



基于网络药理学和分子对接技术探讨杞贞滋阴合剂治疗性腺功能减退症的作用机制

潘宇炯, 何志高, 陈石秀, 周桂, 周昕, 郁超

Mechanism of Qizhenziyin mixture in the treatment of hypogonadism based on network pharmacology analysis and molecular docking

PAN Yujiong, HE Zhigao, CHEN Shixiu, ZHOU Gui, ZHOU Xin, YU Chao

在线阅读 View online: <http://yxsj.smmu.edu.cn/cn/article/doi/10.12206/j.issn.2097-2024.202208111>

您可能感兴趣的其他文章

Articles you may be interested in

基于网络药理学与分子对接技术对清开灵干预病毒性感冒的作用机制研究

Mechanism of Qingkailing on influenza based on network pharmacology and molecular docking

药学实践与服务. 2021, 39(3): 193-202 DOI: 10.12206/j.issn.1006-0111.202005077

基于网络药理学和分子对接的荆防败毒散预防新型冠状病毒肺炎的活性成分研究

Study on active ingredients of Jingfang Baidu San for preventing COVID-19 based on network pharmacology and molecular docking

药学实践与服务. 2020, 38(6): 485-491, 538 DOI: 10.12206/j.issn.1006-0111.202005078

基于网络药理学研究柴胡达胸合剂治疗新型冠状病毒肺炎的作用机制

The mechanism study on Chaihudaxiong mixture in the treatment of coronavirus disease 2019 with network pharmacology approach

药学实践与服务. 2020, 38(4): 289-295 DOI: 10.12206/j.issn.1006-0111.202004023

基于网络药理学的青风藤治疗类风湿关节炎的作用机制研究

Mechanism of *Sinomenii caulis* in the treatment of rheumatoid arthritis based on network pharmacology

药学实践与服务. 2021, 39(1): 17-22 DOI: 10.12206/j.issn.1006-0111.202004117

基于网络药理学的肝力保胶囊保肝作用机制研究

Study on hepato-protective mechanism of Ganlibao capsule based on network pharmacology

药学实践与服务. 2018, 36(5): 403-408,416 DOI: 10.3969/j.issn.1006-0111.2018.05.005

网络药理学在中药作用机制中的研究进展

Advances in the mechanism of Traditional Chinese Medicine by network pharmacology method

药学实践与服务. 2018, 36(2): 97-102 DOI: 10.3969/j.issn.1006-0111.2018.02.001



关注微信公众号, 获得更多资讯信息

· 论著 ·

基于网络药理学和分子对接技术探讨杞贞滋阴合剂治疗性腺功能减退症的作用机制

潘宇炯, 何志高, 陈石秀, 周桂, 周昕, 郁超 (上海中医药大学附属龙华医院, 上海 200032)

[摘要] **目的** 应用网络药理学研究杞贞滋阴合剂治疗性腺功能减退症的作用机制。**方法** 检索中药系统药理学数据库与分析平台(TCMSP)、中药综合数据库(TCMID)、药物成分靶标数据库(HIT)获取杞贞滋阴合剂的化学成分,从蛋白质-化学相互作用网络数据库(STITCH)中收集候选化合物的相关靶点。利用 GeneCards 和 DisGeNet 数据库对性腺功能减退症的疾病基因进行映射,获得杞贞滋阴合剂治疗性腺功能减退症的潜在靶点。通过蛋白互作平台数据库(String)构建作用靶点之间的互作关系(PPI),将其导入 Cytoscap 软件构建 PPI 网络图。最后,通过对靶点基因进行 GO、KEGG 富集分析和分子对接,分析杞贞滋阴合剂治疗性腺功能减退症的作用机制。**结果** 共获得 148 种疾病与药物交集化合物、96 个疾病与药物交集靶点、1085 个疾病靶点;其中,与疾病相关的成分有槲皮素、山柰酚、木犀草素等;通过 GO 富集分析共得到生物过程(BP)1792 条、细胞组成(CC)31 条、分子功能(MF)79 条;通过 KEGG 富集分析得到 FOXO 通路、前列腺癌通路、糖尿病并发症中的 AGE-RAGE 信号通路、HIF-1 通路等;通过分子对接显示,LEP 与山柰酚的结合力最好也最稳定。**结论** 杞贞滋阴合剂的活性成分可能是通过改善胰岛素抵抗和 Leydig 细胞睾酮合成酶表达来发挥治疗性腺功能减退症的作用。

[关键词] 杞贞滋阴合剂;性腺功能减退症;网络药理学;分子对接技术

[文章编号] 2097-2024(2024)01-0024-08

[DOI] 10.12206/j.issn.2097-2024.202208111

Mechanism of Qizhenziyin mixture in the treatment of hypogonadism based on network pharmacology analysis and molecular docking

PAN Yujiang, HE Zhigao, CHEN Shixiu, ZHOU Gui, ZHOU Xin, YU Chao (Longhua Hospital, Shanghai University of Traditional Chinese Medicine, Shanghai 200032, China)

