

DOI: 10.16781/j.CN31-2187/R.20240730

· 论 著 ·

基于生物信息学探析化痰药与祛湿药治疗肥胖型多囊卵巢综合征的潜在靶点与机制

丁 杰^{1△}, 松 迪^{2△}, 俞 瑾¹, 俞超芹^{1*}

1. 海军军医大学(第二军医大学)第一附属医院中医妇科, 上海 200433

2. 海军军医大学(第二军医大学)第一附属医院生殖医学中心, 上海 200433

[摘要] **目的** 探究化痰药与祛湿药治疗肥胖型多囊卵巢综合征(PCOS)机制的异同并寻找关键活性成分。**方法** 利用HERB数据库筛选化痰药及祛湿药成分及靶点,运用欧易云平台对靶点进行基因本体及京都基因与基因组百科全书富集分析,利用Cytoscape 3.8.0软件构建通路网络图以显示通路差异。利用基因表达汇编数据库通过R 4.2.2软件筛选PCOS关键靶点,采用分子对接技术对关键活性成分与靶点的对接能力进行预测,并结合分子动力学模拟实验验证对接效能。**结果** 化痰药与祛湿药共有活性成分52种,共有靶点81个;两者共有通路涉及脂质调控、胰岛素调节、激素调节、促进卵母细胞成熟等多个角度,与肥胖型PCOS病理机制相符。化痰药在调节激素及胰岛素方面作用更为突出,而祛湿药则在维生素代谢及抗炎角度效果更为优异。槲皮素、 β -谷甾醇及豆甾醇确定为关键活性成分,其中豆甾醇与PCOS关键靶点丘吉尔结构域蛋白1(CHURC1)及肿瘤坏死因子配体超家族成员11(TNFSF11)结合最为优异,分子动力学模拟进一步证明了 β -谷甾醇与TNFSF11结合的强稳定性。**结论** 初步探析了化痰药与祛湿药治疗肥胖型PCOS的潜在靶点与机制,对寻找关键的活性成分及指导临床应用具有一定指导意义。

[关键词] 多囊卵巢综合征;肥胖;化痰药;祛湿药;分子机制

[引用本文] 丁杰,松迪,俞瑾,等. 基于生物信息学探析化痰药与祛湿药治疗肥胖型多囊卵巢综合征的潜在靶点与机制[J]. 海军军医大学学报, 2025, 46(8): 1018-1026. DOI: 10.16781/j.CN31-2187/R.20240730.

Potential targets and mechanisms of *Huatan* drugs and *Qushi* drugs in treating obesity-related polycystic ovary syndrome based on bioinformatics

DING Jie^{1△}, SONG Di^{2△}, YU Jin¹, YU Chaoqin^{1*}

1. Department of Traditional Chinese Medicine (Gynecology), The First Affiliated Hospital of Naval Medical University (Second Military Medical University), Shanghai 200433, China

2. Department of Reproductive Medicine, The First Affiliated Hospital of Naval Medical University (Second Military Medical University), Shanghai 200433, China

[Abstract] **Objective** To investigate the similarities and differences in the mechanisms of *Huatan* drugs and *Qushi* drugs in treating obesity-related polycystic ovary syndrome (PCOS) and to identify the key active components. **Methods** Components and targets of *Huatan* drugs and *Qushi* drugs were screened by HERB database. The OmicsCloud platform was employed for enrichment analyses of targets by Gene Ontology and Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes. Pathway networks were constructed by Cytoscape 3.8.0 software to visualize pathway differences. PCOS-related key targets were identified by Gene Expression Omnibus database and R 4.2.2 software. Molecular docking techniques were used to predict binding affinities between the key components and targets, followed by validation through molecular dynamics simulations. **Results** *Huatan* drugs and *Qushi* drugs shared 52 active components and 81 targets. Common pathways involved lipid metabolism, insulin regulation, hormonal regulation, and oocyte maturation, aligning with the pathological mechanisms of obesity-related PCOS. *Huatan* drugs exhibited superior efficacy in hormonal and insulin regulation, while *Qushi* drugs excelled in vitamin metabolism and anti-inflammatory pathways. Quercetin, β -sitosterol, and stigmasterol were identified as key components. Stigmasterol demonstrated optimal binding with PCOS-associated key targets Churchill domain-containing

[收稿日期] 2024-10-28

[接受日期] 2025-04-11

[基金项目] 国家自然科学基金(81973896, 82004408). Supported by National Natural Science Foundation of China (81973896, 82004408).

[作者简介] 丁 杰, 博士, 主治医师. E-mail: dingjie1696@163.com; 松 迪, 博士, 副主任医师. E-mail: songdi1983@126.com

△共同第一作者(Co-first authors).

*通信作者(Corresponding author). E-mail: chqyu81@163.com

protein 1 (CHURC1) and tumor necrosis factor ligand superfamily member 11 (TNFSF11), while molecular dynamics simulations confirmed the robust stability of β -sitosterol and TNFSF11 binding. **Conclusion** This study elucidates potential targets and mechanisms of *Huatan* drugs and *Qushi* drugs in treating obesity-related PCOS, providing insights for identifying key active components and guiding clinical application.

[**Key words**] polycystic ovary syndrome; obesity; *Huatan* drugs; *Qushi* drugs; molecular mechanism

[**Citation**] DING J, SONG D, YU J, et al. Potential targets and mechanisms of *Huatan* drugs and *Qushi* drugs in treating obesity-related polycystic ovary syndrome based on bioinformatics[J]. Acad J Naval Med Univ, 2025, 46(8): 1018-1026. DOI: 10.16781/j.cn31-2187/R.20240730.

