

РОССИЙСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ НЕФТИ И ГАЗА ИМЕНИ И. М.
ГУБКИНА

КАФЕДРА ФИЗИЧЕСКОЙ И КОЛЛОИДНОЙ ХИМИИ

**Интеграция жидкостной хроматографии–масс-спектрометрии, сетевой фармакологии
и методов машинного обучения: выявление ключевых активных компонентов
Laetiporus sulphureus и их потенциальных механизмов действия против
немелкоклеточного рака лёгкого**

Ма Цинъюнь

Направление подготовки: 1.4.10. Коллоидная химия

Научный руководитель:

Винокуров Владимир Арнольдович

Содержание

— CONTENTS —

1

Фон и значение темы исследования

2

Методы исследования и результаты

3

Заключение

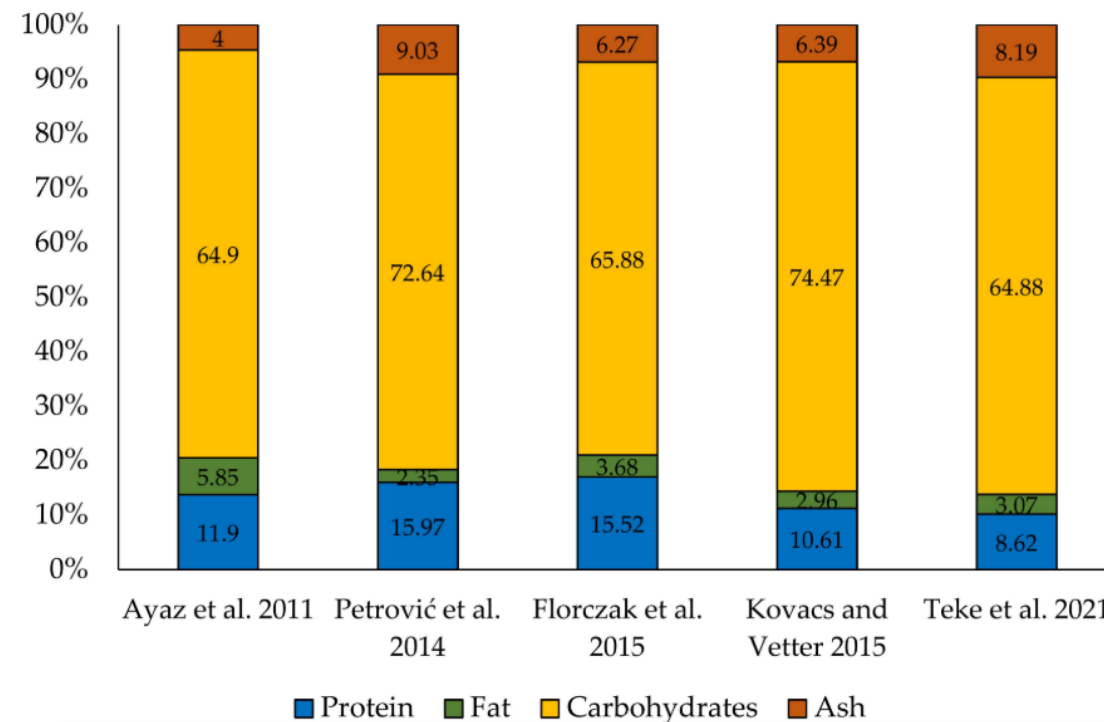


Фон и значение темы исследования

Фон и значение темы исследования



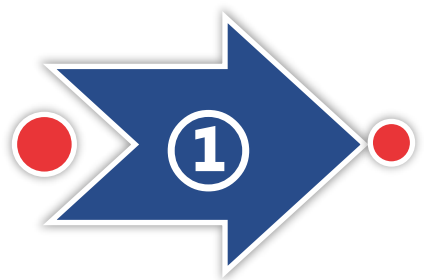
Laetiporus sulphureus — это гриб, принадлежащий к отделу Basidiomycota и семейству Polyporaceae. Он широко распространен, в основном в Северной Америке и Европе, а также встречается в Южной Америке, Африке, Азии (включая Китай, Лаос и Таиланд) и Австралии.



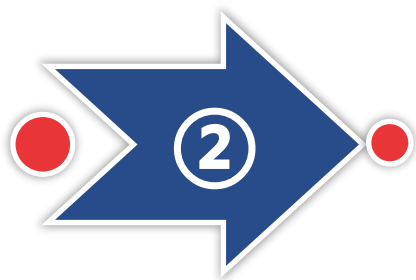
В сухом веществе *Laetiporus sulphureus* **углеводы** занимают ведущую роль, составляя примерно 64,9–74,5%. Кроме того, оно содержит богатое количество белков, жирных кислот, минералов, витаминов, органических кислот и других компонентов.

02

Методы исследования и результаты



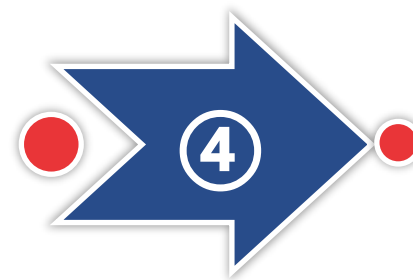
**1. Анализ
ингибирующей
активности
экстрактов с
различной
полярностью на
клетки A549**



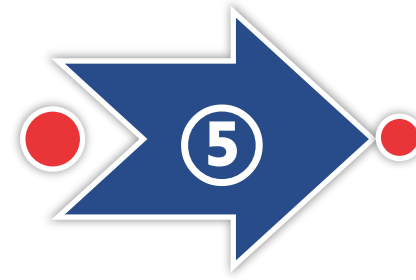
**2. Анализ
химических
компонентов
экстракта на
70% этаноле**