[Abstract] **Objective** To investigate the mechanism of Qizhenziyin mixture in the treatment of hypogonadism by using the network pharmacology approach. **Methods** The active components of Qizhenziyin mixture were obtained by searching TCMSP, TCMID and HIT databases. The related targets of candidate compounds were obtained by searching STITCH databases. The potential targets of Qizhenziyin mixture in the treatment of hypogonadism were obtained by mapping the disease genes of hypogonadism with Genecards and DisGeNet databases. The protein interaction platform database (STRING) was used to construct the interaction relationship between action targets. The target protein interaction (PPI) network was constructed by introducing Cytoscape software. The mechanism of Qizhenziyin mixture in the treatment of hypogonadism was explained through the enrichment analysis of GO, KEGG and molecular docking technology. **Results** A total of 148 drug-disease chemical compounds, 96 drug-disease intersection targets, 1085 disease targets were obtained; the components for treating diseases are: quercetin, kaempferol, luteolin, etc; enrichment analysis of GO revealed 1792 biological processes (BP), 31 cellular components (CC) and 79 molecular functions (MF); the results of KEGG pathway enrichment analysis indicated such as FOXO signaling pathway, prostate cancer, AGE-RAGE signaling pathway in diabetic complications, HIF-1 signaling pathway, etc. The results of molecular docking showed that kaempferol and LEP had the best and stable binding energy. **Conclusion** The active components of Qizhenziyin mixture may play a role of the treatment of hypogonadism by improving insulin resistance and the expression of testosterone synthetase of Leydig cells.

[Key words] Qizhenziyin mixture; hypogonadism; network pharmacology; molecular docking

[基金项目] 中医医院中药临床药学服务规范化建设项目 [ZY(2021-2023)-0203-01]

[作者简介] 潘宇炯, 本科, 主管药师, 研究方向: 医院制剂生产及研究, Email: pyjandyh@sina.com

[通信作者] 周昕, 博士, 主任药师, Email: 2479707904@qq.com; 郁超, 博士, 主任医师, Email: yubeyond@163.com

性腺功能减退症是一种由多种原因引起的睾酮水平低于健康青年男子正常范围的疾病,临床症状为焦躁不安、健忘出汗、性功能减退等。从流行病学分析,该病在肥胖和糖尿病人群中发病较多;其次,多发病于中老年男性患者,也称迟发性性腺功能减退症(LOH)^[1]。目前,西医治疗男性肥胖和 LOH 多以外源性和内源性补充睾酮为主,治疗手法单一,且存在诸多的争议。例如,在临床中,对于 LOH 症状中失眠、潮热、健忘、注意力不集中等精神心理症状,单纯用睾酮补充治疗(TST),症状改善不显著^[2-5]。中医治疗则根据患者在 TST 过程中所表现的不同证候采用不同的治疗方法,如心功能不全患者以补肾为主,情志精神患者以疏肝为主,生理体能欠佳者以健脾、补益为主等不同的治疗方法^[5]。

杞贞滋阴合剂(沪药制备字 Z20210006000),是上海市著名中医周智恒教授的经验方。该方中,君药是熟地黄、黄芪,起滋阴补肾、益气培元之功效;臣药是枸杞子、女贞子、山茱萸,起补肾、涩精、固肾之功效;佐药为沙苑子、当归,起益精养血之功效;锁阳中求阴为使药。全方共奏滋阴补肾、益气生精之功效。前期临床实验证明,杞贞滋阴合剂可以有效改善 LOH 患者体能不济、血管舒缩和睾酮水平低下等症^[6-7]。

网络药理学是通过“药物-基因-靶点-疾病”相互作用网络,预测药物作用机制的学科^[8]。分子对接是通过受体和药物分子之间的相互作用来进行药物设计的方法。本研究通过网络药理学和分子对接技术,对杞贞滋阴合剂的作用机制进行研究,以期为该制剂的后期开发提供技术支持和理论依据。

1 资料与方法

1.1 杞贞滋阴合剂化学成分检索的整理与筛选

在中药综合数据库(TCMID)^[9]、中药系统药理学数据库与分析平台(TCMSP)^[10]、药物成分靶标数据库(HIT)^[11]和文献中检索杞贞滋阴合剂的相关化学成分,再在 TCMID, TCMSP, HIT, STITCH 数据库中查找有效活性成分的靶点,取 STITCH 数据库中化合物靶标关联度 400 以上的靶标^[12],并使用 NCBI 数据库中的基因模块对生物靶标信息进行标准化,建立相关的化学成分靶标数据库。

1.2 类药性的初步筛选

将化合物的物理化学特征与上市药物特征进行比较,采用 Bickerton 等提出的有效的类药性评估指标(quantitative estimate of druglikeness, QED)

评估化学成分的类药性^[13]。

$$QED = \exp\left(\frac{1}{n} \sum_{i=1}^n \ln d_i\right)$$

参考 DRUGBANK 上市药物 QED 值,选择 0.3 为阈值筛选化合物。

1.3 基于二项分布算法的靶标及化学成分的二次筛选

采用基于二项分布的富集评分算法来筛选核心方的作用靶标^[14]。

$$P_i(X \geq k) = \sum_{m=k}^n C_n^m (p)^m (1-p)^{n-m}$$

当 $P < 0.01$ 时,表明该靶标基因被至少 k 个活性化合物同时作用是小概率事件,则该靶标基因是核心方的主要作用靶标基因,并将含有主要作用靶标基因的化合物作为主要作用化合物。

1.4 疾病靶点筛选

在 GENECARD 数据库^[15]的 Malacard 模块中查找“性腺功能减退症”的靶点数据,以得分双倍中位数为筛选条件,在 DisGeNet 数据库查找“性腺功能减退症疾病”的靶点数据。合并以上两个数据库的筛选结果,并删除重复靶标。最后,使用韦恩图确定杞贞滋阴合剂治疗性腺功能减退症的主要靶标,并使用 STRING 数据库进行蛋白 PPI 网络分析。

