

ELABORAZIONE E QUANTIFICAZIONE DEI DATI AUTOMATIZZATA E AD ALTO RENDIMENTO: ILLUSTRATO DA UNA SERIE DI FARMACI ANTINFIAMMATORI NON STEROIDEI (FANS)

Michael A. Bernstein¹, Andrew R. Hillson², Susanne D. Rigel²

1 Mestrelab Research, Rúa de Feliciano Barrera Fernández, 15706 Santiago de Compostela, A Coruña, Spain

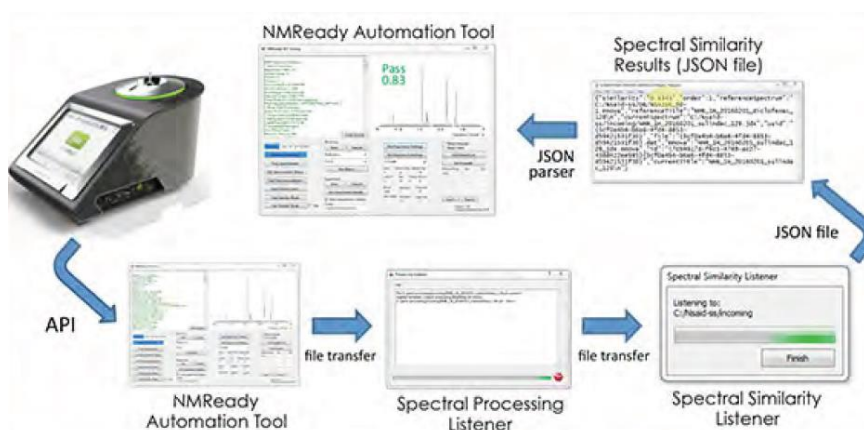
2 Nanalysis Corp., 4-4500 5th Streen NE, Calgary, AB, Canada, T2E 7C3

Introduzione

L'avanzamento tecnologico insieme a metodi di elaborazione dei dati automatizzati (eg. Database spettrali, metodi PCA/PLS) hanno facilitato la diffusione delle tecniche analitiche sia da esperti che da non esperti per rispondere ad una varietà di questioni pratiche. Per esempio, i rilassometri sono stati adattati verso una singola richiesta (e.g. contenuto di grassi solidi) e gli spettrometri Raman portatili sono stati associati a database spettrali di narcotici.

Anche se è una tecnica estremamente potente per analisi quantitative e qualitative, la Spettroscopia a Risonanza Magnetica Nucleare (NMR) è rimasta indietro altri strumenti di caratterizzazione. Invece, è rimasta limitata agli esperti.

L'emergenza del basso campo, degli spettrometri da banco ad alta risoluzione, in ogni caso, sembra proliferare rispetto all'uso dell'NMR ad alta risoluzione nelle applicazioni industriali non tradizionali. Questi spettrometri compatti e che richiedono poca manutenzione, se accoppiati appropriatamente con una tecnica moderna di analisi di dati possono aumentare la semplicità di uso e diventare una tecnica potente accessibile ai non esperti.



Elaborazione dei dati automatica

Il link tra l'hardware/software di controllo per l'acquisizione dello spettro e strumenti di data processing più sofisticati, anche se non comuni nella spettroscopia NMR sono fondamentali per aumentare l'efficienza e per affrontare l'afflusso di dati industriali, inclusi:

- Generazione di report di dati NMR dai non esperti
- Analisi di dati downstream automatizzata
- Processing automatico

Mnova offre una serie di "ascoltatori" in grado di elaborare e analizzare automaticamente i dati NMR non appena vengono generati. Qui descriviamo l'uso di uno spettrometro NMR da banco a 60 MHz, l'NMReady-60, per acquisire spettri ^1H NMR per una serie di nove farmaci antinfiammatori non steroidei (FANS) che, accoppiati con tre diversi ascoltatori Mnova (elaborazione, similarità spettrale (SS) e analisi di miscele semplici.

Report e data processing automatizzati

Per facilitare una maggiore adozione dell'NMR da banco nell'industria, l'elaborazione dei dati deve essere più efficiente e più accessibile ai non esperti.