多囊卵巢综合征 (polycystic ovary syndrome, PCOS) 是一种常见的内分泌紊乱性疾病, 可以导致育龄期女性月经不规则甚至不孕, 并表现为多毛症、痤疮、肥胖、胰岛素抵抗、脂质代谢紊乱等^[1]。PCOS 的病因、病机尚不清晰, 其发病受多种因素影响, 包括环境毒物、压力、饮食等外来因素, 以及胰岛素抵抗、高雄激素血症、炎症、氧化应激和肥胖等自身因素^[2]。肥胖是目前的研究热点, 约有半数以上的 PCOS 患者伴有超重或肥胖, PCOS 症状通常会随着体重减轻而改善^[3]。

中医古籍中并无“多囊卵巢综合征”一词, 根据临床表现可将肥胖型 PCOS 归于“月经后期”“闭经”“不孕症”“癥瘕”等范畴。《丹溪心法》有云: “痰夹瘀血, 遂成案囊”, 又云: “若是肥盛妇人, 禀受甚厚, 恣于酒食之人, 经血不调, 不能成胎, 谓之脂满溢, 闭塞子宫, 宜行湿燥痰”。对肥胖型 PCOS 的主要辨证为痰湿阻滞, 其治疗多以健脾化痰祛湿为主^[4]。

化痰祛湿药种类繁多, 有研究者对补肾化痰中药治疗多囊卵巢综合征的临床文献进行 meta 分析发现, 治疗 PCOS 使用频次前 8 位的化痰药为半夏、胆南星、皂角刺、白芥子、浙贝母、昆布、竹茹和瓜蒌, 祛湿药主要是茯苓、薏苡仁、泽泻、车前子、苍术与厚朴^[5]。为什么这些化痰祛湿药是治疗 PCOS 的常用药物, 以及祛湿药和化痰药通过何种机制治疗肥胖型 PCOS, 目前还没有明确。本研究用生物信息学方法对化痰药和祛湿药治疗肥胖型 PCOS 的分子通路进行分析, 并寻找其中关键天然化合物, 期待为后续的实验研究与药物开发奠定初步基础。

1 资料和方法

1.1 祛湿药和化痰药的成分与靶点确定 HERB 数据库 (<http://herb.ac.cn>) 通过整合高通量分析、

文献检索、数据库挖掘、统计推断将 12 933 个靶点、28 212 种疾病、7 263 种草药及 49 258 种成分联系起来, 形成结对关系, 是目前最为完善的中医药成分靶点数据库之一^[6]。本研究通过 HERB 数据库对上文提及的 8 种化痰药和 6 种祛湿药进行成分及靶点收集。化痰药与祛湿药靶点与成分的交集部分利用在线维恩图工具 (<https://bioinfogp.cnb.csic.es/tools/venny/index.html>) 获取。

1.2 功能富集分析 利用欧易云平台进行基因本体 (Gene Ontology, GO) 及京都基因与基因组百科全书 (Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes, KEGG) 富集分析, 获取生物过程、细胞成分、分子功能和关键信号通路。对富集结果中 $P \leq 0.05$ 的功能注释作进一步分析, 利用 Cytoscape 3.8.0 软件构建通路网络图。

1.3 潜在化合物筛选 利用 HERB 数据库及 TCMSP 数据库 (<https://www.tcmsp-e.com/>) 对化痰药和祛湿药共有的 52 种活性成分进行口服生物利用度 (oral bioavailability, OB)、类药性 (drug-likeness, DL) 分析及靶点筛选。OB 和 DL 是基于吸收、分布、代谢和排泄模型 (absorption, distribution, metabolism, and excretion model) 的用于鉴别和筛选中药活性成分的重要药代动力学参数^[7], OB $\geq 30\%$ 、DL ≥ 0.18 的活性成分被认为具有可靠的药理活性。利用 GeneCards 数据库 (<https://www.genecards.org/>) 获取 PCOS 的疾病靶点, 将 52 个化合物对应靶点与 PCOS 靶点取交集, 筛选其中多靶点、高 OB 与 DL 的化合物。

1.4 PCOS 差异基因分析及效度验证 对基因表达汇编 (Gene Expression Omnibus, GEO) 数据库进行检索, 选定 GSE5850 及 GSE10946 作为主要研究数据集, GSE5850 数据集包括 6 例正常体重健康女性的 M III 期停滞卵母细胞及 6 例肥胖型 PCOS 患者的 M III 期停滞卵母细胞^[8]; GSE10946 数据集

包括 6 例正常体重健康女性的颗粒细胞及 7 例肥胖型 PCOS 患者的颗粒细胞^[9]。运用 R 4.2.2 软件获取各组间的差异表达基因, 利用在线维恩图工具获得交集基因。

1.5 分子对接分析 将候选化合物与 GEO 数据库筛选的关键靶点进行分子对接, 验证候选化合物对 PCOS 相关关键靶点的调控作用。从 PubChem 数据库获得槲皮素 (PubChem CID: 5280343)、 β -谷甾醇 (PubChem CID: 222284) 及豆甾醇 (PubChem CID: 5280794) 的三维结构。运用 ChemDraw 软件画出化合物的二维结构, 随后导入到 Chem3D 软件中, 利用 MM2 模块进行能量最小化, 获得能量最低的优势构象, 并保存为 mol2 文件。从 PDB 数据库下载丘奇尔结构域蛋白 1 (Churchill domain-containing protein 1, CHURC1) (pdb 号: 2JOX) 和肿瘤坏死因子配体超家族成员 11 (tumor necrosis factor ligand superfamily member 11, TNFSF11) (pdb 号: 3URF) 的三维晶体结构, 利用 pyMOL 软件分别进行可视化, 然后用 Mgtools 1.5.6 软件进行去水、加氢、计算电荷、合并非极性氢等处理, 再将配体与受体分别保存为 pdbqt 文件。使用 AutoDock Vina 1.1.2 软件将配体与受体进行对接, 取得分较高的构象, 并用 pyMOL 和 Discovery Studio 软件进行可视化^[10]。

1.6 分子动力学模拟 在本研究中, 对于底物采用了通用 AMBER 力场, 原子电荷通过 Multwfn 软件的 RESP 方法获得。利用 AMBERTools 中的

parmchk 工具生成配体缺失的参数。为了中和体系的总电荷, 在蛋白质表面添加了 Na^+ 和 Cl^- 。最终, 将所得体系置于一个矩形盒子中进行溶剂化, 盒子内填充 TIP3P (transferable interatomic potential with three points) 水分子, 并确保从蛋白质边界向外延伸至少 $1.5 \times 10^{-11} \text{ m}$ 的最小截断距离。在所有分子动力学模拟中, 蛋白质均采用了 AMBER ff14SB 力场。初始结构通过结合最陡下降法和共轭梯度法进行了充分的最小化处理。随后, 在正则系综下, 体系从 10 K 缓慢升温至 300 K, 持续 0.05 ns, 并施加了 $1.5 \times 10^{11} \text{ kcal} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{m}^{-1}$ ($1 \text{ kcal} = 4.184 \text{ kJ}$) 的弱约束。接下来, 在等温等压系综下, 以 300 K 为目标温度、1.0 atm ($1 \text{ atm} = 1.0 \times 10^5 \text{ kPa}$) 为目标压力, 使用 Langevin 恒温器和 Berendsen 压力控制器进行了 1 ns 的密度平衡, 其中碰撞频率为 0.002 ns, 压力松弛时间为 0.001 ns。为了使温度和压力达到稳定, 体系进一步平衡 0.5 ns。经过适当的最小化和平衡后, 对所有复合体系进行 200 ns 的生产性分子动力学模拟运行。所有分子动力学模拟均使用 Gromacs 2022.4 软件完成^[11]。

