

- ischemic stroke [J]. *Frontiers in pharmacology*, 2019, 10: 386. doi: 10.3389/fphar.2019.00386.
- [22] LI J J, ZHU Q, LU Y P, et al. Ligustilide prevents cognitive impairment and attenuates neurotoxicity in D-galactose induced aging mice brain [J]. *Brain research*, 2015, 1595: 19-28. doi: 10.1016/j.brainres.2014.10.012
- [23] MA J, XU Y, ZHENG Q, et al. Ligustilide inhibits the activation of cancer-associated fibroblasts [J]. *Life Sci*, 2019, 218: 58-64. doi: 10.1016/j.lfs.2018.12.032.
- [24] LONG F Y, SHI M Q, ZHOU H J, et al. Klotho upregulation contributes to the neuroprotection of ligustilide against cerebral ischemic injury in mice [J]. *Eur J Pharmacol*, 2018, 820: 198-205. doi: 10.1016/j.ejphar.2017.12.019.
- [25] LI J, HUA Y, JI P, et al. Effects of volatile oils of angelica sinensis on an acute inflammation rat model [J]. *Pharmaceutical biology*, 2016, 54(9): 1881-1890.
- [26] HASEGAWA T, NAKASHIMA M, SUZUKI Y, et al. Nuclear DNA damage-triggered NLRP3 inflammasome activation promotes UVB-induced inflammatory responses in human keratinocytes [J]. *Biochemical and biophysical research communications*, 2016, 477(3): 329-335.
- [27] YE Y, JIN T, ZHANG X, et al. Meisoindigo protects against focal cerebral ischemia-reperfusion injury by inhibiting NLRP3 inflammasome activation and regulating microglia/macrophage polarization via TLR4/NF- $\kappa$ B signaling pathway [J]. *Frontiers in cellular neuroscience*, 2019, 13: 553. doi: 10.3389/fncel.2019.00553.
- [28] YANG Y, WANG H, KOUADIR M, et al. Recent advances in the mechanisms of NLRP3 inflammasome activation and its inhibitors [J]. *Cell death & disease*, 2019, 10(2): 128.
- (编辑:刘雄志)  
(收稿日期:2022-10-10 修回日期:2023-06-15)

doi:10.13407/j.cnki.jpp.1672-108X.2024.03.002

· 论著 ·

## 基于网络药理学探讨赖氨肌醇维生素 B<sub>12</sub> 口服液治疗小儿厌食症的作用机制

赵亚萍<sup>1</sup>, 徐盼玲<sup>2</sup>, 王萌萌<sup>1</sup> (1. 杭州市儿童医院, 杭州 310014; 2. 安徽医科大学第一附属医院, 合肥 230022)

**[摘要]**目的:从网络药理学角度探讨赖氨肌醇维生素 B<sub>12</sub> 口服液治疗小儿厌食症的机制。方法:通过查阅药品说明书,明确赖氨肌醇维生素 B<sub>12</sub> 口服液的成分,并通过 Swiss Target Prediction 网站预测成分的相关靶点,与小儿厌食症靶点进行交集映射,获得其治疗小儿厌食症的作用靶点。利用蛋白相互作用(PPI)网络筛选核心靶点,并进行分子对接验证。基于共有靶点,采用功能注释生物信息学芯片进行分析,得到赖氨肌醇维生素 B<sub>12</sub> 口服液治疗小儿厌食症的关键通路。结果:赖氨肌醇维生素 B<sub>12</sub> 口服液中的主要成分为盐酸赖氨酸、肌醇和维生素 B<sub>12</sub>,共预测出 40 个靶基因,其中有 13 个靶基因与小儿厌食症的关系密切,主要涉及谷氨酸受体信号通路、神经活性配体-受体相互作用等相关分子环节。结论:赖氨肌醇维生素 B<sub>12</sub> 口服液可能发挥类似于谷氨酸的作用,通过激活突触后膜的谷氨酸受体,提高神经兴奋性,从而改善患儿的厌食症状,体现了多成分、多靶点协同起效的作用特点。

