

ACD/SPECTRUS: ЕДИНАЯ ПРОГРАММНАЯ ПЛАТФОРМА ДЛЯ УПРАВЛЕНИЯ АНАЛИТИЧЕСКИМИ ДАННЫМИ

Э.Колованов, ACD/Labs, Россия
acd labs@chemlabs.ru

Канадская компания ACD/Labs уже 18 лет занимается разработкой программного обеспечения, которое помогает химикам-исследователям быстро и эффективно принимать научно обоснованные решения. В этом году представлена новая уникальная информационная платформа ACD/Spectrus, предназначенная для работы с аналитическими данными различной природы в едином программном интерфейсе. ACD/Spectrus помогает решать задачи управления аналитическими данными и их углубленной интерпретации, идентификации компонентов сложных смесей с помощью ЖХ/ГХ/МС, ускоряет спектральное подтверждение химической структуры (ЯМР, МС) и выяснение химической структуры неизвестных веществ (ЯМР), ведение спектральных, молекулярных и реакционных баз данных.

Компания ACD/Labs (Advanced Chemistry Development, Inc.) разрабатывает программное обеспечение (ПО) для исследований и производства в химической, биохимической и фармацевтической областях. Она основана в 1994 году и сегодня занимает ведущее положение в сфере прогнозирования свойств молекул, а также обработки аналитических данных и их интерпретации. В компании работает более 150 сотрудников по всему миру. Штаб-квартира компании располагается в Торонто, а офисы разработки программного обеспечения – в России, Литве и Беларуси.

Программное обеспечение от ACD/Labs широко используется в таких отраслях, как фармацевтика, химия и материаловедение, судебная экспертиза и антидопинговый контроль, парфюмерия, мониторинг воды и окружающей среды, контрактные исследования, наука и образование. Клиенты ACD/Labs – более 300 фармацевтических и биотехнологических компаний, 250 химических компаний и более 650

академических, государственных и исследовательских организаций по всему миру. Три года назад компания начала активное продвижение своих программных продуктов и на российский рынок.

Внимание экспертов-аналитиков предлагается новая уникальная информационная платформа ACD/Spectrus, предназначенная для работы с аналитическими данными различной природы (ЯМР, ЖХ/ГХ/МС, УФ, ИК и многие другие) практически всех форматов мировых фирм-производителей. ACD/Spectrus позволяет анализировать и интерпретировать данные с помощью уникальных встроенных алгоритмов, создавать базы данных и готовить быстрые отчеты. ACD/Spectrus может быть интегрирована с различными сторонними программами и системами, используемыми в организации, и предназначена для установки на рабочем компьютере каждого химика. Представляем некоторые решения, которые могут быть реализованы с помощью различных модулей ACD/Spectrus.

ИДЕНТИФИКАЦИЯ КОМПОНЕНТОВ СЛОЖНЫХ СМЕСЕЙ: МЕТАБОЛИТЫ, ДЕГРАДАНТЫ, ПРИМЕСИ

Компания ACD/Labs предлагает пакет компьютерных программ для исследователей, применяющих в своей практике хромато-масс-спектрометрический анализ как сложных смесей, так и чистых веществ [1]. Программы могут быть полезны и для экспертов, и для новичков, работающих в различных областях химии, биологии, медицины и фармакологии. Пакет программ позволяет быстро и эффективно определить состав сложной смеси веществ, например, биологической жидкости, содержащей лекарственные препараты и их метаболиты, а также подтвердить или опровергнуть присутствие определенного вещества в исследуемом объекте. При обнаружении неизвестного вещества возможна его последующая идентификация с применением спектрального поиска в коммерческих и в своих собственных базах данных [2], а при отсутствии искомого соединения в библиотеке можно определить его молекулярный ион и молекулярную формулу. При наличии одной или нескольких предполагаемых структур можно подтвердить или опровергнуть соответствие их спектру с помощью автоматического сравнения.

Рассмотрим идентификацию компонентов на примере задач, возникающих в криминалистике.

Проблема: требуются большие временные затраты для идентификации наркотиков, токсинов и следов неизвестных веществ. Далеко не каждый судебный образец подходит для ГХ/МС анализа, поэтому все чаще используется ЖХ/МС-спектрометры для анализа биологических жидкостей и неизвестных образцов для определения запрещенных наркотических и прочих веществ, присутствующих в микроскопических количествах. При переходе на использование ЖХ/МС могут возникнуть трудности у не очень опытных аналитиков из-за специфических свойств жидкостной хроматографии – более широких пиков, большего количества перекрывающихся компонентов, а также наличия аддуктов, как производных от исследуемых веществ и следов присутствующих металлов. Отсутствие коммерческих баз данных масс-спектров мягкой ионизации затрудняет идентификацию неизвестных соединений и делает ее весьма затратной.