2 结果

2.1 化痰药与祛湿药的活性成分及靶点获取 通过 HERB 数据库获取化痰药活性成分 561 种、祛湿药活性成分 528 种, 两者共有活性成分 52 种。化痰药成分对应靶点 254 个 (图 1A), 祛湿药对应靶点 151 个 (图 1B), 两者共有靶点 81 个。

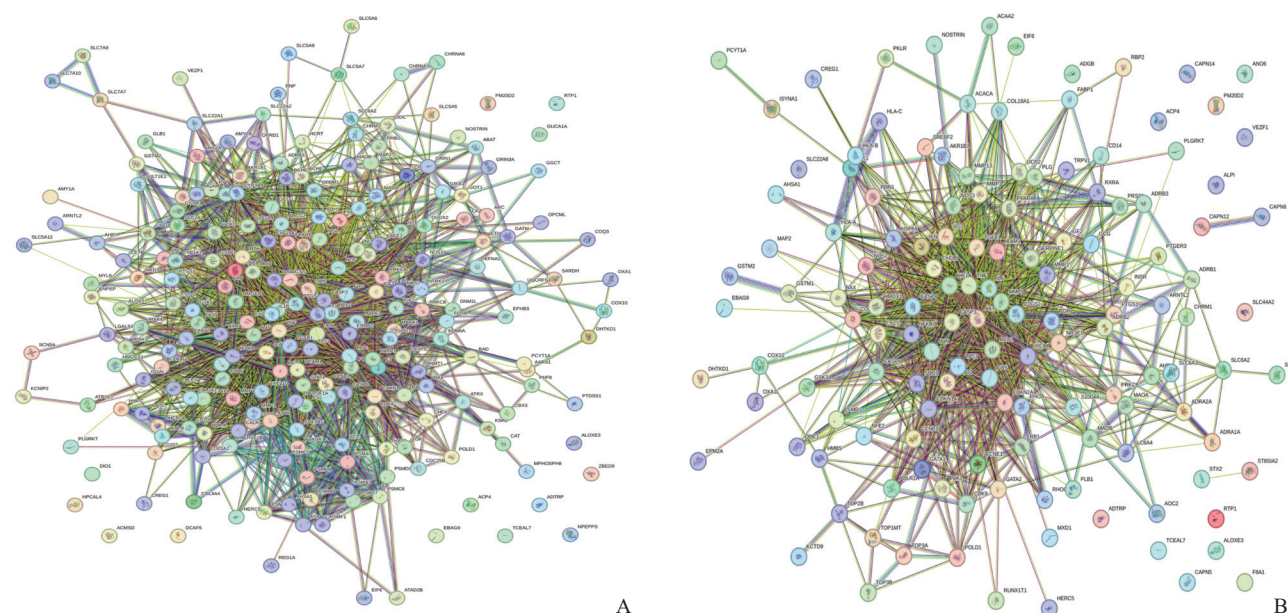


图 1 化痰药 (A) 与祛湿药 (B) 靶点获取

Fig 1 Obtaining targets of Huatan drugs (A) and Qushi drugs (B)

2.2 化痰药与祛湿药靶点的 GO 分析 化痰药的 GO 分析共获得 1 101 个明显富集的 GO 条目 ($P \leq 0.05$), 图 2A 显示了其中前 30 个富集最明显的 GO 条目。祛湿药的 GO 分析共获得 861 个明显富集的 GO 条目 ($P \leq 0.05$), 图 2B 显示了前 30 个富集最明显的 GO 条目。化痰药与祛湿药共有 517 个相同 GO 条目。GO 分析中众多的基因被合并为一个基因组, 多种基因组调节参与 PCOS

发生和发展的特定生物活动, 化痰药与祛湿药可通过多种相同的基因组发挥肥胖型 PCOS 治疗作用, 如细胞对胰岛素刺激的反应 (GO:0032869)、胰岛素分泌的调节 (GO:0048010)、脂肪酸代谢过程的正向调节 (GO:0045923)、对脂肪酸的反应 (GO:0070542)、卵巢卵泡发育 (GO:2000379) 和对雌二醇的反应 (GO:0032355) 等。