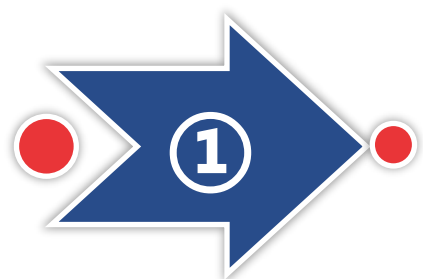
**3. Скрининг и анализ
обогащения
терапевтических
мишеней для
воздействия *L.
sulphureus***



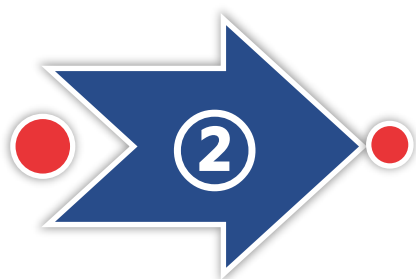
**4. Скрининг
основных мишеней
на основе сети
белковых
взаимодействий и
машинного
обучения**



**5. Проверка
активности на
основе
молекулярного
докинга**



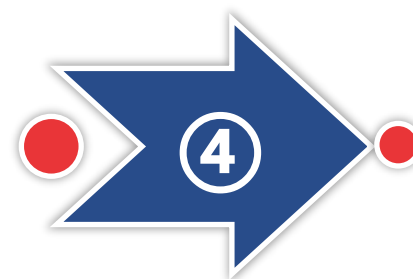
**1. Анализ
ингибирующей
активности
экстрактов с
различной
полярностью на
клетки A549**



**2. Анализ
химических
компонентов
экстракта на
70% этаноле**



**3. Скрининг и анализ
обогащения
терапевтических
мишеней для
воздействия *L.
sulphureus***

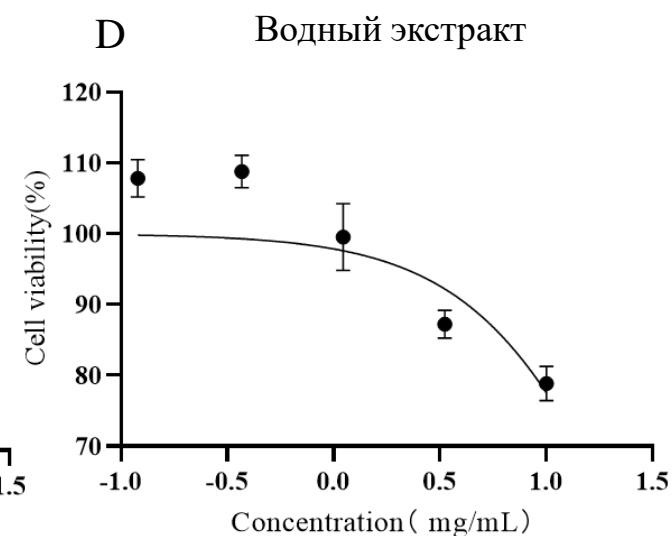
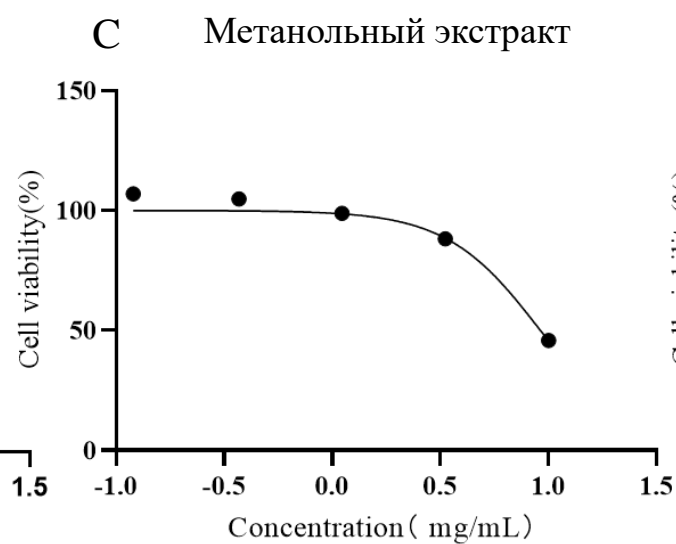
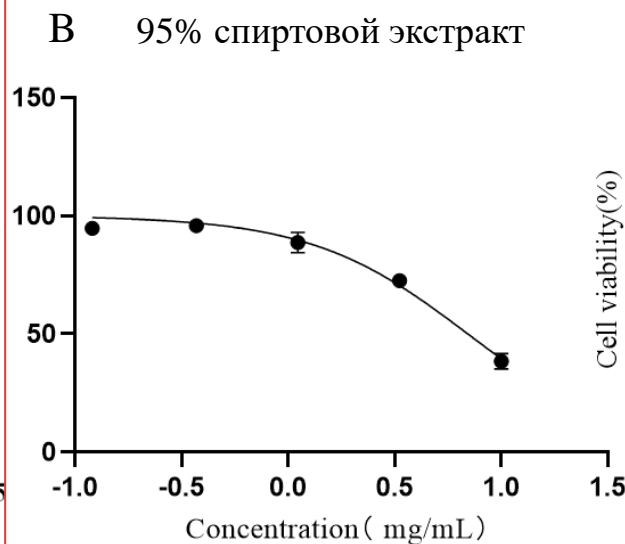
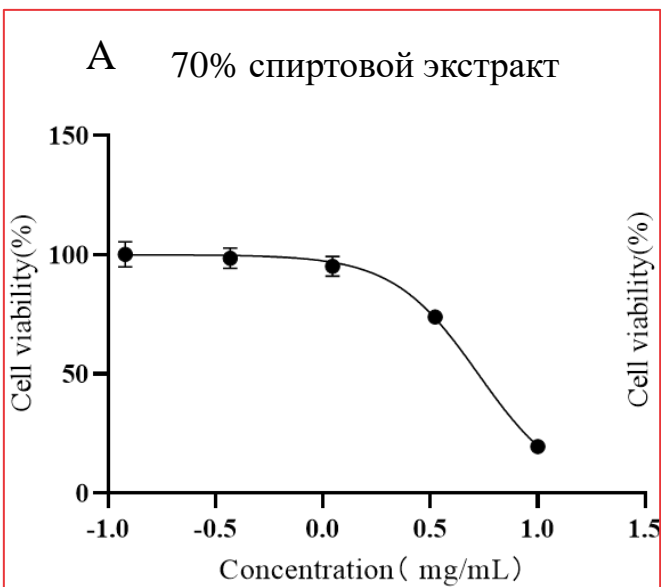