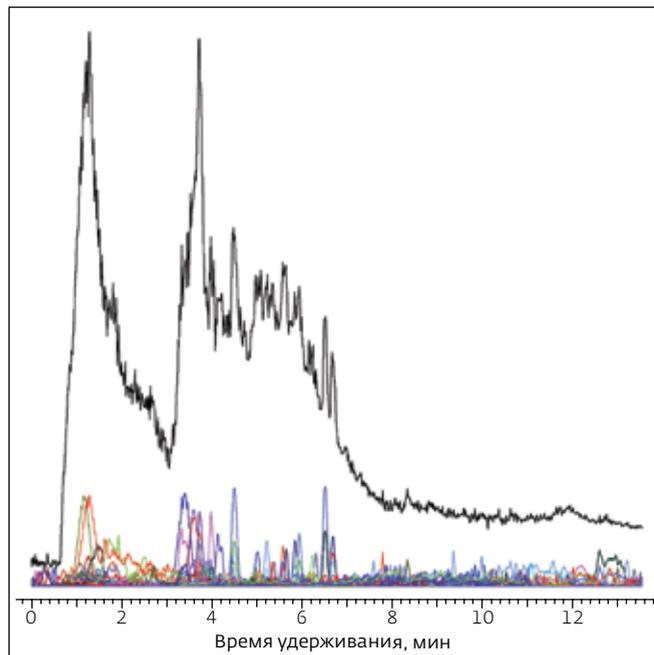


Рис.1. Хроматограмма образца мочи, содержащей бензоилэргонин

Решение: программное обеспечение, которое автоматически интерпретирует масс-спектры и определяет $[M+H]^+$ или $[M-H]^-$ для каждого хроматографического компонента. Разработанный нами метод ACD/IntelliXtract – это мощный и чувствительный аппарат для автоматизированного анализа ЖХ/МС-данных и их высокоинтеллектуальной интерпретации [3]. Сначала из предварительных данных (рис.1) выделяют все пики массовых хроматограмм, а затем их фильтруют для удаления шума. После этого пики группируют, исходя из их массы и времени выхода, для формирования серий ионных кластеров. Пропадавшие пики, которые могли быть утрачены при удалении шума, восстанавливаются. Затем все ионные кластеры анализируют для выделения первого изотопа, который определяется как ион "X", и проверяют на наличие разнообразных положительно заряженных ионов. Ион $^{12}C\ M^+$ определяют одновременно со всеми сопутствующими аддуктами и мультимерами (рис.2).

Последние стадии включают автоматическое определение всех ^{12}C -изотопов, аддуктов и ионов-фрагментов, а также вычисляются нейтральные потери. Применяется аннотирование (может определяться пользователем).

Для определения M^+ IntelliXtract использует всю масс-спектральную информацию, такую как $^{12}C/^{13}C$, ионы аддуктов и мультимеров, уменьшая

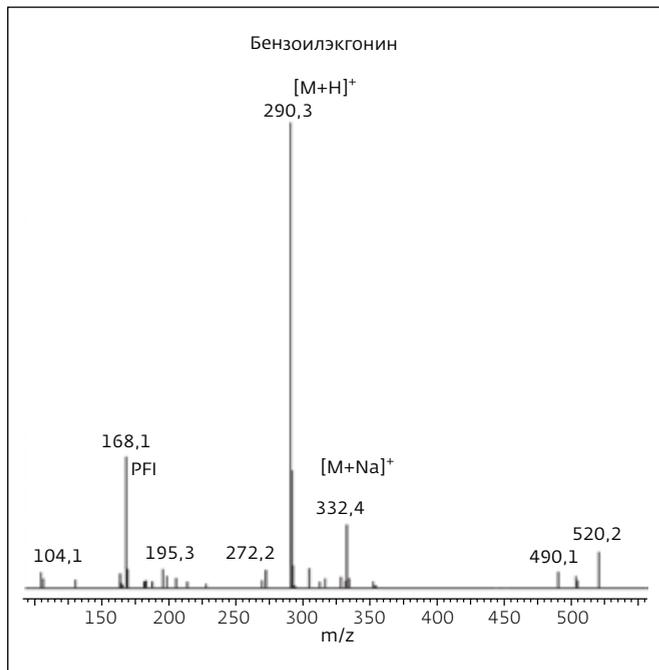


Рис.2. Масс-спектр бензоилэкгонина, автоматически извлеченный при помощи ACD/IntelliXtract

вероятность неверных положительных результатов, которые возможны при использовании для анализа только лишь m/z и времени выхода. Генерируются ясно промаркированные спектры, позволяющие аналитику просмотреть результаты и быстро выделить интересующие его компоненты.

