑制剂的筛选. 在最新研究中,以 $\beta$ -萘酚为底物和固蓝 B 盐(FBB)为指示剂来提高该方法检测的灵敏度和特异性<sup>[43]</sup>.

#### 3.2 基于细胞水平的筛选方法

基于细胞水平的筛选方法是以各种细胞为研究材料,在活细胞自然条件下研究药物对生命体功能的影响. 目前根据不同的降脂途径,可将基于细胞水平的筛选方法分为两大类:一类方法与受体相关,另一类方法与胆固醇代谢相关.

##### 3.2.1 与受体相关的细胞模型

目前研究较多的受体主要是低密度脂蛋白受体(LDLR)和过氧化物酶增殖物激活受体(PPAR). 唐建华等<sup>[44]</sup>构建了“LDLR/Luc 报告基因系统”的细胞筛选模型,并应用该模型对 500 余种中药提取物进行了筛选,决明子、泽泻、穿龙薯蓣等提取物显示阳性,与过去报道采用动物模型研究的结果一致. 马晶晶等<sup>[45]</sup>构建了一种人过氧化物酶体增殖物激活受体 $\alpha$ (hPPAR $\alpha$ )配体药物筛选细胞模型,采用 hPPAR $\alpha$  转基因结合荧光素酶报告基因原理,将重组质粒 p\alpha-IRES2-EGFP、报告质粒 ptk-PPRE $\times$ 3-luc 共转染 293T 细胞,人工模拟 hPPAR $\alpha$  信号通路,并用贝特类降脂药对建立的药物筛选细胞模型进行了应用能力评价.

##### 3.2.2 与胆固醇代谢相关的细胞模型

从目前的研究来看,与胆固醇代谢相关的细胞模型可归纳为两大类:一类将药物直接作用于细胞,检测相关指标来评价药物的作用;另一类通过建立高脂细胞模型筛选药物. 第一类方法常选用 3T3-L1 脂肪细胞、血管平滑肌细胞源性荷脂细胞和 Caco-2 细胞等为模型,不同浓度的待测物直接作用于细胞,通过检测细胞内胆固醇的含量来评价待测物的降脂活性,采用的检测方法有高效液相色谱法、同位素标记法和胆固醇氧化酶终点法等<sup>[46-48]</sup>. 对于高脂细胞模型的建立,大多数研究通过分别加入游离脂肪酸、高浓度血清、医用脂肪乳注射剂和氧化的低密度脂蛋白等刺激细胞建模,在建模的同时加入待测物,以细胞内脂滴积累情况、TG 和 TC 的水平为指标评价待测物的降脂活性<sup>[49-52]</sup>.

#### 3.3 基于整体动物水平的筛选方法

在国内外的研究中,用于高血脂研究的动物有小鼠、大鼠、兔、鹌鹑、猪、猴等,在实际应用中,小鼠、大鼠、兔等实验动物具有比较廉价、便于饲养、遗传背景明确等特点,从而应用最为广泛<sup>[53]</sup>. 目前,建立高脂血症动物模型常用的方法有:高脂饲料法、高脂乳剂

法、注射法等,其中高脂饲料法是最常用的造模方法。(1)高脂饲料法。谢慧臣等<sup>[54]</sup>通过喂饲高脂饲料建立高脂血症大鼠模型,发现降脂剂对血脂异常有较好的调节作用。Sutar等<sup>[55]</sup>以高脂饮食喂饲SD大鼠21d,建立了高脂血症大鼠模型。(2)高脂乳剂法。周星等<sup>[56]</sup>用两种不同浓度脂肪乳剂以灌胃法建立大鼠高脂模型,结果表明,高浓度脂肪乳剂可以成功建立SD大鼠高脂血症模型,低浓度脂肪乳剂不适合用于建立SD大鼠高脂血症模型。(3)注射法。刘凯等<sup>[57]</sup>将大鼠腹腔注射75%蛋黄乳液,24h即可复制出高胆固醇血症模型,与传统造模方法所得到的结果相同。Schurr等通过尾静脉注射表面活性剂TritonWR-1339来建立高脂大鼠模型,并提出注射前禁食有利于高脂方法的建立<sup>[58]</sup>。近年来,一些研究者通过腹腔注射TritonWR-1339建立高脂大鼠模型,评估样品降血脂的效果<sup>[59]</sup>。