**4. Скрининг
основных мишеней
на основе сети
белковых
взаимодействий и
машинного
обучения**



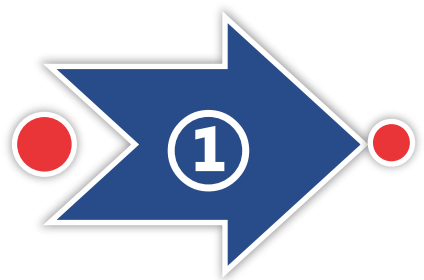
**5. Проверка
активности на
основе
молекулярного
докинга**

1 Анализ ингибирующей активности экстрактов с различной полярностью на клетки A549

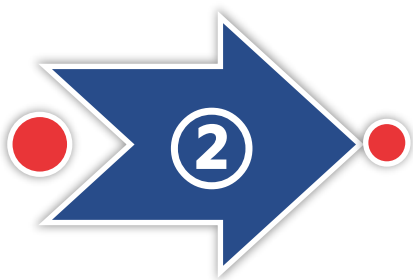


Кривые зависимости эффекта ингибирования A549 клеток от концентрации экстрактов 70% этанола (A), 95% этанола (B), метанола (C) и воды (D)

70% этаноловый экстракт проявил сильную активность, IC50 составил 5.293 мг/мл.



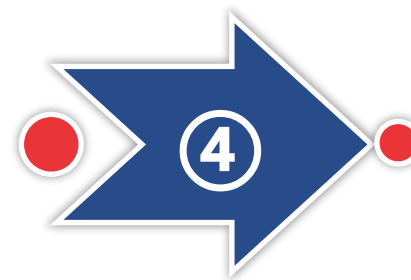
1. Анализ
ингибирующей
активности
экстрактов с
различной
полярностью на
клетки A549



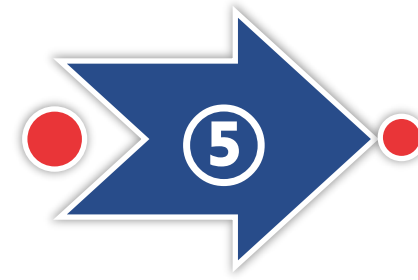
2. Анализ
химических
компонентов
экстракта на
70% этаноле



3. Скрининг и анализ
обогащения
терапевтических
мишеней для
воздействия *L.*
sulphureus