1.5 生物功能富集分析

将得到的 97 个疾病靶标进行富集分析,其中,通路信息来自 KEGG 通路数据库^[16],基因本体 GO 富集分析信息数据来源于 Gene Ontology 数据库,再应用超几何分布模型评估靶标基因群是否与特定的 GO 及生物通路显著关联:

$$P = 1 - \sum_{i=0}^{k-1} \frac{\binom{M}{i} \binom{N-M}{n-i}}{\binom{N}{n}}$$

经过错误发现率(False discovery rate, FDR)^[17]法调整的 P 值,反映了杞贞滋阴合剂靶标或者疾病靶标与通路或 GO 的关联强度,本项目经调整后的 P 值,以小于 0.01 认为关联显著。

1.6 构建“成分-靶点-疾病”网络图

利用 Cytoscape 软件的插件评估筛选核心靶标,组成核心网络,评估杞贞滋阴合剂疾病 KEGG 关联条目的关系。所有图片中形状大小、颜色深浅均以度值排序。

1.7 分子对接

取度值较高的核心靶点,导入 PDB(<https://>

www.pdbus.org/), 筛选条件以 X-RAY 下 Resolution 值小为首选标准, 下载 PDB 文件, 使用 PYMOL 软件, 去水、去配体后备用; 从 PubChem 数据库下载活性成分, 运用 AutoDock-Tools 软件对受体蛋白及配体进行加氢、平衡电荷等操作后, 对处理好的活性化合物与靶蛋白进行对接, 并进行能量计算, 最终运用 PYMOL 软件进行绘图。

2 结果

2.1 杞贞滋阴合剂活性成分和靶标的筛选

通过 TCMSP、TCMID、HIT 数据库和文献检索获得 495 个活性化合物; 然后在 STITCH 数据库中, 筛选靶标关联度 400 以上的靶标, 获得靶标 7627 个; 再通过类药性分析, 共得到 246 个满足类药性成分的化合物; 并使用二项分布算法筛选核心方的作用靶标, 筛选得到 701 个成分靶标和 213 个主要作用化合物。

通过 GENECARD 数据库筛选到 1051 个相关靶标, 通过 DisGeNet 数据库筛选到 305 个相关靶标, 合并删除重复疾病靶标后, 共获得 1085 个与性腺功能减退症相关的疾病靶标基因。结合杞贞滋阴合剂的 701 个成分靶标, 使用韦恩图确定杞贞滋阴合剂的 96 个疾病靶标和 148 种活性化合物, 见表 1。

2.2 杞贞滋阴合剂活性成分和靶标的网络构件图

利用 Cytoscape 软件, 以杞贞滋阴合剂的 96 个疾病靶标和 148 种活性化合物, 建立“药物-成分-靶点”网络图, 其中, 度值较高的化合物有棕榈油、乙醇、槲皮素、木犀草素、山柰酚、果糖、硬脂酸等, 见图 1。

2.3 杞贞滋阴合剂靶标的 PPI 网络构件图

通过 STRING 数据库进行蛋白 PPI 网络分析, 并利用 Cytoscape 软件, 以疾病为靶标进行蛋白 PPI 网络分析, 图中共有 96 个节点, 1132 条边, 其中, 度值排名前 10 的靶标是血清白蛋白 (ALB)、INS、阿黑皮素原 (POMC)、TNF、AKT1、LEP、IGF1、IL-6、FOS、ESR1, 见图 2。

2.4 GO 富集分析

对杞贞滋阴合剂治疗性腺功能减退症的靶标基因进行 GO 富集分析, 以 P 值小于 0.01 为关联显著, 以此进行筛选, 生物过程 (BP) 有 1792 条、细胞组件 (CC) 有 31 条、分子功能 (MF) 有 79 条, 并取 P 值前 15 条的 BP、CC、MF 分别制得条形图。其中, MF 主要集中在受体激动剂活性、激素活性、RNA 聚合酶 II 转录因子活性、G 蛋白偶联受体结合等; CC 主要集中在分泌颗粒腔、细胞质膜结合

表 1 杞贞滋阴合剂的主要有效活性成分

化合物	编码	化合物来源	QED
丁香酚	MOL000254	TCMSP	0.7
香草酸	MOL000114	TCMSP	0.7
异细辛醚	CID:636750	PUBCHEM	0.7
2-甲氧基-4-乙烯基苯酚	MOL001752	TCMSP	0.7
反式阿魏酸	MOL000360	TCMSP	0.72
阿魏酸	MOL000360	TCMSP	0.72
异丁香酚(正+反)	MOL000206	TCMSP	0.73
芹菜素	MOL000008	TCMSP	0.74
DL-丁香树脂酚	MOL000396	TCMSP	0.74
2,6-二叔丁基-4-甲基苯酚	MOL002850	TCMSP	0.75
丁香酚甲基醚	MOL000207	TCMSP	0.81
大豆异黄酮	MOL000390	TCMSP	0.82
黄豆黄素	MOL008400	TCMSP	0.83
刺芒柄花素	MOL000392	TCMSP	0.85
毛蕊异黄酮	MOL000417	TCMSP	0.89
槲皮素	MOL000098	TCMSP	0.51
木犀草素	MOL000006	TCMSP	0.6
山柰酚1	MOL000422	TCMSP	0.64

注: 表中PUBCHEM为通过文献检索杞贞滋阴合剂查阅到的相关化合物。

囊泡腔、囊泡腔、内质网内腔等; BP 主要集中在对肽类激素的反应、多细胞生物稳态、对营养水平的反应等, 见图 3。

2.5 KEGG 富集分析

对杞贞滋阴合剂治疗性腺功能减退症的靶标基因进行 GO 富集分析, 以 P 值小于 0.01 为关联显著, 并以此进行筛选, 结果 KEGG 信号通路的富集分析报告中, 复方靶标与性腺功能减退症相关的有 132 条信号通路, 取 P 值前 15 条信号通路, 制得气泡图和核心网络与前 15 条通路的关系图见图 4。