#### 4 现有的降脂药物筛选方法优缺点

从实验方面来看,上述筛选方法大体可以分为两大类:体内实验和体外实验。基于分子、细胞水平的筛选方法都属于体外实验,具有使用耗材少、实验周期短、能实现高通量筛选、且药物作用靶点和作用机制相对明确等优点。但体外实验不能模拟在体环境,无法对化合物的生物活性进行综合评价。而基于整体动物水平的筛选方法属于体内实验,是传统的筛选方法,能直接反应药物的治疗效果、不良反应和毒性作用。但该方法一般实验周期长、筛选效率低、动物成本高,且存在个体差异性,不能实现大规模筛选。

此外,就筛选模式而言,可将上述筛选方法分为:分子靶点筛选和表型筛选。基于分子水平的筛选和与受体相关的细胞模型都属于分子靶点筛选,该方法首先确定与疾病相关的靶点,随后开展试验基于该靶点高通量筛选先导化合物,并对其进行优化用于后期的药物开发。而基于整体动物水平的筛选和高脂细胞模型属于表型筛选,一般而言,一种与疾病相关的表征被发展建立筛选模型,高通量筛选得到活性先导化合物,之后再确定相关的分子靶点。在过去20年,基于分子靶点的筛选方法已成为早期药物发现的主要手段,相比于表型筛选有一些明显优点,如已知分子靶点有助于化合物的优化和构效关系的研究等。但有研究发现,近10年来FDA批准的小分子药物,通过表型筛选得到的28个已超过基于分子靶点筛选得到的17个<sup>[60]</sup>。此外,一些经典的药物,如:阿司匹林、钙通道拮抗剂等都是通过早期的表型筛选发现

的,但其作用机制和分子靶点都是在FDA批准后很长一段时间才得以确定<sup>[61,62]</sup>。由此可见,表型筛选仍是一种重要的筛选方法,而且随着实验技术的发展,目前的表型筛选已在模式动物、细胞、筛选通量等方面取得了较大的进展,将引领一个先导化合物发现的新时代。

#### 5 结语

高脂血症引发的心脑血管类疾病是危害人类健康的三大疾病之一,寻找有效、安全的降脂药物一直是该领域研究的热点。不同筛选途径相互结合、多靶点综合考虑是降血脂功效成分筛选的趋势,同时基于降脂新机制、作用新靶点的筛选方法正在不断地研究和完善。

#### 参 考 文 献

- [1] 苏蓉,于德水. 高脂血症的危害及防治[J]. 中国当代医药, 2009, 16(8): 128-129.
- [2] 孙丽英, 焦亚斌, 康广盛. 高脂血症的病因病机研究进展[J]. 中医药学报, 2004, 32(2): 70-71.
- [3] Lu D, Ren S, Zhang J, et al. Vascular risk factors aggravate cognitive impairment in first-ever young ischaemic stroke patients [J]. European Journal of Neurology, 2016, 23(5): 940-947.
- [4] 毕楠, 陈保生. 药物治疗脂质异常新靶点的研究进展[J]. 中国药物应用与监测, 2004, 4(4): 58-61.
- [5] 孙吉叶, 蔡旭东, 康秀娟, 等. 治疗高脂血症的新药研究进展[J]. 现代药物与临床, 2012, 27(5): 435-441.
- [6] Stancu C, Sima A. Statins: mechanism of action and effects [J]. Journal of Cellular and Molecular Medicine, 2001, 5(4): 378-387.
- [7] 王德河, 王斯. 他汀类药物治疗高脂血症的研究进展[J]. 临床荟萃, 2012, 27(17): 1562-1564.
- [8] Kersten S. Integrated physiology and systems biology of PPARalpha [J]. Molecular Metabolism, 2014, 3(4): 354-371.
- [9] Liu Z M, Hu M, Chan P, et al. Early investigational drugs targeting PPAR- $\alpha$  for the treatment of metabolic disease [J]. Expert Opin Investig Drugs, 2015, 24(5): 1-11.
- [10] Burnett J R, Huff M W. Cholesterol absorption inhibitors as a therapeutic option for hypercholesterolaemia [J]. Expert Opinion on Investigational Drugs, 2006, 15(11): 1337-1351.
- [11] Davis H R, Veltri E P. Zetia: Inhibition of Niemann-Pick C1 like 1 (NPC1L1) to reduce intestinal cholesterol absorption and treat hyperlipidemia [J]. Journal of