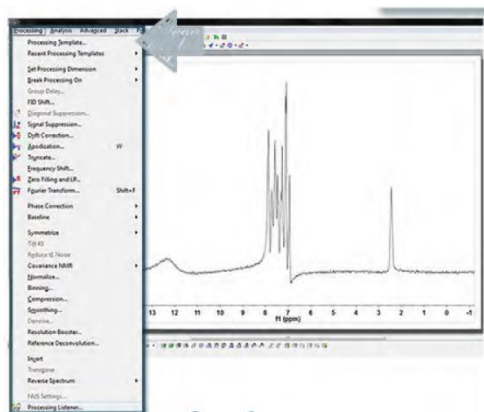
A tal fine, descriviamo l'uso della moderna interfaccia di NMReady per la rete direttamente con il plug-in del listener di elaborazione Mnova. Il semplice flusso di lavoro di configurazione è rappresentato in 5 semplici passaggi:



Step 1:
Network the NMReady spectrometer with Ethernet or Wi-Fi connectivity



Step 2:
Connect NMReady Automation tool to spectrometer & configure it to write to MNova listener folder

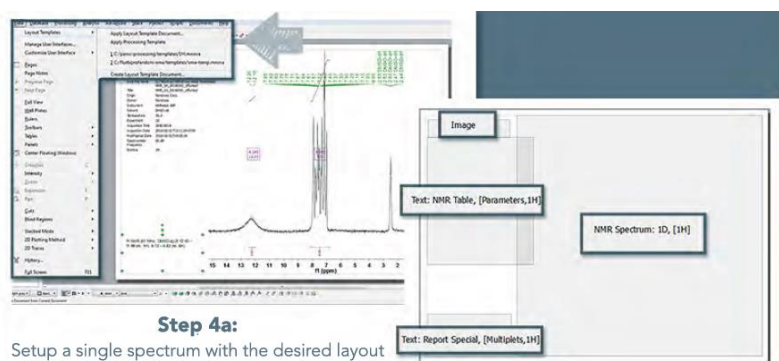


Step 3a:
Launch processing template



Step 3b:
Select desired processing parameters & save

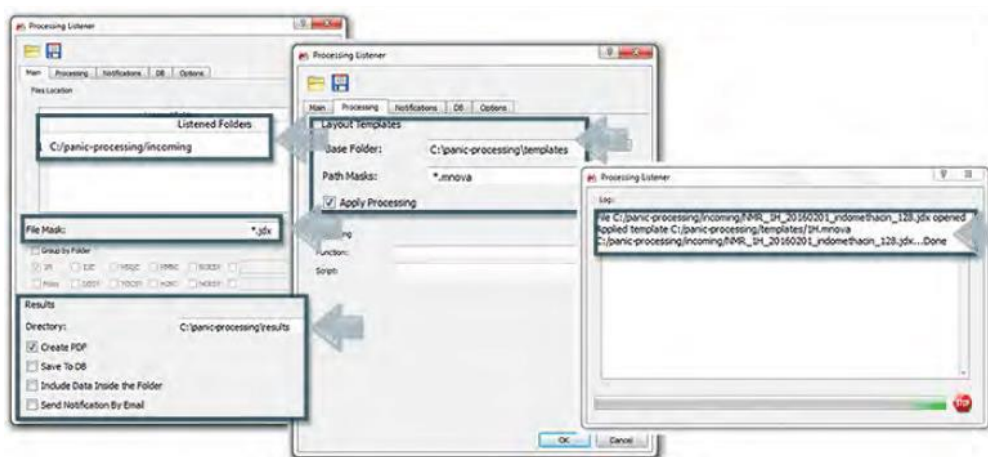
Data processing automatizzato – Setup



The image shows two parts of the NMR software interface. On the left, a window displays an NMR spectrum with a peak at approximately 10 ppm. On the right, a window shows a template layout for the spectrum. The layout includes an 'Image' placeholder for the spectrum, a 'Text: NMR Table, [Parameters, 1H]' placeholder for a table of parameters, and a 'Text: Report Special, [Multiplets, 1H]' placeholder for a report on multiplets. The spectrum window has a title bar that reads 'NMR Spectrum: 10, [1H]'.