Идентификация неизвестных метаболитов наркотиков и лекарств в сложных биологических матрицах, таких как моча или кровь, очень сложна и требует много времени. Обычно эта кропотливая работа занимает около пяти дней. В процедуру идентификации входят: подготовка таблицы всех обнаруженных пиков $[M+H]^+$ и их времен выхода, аннотирование всех важных пиков и указание уникальных химических компонентов. Наша программа выполняет эту работу за 5 мин.

Встроенный в IntelliXtract масс-спектральный анализатор помогает даже неискусенным в ЖХ/МС пользователям быстро интерпретировать самые сложные данные. Автоматическая настройка, совместимость с данными от приборов всех основных мировых производителей, а также универсальная обработка любых данных, независимо от исследуемых веществ, делает эту программу мощным инструментом для современной, использующей разнообразное оборудование, судебной лаборатории.

РАЗРАБОТКА ХРОМАТОГРАФИЧЕСКОГО МЕТОДА РАЗДЕЛЕНИЯ СЛОЖНЫХ СМЕСЕЙ

Экспертная система ACD/AutoChrom предлагает основанную на принципах QbD (Quality by Design) пошаговую разработку хроматографического метода для разделения сложных смесей, таких как биологические жидкости, метаболиты, примеси лекарств, продукты разложения и др. Система разработана в тесном сотрудничестве с такими фармацевтическими компаниями, как Pfizer, Astra Zeneca, Johnson & Johnson, Eli Lilly, и изначально направлена на решение стоящих перед ними задач: разделение лекарственных препаратов и их всевозможных примесей. Система широко применяется в фарминдустрии [4]. На рис.3 показана схема работы ACD/AutoChrom. Программа может полностью управлять хроматографами Agilent или Waters либо работать в офф-лайн режиме с данными, полученными на любых других хроматографах.



Рис.3. Схема разработки хроматографического метода разделения сложных смесей при помощи ACD/AutoChrom

ACD/AutoChrom позволяет разработать высококачественный и надежный метод разделения за короткое время и существенно сэкономить затрачиваемые ресурсы. Результаты, представленные компанией J&J (Johnson & Johnson) по итогам работы с ACD/AutoChrom в течение длительного времени, говорят сами за себя (рис.4). По сравнению с методами, которые использовались специ-

алистами J&J ранее (см. рис.4, колонки 1-3), применение ACD/AutoChrom (см. рис.4, колонки 4, 5) на порядок сокращает как время (с одного месяца до 3-4 дней), так и средства (с нескольких десятков до нескольких тысяч долларов), затрачиваемые на разработку метода разделения сложной смеси, иногда состоящей из нескольких десятков веществ [5].

Помимо основной задачи по разработке хроматографического метода ACD/AutoChrom существенно упрощает выполнение рутинных экспериментов по разработанным ранее методикам, а также автоматически и корректно меняет колонки, элюенты и температуру без вмешательства оператора.

АВТОМАТИЧЕСКОЕ СПЕКТРАЛЬНОЕ ПОДТВЕРЖДЕНИЕ ХИМИЧЕСКИХ СТРУКТУР

В наши дни химикам-синтетикам открыт широкий доступ к аналитическим приборам, с помощью которых они могут самостоятельно проверять результаты своих синтезов без привлечения специалистов-аналитиков. Чтобы сократить риск ошибок при проверке образцов, а также гарантировать качество создаваемых библиотек соединений, в организациях по всему миру используют различные программные продукты и системы обработки и интерпретации данных. Постоянная эволюция в химии синтеза лишь укрепила осознание необходимости автоматизированной обработки и анализа спектральных данных для всех используемых технологий. ACD/Labs посвятила этой работе более десяти лет. Наша задача заключается в предоставлении надежных высокопроизводительных автоматизированных продуктов и систем проверки/верификации химической структуры различных групп веществ в фармацевтических и химических организациях.

Автоматическое подтверждение химической структуры (верификация) состоит в проверке соответствия предложенной структуры экспериментальным данным. Анализ включает идентификацию сигналов в экспериментальных спектрах ЯМР (определение химических сдвигов, интегралов и мультиплетности), высокоточное предсказание этих свойств для предложенной структуры и сравнение экспериментальных и предсказанных параметров. По результатам сравнения вычисляется фактор соответствия, создается предполагаемое отнесе-