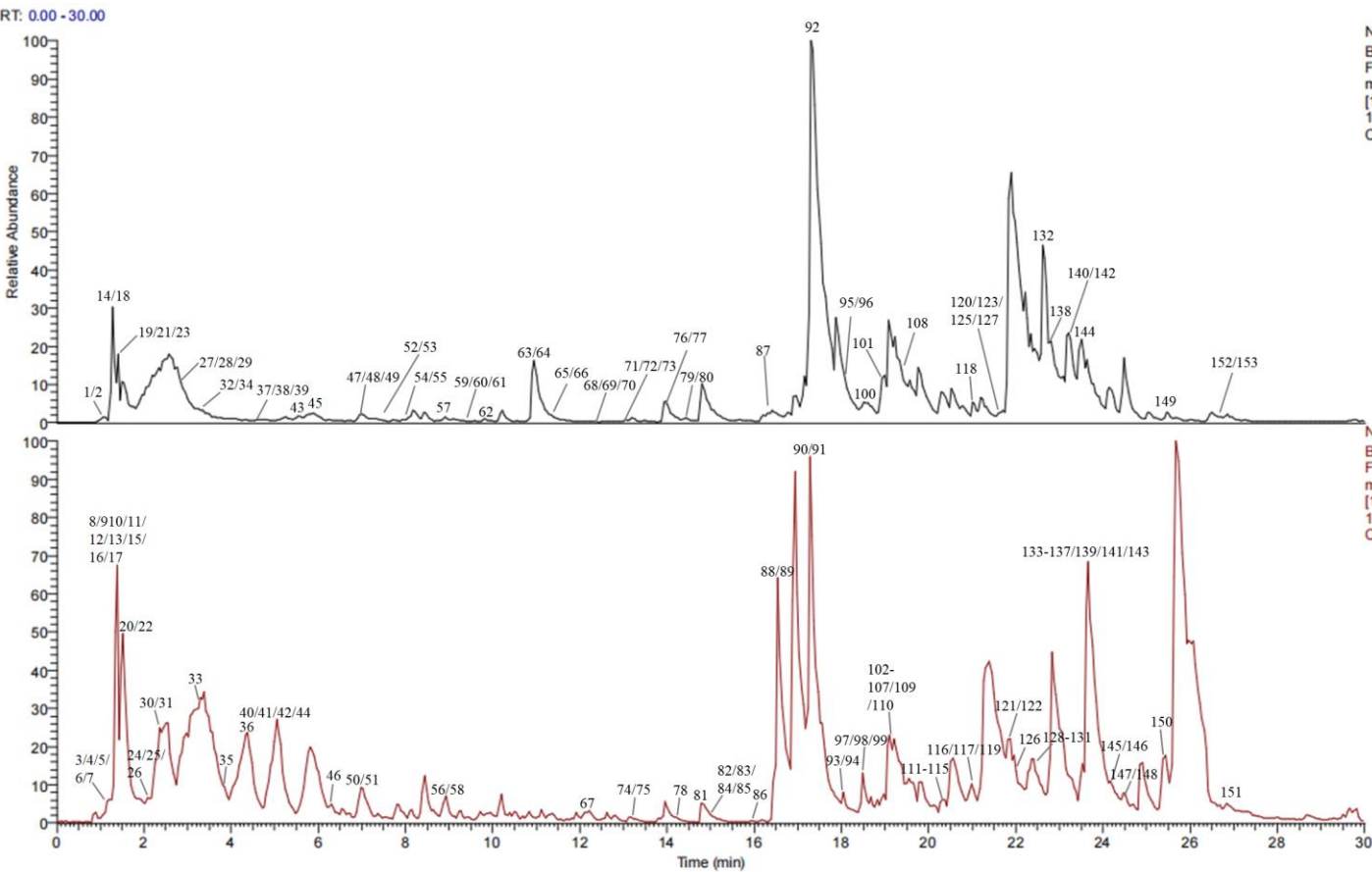


4. Скрининг
основных мишеней
на основе сети
белковых
взаимодействий и
машинного
обучения



5. Проверка
активности на
основе
молекулярного
докинга

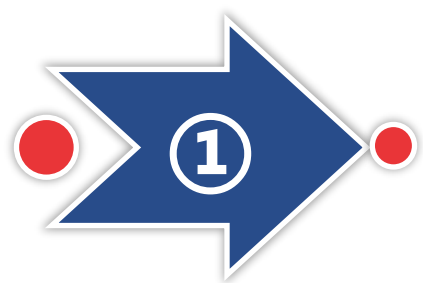
2 Анализ химических компонентов экстракта на 70% этаноле



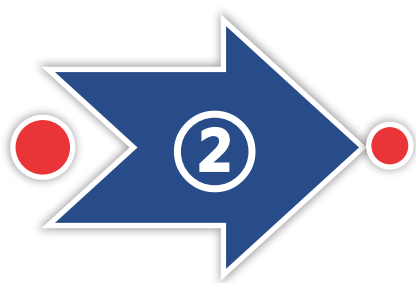
Compounds	Formula	Time
DL-Arginine	C6 H14 N4 O2	1.148
L-Histidine	C6 H9 N3 O2	1.182
N6,N6,N6-Trimethyl-L-lysine	C9 H20 N2 O2	1.186
DL-Glutamine	C5 H10 N2 O3	1.26
DL-Carnitine	C7 H15 N O3	1.283
Choline	C5 H13 N O	1.287
Muramic acid	C9 H17 N O7	1.299
Acetylcholine	C7 H15 N O2	1.381
Pyridoxal	C8 H9 N O3	1.399
Cytarabine	C9 H13 N3 O5	1.434
Cytosine	C4 H5 N3 O	1.439
Trigonelline	C7 H7 N O2	1.445
Nicotinic acid	C6 H5 N O2	1.445
Adenine	C5 H5 N5	1.468
Pipecolic acid	C6 H11 N O2	1.47
DL-Stachydrine	C7 H13 N O2	1.487
Betaine	C5 H11 N O2	1.489
D-(-)-Mannitol	C6 H14 O6	1.49
Isocitric acid	C6 H8 O7	1.529
N6-Me-Adenosine	C11 H15 N5 O4	1.531
D-(+)-Malic acid	C4 H6 O5	1.538
L-Iditol	C6 H14 O6	1.591
D-Fructose 1-phosphate	C6 H13 O9 P	1.592
Nicotinamide	C6 H6 N2 O	2.13

Хроматограмма общего ионного тока экстракта на 70% этаноле в режиме отрицательных ионов (вверху) и положительных ионов (внизу)

С использованием **UPLC-Q Exactive Orbitrap MS** было выявлено **153** химических компонента, включая жирные кислоты, нуклеозиды, липиды, аминокислоты, флавоноиды, тритерпены и другие типы компонентов.



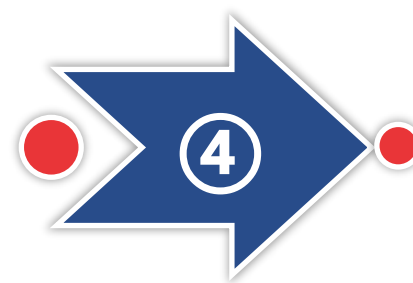
1. Анализ
ингибирующей
активности
экстрактов с
различной
полярностью на
клетки A549



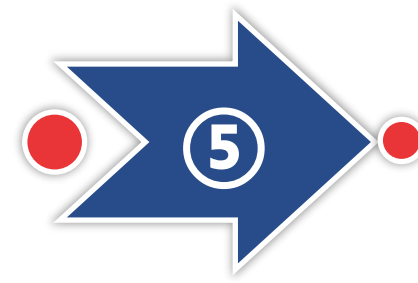
2. Анализ
химических
компонентов
экстракта на
70% этаноле



3. Скрининг и анализ
обогащения
терапевтических
мишеней для
воздействия *L.
sulphureus*