Step 4a:
Setup a single spectrum with the desired layout and information (e.g., spectral parameters, company logo, compiled data, etc.) to create layout template.

Step 4b:
Created template document is saved to be applied to incoming folders.



The image shows the 'Processing Listener' software interface. The main window has a 'Files Location' section with 'Listened Folders' set to 'C:\panic-processing\incoming' and 'File Mask' set to '*.jdx'. The 'Results' section has 'Directory' set to 'C:\panic-processing\results' and 'Create PDF' checked. A 'Layout Templates' window is open, showing 'Base Folder' as 'C:\panic-processing\templates' and 'Path Mask' as '*.mnova'. A 'Processing Listener' dialog box is also open, showing a log of file processing: 'File C:\panic-processing\incoming\NMR_20160201_indomethacin_128.jdx opened', 'Applied template C:\panic-processing\templates\1h.mnova', and 'C:\panic-processing\incoming\NMR_20160201_indomethacin_128.jdx... Done'.

Step 5:
Launch Processing Listener Template & customize processing listener to specify incoming & outgoing data folders, report file formats, and appropriate processing & layout templates.

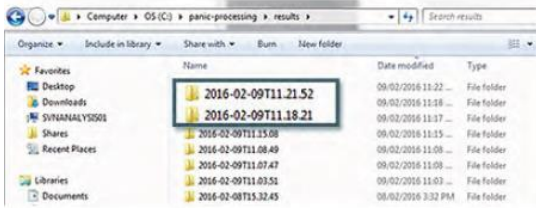
Data processing automatizzato – Flusso di lavoro giorno per giorno



Step 1:
Prepare NMR sample



Step 2:
Acquire desired NMR data
(e.g., 1D ^1H , ^{19}F , 2D, etc.)



Step 3:

Results automatically opened, processed with predefined template, placed in layout template and saved to results folder with date & time stamp.

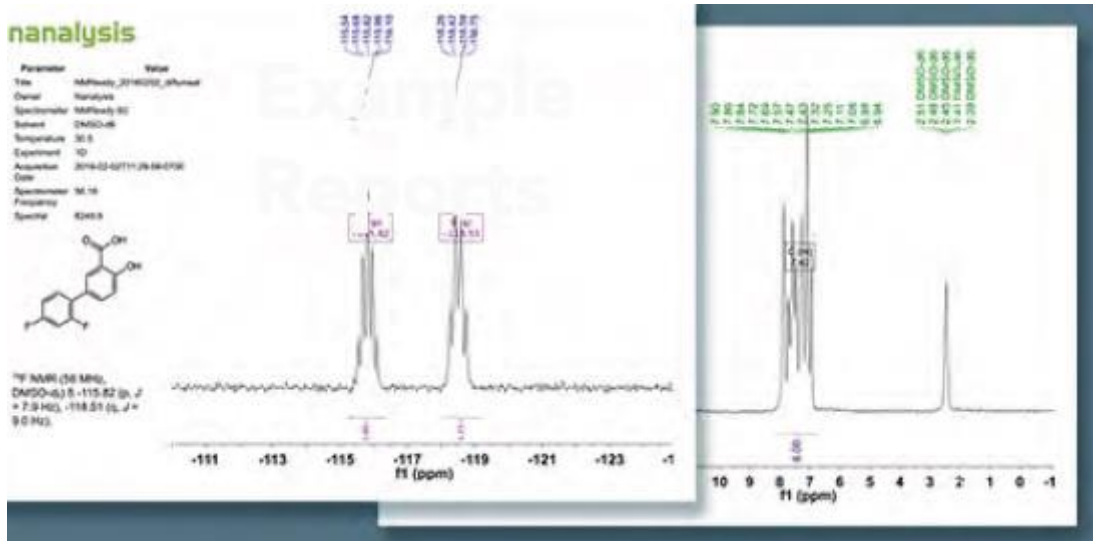


Step 4:

Review and/or share processed data files

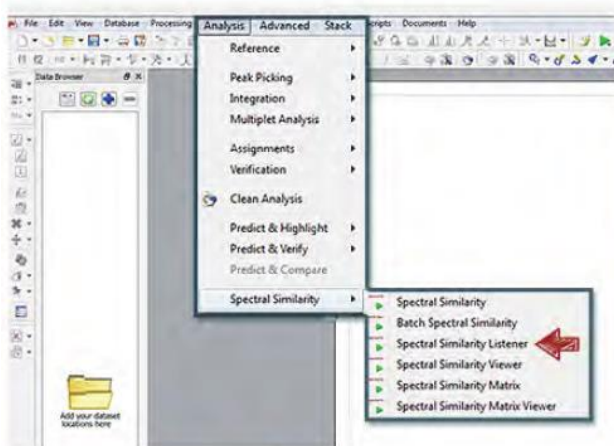
Riassumendo

La procedura di impostazione e flusso di lavoro giornaliero viene presentata come un'analisi automatizzata per l'elaborazione e la refertazione di routine dei dati NMR.



Somiglianza spettrale

L'idea di una "distanza" tra oggetti chimici è comune. Algoritmi ben noti come il "Tanimoto Score" possono essere applicati agli attributi molecolari. I tentativi di applicare questo principio a un confronto oggettivo tra gli spettri NMR non sono così comuni, ma per Mnova è stato sviluppato un algoritmo proprietario di prima generazione che viene presentato come funzionalità "Spectral Similarity" (SS). La funzionalità considera due spettri e fornisce un numero (da 0 a 1) che riflette la somiglianza. Sebbene ci siano applicazioni illimitate per questo tipo di valutazione spettrale, abbiamo utilizzato i 9 FANS elaborati con l'ascoltatore di elaborazione. Una volta visto dall'ascoltatore SS, è stato aperto uno spettro NMR ^1H , confrontato con uno spettro di riferimento e il punteggio di somiglianza calcolato viene esportato come file di testo salvato in "Risultati SS". Per i FANS che utilizzano Mnova SS, vediamo numeri elevati di somiglianza tra i composti, il che è rassicurantemente ragionevole, poiché ci si aspetta che questi farmaci abbiano meccanismi d'azione simili. Il test ha anche un potenziale in uno scenario QA / QC in cui i campioni batch vengono analizzati e confrontati con un materiale di riferimento.



Step 1:

Select 'Spectral Similarity Listener' from Analysis



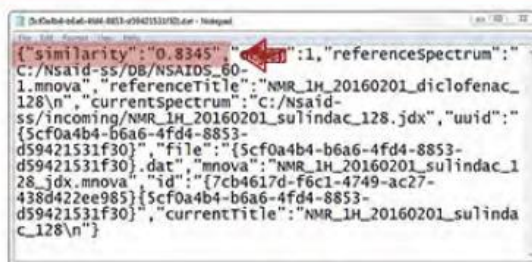
Step 2:

Setup 'SS listener' to watch for mnova files from the processed results folder, it then takes them and compares them to a reference spectrum & saves the results to the defined directory.



Step 3:

The experiment runs in the background waiting for files to be saved into the processing listener results folder.



Step 4:

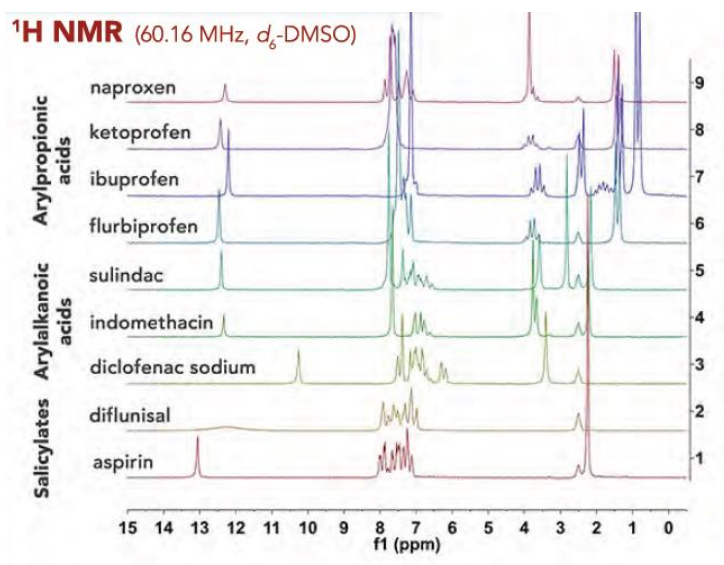
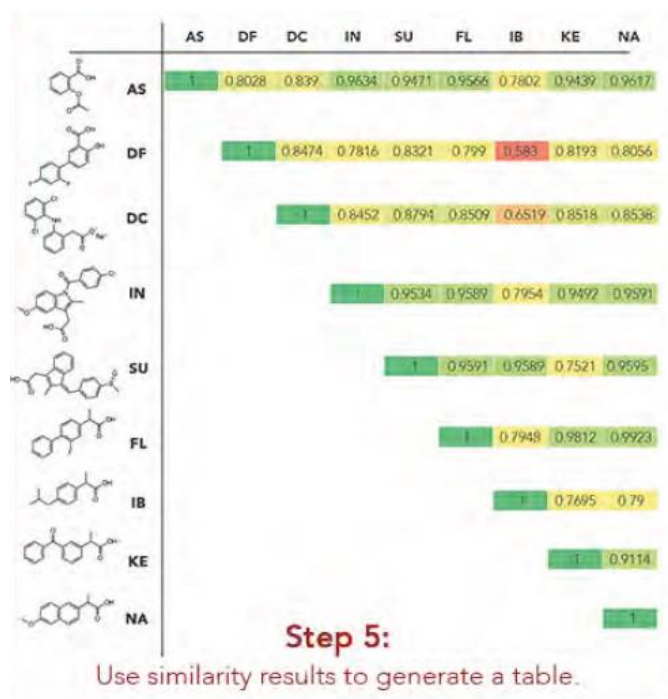
Open text file exported to results file with appropriate time stamp and look for similarity value.

L'analista dovrebbe "calibrare" il coefficiente in termini di criteri di accettabilità. La configurazione è mostrata qui.

Dati dei FANS da somiglianza spettrale

Preparazione del campione: ogni campione è stato preparato dissolvendo la polvere di FANS in 1ml di d₆-DMSO e trasferita in una tube per NMR da 5mm.

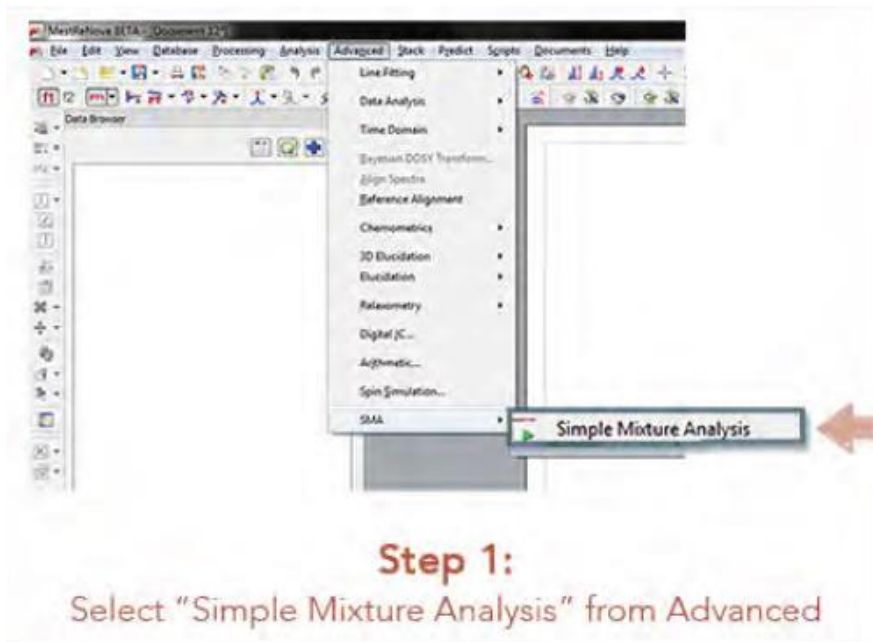
	MW (g/mol)	Added (mg)	Concentration (mol/L)
AS	180.157	18	0.10
DF	250.198	18	0.07
DC	318.13	28	0.09
IN	357.787	19	0.05
SU	356.412	31	0.08
FL	244.261	30	0.12
IB	206.29	30	0.15
KE	254.281	18	0.07
NA	230.259	30	0.13