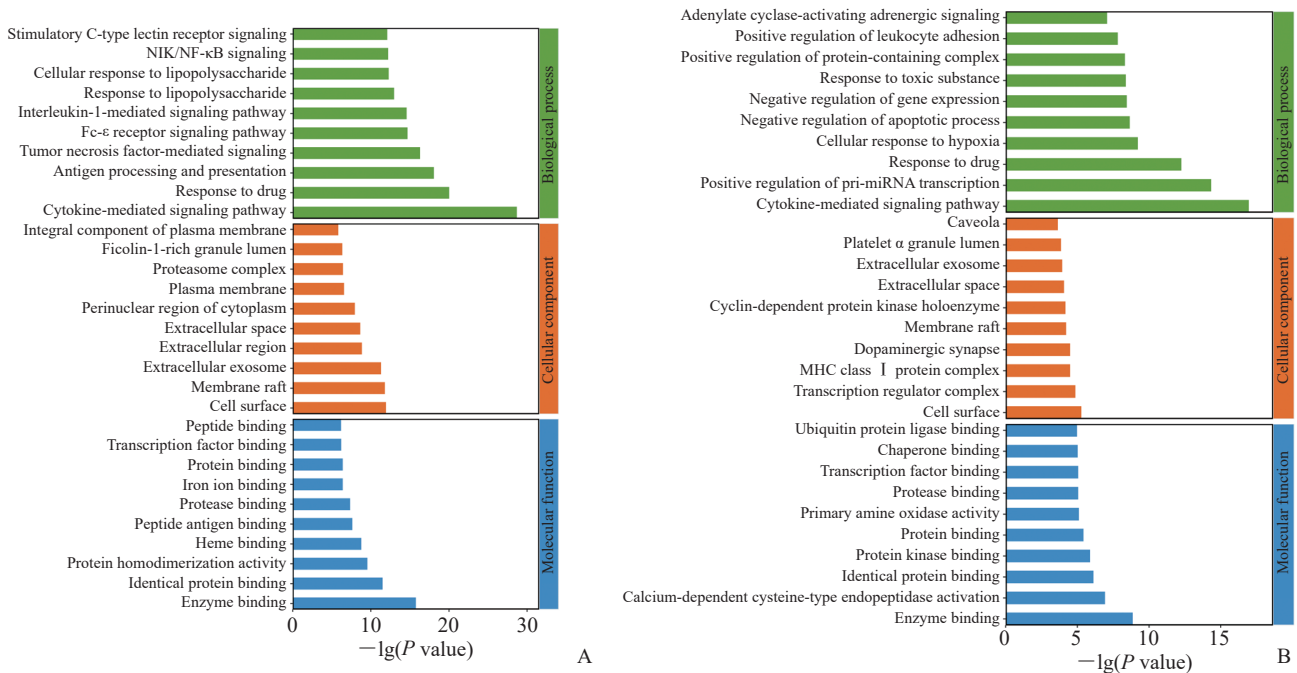


图 2 化痰药 (A) 与祛湿药 (B) 靶点的 GO 分析

Fig 2 GO analysis of targets of Huatan drugs (A) and Qushi drugs (B)

GO: Gene Ontology; NIK: NF- κ B-inducing kinase; NF- κ B: Nuclear factor κ B; miRNA: MicroRNA; MHC: Major histocompatibility complex.

2.3 化痰药与祛湿药靶点的 KEGG 分析 结果显示, 化痰药靶点对应 180 条有统计学意义 ($P \leq 0.05$) 的通路, 图 3A 显示了前 20 个与 PCOS 关系最密切的富集通路。祛湿药靶点对应 153 条有统计学意义 ($P \leq 0.05$) 的通路, 图 3B 显示了前 20 个与 PCOS 关系最密切的富集通路。化痰药与祛湿药有 65 个相同的通路, 化痰药特有通路 36 个, 祛湿药特有通路 12 个 (图 4)。化痰药、祛湿药共有通路提示两者对于 PCOS 的治疗作用均涉及脂质调控、胰岛素调节、激素调节、促进卵母细胞成熟等方面, 包括脂肪细胞因子信号通路 (path:hsa04920)、脂肪细胞中脂肪分解的调节 (path:hsa04923)、胰岛素信号通路 (path:hsa04910)、胰岛素抵抗 (path:hsa04931)、

雌激素信号通路 (path:hsa04915)、血管内皮生长因子信号通路 (path:hsa04370)、孕激素介导的卵母细胞成熟 (path:hsa04914) 等多条通路。

2.4 潜在天然化合物分析 从化痰药及祛湿药共有的 52 种活性成分中, 以 $OB \geq 30\%$ 、 $DL \geq 0.18$ 为标准筛选出 8 个候选活性成分, 如表 1 所示。其中豆甾醇的 DL 最高, 达到 0.76; 而槲皮素的 OB 最高, 达到 46.43%。对各个成分靶点进行汇总, 其中 chrysanthemaxanthin 与 gallic acid-3-O-(6'-O-galloyl)-glucoside 在数据库中无对应靶点, 因而去除不予纳入。将其余成分靶点与 GeneCards 数据库来源的 PCOS 靶点取交集, 发现槲皮素与 PCOS 的交集靶点最多, 其次为 β -谷甾醇及豆甾醇 (图 5)。

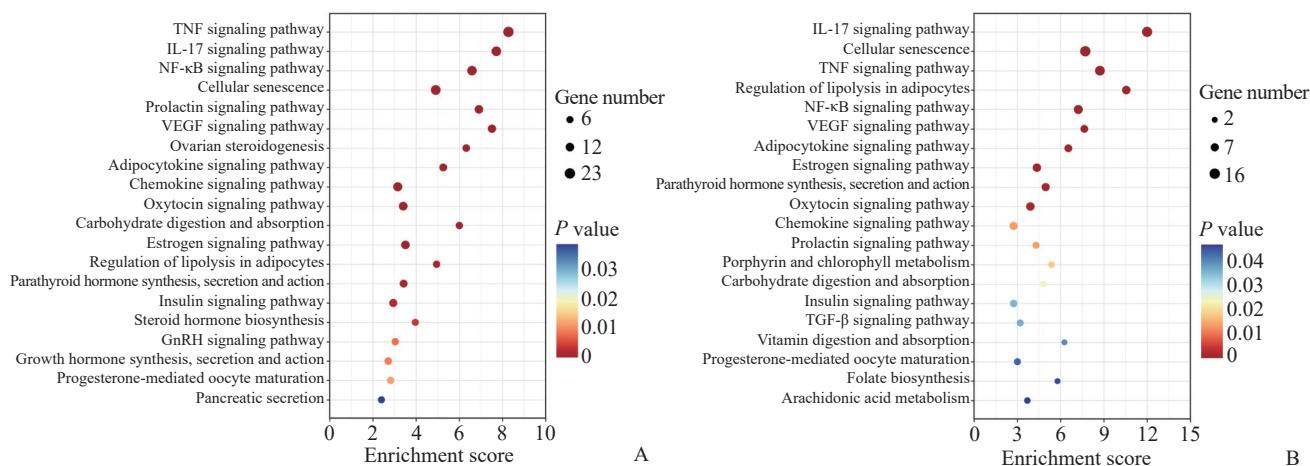


图 3 化痰药 (A) 与祛湿药 (B) 靶点的 KEGG 分析

Fig 3 KEGG analysis of targets of *Huatan* drugs (A) and *Qushi* drugs (B)

KEGG: Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes; TNF: Tumor necrosis factor; IL-17: Interleukin-17; NF-κB: Nuclear factor κB; VEGF: Vascular endothelial growth factor; GnRH: Gonadotropin-releasing hormone; TGF-β: Transforming growth factor-β.