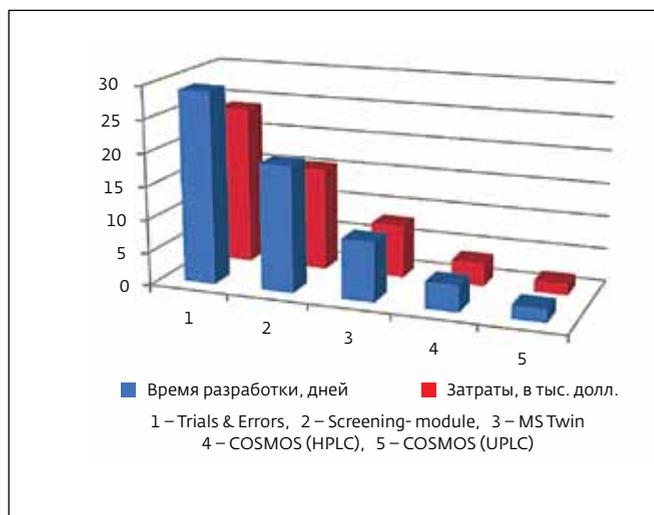


Рис.4. Диаграмма затрат времени и средств на разработки хроматографического метода в компании J&J: 1-3 – стандартные методы компании; 4, 5 – применение ACD/AutoChrom для ВЭЖХ и СВЭЖХ (диаграмма публикуется с разрешения Rudy Sneyers, J&J)

ние сигналов к атомам структуры и при необходимости выдается диагностика обнаруженных несоответствий. Для подтверждения структуры могут быть использованы спектры ЯМР ^1H , а также комбинация ^1H и 2D HSQC (или HMQC) спектров, позволяющая увереннее отсекать изомерные структуры [6-8].

В качестве примера на рис.5 показан результат подтверждения структуры катехина в программе ACD/Spectrus Processor. В этой программе предлагаются такие удобные инструменты для визуализации процесса подтверждения структуры, как вероятное отнесение сигналов на экспериментальном спектре, а также подробное описание сигналов, обнаруженных в экспериментальном спектре в виде таблицы (рис.5а). Цветовая индикация атомов на химической структуре (зеленые маркеры на рис.5б) позволяет судить о близости предсказанных и экспериментальных значений отнесенных сигналов. Главный параметр, указывающий на согласованность структуры спектру, – фактор соответствия (Match Factor), показываемый программой наряду с другими вспомогательными метриками на кратком результирующем отчете (рис.5в).

Автоматическая верификация химической структуры (ACD/Labs ASV) может быть реализована в виде роботизированной системы на