2.6 分子对接

根据“药物-成分-靶点”网络分析得到排名前 17 的核心活性成分, 剔除其中成药性较差的, 例如, 乙醇、棕榈油、果糖、硬脂酸等, 最后选取槲皮素、山柰酚、木犀草素作为核心活性成分; 从度值排名前 8 的核心靶点中, 剔除与槲皮素、山柰酚、木犀草素无密切度的 ALB 和 POMC, 最后选取 INS、TNF、AKT1、LEP、IGF1、IL-6 六个靶点进行分子对接。其中, 对接得分 (kcal/mol 值) 绝对值 > 4.25 代表结合活性一般, 绝对值 > 5.0 代表结合活性较好, 绝对值 > 7.0 代表结合活性较强^[18]。由结果可知, 主要核心靶点与核心化合物的结合值都超过了

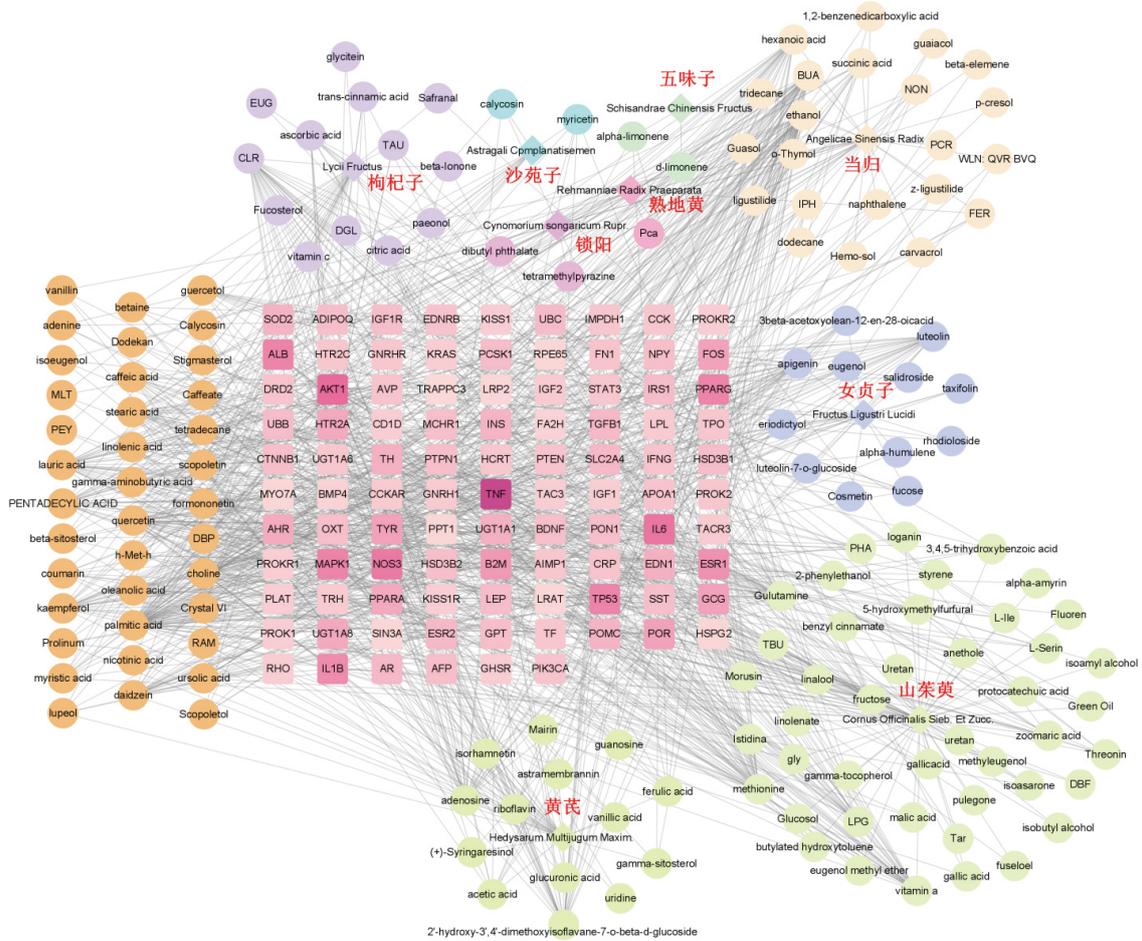


图1 “药物-成分-靶点”网络图

注: 粉色节点为靶点基因, 颜色越深, 度值越大; 不同颜色圆形代表不同中药含有的化合物, 其中, 橙色代表由多种中药共同含有的化合物, 菱形代表中药。

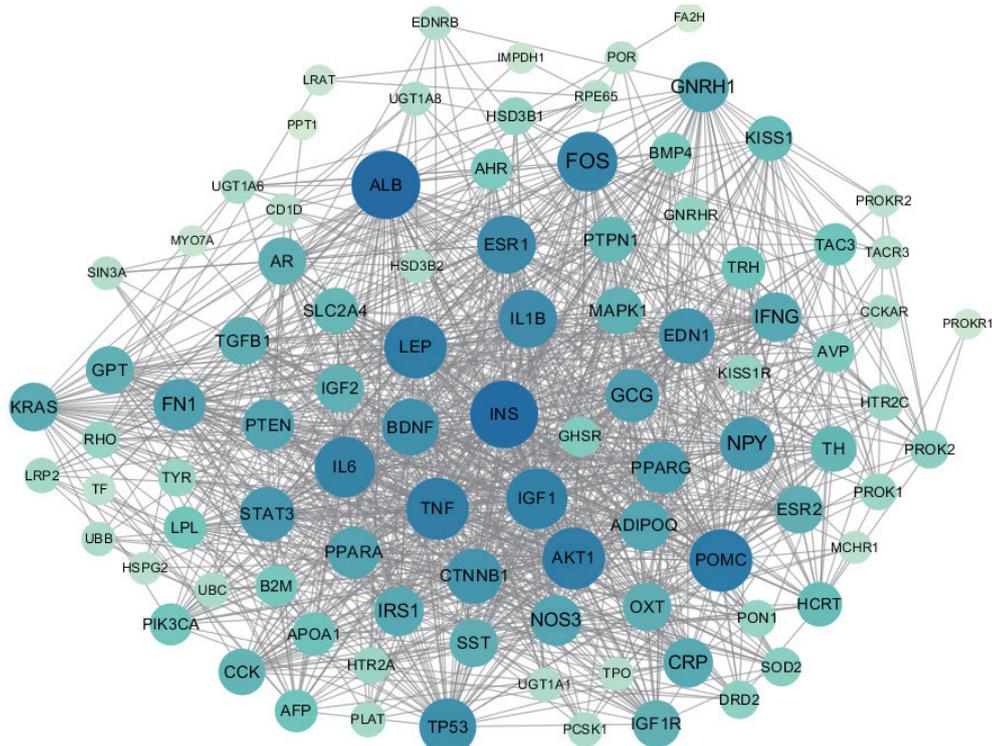


图2 杞贞滋阴合剂疾病靶标蛋白PPI网络图