图 4 化痰药与祛湿药 KEGG 分析共有通路及特有通路

Fig 4 Common pathways and specific pathways in KEGG analysis of *Huatan* drugs and *Qushi* drugs

The green triangle on the left side represents the specific pathways of *Huatan* drugs, the light blue rhombus in the middle represents the common pathways of *Huatan* drugs and *Qushi* drugs, and the red concave quadrilateral on the right side represents the specific pathways of *Qushi* drugs. KEGG: Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes.

表 1 8 个候选活性成分的 OB、DL 及 PubChem CID

Tab 1 OB, DL, and PubChem CID of 8 candidate active compounds

Compound	OB/%	DL	PubChem CID
Stigmasterol	43.83	0.76	5280794
β-sitosterol	36.91	0.75	222284
CLR	37.87	0.68	5997
Gallic acid-3-O-(6'-O-galloyl)-glucoside	30.25	0.67	51184072
Chrysanthemaxanthin	38.72	0.58	21160900
Quercetin	46.43	0.38	5280343
Baicalein	33.52	0.21	5281605
Mandenol	42.00	0.19	5282184

OB: Oral bioavailability; DL: Drug-likeness.

2.5 GEO 数据集分析 PCOS 关键靶点 所纳入

的 2 项 GEO 数据集均进行数据标准化调整, 根据 $P < 0.05$ 、 $|\log_2(FC)| \geq 1$ (FC 为差异倍数) 的标准, 在 GSE5850 数据集 (M Ⅲ期停滞卵母细胞) 共计获得 1 129 个差异表达基因, GSE10946 数据集 (颗粒细胞) 共计获得 31 个差异表达基因。M Ⅲ期停滞卵母细胞与颗粒细胞交集差异表达基因共 4 个, 见表 2。其中只有Ⅻ型胶原蛋白 α1 链 (collagen type Ⅻ α 1 chain, *COL12A1*) 在肥胖型 PCOS 患者的 M Ⅲ期停滞卵母细胞 (下调) 及颗粒细胞 (上调) 中表达存在差异, 而三肽重复结构域蛋白 32 (tetratricopeptide repeat domain 32, *TTC32*)、*TNFSF11* 在肥胖型 PCOS 患者的 M Ⅲ期停滞卵母细胞及颗粒细胞中均上调, *CHURC1* 则均下调。

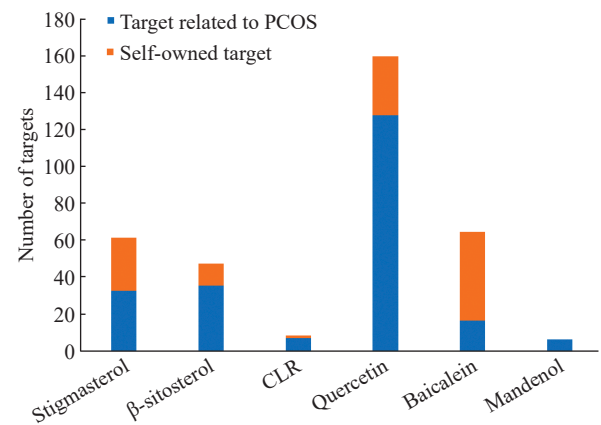


图 5 各成分与 PCOS 相关靶点

Fig 5 Each compound and PCOS-related targets

PCOS: Polycystic ovary syndrome.

2.6 化合物单体与关键靶点的分子对接 因 TTC32 缺乏 pdb 号, 本研究只纳入 TNFSF11 及 CHURC1 进行分析。具体结合状态见图 6, 所有对接结合能均低于 -5 kJ/mol, β -谷甾醇、槲皮素、豆甾醇与 CHURC1 的结合能分别为 -6.2 、 -6.4 、 -6.4 kJ/mol, 与 TNFSF11 的结合能分别为 -8.1 、 -6.8 、 -8.4 kJ/mol, 说明化合物单体与肥胖型 PCOS 关键靶点之间具有较好的结合活性, 其中豆甾醇与 TNFSF11 及 CHURC1 的

结合能均为最低值, 值得进一步研究。

2.7 分子动力学模拟实验结果 槲皮素、豆甾醇、 β -谷甾醇与 TNFSF11 对接所需结合能均少于 CHURC1, 因而选定 TNFSF11 进行分子动力学模拟实验。实验结果 (图 7) 显示 3 个候选化合物单体中, β -谷甾醇与 TNFSF11 结合的整体稳定性最强。均方根偏差 (root mean square deviation, RMSD) 分析显示, β -谷甾醇复合物蛋白质 C α 原子的 RMSD 曲线在 0.1 ns 后趋于平稳, 最终稳定在 0.6 nm 左右, 表明体系在模拟过程中达到了平衡状态, 整体结构稳定 (图 7A); 而豆甾醇、槲皮素都出现明显陡峰 (图 7C、7E)。均方根波动 (root mean square fluctuation, RMSF) 分析显示, β -谷甾醇复合物在氨基酸残基 220~240 和 240~260 的波动值较高, 表明这些区域具有较高的柔性, 可能是蛋白质的柔性环或连接区域; 氨基酸残基 180~220 的 RMSF 值较低, 表明这些区域在模拟过程中较为稳定, 可能是蛋白质的二级结构区域 (图 7B); 豆甾醇的 RMSF 图显示其有多个波动峰, 槲皮素则在氨基酸残基 240~260 有个极值波峰 (图 7D、7F)。

表 2 交集差异表达基因的 P 值及 $\log_2(FC)$ 值

Tab 2 P and $\log_2(FC)$ values of intersection of differentially expressed genes

Gene name	Oocyte		Granulosa cell	
	P value	$\log_2(FC)$	P value	$\log_2(FC)$
COL12A1	0.042 291 582	-2.006 398 360	0.045 419 682	1.334 858 163
TTC32	0.019 032 112	1.900 031 256	0.001 430 167	1.155 781 023
TNFSF11	0.029 252 616	1.700 160 687	0.003 673 663	1.228 998 095
CHURC1	0.022 641 832	-1.616 713 546	0.027 978 297	-1.430 963 331

FC: Fold change; COL12A1: Collagen type XII α 1 chain; TTC32: Tetratricopeptide repeat domain 32; TNFSF11: Tumor necrosis factor ligand superfamily member 11; CHURC1: Churchill domain-containing protein 1.