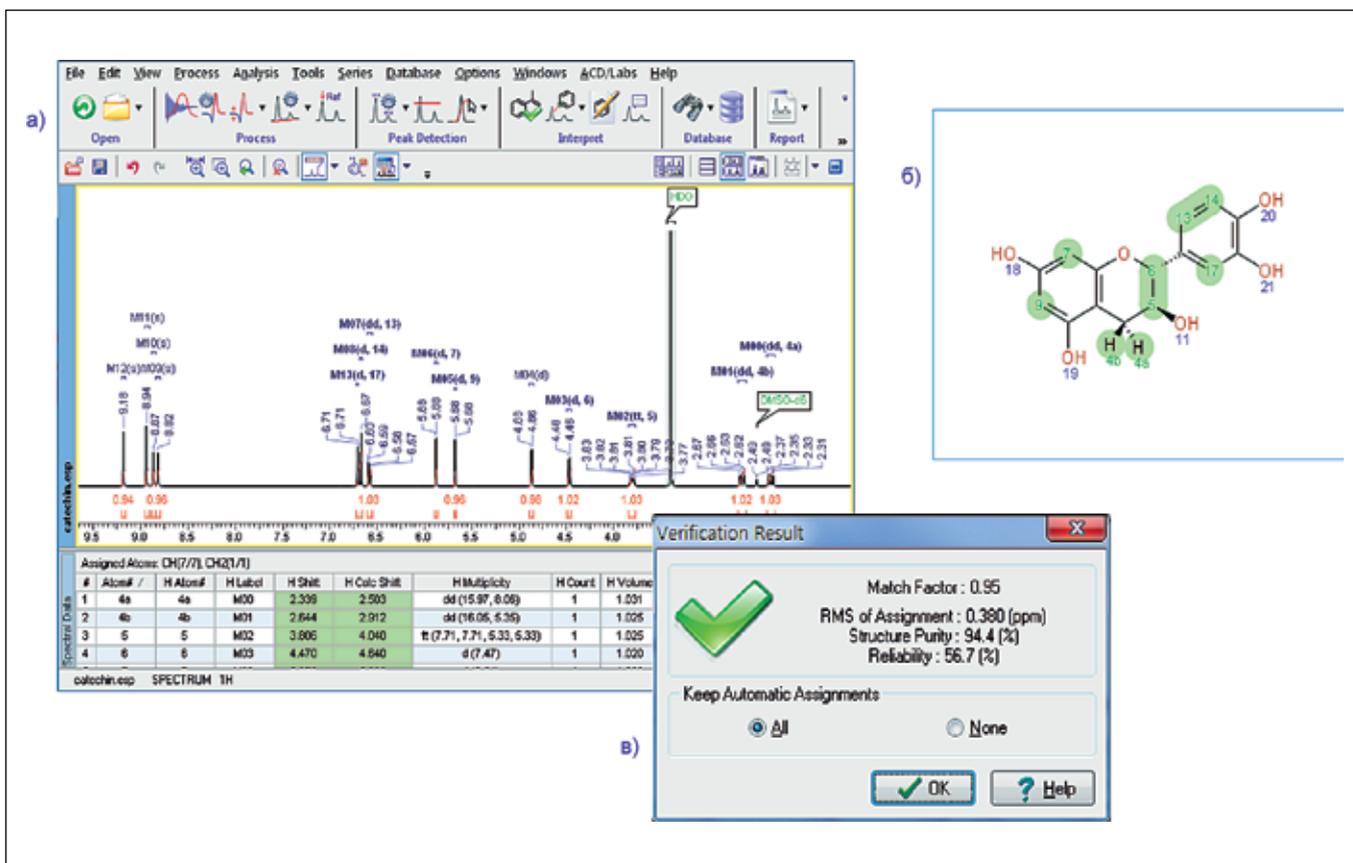


Рис.5. Верификация химической структуры по спектрам ЯМР в ACD/Spectrus Processor (фото с экрана монитора)

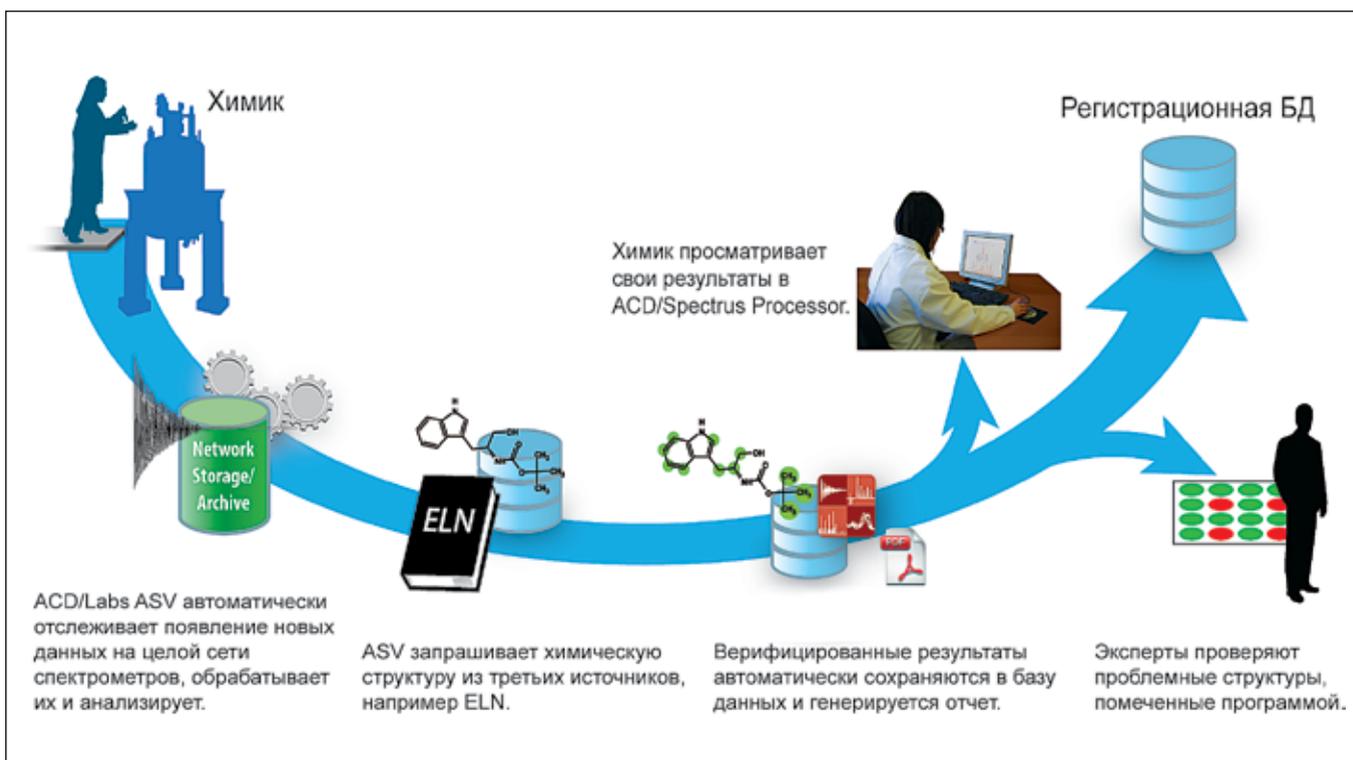


Рис.6. Роботизированная система регистрации химических структур с использованием автоматической верификации (ASV): ELN – электронный лабораторный журнал; NSA – архив (библиотека) данных