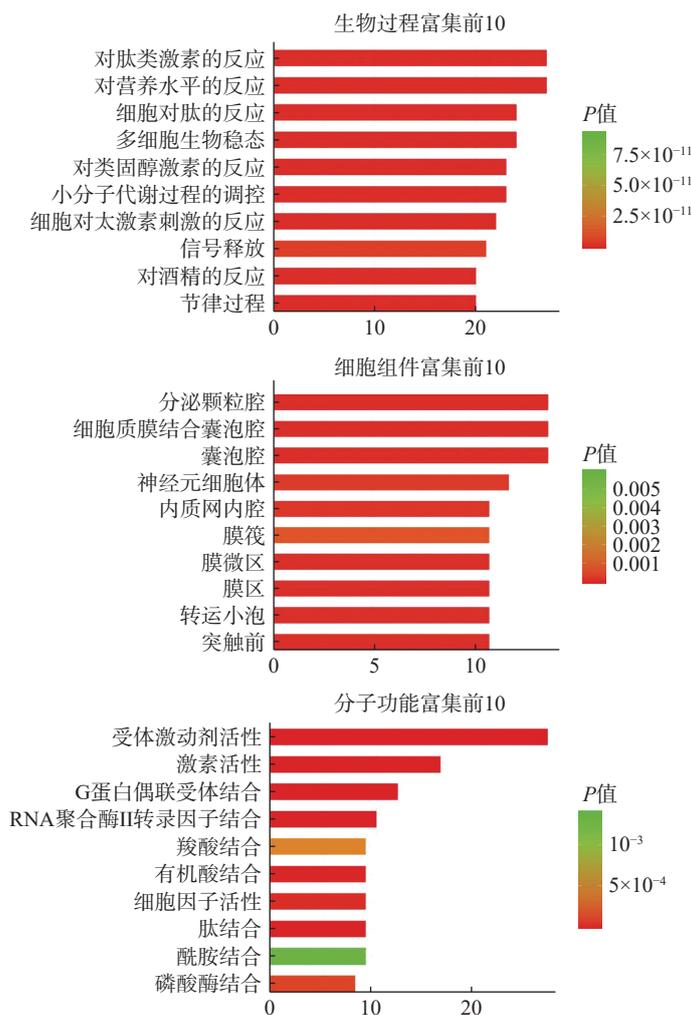


图3 疾病靶点 GO 富集分析 (前 10)

5.0, 核心靶点 TNF 和 LEP 的结合值整体高于其他靶点, 其中, LEP 与山柰酚的结合力较强, 见表 2、图 5。

3 讨论

睾酮已被证明是维持代谢稳态的关键调节因子。现代研究证明, 睾酮与胰岛素抵抗、血脂异常、炎症细胞因子合成增加等因素密切相关^[19-23]。因此, 临床治疗 LOH 除了补充睾酮, 多以控制体重、改善胰岛素抵抗的方法达到改善患者的血清睾酮水平和性功能的目的。

本次研究, 通过 TCMSP、TCMID、HIT 等数据库搜索, 并进行类药性分析和二项分布算法筛选, 共得到 701 个成分靶标和 213 个主要作用化合物, 再通过建立“药物-成分-靶点”网络图, 发现其中与疾病关联性较强的化合物是槲皮素、山柰酚、木犀草素等, 主要作用的疾病靶点是 AKT1、IL-6、IGF1、LEP 等。有研究表明, 槲皮素可刺激 cAMP 依赖性急性调节(Star)启动子的激活, 增加 Leydig 细胞生成睾酮^[24]; 山柰酚可以改善雄性小鼠生殖器官重