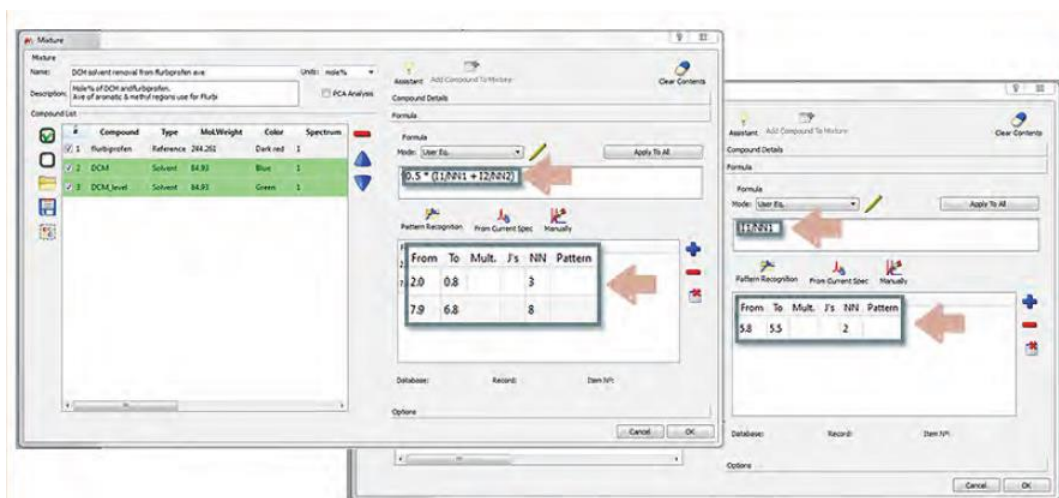
Dati ¹H NMR raccolti con un'ampiezza spettrale di 16 ppm centrati a 7 ppm, 4096 punti e ritardo di scansione di 5 sec. Questa è una scansione di 10,5 sec/s acquisita a 16 (2,8 min), 32 (5,6 min) e 64 (11,2 min) scansioni.

Semplice analisi della miscela (SMA)

Molte analisi QA/QC sono quantitative (e.g. relativa quantità tra due componenti, determinare la quantità residua di un solvente). L'ascoltatore SMA permette al tecnico di fare misurazioni affidabili e ripetibili usando un metodo validato.

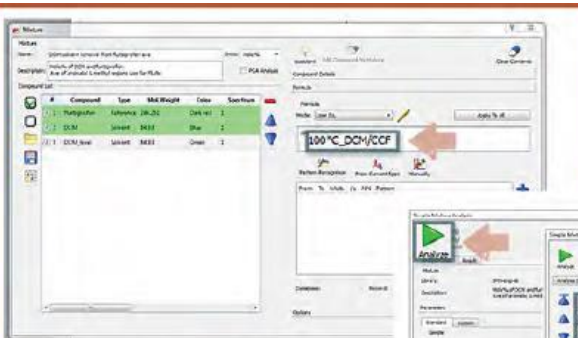


SMA è un plug in the usa una deconvoluzione globale degli spettri (GSD) un'integrazione convenzionale per identificare diversi componenti sulla base di shift chimici negli spettri 1D e 2D. L'informazione quantitativa può essere generata dall'integrazione dell'informazione con un'equazione flessibile e specifica per ogni user.