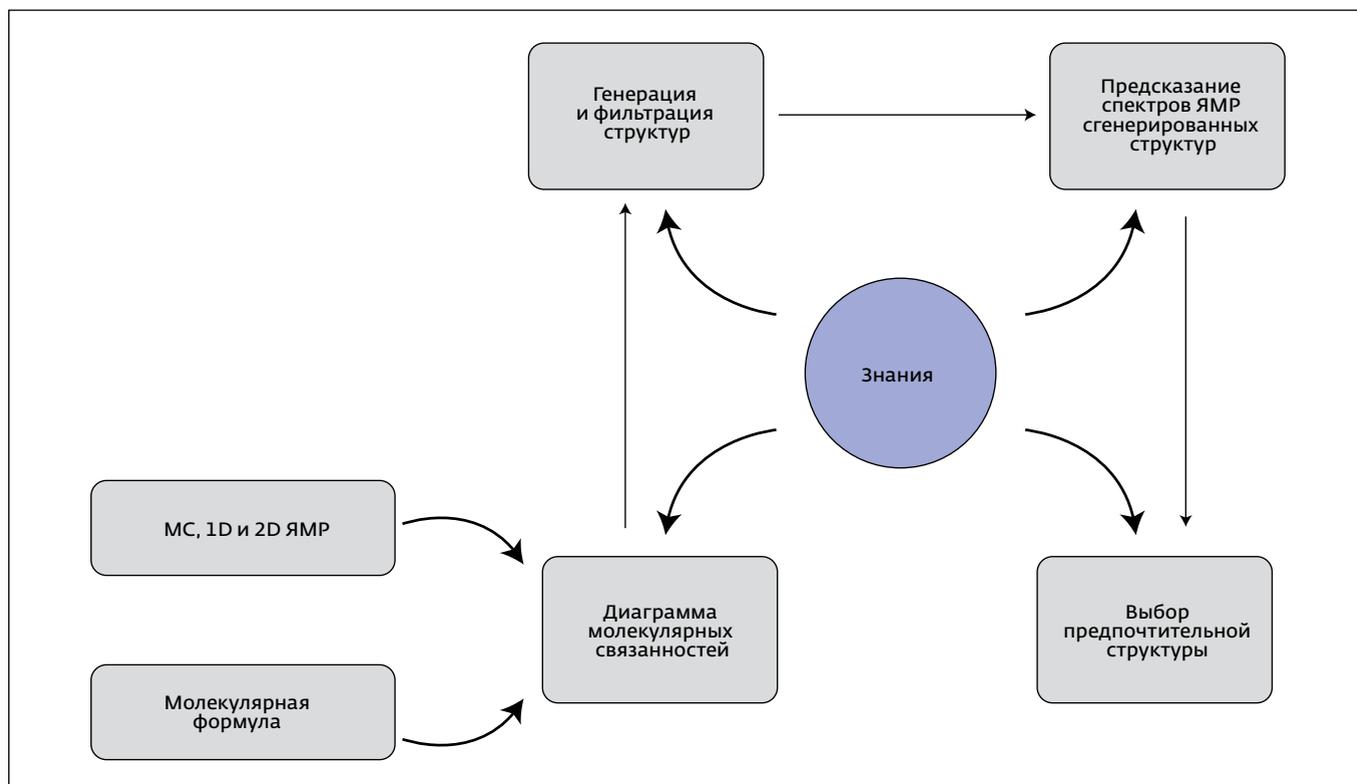


Рис.7. Принципиальная схема экспертной системы Structure Elucidator

базе Automation Server. Такая система самостоятельно отслеживает регистрацию новых спектров на спектрометре ЯМР, запрашивает химическую структуру из корпоративной информационной сети, проводит предварительную обработку спектральных данных, верифицирует структуру и отправляет результат химику по электронной почте. Если предполагаемая структура подтверждается, она регистрируется в корпоративной базе данных. На рис.6 на примере ASV, внедренной в фармацевтической компании Lexicon, наглядно продемонстрированы основные принципы работы полностью автоматизированной системы.

В ACD/Spectrus возможна верификация химической структуры не только по ЯМР, но также и по масс-спектрам, полученным как непосредственно на масс-спектрометре, так и при ЖХ/МС и ГХ/МС-анализе.

ОПРЕДЕЛЕНИЕ СТРУКТУРЫ НЕИЗВЕСТНОГО ВЕЩЕСТВА НА ОСНОВЕ СПЕКТРОВ ЯМР

Венцом технологий ACD/Spectrus по праву можно считать экспертную систему ACD/Structure Elucidator, предназначенную для установления

структуры новых сложных органических соединений (впервые синтезированных или выделенных из природных объектов) на основе спектров ЯМР. Принципиальная блок-схема системы приведена на рис.7.