量、精子质量, 减少睾丸组织损伤^[25]; 木犀草素能激活 Star 蛋白的表达, 进而增加睾酮的产生^[26]。又有研究表明, IL-6 炎症细胞因子被释放到血液中, 可能抑制 Leydig 细胞的发育^[27]; AKT1 蛋白可通过磷酸化, 进而调节哺乳动物的睾丸功能, 而 IGF1 可刺激多种 AKT1 的活性^[28]; LEP 可通过下丘脑 PI3K/AKT 通路刺激 GnRH 合成与释放, 从而影响血清睾酮水平^[29]。

通过 KEGG 富集分析共得到 132 条通路, 并筛选出 P 值排名前 15 的通路, 包括 FOXO 通路、糖尿病并发症中的 AGE-RAGE 信号通路、胰岛素抵抗、HIF-1 通路等。其中, 缺氧诱导因子-1(HIF1) 是参与细胞缺氧反应的关键转录因子, 并且在 Leydig 细胞中稳定表达, 而 Leydig 细胞生成睾酮是雄性睾酮的主要来源, 当 HIF1 上调时, 睾酮水平显著降低^[30]。在 FOXO 通路中, STAT3、IL-6、AKT1、IGF-1 广泛参与了 FOXO 的激活, FOXO 蛋白作为核转录因子, 可以促进胰岛素或 IGF-1 在哺乳动物细胞的增殖^[31]。

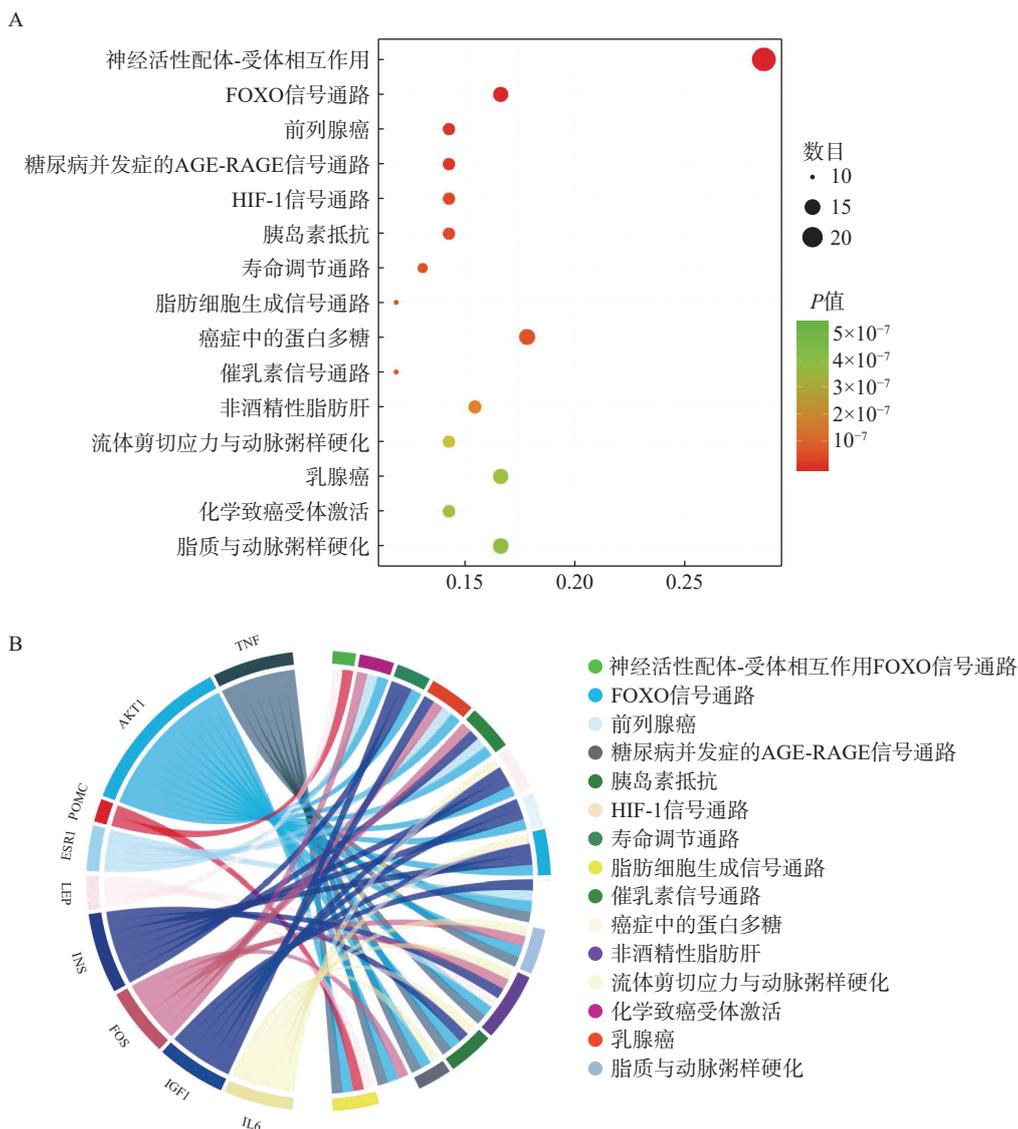


图4 疾病靶点 KEGG 富集分析图

A. 度值前 15 的通路气泡图; B. 核心网络与度值前 15 的通路相关性

表 2 成分与核心靶点分子对接结果

成分	靶点名称	PDB ID	kcal/mol
槲皮素	INS	5HQI	-5.3
	TNF	1QTN	-6.8
	IL-6	YNXZ	-6.3
	LEP	1ax8	-6.5
	IGF1	1imx	-6.0
	AKT1	1unq	-6.2
山柰酚	INS	5HQI	-5.2
	TNF	1QTN	-7.2
	IL-6	YNXZ	-6.4
	LEP	1ax8	-7.2
	IGF1	1imx	-5.9
	AKT1	1unq	-6.1