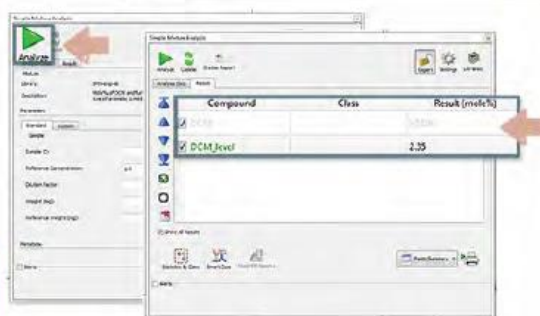


Step 2:
Define experiment for NSAID (flurbiprofen) & solvent (DCM) using ratio of integral region (I) in ppm to number of nuclei (NN) where their signals uniquely occur.

Per questo esempio cerchiamo l'isolamento e l'asciugatura del flurbiprofene monitorando la relativa quantità residuale di diclorometano presente (DCM, $\delta = 5.76$ ppm in d_6 -DMSO).

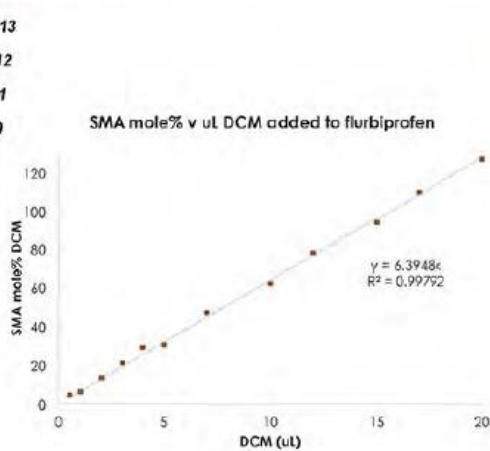
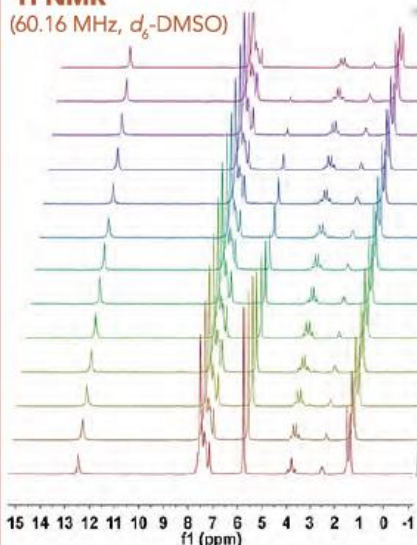


Step 3:
Determine mol% of DCM



Step 4:
Analyze

¹H NMR
(60.16 MHz, d₆-DMSO)



Step 5:

Validate experiment over a known concentration range of dichloromethane in flurbiprofen to ensure linearity, repeatability and/or accuracy.

Step 1:
 Customize SMA Listener by defining:
 (a) Base directory where listener will 'watch' for incoming raw files to be processed
 (b) file extension of incoming file .jdx for NMRReady
 (c) pre-defined processing parameters (see above)
 (d) file in which results will be saved

Step 2:
 Listener watches 'incoming' folder and immediately applies defined SMA experiment saving results in 'results' folder

Step 3:
 View spectral results in Mnova or tabulated summary

Component	Result (area%)
DCM_level	4.10

Conclusioni

Il sistema NMR da banco NMRReady-60 può essere facilmente abbinato a Mnova per l'elaborazione automatizzata dei dati tramite:

- (1) Configurazione dell'interfaccia di programmazione dell'applicazione (API) NMRReady per esportare tutti gli spettri acquisiti in una cartella specificata.
- (2) Impostare il listener Mnova appropriato su "watch" per i file spettrali generati ed elaborare le condizioni preimpostate.

Questo è stato mostrato per:

- (1) Elaborazione spettrale e modelli - per semplificare l'elaborazione dei dati e generare coerenza
- (2) Somiglianza spettrale - informazioni chemioinformatiche per la rilevazione del farmaco
- (3) Analisi semplice della miscela - per un'analisi quantitativa mirata e affidabile.