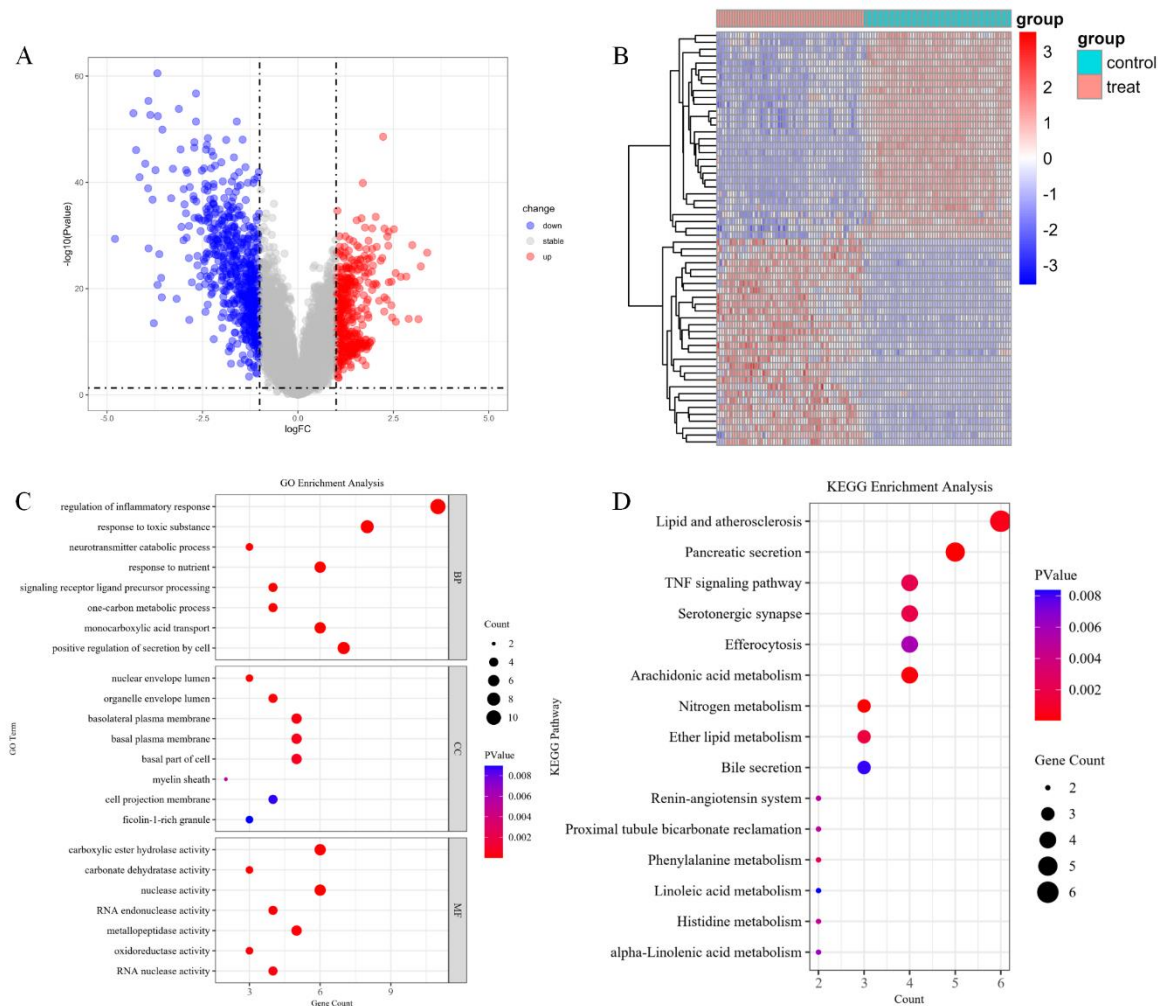


4. Скрининг
основных мишеней
на основе сети
белковых
взаимодействий и
машинного
обучения



5. Проверка
активности на
основе
молекулярного
докинга

3 Скрининг и анализ обогащения терапевтических мишеней для воздействия *L. sulphureus*

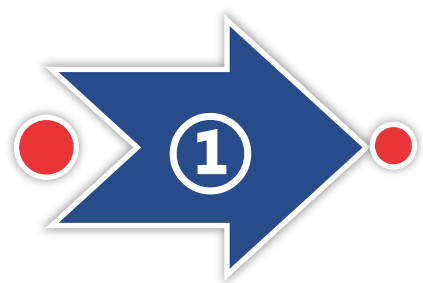


В GSE32863 найдено **1046 DEGs** (414 повышенных и 632 пониженных), чётко разделяющих опухолевые и нормальные образцы.

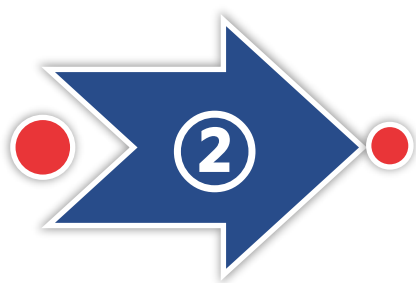
Из компонентов *L. sulphureus* предсказано **508** мишеней, пересечение с DEGs дало **46** кандидатных.

Кандидатные мишени вовлечены в **регуляцию воспаления и ответ на токсины**.

Основные обогащённые пути: **TNF-сигнальный путь и метаболизм арахидоновой кислоты**.