(续表 2)

成分	靶点名称	PDB ID	kcal/mol
木犀草素	INS	5HQI	-5.4
	TNF	1QTN	-6.8
	IL-6	YNXZ	-6.4
	LEP	1ax8	-7.0
	IGF1	1imx	-5.9
	AKT1	1unq	-6.4

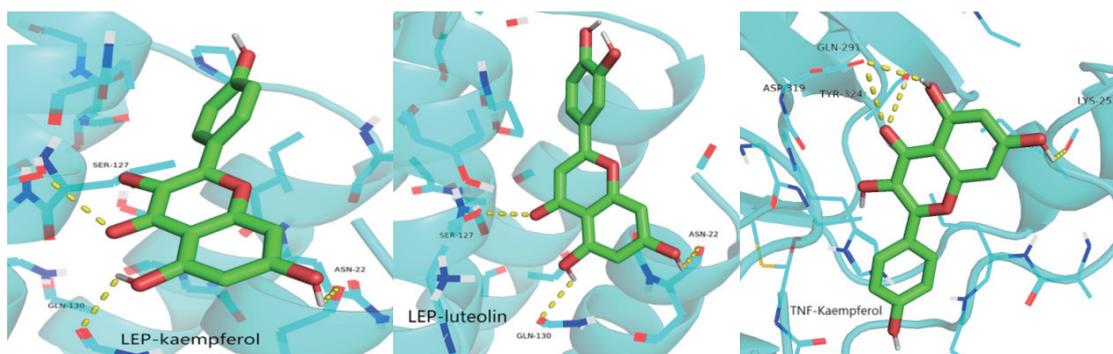


图 5 部分蛋白和活性成分分子对接图

综上所述,杞贞滋阴合剂治疗 LOH 的主要活性成分和作用靶点主要涉及 Leydig 细胞睾酮合成酶表达和改善胰岛素抵抗。其中, Leydig 睾丸间质细胞的功能和数量下降导致的雄激素缺乏是 LOH 的主要核心机制^[32]。有研究表明,胰岛素可通过刺激下丘脑促性腺激素释放激素(GnRH)的产生和分泌,进而刺激黄体生成素(LH)和卵泡刺激素(FSH)的生物合成,而 LH 和 FSH 是睾丸功能的重要激素调节因子^[33]。中医将糖尿病前期归于“消渴”等范畴。《金匱要略》中消渴病篇提到:“男子消渴,小便反多,以饮一斗,小便一斗,肾气丸主之。”肾阳不足,则无力蒸腾气化水液^[34],而杞贞滋阴合剂的创始者周智恒教授认为 LOH 的病因正是肾气衰、真水枯竭,该方正是有滋阴补肾、益气生精之功效^[6]。众所周知,胰岛素抵抗正是糖尿病的病理基础。由上可见,杞贞滋阴合剂的中医治疗 LOH 的理论和胰岛素抵抗的中医治疗理论相一致,也为本研究指出的杞贞滋阴合剂治疗 LOH 多涉及改善胰岛素抵抗提供了理论依据。本研究为杞贞滋阴合剂治疗性腺机能减退症探索了新的防治思路,但由于数据统计来自于多平台的数据收录和总结,结果还需后续实验研究做进一步的验证,从而完善杞贞滋阴合剂治疗 LOH 的作用机制。

【参考文献】

[1] 郭三维, 琚建军, 李铮. 男性性腺功能减退症的认识与对策[J]. 上海医学, 2021, 44(5): 302-306.

[2] 梁国庆, 刘晓强. 迟发性性腺功能减退症的诊治进展[J]. 中国男科学杂志, 2020, 34(5): 83-88.

[3] 任健超, 王璟琦. 肥胖相关男性性腺功能减退症的研究进展[J]. 中国男科学杂志, 2020, 34(6): 67-70.

[4] 洪露. 中西医结合治疗男性性腺功能减退的临床疗效分析[J]. 中西医结合心血管病电子杂志, 2019, 7(31): 183, 195.

[5] 闵潇, 解圣麟, 焦拥政. 中西医结合治疗迟发性性腺功能减退症的思路[J]. 中国中西医结合杂志, 2019, 39(3): 365-368.

[6] 郁超, 龚华, 何晓锋, 等. 杞贞滋阴合剂治疗迟发性性腺功能减退症的临床评价[J]. 上海中医药杂志, 2017, 51(5): 68-71.

[7] 郁超, 龚华, 何晓锋, 等. 麒麟丸联合杞贞滋阴合剂治疗迟发型性腺功能减退男性少弱精子症临床研究[J]. 中国男科学杂志, 2016, 30(11): 45-49.

[8] 董培良, 李慧, 韩华. 中药网络药理学的应用与思考[J]. 中国实验方剂学杂志, 2020, 26(17): 204-211.

[9] HUANG L, XIE D L, YU Y R, et al. TCMID 2.0: a comprehensive resource for TCM[J]. *Nucleic Acids Res*, 2018, 46(D1): D1117-D1120.

[10] RU J, LI P, WANG J, et al. TCMSp: a database of systems pharmacology for drug discovery from herbal medicines[J]. *J Cheminform*, 2014, 6: 13.

[11] YE H, YE L, KANG H, et al. HIT: linking herbal active ingredients to targets[J]. *Nucleic Acids Res*, 2011, 39(Database issue): D1055-D1059.