- Atherosclerosis and Thrombosis ,2007 ,14( 3) : 99-108.
- [12] Meuwese M C , de Groot E , Duivenvoorden R , et al. ACAT inhibition and progression of carotid atherosclerosis in patients with familial hypercholesterolemia the CAPTIVATE randomized trial [J]. *Jama-Journal of the American Medical Association* , 2009 , 301 ( 11 ) : 1131-1139.
- [13] Ohshiro T , Matsuda D , Sakai K , et al. Pyripyropene A , an acyl-coenzyme A: cholesterol acyltransferase 2-selective inhibitor , attenuates hypercholesterolemia and atherosclerosis in murine models of hyperlipidemia [J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* , 2011 , 31 ( 5 ) : 1108-1115.
- [14] Burnett J R , Watts G F. MTP inhibition as a treatment for dyslipidaemias: time to deliver or empty promises [J]. *Expert Opinion on Therapeutic Targets* , 2007 , 11 ( 2) : 181-189.
- [15] Hewing B , Parathath S , Mai C K , et al. Rapid regression of atherosclerosis with MTP inhibitor treatment [J]. *Atherosclerosis* , 2013 227( 1) : 125-129.
- [16] Perry C M. Lomitapide: A review of its use in adults with homozygous familial hypercholesterolemia [J]. *American Journal of Cardiovascular Drugs* , 2013 , 13( 4) : 285-296.
- [17] Kolovou G D , Anagnostopoulou K K , Kostakou P M , et al. Cholesterol ester transfer protein ( CETP ) , postprandial lipemia and hypolipidemic drugs [J]. *Current Medicinal Chemistry* , 2009 , 16 ( 33 ) : 4345-4360.
- [18] Neeli H , Rader D J. Cholesteryl ester transfer protein ( CETP ) inhibitors: Is there life after torcetrapib [J]. *Cardiology Clinics* , 2008 , 26( 4) : 537-541.
- [19] Thomas T , Ginsberg H. Targeting ApoB as a therapeutic approach for the treatment of dyslipidemia the potential role of mipomersen [J]. *Future Medicine* , 2010 , 5( 4) : 457-464
- [20] Vogt A , Parhofer K G. The potential of mipomersen , an ApoB synthesis inhibitor , to reduce necessity for LDL-apheresis in patients with heterozygous familial hypercholesterolemia and coronary artery disease [J]. *Expert Opinion on Pharmacotherapy* , 2013 , 14 ( 6 ) : 691-697.
- [21] Della Badia L A , Elshourbagy N A , Mousa S A. Targeting PCSK9 as a promising new mechanism for lowering low-density lipoprotein cholesterol [J]. *Pharmacol Ther* , 2016 , 164: 183-194.
- [22] Verbeek R , Stoekenbroek R M , Hovingh G K. PCSK9 inhibitors: Novel therapeutic agents for the treatment of hypercholesterolemia [J]. *European Journal of Pharmacology* , 2015 763: 38-47.
- [23] McKenney J M , Sica D. Role of prescription omega-3 fatty acids in the treatment of hypertriglyceridemia [J]. *Pharmacotherapy* , 2007 27( 5) : 715-728.
- [24] Braeckman R A , Manku M S , Bays H E , et al. Icosapent ethyl , a pure EPA omega-3 fatty acid: Effects on plasma and red blood cell fatty acids in patients with very high triglyceride levels ( results from the MARINE study ) [J]. *Prostaglandins Leukotrienes and Essential Fatty Acids* , 2013 89( 4) : 195-201.
- [25] Yin W D , Tsutsumi K. Lipoprotein lipase activator NO-1886 [J]. *Cardiovascular Drug Reviews* , 2003 , 21( 2) : 133-142.
- [26] Kusunoki M , Tsutsumi K , Sato D , et al. Activation of lipoprotein lipase increases serum high density lipoprotein 2 cholesterol and enlarges high density lipoprotein 2 particles in rats [J]. *European Journal of Pharmacology* , 2011 , 668( 1-2) : 337-339.
- [27] Chiesa G , Sirtori C R. Apolipoprotein A-I-Milano: current perspectives [J]. *Current Opinion in Lipidology* , 2003 , 14 ( 2) : 159-163.
- [28] Parolini C , Marchesi M , Lorenzon P , et al. Dose-related effects of repeated ETC-216 ( recombinant apolipoprotein A-I-Milano/1-palmitoyl-2-oleoyl phosphatidylcholine complexes ) administrations on rabbit lipid-rich soft plaques - *in vivo* assessment by intravascular ultrasound and magnetic resonance imaging [J]. *Journal of the American College of Cardiology* , 2008 , 51( 11) : 1098-1103.
- [29] King A J , Judd A S , Souers A J. Inhibitors of diacylglycerol acyltransferase: a review of 2008 patents [J]. *Expert Opinion on Therapeutic Patents* , 2010 , 20( 1) : 19-29.
- [30] Denison H , Nilsson C , Lofgren L , et al. Diacylglycerol acyltransferase 1 inhibition with AZD7687 alters lipid handling and hormone secretion in the gut with intolerable side effects: a randomized clinical trial [J]. *Diabetes Obes Metab* , 2014 , 16( 4) : 334-343.
- [31] Nomura D K , Casida J E. Lipases and their inhibitors in health and disease [J]. *Chem Biol Interact* , 2016 , 259 ( Pt B) : 211-222.
- [32] Bryson A , de la Motte S , Dunk C. Reduction of dietary fat absorption by the novel gastrointestinal lipase inhibitor cetilistat in healthy volunteers [J]. *Br J Clin Pharmacol* , 2009 , 67( 3) : 309-315.
- [33] Cai A , Zheng D , Qiu R , et al. Lipoprotein-associated phospholipase A2 ( Lp-PLA ( 2 ) ) : a novel and promising biomarker for cardiovascular risks assessment