**[关键词]**网络药理学;分子对接;赖氨肌醇维生素 B<sub>12</sub> 口服液;小儿厌食症;分子机制

[中图分类号]R969

[文献标识码]A

[文章编号]1672-108X(2024)03-0005-04

### Mechanism of Lysine, Inositol and Vitamin B<sub>12</sub> Oral Solution in the Treatment of Anorexia in Children Based on Network Pharmacology

Zhao Yaping<sup>1</sup>, Xu Panling<sup>2</sup>, Wang Mengmeng<sup>1</sup> (1. Hangzhou Children's Hospital, Hangzhou 310014, China; 2. The First Affiliated Hospital of Anhui Medical University, Hefei 230022, China)

**[Abstract]** Objective: To explore the mechanism of lysine, inositol and vitamin B<sub>12</sub> oral solution in the treatment of anorexia in children based on network pharmacology. Methods: By referring to drug instructions, the components of lysine, inositol and vitamin B<sub>12</sub> oral solution were excavated, the correlation targets of components were predicted through Swiss Target Prediction website, and the intersection mapping was made with the targets of anorexia, so as to obtain the therapeutic targets of anorexia in children. Protein-protein interaction (PPI) was used to screen core targets and molecular docking verification was carried out. Based on common targets, functional annotation bioinformatics chip was used for analysis, and the key pathway of lysine, inositol and vitamin B<sub>12</sub> oral solution in the treatment of anorexia in children was obtained. Results: Lysine hydrochloride, inositol and vitamin B<sub>12</sub> were the main components in

基金项目:浙江省中医药科技计划项目,编号 2023ZR123。

作者简介:赵亚萍(1989.03-),女,硕士,住院医师,主要从事儿童生长发育疾病康复研究,E-mail: zyp3182183@163.com。

通信作者:王萌萌(1996.03-),女,硕士,住院医师,主要从事中西医结合治疗儿童生长发育疾病研究,E-mail: 18317912082@163.com。

lysine, inositol and vitamin B<sub>12</sub> oral solution. A total of 40 target genes were predicted, among which 13 target genes were closely related to anorexia, mainly including glutamate receptor signaling pathway and neuroactive ligand receptor interaction. **Conclusion:** Lysine, inositol and vitamin B<sub>12</sub> oral solution may play a similar role to glutamate, and improve anorexia in children by activating glutamate receptors in the postsynaptic membrane, which reflects the synergistic effect of multiple components and multiple targets.

[**Keywords**] network pharmacology; molecular docking; lysine, inositol and vitamin B<sub>12</sub> oral solution; anorexia in children; molecular mechanism

小儿厌食症是儿科临床常见病,主要特征是食欲长期下降或消失,甚至拒绝进食,可引起营养不良、贫血、佝偻病、免疫力低下和反复呼吸道感染等,多发生于 1~6 岁儿童<sup>[1]</sup>。小儿厌食症主要与疾病、饮食不当、肠道菌群失调、消化酶活性降低、微量元素缺乏以及由中枢神经系统功能异常引起的食欲异常等因素相关<sup>[2-3]</sup>。小儿厌食症的治疗尚无统一标准,西医以微量元素、消化酶、促胃肠动力药物治疗为主,但效果并不理想。有研究发现小儿化滞健脾丸、布拉酵母菌联合葡萄糖酸锌等是通过调节患儿肠肽的分泌与释放来治疗厌食症的<sup>[4-5]</sup>。赖氨肌醇维生素 B<sub>12</sub> 口服液是赖氨酸、肌醇和维生素的复合制剂,对患儿食欲及免疫状态均有积极影响<sup>[6-9]</sup>,但其作用机制的研究仅停留在补充氨基酸及维生素阶段。近几年网络药理学的发展为药物机制的深入研究提供了一个可靠的平台。本研究拟用网络药理学方法探讨赖氨肌醇维生素 B<sub>12</sub> 口服液治疗小儿厌食症的机制,为药物的临床应用提供参考。

## 1 材料与方法

### 1.1 “赖氨肌醇维生素 B<sub>12</sub> 口服液-靶点”的建立

通过查询药品说明书明确赖氨肌醇维生素 B<sub>12</sub> 口服液的成分包括盐酸赖氨酸、肌醇和维生素 B<sub>12</sub>。通过 PubChem 查询 3 种分子的结构式,将 3 种分子的结构式导入 Swiss Target Prediction 网站中,获取 3 种分子的作用靶点,将“药物-分子-靶点”导入 Cytoscape 3.7.2 软件中,构建“赖氨肌醇维生素 B<sub>12</sub> 口服液-靶点”网络图。