3 讨论

中医学通过长期的临床实践, 在 PCOS 领域积累了大量的临床经验。中医学认为痰湿内阻是肥胖型 PCOS 最关键的病理生理机制之一, 在临床上应注重祛湿化痰^[12]。肥胖及胰岛素抵抗也是 PCOS 的重要特征, 痰湿体质又与以胰岛素抵抗为代表的代谢综合征密切相关^[13], 在肥胖型 PCOS 的治疗中化痰祛湿尤为重要。

本研究通过网络药理学分析发现, 化痰药及祛湿药的共有通路包括脂质调控、胰岛素调节、激素调节、促进卵母细胞成熟等多个方面, 与 PCOS 的

病理机制契合。其中脂质调节涉及脂肪细胞因子信号通路与脂肪细胞中脂肪分解的调节。功能失调的脂肪细胞在 PCOS 患者的代谢及内分泌紊乱中起着重要作用^[14-15]。一方面, 脂肪细胞分泌的脂肪因子可以参与下丘脑-垂体-肾上腺和卵巢轴的调节, 促进类固醇生成, 增加醛固酮、皮质醇及脱氢表雄酮水平, 并且参与卵泡膜和颗粒细胞之间双向连接的调节, 进而影响卵巢功能^[16]。另一方面, 脂肪细胞还参与胰岛素抵抗的形成。研究发现, 脂肪组织在巨噬细胞侵入后其胰岛素敏感性及葡萄糖耐量均受损^[17-18]。同时, 化痰药还有 36 个特有通路, 包括卵巢类固醇生成、类固醇激素生物合成、促性

腺激素分泌、促性腺激素释放激素信号通路及胰腺分泌等,可以发现化痰药在激素调控通路方面远优于祛湿药通路,提示在患者激素紊乱较为严重时可能应多考虑使用化痰药。祛湿药则有 12 个特有通

路,包括叶酸生物合成、维生素的消化和吸收及花生四烯酸代谢等,可以发现祛湿药在维生素合成与代谢及抗炎方面具备一定优势。

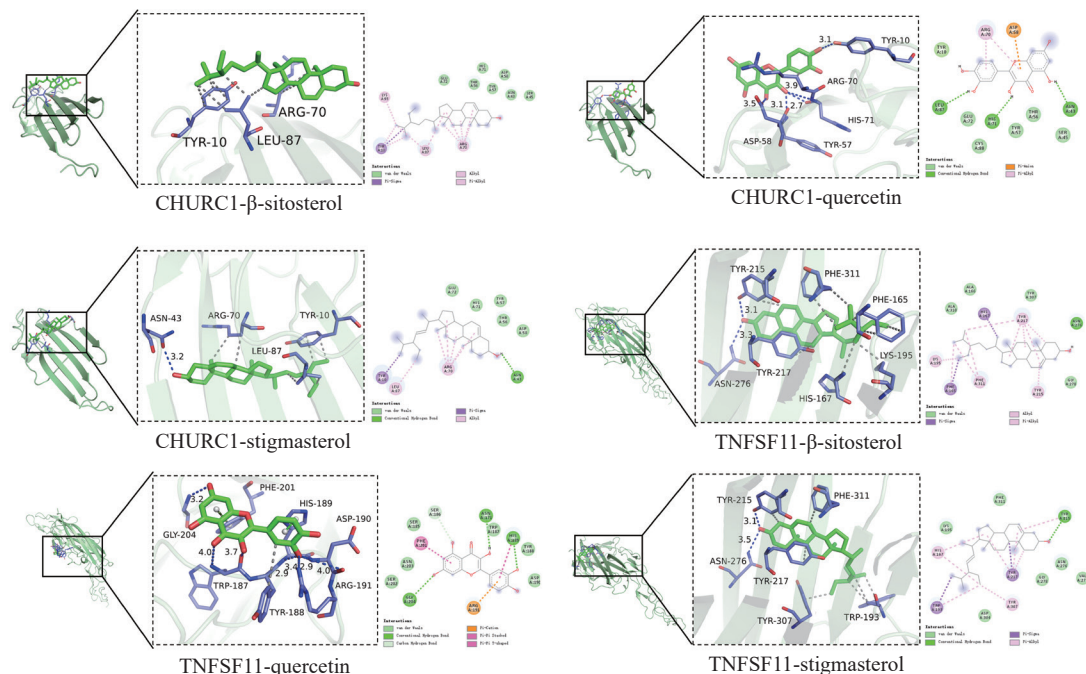


图 6 化合物单体与肥胖型 PCOS 关键靶点的分子对接模式图

Fig 6 Schematic diagram of molecular docking between compound monomers and key targets related to obesity-PCOS

PCOS: Polycystic ovary syndrome; CHURC1: Churchill domain-containing protein 1; TNFSF11: Tumor necrosis factor ligand superfamily member 11.