1. Анализ
ингибирующей
активности
экстрактов с
различной
полярностью на
клетки A549



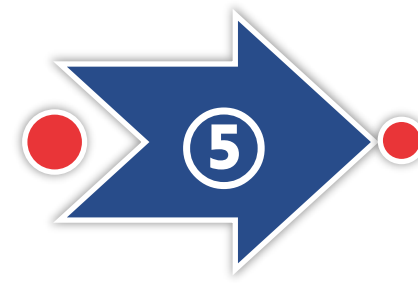
2. Анализ
химических
компонентов
экстракта на
70% этаноле



3. Скрининг и анализ
обогащения
терапевтических
мишеней для
воздействия *L.*
sulphureus

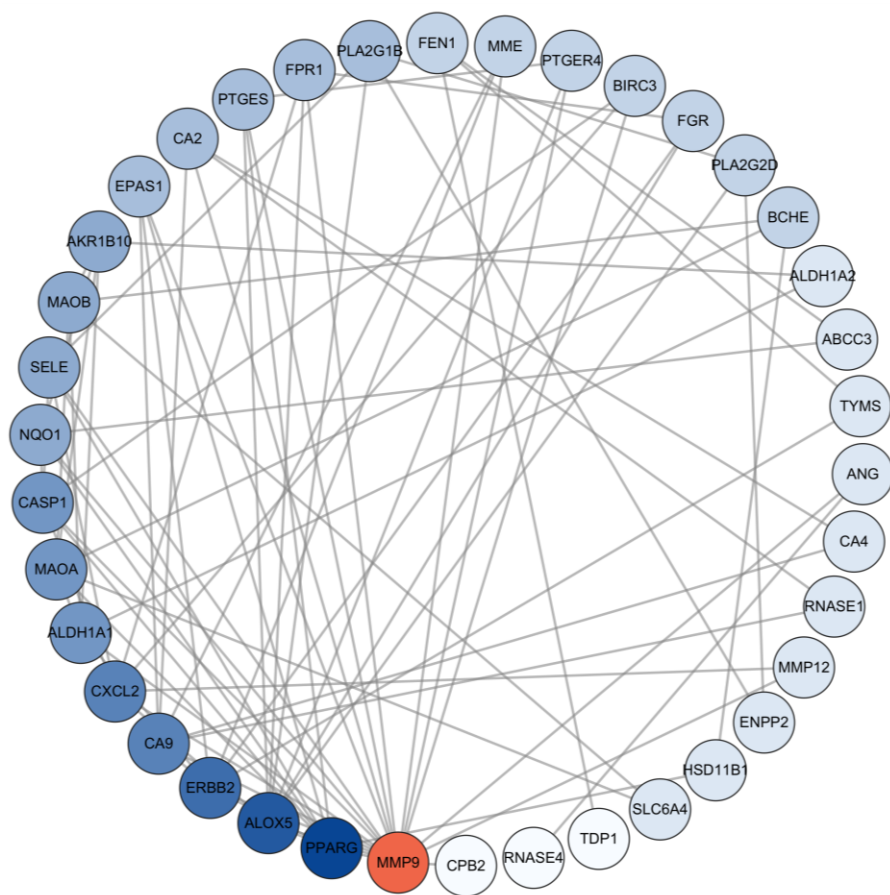


4. Скрининг
основных мишеней
на основе сети
белковых
взаимодействий и
машинного
обучения



5. Проверка
активности на
основе
молекулярного
докинга

4 Скрининг основных мишеней на основе сети белковых взаимодействий и машинного обучения



Пять ведущих генов: **MMP9** (матричная металлопротеиназа 9), **PPARG** (γ -рецептор активации пролифераторов пероксисом), **ALOX5** (5-липооксигеназа арахидоновой кислоты), **ERBB2** (рецептор эпидермального фактора роста человека 2) и **CA9** (карбоангидраза 9).

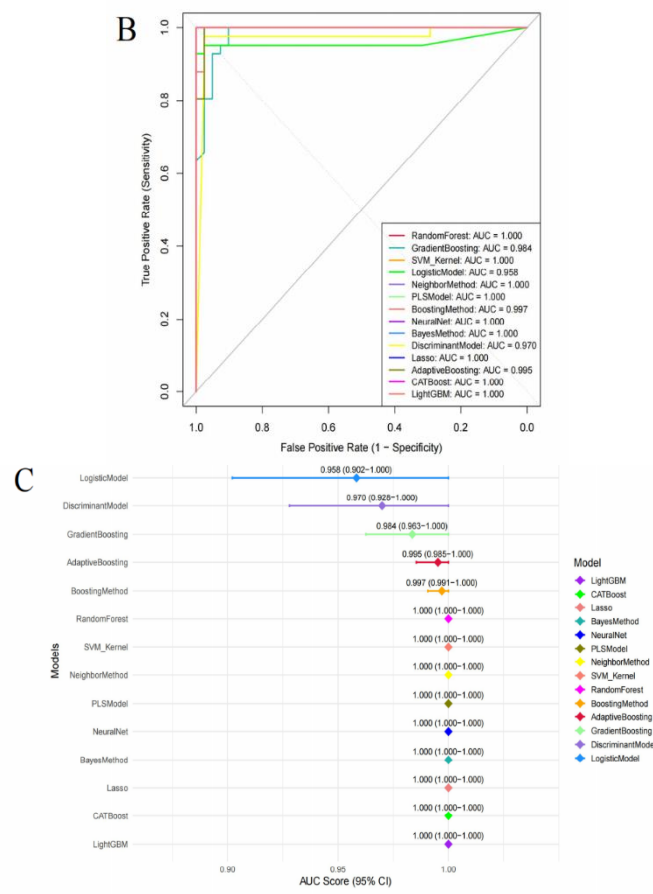
График взаимодействий генов на основе PPI-сети

4 Скрининг основных мишеней на основе сети белковых взаимодействий и машинного обучения