图 1 赖氨肌醇维生素 B<sub>12</sub> 口服液的 3 个有效成分

### 1.2 “小儿厌食症-靶点”的获取

将“child anorexia”输入 Gene Card 网站,获取小儿厌食症的疾病靶点,将“relevance score”设置为>0.5,筛选出厌食症的疾病靶点。将赖氨肌醇维生素 B<sub>12</sub> 口服液靶点与小儿厌食症靶点合并,获取交集靶点,得到赖氨肌醇维生素 B<sub>12</sub> 口服液治疗小儿厌食症的潜在作用靶点。

### 1.3 蛋白相互作用(PPI)网络的构建与分析

基于 STRING 平台构建蛋白相互作用 (protein-protein interaction, PPI) 网络,将交集靶点输入到 STRING 网站,选择物种为“人”,打分默认为 0.4。获取 PPI 的 TSV 表格。将表格导入 Cytoscape 3.7.2 软件,以节点反映网络中 degree 的大小,以边的粗细设置用于反映“combine score”的大小,得到赖氨肌醇维生素 B<sub>12</sub> 口服液治疗小儿厌食症的 PPI 网络图。

### 1.4 基因本体论(GO)生物分析与京都基因与基因组百科全书(KEGG)通路分析

GO 是按照生物途径 (biology process, BP)、分子功能 (molecular function, MF)、细胞定位 (cellular location, CL) 对基因进行注释。KEGG 通路分析可以直观检测靶标参与的通路,借助统计分析方法对靶标进行富集分析。将交集靶点输入到 Metascape 网站中,选择物种为“人”,获取交集靶点的 GO 功能富集及 KEGG 通路富集。

## 2 结果

### 2.1 赖氨肌醇维生素 B<sub>12</sub> 口服液的化学结构式

将赖氨肌醇维生素 B<sub>12</sub> 口服液的 3 个有效成分分别导入 PubChem 数据库中,获取其 2D 分子结构式,见图 1。

### 2.2 赖氨肌醇维生素 B<sub>12</sub> 口服液的靶点图

将 3 种分子的结构式导入 Swiss Target Prediction 网站中,获取 3 种分子的作用靶点,将“药物-分子-靶点”导入 Cytoscape 3.7.2 软件中,构建“赖氨肌醇维生素 B<sub>12</sub> 口服液-靶点”网络图。盐酸赖氨酸作用靶点为 25 个,肌醇 40 个,维生素 B<sub>12</sub> 0 个,盐酸赖氨酸和肌醇的交叉靶点为 25 个,所以赖氨肌醇维生素 B<sub>12</sub> 口服液的作用靶点一共有 40 个。见图 2。

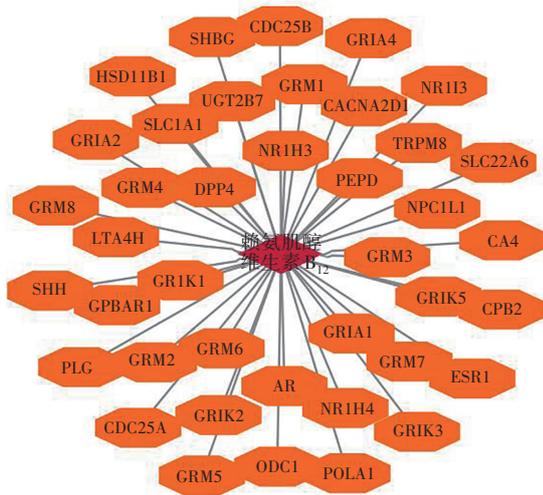


图 2 赖氨肌醇维生素 B<sub>12</sub> 口服液-靶点

### 2.3 赖氨肌醇维生素 B<sub>12</sub> 口服液与小儿厌食症的交集靶点

将“child anorexia”输入 Gene Card 网站,获取小儿厌食症的疾病靶点,将“relevance score”设置为>0.5,筛选出小儿厌食症的疾病靶点共 2 041 个。将赖氨肌醇维生素 B<sub>12</sub> 口服液靶点与小儿厌食症靶点输入到 Veeny 2.1,获取交集靶点的韦恩图,交集靶点共 13 个,见图 3。