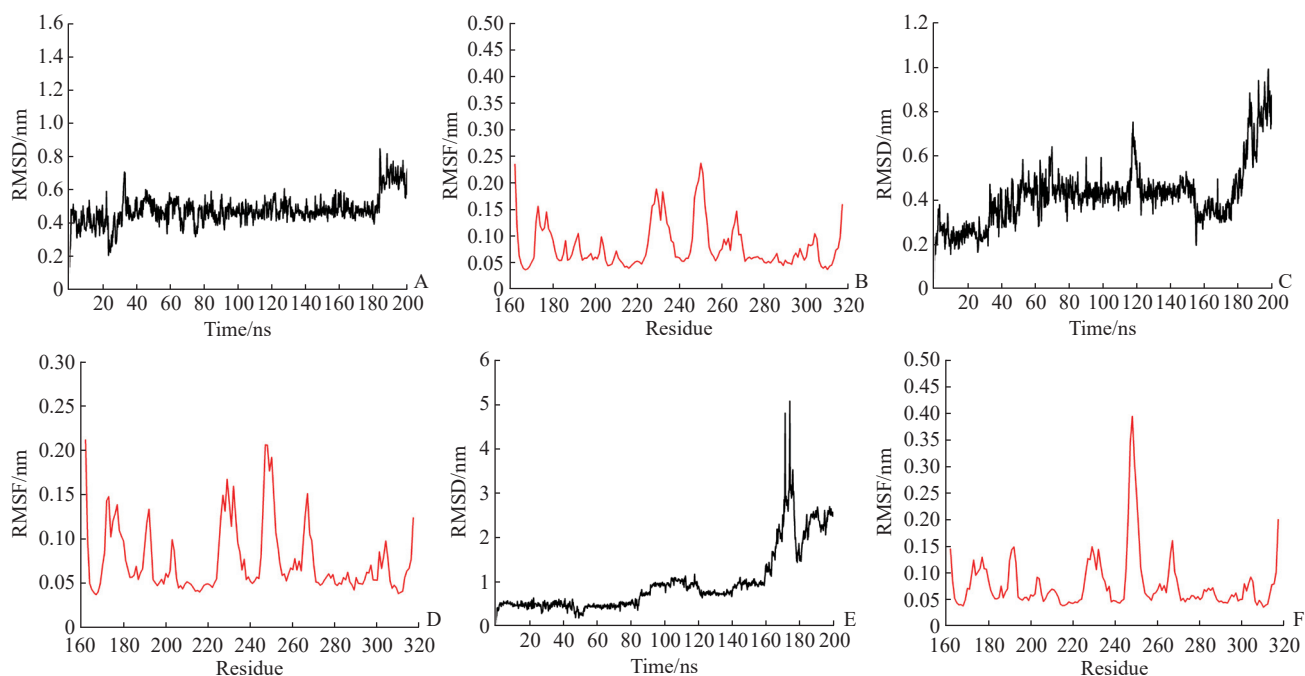


图 7 β -谷甾醇 (A、B)、豆甾醇 (C、D)、槲皮素 (E、F) 与 TNFSF11 的分子动力学模拟实验结果

Fig 7 Molecular dynamics simulation results of β -sitosterol (A, B), stigmasterol (C, D), and quercetin (E, F) with TNFSF11

A, C, E: Root mean square deviation (RMSD) analysis results; B, D, F: Root mean square fluctuation (RMSF) analysis results. TNFSF11: Tumor necrosis factor ligand superfamily member 11.

在潜在化合物筛选中,槲皮素、豆甾醇及 β -谷甾醇表现优异。槲皮素是一种天然的黄酮类化合物,其药理作用包括抗氧化、抗炎、抗肿瘤及抗菌等^[19],在PCOS领域已经有较多研究报道,其可通过抗炎、改善氧化应激状态、抗凋亡及抗胰岛素抵抗作用改善PCOS患者的高雄激素血症和高胰岛素血症^[20]。豆甾醇与 β -谷甾醇都属于植物甾醇,两者具有高度相似的甾醇骨架,仅在侧链部分存在差异,两者都可以降低胆固醇水平,发挥降低血糖、抗炎、抗氧化、抗肿瘤及免疫调节作用^[21-22]。目前关于豆甾醇与 β -谷甾醇的研究并不多,仅有研究报道 β -谷甾醇能调节肠道菌群结构和组成,协调性激素平衡,改善PCOS子宫内膜容受性^[23],但对于PCOS疾病本身效果如何并没有报道。

PCOS患者排卵不稳定且卵泡发育过程受到抑制,颗粒细胞及卵母细胞均受到了极大的影响,生物信息学分析表明TTC32、TNFSF11及CHURC1在颗粒细胞和卵母细胞中同时受到调控,或许在PCOS疾病发生、发展过程中发挥重要作用。在分子对接中,豆甾醇与TNFSF11、CHURC1的结合能均最为突出,TNFSF11又名核因子 κ B受体活化因子配体(receptor activator of nuclear factor κ B ligand, RANKL),参与卵泡发育和卵巢功能的调节^[24]。RANKL和核因子 κ B受体活化因子系统的失调与排卵障碍、PCOS和卵巢癌有关^[25-26]。目前关于CHURC1在PCOS领域的研究较少,但有研究报道CHURC1是肥胖依赖性调节的重要基因,参与代谢及炎症过程^[27];定量性状位点分析提示CHURC1是2型糖尿病最为显著的位点之一,深度参与2型糖尿病的发病过程^[28-29]。由此可见CHURC1在肥胖和糖尿病的发生、发展过程中有重要作用。

综上所述,本研究通过生物信息学挖掘发现了化痰药与祛湿药通过调控脂肪细胞和胰岛素功能、调节激素水平、促进卵母细胞成熟等发挥治疗PCOS的作用。化痰药在调节激素及胰岛素功能方面作用更为突出,而祛湿药则在维生素代谢及抗炎方面效果更为优异。在有效化合物单体筛选中,槲皮素、豆甾醇和 β -谷甾醇表现突出,均可与TNFSF11、CHURC1有效结合,可能通过参与卵母细胞成熟、肥胖调控及胰岛素代谢等多个机制治疗

PCOS,值得进一步探析,以便为PCOS的临床治疗提供新的药物选择。

[参考文献]