- [J]. *Dis Markers*, 2013, 34(5): 323-331.
- [34] 陈继承, 卢晓凤, 何国庆. 降血脂功效成分体外筛选方法研究进展 [J]. *食品科学*, 2010, 31(13): 287-291.
- [35] 李鹏, 陈兰英. 血脂康抑制猪肝 HMG-CoA 还原酶的活力 [J]. *基础医学与临床*, 2003, 23(5): 531-534.
- [36] 曹晓钢, 王立军, 于刚. 降血脂实验方法研究进展 [J]. *中国实用医药*, 2008, 3(26): 185-186.
- [37] 胡海峰, 朱宝泉, 龚炳永. 生物活性物质的筛选与新药研究 [J]. *国外医药(抗生素分册)*, 1998, 19(6): 403-406.
- [38] 吴琼, 王世聪, 马俊锋, 等. 超高效液相色谱串联质谱联用法快速筛选 3-羟基-3-甲基戊二酰辅酶 A 还原酶抑制剂 [J]. *分析化学*, 2013, 41(7): 1013-1018.
- [39] Shimura S, Tsuzuki W, Suzuki T. Determination of lipase activity in organic solvent using fluorescent substrate and its application to the screening of lipase inhibitor [J]. *Analytical Sciences*, 1991, 7(1): 15-18.
- [40] Nakai M, Fukui Y, Asami S, et al. Inhibitory effects of oolong tea polyphenols on pancreatic lipase *in vitro* [J]. *Agricultural and Food Chemistry*, 2005, 53(11): 4593-4598.
- [41] Ferrance J P. Gellan beads as a transparent media for protein immobilization and affinity capture [J]. *Journal of Chromatography A*, 2007, 1165(1-2): 86-92.
- [42] Chen Z, Tao Y, Wang Y, et al. Rapid screening of lipase inhibitors from fructus aurantii using lipase-immobilized magnetic beads coupled with high-performance liquid chromatography-mass spectrometry [J]. *Chemical Journal of Chinese Universities*, 2012, 33(12): 2692-2696.
- [43] Tang J H, Zhou J G, Tang Q J, et al. A new TLC bioautographic assay for qualitative and quantitative estimation of lipase inhibitors [J]. *Phytochemical Analysis*, 2016, 27(1): 5-12.
- [44] 唐建华, 高小平, 张义正. 低密度脂蛋白受体/报告基因系统建立及中药降脂药物的筛选 [J]. *天然产物研究与开发*, 2005, 17(3): 316-319.
- [45] 马晶晶, 张潜, 方宁, 等. 基于人 PPAR $\alpha$  为靶标的药物筛选细胞模型的建立与应用评价 [J]. *中国药理学杂志*, 2011, 46(23): 1798-1804.
- [46] 匡双玉, 虞勤慧, 朱炳阳, 等. 姜黄素对血管平滑肌细胞源性荷脂细胞胆固醇代谢及 SREBP-1 表达的影响 [J]. *南华大学学报(医学版)*, 2006, 34(3): 317-319.
- [47] 于碧莲, 赵水平, 谢湘竹, 等. 烟酸对 3T3-L1 脂肪细胞胆固醇流出的影响 [J]. *中国动脉硬化杂志*, 2007, 15(4): 289-292.
- [48] 张露, 谢作权, 宋怀光, 等. 银杏叶提取物 GBE50 对培养细胞内胆固醇代谢的影响 [J]. *中国药理学通报*, 2008, 24(3): 313-317.