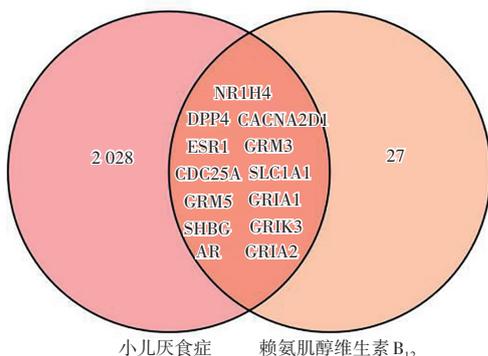


图 3 赖氨肌醇维生素 B<sub>12</sub> 口服液与小儿厌食症的交集靶点韦恩图

### 2.4 PPI 网络

将 13 个靶蛋白导入 STRING 数据库,限定人源,获取 PPI 关系,保存其 TSV 格式文件,导入 Cytoscape 软件进行可视化,共涉及 11 个节点和 21 条边,见图 4。图中节点表示靶蛋白,边表示靶蛋白相互作用,节点的大小和颜色表示 degree 值的大小,边的粗细表示“combine

score”。节点越大、颜色由暗变亮对应的 degree 值越大,边越粗 combine score 值越大。

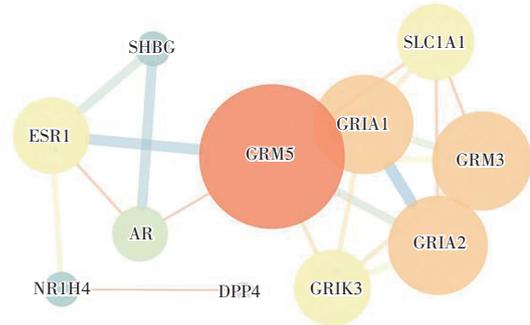


图 4 PPI 网络

### 2.5 GO 生物分析与 KEGG 通路分析

将赖氨肌醇维生素 B<sub>12</sub> 口服液与小儿厌食症的 13 个交集靶点输入 Metascape 数据库中,进行 GO 生物分析和 KEGG 通路分析,以  $P < 0.01$  为筛选条件,共筛选出 2 条 KEGG 通路,分别为谷氨酸能突触,神经活性配体受体相互作用;BP 通路 5 条,CC 通路 3 条,MF 通路 4 条。GO 功能富集及 KEGG 通路富集通路均指向神经系统通路,表明赖氨肌醇维生素 B<sub>12</sub> 口服液可能通过作用于神经系统的谷氨酸受体信号通路发挥作用。见图 5。