Исходными экспериментальными данными являются масс-спектр и набор одномерных (1D) и двумерных (2D) ЯМР-спектров анализируемого вещества, из которых определяется его молекулярная формула. Наличие 2D-спектров ЯМР – необходимое условие идентификации сложных молекул, типичных для природных соединений и продуктов фармакологического синтеза. Система использует аксиоматические и фактографические знания, а также знания и опыт исследователя. Фактографические знания включают библиотеки, содержащие сотни тысяч структурных формул органических соединений и их ^1H и ^{13}C ЯМР-спектры, а также библиотеку фрагментов (больше миллиона) с подспектрами ЯМР. Удобный интерфейс обеспечивает диалоговый режим взаимодействия с пользователем. По молекулярной формуле и 2D ЯМР-спектрам программа вначале создает диаграмму молекулярной связанности (ДМС) для всех атомов молекулы. Затем ДМС используется для генерации структур, которая

сопровождается спектральной и структурной фильтрацией, благодаря чему отбрасываются структуры, противоречащие спектрам и химическим правилам. Наиболее вероятная структура выявляется на основании предсказания ЯМР-спектров всех сгенерированных структур. Расчет ЯМР-спектров выполняется с точностью 1,5–1,8 м.д. и скоростью 200–400 спектров/с.

С помощью системы Structure Elucidator установлены структуры многих сотен новых природных соединений и продуктов их синтеза. Практика показала, что система обладает высокой надежностью и позволяет резко сократить время, необходимое для идентификации неиз-

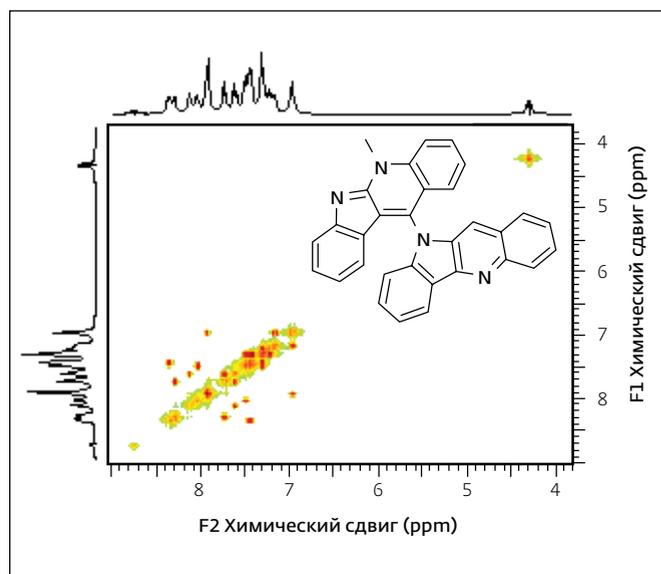


Рис.8. Двумерный ЯМР-спектр и структура соединения $C_{31}H_{20}N_4$

вестного вещества. Для решения задачи обычно требуется от нескольких секунд до нескольких десятков минут работы ПК. Недавно программа была успешно применена для идентификации загрязнителей в фармацевтической матрице при концентрациях около 10 мкг (Pfizer [9]).

Следует подчеркнуть, что с помощью системы впервые удалось определить структуру молекул в тех случаях, когда высококвалифицированным специалистам эта задача оказалась не по силам. Приведем два примера.

В 1991 году Г.Мартин с сотрудниками (Pharmacia Corp., США) выделили неизвестный алкалоид криптолепинового ряда с молекулярной формулой $C_{31}H_{20}N_4$. В течение десяти лет Мартин, известный специалист в области

ЯМР и его применения в органической химии, не смог установить структуру этого алкалоида. Решение (рис.8) было найдено с помощью Structure Elucidator в интерактивном режиме [10], для чего потребовалось около 12 ч рабочего времени.

В 2011 году в журнале *Angewandte Chemie* [11] опубликована работа, авторы которой признали невозможным установить структуру нового синтезированного соединения $C_{16}H_{18}IN$ с помощью полного набора 2D ЯМР-спектров (включая 1,1-ADEQUATE). Причина в большой запутанности и противоречивости данных двумерной ЯМР-спектроскопии. Когда спектральные данные из [11] ввели в программу, то единственная и правильная структура была сгенерирована за 0,7 с [12].

Система широко используется во многих ведущих фармацевтических (Pfizer, Novartis, Merck, Bayer, AstraZeneca, Eli Lilly и др.) и химических компаниях и университетах мира для идентификации новых природных соединений, продуктов фармацевтической промышленности, загрязнителей лекарств и т.д. Один из главных разработчиков этой уникальной экспертной системы – проф. М.Е.Эляшберг – в 2000 году удостоен Государственной премии РФ в области науки и техники. Система и ее применения подробно описаны в монографии [13].