- [49] Yan D, Dou Q L, Wang Z, et al. Establishment of a hepatocyte steatosis model using Chang liver cells [J]. *Genet Mol Res*, 2015, 14(4): 15224-15232.
- [50] Chavez-Tapia N C, Rosso N, Tiribelli C. *In vitro* models for the study of non-alcoholic fatty liver disease [J]. *Current Medicinal Chemistry*, 2011, 18(7): 1079-1084.
- [51] 胡启蒙, 陈朝银, 庄馨英, 等. 建立 L-02 肝细胞脂肪变模型方法比较及脂肪乳诱导脂变条件的优化 [J]. *中国医学物理学杂志*, 2015, 32(4): 469-473.
- [52] Orekhov A N, Sobenin I A, Revin V V, et al. Development of antiatherosclerotic drugs on the basis of natural products using cell model approach [J]. *Oxid Med Cell Longev*, 2015, 2015: 463797-463808.
- [53] 宁娜, 韩建军. 实验动物高脂血症模型研究进展 [J]. *亚太传统医药*, 2013, 9(1): 66-69.
- [54] 谢慧臣, 刘芬, 田春漫, 等. 降脂合剂对高脂血症大鼠 LDL-C 氧化易感性及肝细胞 *LDL-R* 基因表达的影响 [J]. *中国实验方剂学杂志*, 2013, 19(7): 245-249.
- [55] Sutar G V, Das K, Einstein J W. Screening of different leaf extracts of *Cassia fistula* Linn for investigation of hypolipidemic activity in two different rat models [J]. *International Letters of Natural Sciences*, 2015, 3(30): 30-43.
- [56] 周星, 刘黎明, 孙海涛, 等. 脂肪乳剂建立大鼠高脂血症模型的研究 [J]. *中国普外基础与临床杂志*, 2012, 19(10): 1085-1088.
- [57] 刘凯, 李传富, 申冬珠. 大鼠高胆固醇血症快速造型法初筛降脂中草药 [J]. *徐州医学院学报*, 1990, 10(4): 260-262.
- [58] Schurr P E, Schultz J R, Parkinson T M. Triton-induced hyperlipidemia in rats as an animal model for screening hypolipidemic drugs [J]. *LIPIDS*, 1971, 7(1): 68-74.
- [59] Rony K A, Ajith T A, Nima N, et al. Hypolipidemic activity of *Phellinus rimosus* against triton WR-1339 and high cholesterol diet induced hyperlipidemic rats [J]. *Environ Toxicol Pharmacol*, 2014, 37(2): 482-492.
- [60] Swinney D C, Anthony J. How were new medicines discovered [J]. *Nat Rev Drug Discov*, 2011, 10(7): 507-519.
- [61] Vane J R, Botting R M. The mechanism of action of aspirin [J]. *Thromb Res*, 2003, 110(5-6): 255-258.
- [62] Elliott W J, Ram C V. Calcium channel blockers [J]. *J Clin Hypertens*, 2011, 13(9): 687-689.