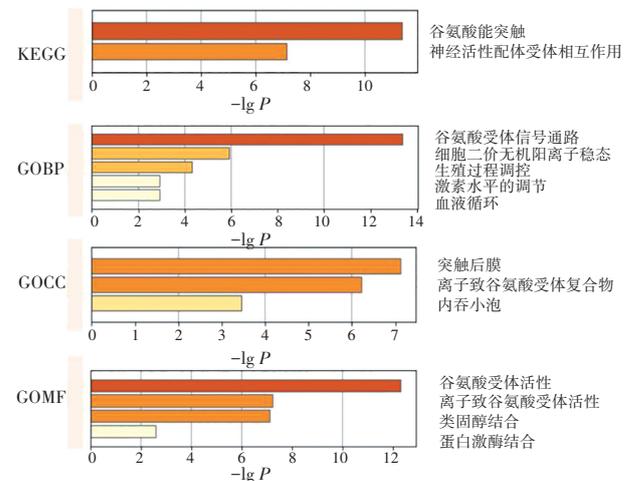


图 5 GO 功能富集及 KEGG 通路富集分析

### 3 讨论

赖氨肌醇维生素 B<sub>12</sub> 口服液作为复方制剂,其成分为每 5 mL 内含赖氨酸 300 mg,维生素 B<sub>12</sub> 15 μg 及肌醇 50 mg。赖氨酸是维持机体氮平衡的必需氨基酸,能促进蛋白质的合成和代谢,有促进人体生长发育及智力发育的作用。已有研究表明,神经性厌食症患者血浆中的赖氨酸水平显著降低<sup>[10]</sup>,口服赖氨酸能够改善厌食症患儿的食欲<sup>[11]</sup>。肌醇是一种生长因子,能够促进肝脏中的脂肪代谢,厌食症患者的肌醇处于较低水平<sup>[12]</sup>。维生素 B<sub>12</sub> 参与体内甲基四氢叶酸转变为四氢叶酸的过程,维生素 B<sub>12</sub> 缺乏与叶酸缺乏所致贫血的血细胞形态学异常

基本相似,两药可相互纠正血象的异常。维生素 B<sub>12</sub> 又名钴胺素,是神经系统功能健全不可缺少的维生素,参与神经组织脂蛋白的形成,缺乏时影响婴幼儿的生长发育。有研究表明,维生素 B<sub>12</sub> 的缺乏会导致慢性厌食症,补充维生素 B<sub>12</sub> 能够缓解患者的厌食症状<sup>[13]</sup>。综上所述,赖氨肌醇维生素 B<sub>12</sub> 口服液改善小儿厌食症的原理为补充氨基酸及维生素,具体机制需从分子水平进行研究。网络药理学是一门针对药物系统性研究的新兴学科,其优势在于解析药物与疾病之间的分子关联规律,从多层面、多角度探索药物的作用机制<sup>[14]</sup>。本研究通过网络药理学方法发现,赖氨肌醇维生素 B<sub>12</sub> 口服液治疗小儿厌食症的主要通路集中于神经系统的谷氨酸受体信号通路。信号通路中发挥主要作用的蛋白为 GRM5、GRM3、GRIA1、GRIA2 和 GRIK3 等。赖氨肌醇维生素 B<sub>12</sub> 口服液作为一种复方制剂,在治疗厌食症时具有协同作用,但是目前维生素 B<sub>12</sub> 的作用靶点尚未有相关研究结果,需要进一步研究。

谷氨酸是大脑中主要的兴奋性神经递质,对大脑的结构和功能具有重要作用。谷氨酸作用于突触后膜,引起 Na<sup>+</sup> 内流,产生内正外负的动作电位,导致突触后膜去极化而激发神经元。谷氨酸异常介导多种神经系统疾病,包括抑郁症、强迫症、厌食症等<sup>[15]</sup>。有研究表明厌食症患者的脑部谷氨酸水平显著降低<sup>[12]</sup>。网络药理学研究也证实,赖氨肌醇维生素 B<sub>12</sub> 口服液主要通路集中于神经系统的谷氨酸受体信号通路,提示赖氨肌醇维生素 B<sub>12</sub> 口服液可能发挥类似于谷氨酸的机制。其主要基因集中于 GRM5、GRM3、GRIA1、GRIA2 和 GRIK3,这 5 种基因表达的蛋白均属于谷氨酸受体,GRM5 和 GRM3 基因表达的蛋白属于代谢型谷氨酸受体,此类受体与膜内 G-蛋白偶联,通过 G-蛋白效应酶、脑内第二信使等组成的信号转导系统起作用,产生较缓慢的生理反应<sup>[16]</sup>。GRIA1、GRIA2 和 GRIK3 属于离子型受体,它们与离子通道偶联,形成受体通道复合物,介导快信号传递<sup>[17]</sup>。

本研究的不足之处:(1)赖氨肌醇维生素 B<sub>12</sub> 口服液在国内研究较多,国外研究较少,还需多中心临床研究提供更高级别临床证据;(2)本研究结果显示赖氨肌醇维生素 B<sub>12</sub> 口服液通过某些靶点发挥作用,但未通过动物实验和细胞实验进行验证,有待后续完善。

本研究基于网络药理学方法,构建赖氨肌醇维生素 B<sub>12</sub> 口服液治疗小儿厌食症的“药物-靶点-通路”生物网络,发现赖氨肌醇维生素 B<sub>12</sub> 口服液治疗小儿厌食症共有 13 个治疗靶点,这 13 个靶点的富集分析发现其通路主要富集于谷氨酸受体信号通路,提示赖氨肌醇维生素 B<sub>12</sub> 口服液可能发挥类似于谷氨酸的作用,与患儿突触后膜的谷氨酸受体相结合,提高患儿的神经系统兴奋性,从而改善