[12] KUHN M, SZKLARCZYK D, PLETSCHER-FRANKILDS, et al. STITCH 4: integration of protein-chemical interactions with user data[J]. *Nucleic Acids Res*, 2014, 42(Database issue): D401-D407.

[13] BICKERTON G R, PAOLINI G V, BESNARD J, et al. Quantifying the chemical beauty of drugs[J]. *Nat Chem*, 2012, 4(2): 90-98.

- [14] LIANG X J, LI H Y, LI S. A novel network pharmacology approach to analyse traditional herbal formulae: the Liu-Wei-Di-Huang pill as a case study[J]. *Mol Biosyst*, 2014, 10(5): 1014-1022.
- [15] SAFRAN M, DALAH I, ALEXANDER J, et al. GeneCards Version 3: the human gene integrator[J]. *Database (Oxford)*, 2010, 2010: baq020.
- [16] KANEHISA M, FURUMICHI M, TANABE M, et al. KEGG: new perspectives on genomes, pathways, diseases and drugs[J]. *Nucleic Acids Res*, 2017, 45(D1): D353-D361.
- [17] GOSSMANN A, ZILLE P, CALHOUN V, et al. FDR-corrected sparse canonical correlation analysis with applications to imaging genomics[J]. *IEEE Trans Med Imaging*, 2018, 37(8): 1761-1774.
- [18] 何杰滢, 桂蓓, 陈艳芬, 等. 基于网络药理学及实验验证探讨良附丸治疗功能性消化不良的作用机制 [J]. *中国中药杂志*, 2022, 47(14): 3853-3862.
- [19] TRAISH A M, ABDOU R, KYPREOS K E. Androgen deficiency and atherosclerosis: the lipid link[J]. *Vascul Pharmacol*, 2009, 51(5-6): 303-313.
- [20] YEAP B B, CHUBB S A P, HYDE Z, et al. Lower serum testosterone is independently associated with insulin resistance in non-diabetic older men: the Health in Men Study[J]. *Eur J Endocrinol*, 2009, 161(4): 591-598.
- [21] BERG W T, MINER M. Hypogonadism and metabolic syndrome: review and update[J]. *Curr Opin Endocrinol Diabetes Obes*, 2020, 27(6): 404-410.
- [22] CORONA G, MONAMI M, RASTRELLI G, et al. Type 2 diabetes mellitus and testosterone: a meta-analysis study[J]. *Int J Androl*, 2011, 34(6 Pt 1): 528-540.
- [23] DING E L, SONG Y Q, MALIK V S, et al. Sex differences of endogenous sex hormones and risk of type 2 diabetes: a systematic review and meta-analysis[J]. *JAMA*, 2006, 295(11): 1288-1299.
- [24] CORMIER M, GHOUILI F, ROUMAUD P, et al. Influence of flavonols and quercetin derivative compounds on MA-10 Leydig cells steroidogenic genes expressions[J]. *Toxicol In Vitro*, 2017, 44: 111-121.
- [25] BAI X, TANG Y B, LI Q, et al. An integrated analysis of network pharmacology, molecular docking, and experiment validation to explore the new candidate active component and mechanism of *Cuscutae Semen-mori* fructus coupled-herbs in treating oligoasthenozoospermia[J]. *Drug Des Devel Ther*, 2021, 15: 2059-2089.
- [26] COUTURE R, MORA N, BITTAR S A, et al. Luteolin modulates gene expression related to steroidogenesis, apoptosis, and stress response in rat LC540 tumor Leydig cells[J]. *Cell Biol Toxicol*, 2020, 36(1): 31-49.
- [27] WANG Y Y, CHEN L L, XIE L B, et al. Interleukin 6 inhibits the differentiation of rat stem Leydig cells[J]. *Mol Cell Endocrinol*, 2018, 472: 26-39.
- [28] XIE L B, LI X H, MO J Y, et al. Delayed puberty by ziram is associated with down regulation of testicular phosphorylated AKT1 and SIRT1/PGC-1 α signaling[J]. *Chem Res Toxicol*, 2018, 31(12): 1315-1322.
- [29] CARVALHEIRA J B, TORSONI M A, UENO M, et al. Cross-talk between the insulin and leptin signaling systems in rat hypothalamus[J]. *Obes Res*, 2005, 13(1): 48-57.
- [30] WANG X T, ZOU Z R, YANG Z H, et al. HIF 1 inhibits StAR transcription and testosterone synthesis in murine Leydig cells[J]. *J Mol Endocrinol*, 2018 Oct 1: JME-18-0148.R2.
- [31] LEE S, DONG H H. FoxO integration of insulin signaling with glucose and lipid metabolism[J]. *J Endocrinol*, 2017, 233(2): R67-R79.
- [32] XU W D, ZHU Q, ZHANG B, et al. Protective effect of calretinin on testicular Leydig cells via the inhibition of apoptosis[J]. *Aging*, 2017, 9(4): 1269-1279.
- [33] OGHBAEI H, FATTAHI A, HAMIDIAN G, et al. A closer look at the role of insulin for the regulation of male reproductive function[J]. *Gen Comp Endocrinol*, 2021, 300: 1-36.
- [34] 杜丽坤, 宋昕, 李娟. 从肝脾肾三脏探讨肥胖型糖尿病前期患者胰岛素抵抗 [J]. *中医药学报*, 2023, 51(7): 62-66.

[收稿日期] 2022-08-31 [修回日期] 2023-09-18
[本文编辑] 陈盛新