14 моделей машинного обучения в GSE32863 наборе данных

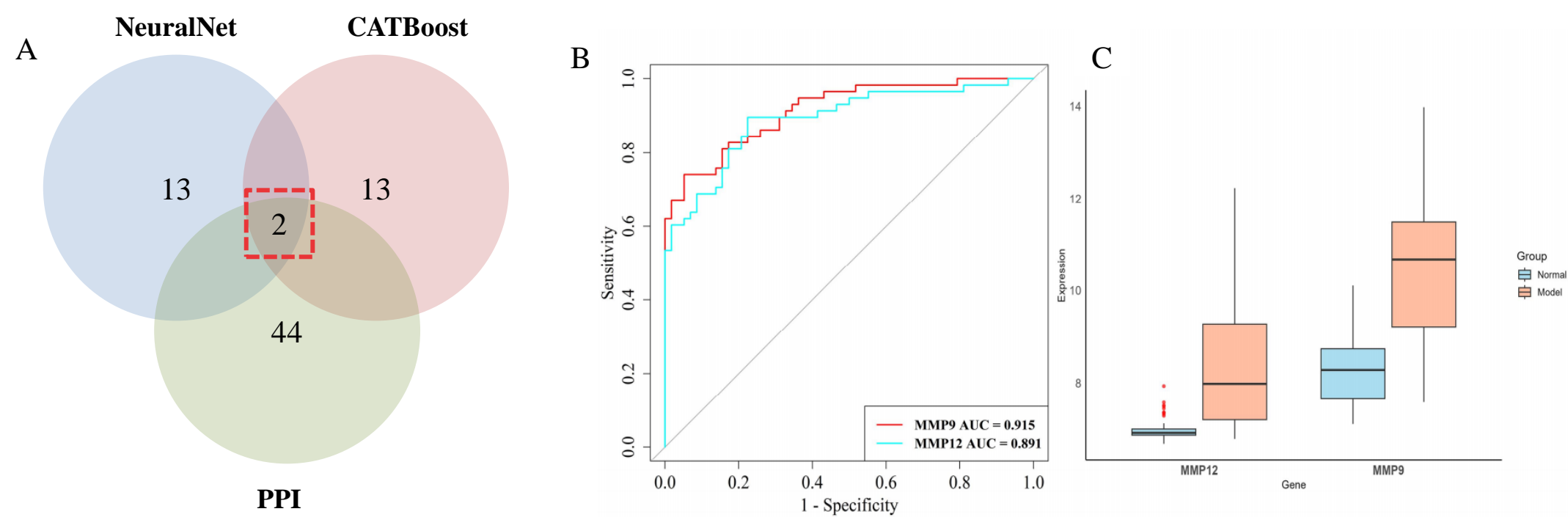
A

Models	Sensitivity	Specificity	Accuracy	PPV	NPV	F1	Youden's index
RandomForest	1.0000000	0.9756098	0.9878049	0.9761905	1.0000000	0.9879518	0.9756098
GradientBoosting	0.9512195	0.9268293	0.9390244	0.9285714	0.9500000	0.9397590	0.8780488
SVM_Kernel	1.0000000	0.9756098	0.9878049	0.9761905	1.0000000	0.9879518	0.9756098
LogisticModel	0.9268293	1.0000000	0.9634146	1.0000000	0.9318182	0.9620253	0.9268293
NeighborMethod	1.0000000	0.9756098	0.9878049	0.9761905	1.0000000	0.9879518	0.9756098
PLSModel	1.0000000	0.9756098	0.9878049	0.9761905	1.0000000	0.9879518	0.9756098
BoostingMethod	1.0000000	0.9756098	0.9878049	0.9761905	1.0000000	0.9879518	0.9756098
NeuralNet	1.0000000	1.0000000	1.0000000	1.0000000	1.0000000	1.0000000	1.0000000
BayesMethod	1.0000000	0.9756098	0.9878049	0.9761905	1.0000000	0.9879518	0.9756098
DiscriminantModel	0.9268293	0.9756098	0.9512195	0.9743590	0.9302326	0.9500000	0.9024390
Lasso	1.0000000	0.9756098	0.9878049	0.9761905	1.0000000	0.9879518	0.9756098
AdaptiveBoosting	1.0000000	0.9512195	0.9756098	0.9534884	1.0000000	0.9761905	0.9512195
CATBoost	1.0000000	1.0000000	1.0000000	1.0000000	1.0000000	1.0000000	1.0000000
LightGBM	1.0000000	1.0000000	1.0000000	1.0000000	1.0000000	1.0000000	1.0000000



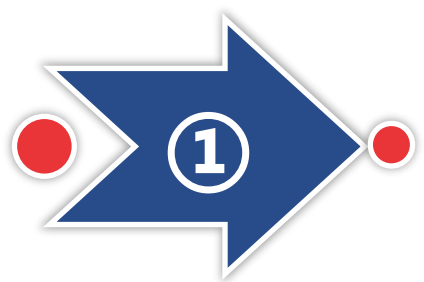
С учетом всех показателей производительности модели **NeuralNet** и **CATBoost** показали наилучшие результаты в наборе данных GSE32863

4 Скрининг основных мишеней на основе сети белковых взаимодействий и машинного обучения

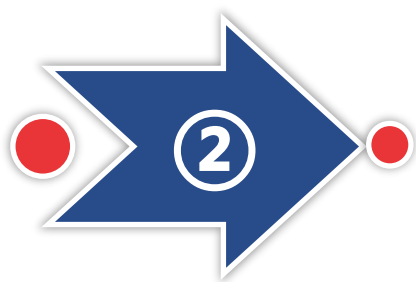


(A) Диаграмма Венна; (B) ROC-кривые для MMP9 и MMP12; (C) Ящик с усами для MMP9 и MMP12

Диаграмма Венна показывает, что у NeuralNet, CATBoost и PPI-сети есть два общих генов, среди которых **MMP9** лучше различает нормальные и опухолевые образцы, что делает его ключевой мишенью для лечения немелкоклеточного рака легкого.