厌食症状。本研究可为进一步挖掘赖氨肌醇维生素 B<sub>12</sub> 口服液治疗小儿厌食症的分子机制提供参考。

#### 参考文献:

- [1] 徐德勇, 陆韦. 基于脑肠轴理论探讨小儿厌食症与脑肠肽相关性研究进展[J]. 现代中西医结合杂志, 2021, 30(29): 3292-3296.
- [2] 石之易, 张涤. 基于数据挖掘探讨张涤教授治疗小儿厌食症的临床经验[J]. 光明中医, 2021, 36(10): 1611-1615.
- [3] 周雁蓉, 庞冲. 浅谈小儿厌食症的中西医病因[J]. 中国妇幼保健, 2018, 33(23): 5671-5672.
- [4] 高凯, 赵林涛, 宋延平, 等. 小儿化滞健脾丸对幼龄厌食模型大鼠胃窦和外周血胃动素及微量元素的影响[J]. 儿科药理学杂志, 2020, 26(10): 1-5.
- [5] 李司鹏, 蓝陈福. 布拉酵母菌联合葡萄糖酸锌治疗厌食症的疗效及其对患儿微量元素与脑肠肽水平的影响[J]. 儿科药理学杂志, 2017, 23(12): 15-17.
- [6] 潘文. 赖氨肌醇维生素 B<sub>12</sub> 口服液治疗疾病期小儿食欲减退的临床效果[J]. 临床合理用药杂志, 2021, 14(32): 124-126.
- [7] 刘承华. 赖氨肌醇 B<sub>12</sub> 口服液对提升中性粒细胞的临床分析[J]. 中国冶金工业医学杂志, 2018, 35(1): 82-83.
- [8] 周其刚. 赖氨肌醇维生素 B<sub>12</sub> 口服液治疗小儿厌食症疗效观察[J]. 浙江中西医结合杂志, 2015, 25(4): 398-400.
- [9] 李慧. 赖氨肌醇维生素 B<sub>12</sub> 联合莫沙必利治疗儿童功能性消化不良的效果[J]. 中国民康医学, 2021, 33(6): 18-20.
- [10] PALOVA S, CHARVAT J, MASOPUST J, et al. Changes in the plasma amino acid profile in anorexia nervosa [J]. J Int Med Res, 2007, 35(3): 389-394.
- [11] 谭荣鉴. 口服赖氨酸对小儿厌食症的临床疗效[J]. 深圳中西医结合杂志, 2018, 28(21): 148-149.
- [12] GODLEWSKA B R, PIKE A, SHARPLEY A L, et al. Brain glutamate in anorexia nervosa: a magnetic resonance spectroscopy case control study at 7 Tesla [J]. Psychopharmacology (Berl), 2017, 234(3): 421-426.
- [13] FRANQUES J, CHICHE L, MATHIS S. Sensory neuropathy revealing severe vitamin B<sub>12</sub> deficiency in a patient with anorexia nervosa: an often-forgotten reversible cause [J]. Nutrients, 2017, 9(3): 281.
- [14] 牛明, 斯琴, 张博, 等. 《网络药理学评价方法指南》解读[J]. 中草药, 2021, 52(14): 4119-4129.
- [15] NAAIJEN J, LYTHGOE D J, AMIRI H, et al. Fronto-striatal glutamatergic compounds in compulsive and impulsive syndromes: a review of magnetic resonance spectroscopy studies [J]. Neurosci Biobehav Rev, 2015, 52(2): 74-88.
- [16] 陈晓丹, 张雪, 孙灏, 等. 代谢型谷氨酸受 5 与神经系统疾病的研究进展[J]. 中国药理学与毒理学杂志, 2019, 33(2): 130-137.
- [17] 曹德茂, 申宝玺, 武永康, 等. 谷氨酸受体以及兴奋性毒性研究进展[J/OL]. 中华神经创伤外科电子杂志, 2017, 3(2): 109-113.

(编辑:刘雄志)

(收稿日期:2023-11-10 修回日期:2023-12-18)