Помимо углубленного анализа и интерпретации аналитических данных, спектроскопического подтверждения химических структур и выяснения структур новых веществ, разделения сложных смесей и идентификации их компонентов компания ACD/Labs разрабатывает программное обеспечение по следующим направлениям: предсказание спектров ЯМР различных ядер и масс-фрагментации, предсказание ADME и физико-химических свойств, токсичности, скрининг и дизайн лекарств, генерация номенклатурных названий молекул на десяти языках (программа рекомендована для REACH). Также предлагаются самые современные и крупные базы экспериментальных данных по различным свойствам и спектрам.

Автор выражает искреннюю признательность ведущим специалистам ACD/Labs Сергею Голотвину, Михаилу Кваше, Виталию Лашину и Михаилу Эляшбергу за подготовку этого материала.

ЛИТЕРАТУРА

1. **Williams A., Lee M., Lashin V.** An Integrated Desktop Mass Spectrometry Processing and Molecular Structure Management System. – Spectroscopy, 2001, v.16, p.38–49.
2. **Fell L., Lashin V., Neilson J., McGibbon G.** Workflow Improvements in the Use and Evaluation of MS Databases. – 60th ASMS Conference on Mass Spectrometry and Allied Topics [Pap.], Vancouver, BC, Canada, May 20–24, 2012.
3. **Antler M., McGibbon G., Lashin V., Patrick J., Siek K.** Characterizing Small Molecules in Biological Extracts using IntelliXtract Data Processing on High Resolution Accurate Mass Time-of-Flight Data. – 59th ASMS Conference on Mass Spectrometry and Allied Topics [Pap.], Denver, Colorado, June 5–9, 2011.
4. **Stafford J., Maloney T., Myers D., Cintron J., Castle B.** A systematic approach to development of liquid chromatographic impurity methods for pharmaceutical analysis. – Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis, 2011, v.56, p.280–292.
5. Sneyers R (Janssen Pharmaceutical Companies of J&J) Return of Investment in (U)HPLC Method Development Systems – ACD/Labs European Users' Meeting, Jun 15, 2011.
6. **Golotvin S., Vodopianov E., Lefebvre B., Williams A. and Spitzer T.** (GSK) Automated Structure Verification Based on ¹H NMR Prediction. – Magnetic Resonance in Chemistry, 2006, v.44, p.524–538.
7. **Golotvin S., Vodopianov E., Pol R., Lefebvre B., Williams A., Rutkowske R. and Spitzer T.** (GSK) Automated Structure Verification based on a Combination of 1D ¹H NMR and 2D ¹H-¹³C HSQC Spectra. – Magnetic Resonance in Chemistry, 2007, v.45, p.803–813.
8. **Golotvin S., Pol R., Sasaki R., Nikitina A. and Keyes Ph.** Concurrent combined verification: reducing false positives in automated NMR structure verification through the evaluation of multiple challenge control structures. – Magnetic Resonance in Chemistry, 2012, v.50, p.429–435.
9. **Codina A., Ryan R., Joyce R., Richards D.** Identification of Multiple Impurities in a Pharmaceutical Matrix Using Preparative Gas Chromatography and Computer-Assisted Structure Elucidation. – Analytical Chemistry, 2010, v.82, p.9127–9133.
10. **Blinov K., Elyashberg M., Martirosian E., Molodtsov S., Williams A., Sharaf M., Schiff P., Crouch R., Martin G., Hadden C., Guido J., Mills K.** Quindolinocryptotackieine: the Elucidation of a Novel Indoloquinoline Alkaloid Structure Through the Use of Computer-Assisted Structure Elucidation and 2D NMR. – Magnetic Resonance in Chemistry, 2003, v.41, p.577–584.
11. **Kummerlowe G., Crone B., Kretschmer M., Kirsch S., Luy B.** Residual dipolar couplings as a powerful tool for constitutional analysis: the unexpected formation of tricyclic compounds. – Angewandte Chemie International Edition, England., 2011, v.50, p.2643–2645.
12. **Elyashberg M., K.A. Blinov, S.G. Molodtsov, Williams A.** Elucidating "Undecipherable" Chemical Structures Using Computer Assisted Structure Elucidation Approaches. – Magnetic Resonance in Chemistry, 2012, v.50, p.22–27.
13. **Elyashberg M., Williams A., Blinov K.** Contemporary Computer-Assisted Approaches to Molecular Structure Elucidation. – Cambridge, RSC Publishing, 2012.

Единая платформа для экспертного анализа, интерпретации и хранения данных: ЯМР, МС, ГЖХ, УФ, ИК, ТГА и многих других для использования на рабочем столе каждого химика

ACD/Spectrus

+7(499)503-1035 ••• acdlabs@chemlabs.ru ••• www.acdlabs.com