1. Анализ
ингибирующей
активности
экстрактов с
различной
полярностью на
клетки A549



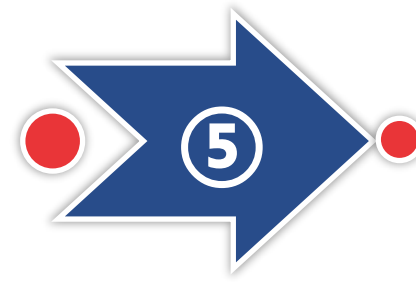
2. Анализ
химических
компонентов
экстракта на
70% этаноле



3. Скрининг и анализ
обогащения
терапевтических
мишеней для
воздействия *L.*
sulphureus

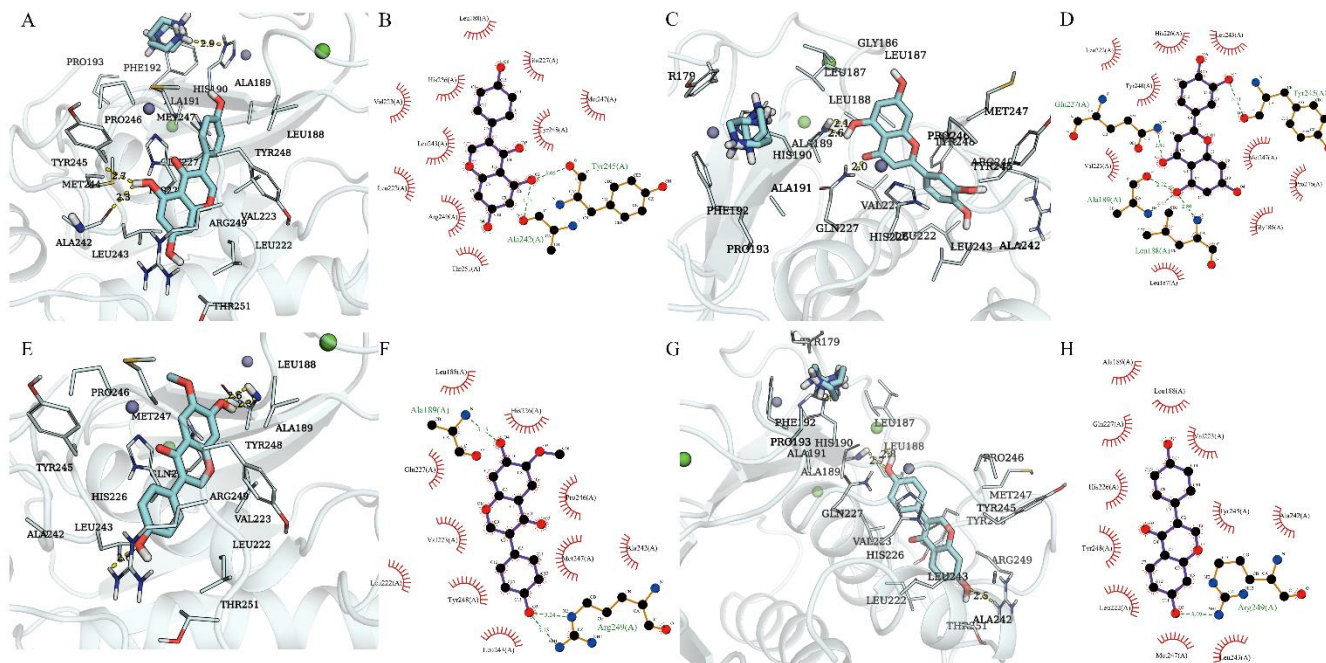


4. Скрининг
основных мишеней
на основе сети
белковых
взаимодействий и
машинного
обучения



5. Проверка
активности на
основе
молекулярного
докинга

5 Проверка активности на основе молекулярного докинга



(A, C, E, G) Схематическое изображение трехмерных молекулярных докинг-моделей Генистеина, Лютеолина, Глицитина и Даидзеина с белком MMP9; (B, D, F, H) Схематическое изображение двумерных молекулярных докинг-моделей Генистеина, Лютеолина, Глицитина и Даидзеина с белком MMP9

Название	Связующая Энергия
Генистеин	-10.991 kcal/mol
Лютеолин	-10.821 kcal/mol
Глицитин	-10.820 kcal/mol
Даидзеин	-10.592 kcal/mol

Генистеин имеет наименьшую связывающую энергию



Заключение

- ◆ В данном исследовании, интегрируя методы жидкостной **хроматографии–масс-спектрометрии**, **сетевой фармакологии** и **машинного обучения**, было предсказано, что основные мишени действия *Laetiporus sulphureus* сосредоточены на сигнальном пути **TNF** и путях **регуляции воспаления**. Его ключевые соединения — **генистеин**, **лютеолин** и **глицитин** — благодаря высокой аффинности к мишени **ММР9** демонстрируют значительный терапевтический потенциал.
- ◆ Результаты исследования не только расширяют научную ценность грибов, используемых в пище и медицине, но и открывают новое направление для использования природных активных веществ в точной терапии рака, предоставляя новые стратегии вмешательства для решения проблемы таргетной резистентности при немелкоклеточном раке легкого.

СПАСИБО ЗА ВНИМАНИЕ