- [1] AZZIZ R. Polycystic ovary syndrome[J]. *Obstet Gynecol*, 2018, 132(2): 321-336. DOI: 10.1097/AOG.0000000000002698.
- [2] SADEGHI H M, ADELI I, CALINA D, et al. Polycystic ovary syndrome: a comprehensive review of pathogenesis, management, and drug repurposing[J]. *Int J Mol Sci*, 2022, 23(2): 583. DOI: 10.3390/ijms23020583.
- [3] GLUECK C J, GOLDENBERG N. Characteristics of obesity in polycystic ovary syndrome: etiology, treatment, and genetics[J]. *Metabolism*, 2019, 92: 108-120. DOI: 10.1016/j.metabol.2018.11.002.
- [4] 俞超芹. 肥胖型多囊卵巢综合征中西医结合诊治和长期管理[C]//第9届中国中西医结合学会妇产科专业委员会第二次学术会议论文集. 昆明:中国中西医结合学会妇产科专业委员会. 2017-09-14.
- [5] 郑浩翔. 近12年中国补肾化痰中药治疗多囊卵巢综合征临床文献的meta分析[D]. 广州:广州中医药大学, 2020.
- [6] FANG S, DONG L, LIU L, et al. HERB: a high-throughput experiment- and reference-guided database of traditional Chinese medicine[J]. *Nucleic Acids Res*, 2021, 49(D1): D1197-D1206. DOI: 10.1093/nar/gkaa1063.
- [7] HUANG C, ZHENG C, LI Y, et al. Systems pharmacology in drug discovery and therapeutic insight for herbal medicines[J]. *Brief Bioinform*, 2014, 15(5): 710-733. DOI: 10.1093/bib/bbt035.
- [8] WOOD J R, DUMESIC D A, ABBOTT D H, et al. Molecular abnormalities in oocytes from women with polycystic ovary syndrome revealed by microarray analysis[J]. *J Clin Endocrinol Metab*, 2007, 92(2): 705-713. DOI: 10.1210/jc.2006-2123.
- [9] KENIGSBURG S, BENTOV Y, CHALIFA-CASPI V, et al. Gene expression microarray profiles of cumulus cells in lean and overweight-obese polycystic ovary syndrome patients[J]. *Mol Hum Reprod*, 2009, 15(2): 89-103. DOI: 10.1093/molehr/gan082.
- [10] 杜海涛,王琳,丁洁,等. 分子对接在中药开发的应用现状与挑战[J]. *中国中药杂志*, 2024, 49(3): 671-680. DOI: 10.19540/j.cnki.cjcmm.20231013.703.
- [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. DOI: 10.1002/jcc.20291.
- [12] 程智玲,谭明红. 祛湿化痰法治疗多囊卵巢综合征患者的临床研究[J]. *中医临床研究*, 2017, 9(30): 112-

116. DOI: 10.3969/j.issn.1674-7860.2017.30.047.
- [13] 董静,王琦,王东坡,等.从痰湿体质角度论析代谢综合征[J].北京中医药大学学报,2006,29(12):802-803. DOI: 10.3321/j.issn:1006-2157.2006.12.002.
- [14] DE MEDEIROS S F, RODGERS R J, NORMAN R J. Adipocyte and steroidogenic cell cross-talk in polycystic ovary syndrome[J]. Hum Reprod Update, 2021, 27(4): 771-796. DOI: 10.1093/humupd/dmab004.
- [15] AGARWAL S K, VOGEL K, WEITSMAN S R, et al. Leptin antagonizes the insulin-like growth factor- I augmentation of steroidogenesis in granulosa and theca cells of the human ovary[J]. J Clin Endocrinol Metab, 1999, 84(3): 1072-1076. DOI: 10.1210/jcem.84.3.5543.
- [16] EHRHART-BORNSTEIN M, LAMOUNIER-ZEPTEP V, SCHRAVEN A, et al. Human adipocytes secrete mineralocorticoid-releasing factors[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2003, 100(24): 14211-14216. DOI: 10.1073/pnas.2336140100.
- [17] KINTSCHER U, HARTGE M, HESS K, et al. T-lymphocyte infiltration in visceral adipose tissue: a primary event in adipose tissue inflammation and the development of obesity-mediated insulin resistance[J]. Arterioscler Thromb Vasc Biol, 2008, 28(7): 1304-1310. DOI: 10.1161/ATVBAHA.108.165100.
- [18] SUN K, TORDJMAN J, CLÉMENT K, et al. Fibrosis and adipose tissue dysfunction[J]. Cell Metab, 2013, 18(4): 470-477. DOI: 10.1016/j.cmet.2013.06.016.
- [19] LI Y, YAO J, HAN C, et al. Quercetin, inflammation and immunity[J]. Nutrients, 2016, 8(3): 167. DOI: 10.3390/nu8030167.
- [20] MA C, XIANG Q, SONG G, et al. Quercetin and polycystic ovary syndrome[J]. Front Pharmacol, 2022, 13: 1006678. DOI: 10.3389/fphar.2022.1006678.
- [21] ZHANG X, WANG J, ZHU L, et al. Advances in stigmasterol on its anti-tumor effect and mechanism of action[J]. Front Oncol, 2022, 12: 1101289. DOI: 10.3389/fonc.2022.1101289.
- [22] KHAN Z, NATH N, RAUF A, et al. Multifunctional roles and pharmacological potential of β -sitosterol: emerging evidence toward clinical applications[J]. Chem Biol Interact, 2022, 365: 110117. DOI: 10.1016/j.cbi.2022.110117.
- [23] YU Y, CAO Y, HUANG W, et al. β -sitosterol ameliorates endometrium receptivity in PCOS-like mice: the mediation of gut microbiota[J]. Front Nutr, 2021, 8: 667130. DOI: 10.3389/fnut.2021.667130.
- [24] ASSO S, ANAHORY T, PANTESCO V, et al. The human cumulus: oocyte complex gene-expression profile[J]. Hum Reprod, 2006, 21(7): 1705-1719. DOI: 10.1093/humrep/del065.
- [25] LU N, SHAN C, FU J R, et al. RANKL is independently associated with increased risks of non-alcoholic fatty liver disease in Chinese women with PCOS: a cross-sectional study[J]. J Clin Med, 2023, 12(2): 451. DOI: 10.3390/jcm12020451.
- [26] IRENE SU H, CONNELL M W, BAZHENOVA L A. Ovarian stimulation in young adult cancer survivors on targeted cancer therapies[J]. Fertil Steril, 2016, 106(6): 1475-1478. DOI: 10.1016/j.fertnstert.2016.08.011.
- [27] GLASTONBURY C A, VIÑUELA A, BUIL A, et al. Adiposity-dependent regulatory effects on multi-tissue transcriptomes[J]. Am J Hum Genet, 2016, 99(3): 567-579. DOI: 10.1016/j.ajhg.2016.07.001.
- [28] KHAMIS A, CANOUIL M, SIDDIQ A, et al. Laser capture microdissection of human pancreatic islets reveals novel eQTLs associated with type 2 diabetes[J]. Mol Metab, 2019, 24: 98-107. DOI: 10.1016/j.molmet.2019.03.004.
- [29] SAJUTHI S P, SHARMA N K, CHOU J W, et al. Mapping adipose and muscle tissue expression quantitative trait loci in African Americans to identify genes for type 2 diabetes and obesity[J]. Hum Genet, 2016, 135(8): 869-880. DOI: 10.1007/s00439-016-1680-8.

[本文编辑] 尹 茶