



Estudo de produtos de degradação de fármacos por espectrometria de massas

Pedro Henrique Martins Garcia

César Augusto Gonçalves Dantas

Prof. Dr. Thiago Carita Correra

Instituto de Química – Universidade de São Paulo

pedro_hmg@usp.br

Objetivos

O desenvolvimento e avaliação de fármacos envolve uma série de etapas necessárias para garantir que possa ser adotado. Dentre essas etapas, o estudo de degradação forçada (EDF) permite avaliar preliminarmente a estabilidade de fármacos e prever as espécies resultantes das transformações, com caracterização dessas espécies formadas. Esse trabalho propõe o uso das técnicas combinadas de espectrometria de massas acopladas a mobilidade iônica e espectroscopia vibracional de íons para caracterizar produtos de degradação, mesmo em condições em que os produtos de degradação apresentem mesma relação massa/carga (m/z).

Métodos e Procedimentos

As técnicas de Mobilidade iônica de alto-campo assimétrico (FAIMS) e espectroscopia vibracional de íons por dissociação por múltiplos fótons no infravermelho (IRMPD) foram combinadas para caracterização dos produtos de degradação isobáricos do pró-fármaco ciclofosfamida, gerados através de hidrólise ácida.

A degradação forçada do fármaco foi feita de acordo com as diretrizes do ICH-Q1A. Neste estudo, foi preparado 5 mL solução de fármaco de concentração 3 mM em HCl 0.1N. Essa solução foi adicionada a um balão de reação em um sistema sob refluxo à 70 °C por um período de 3 h e posteriormente o experimento foi repetido por 24 h. Alíquotas foram coletadas em intervalos de 1 h e uma alíquota final de 24 h foi coletada. Todas as amostras foram armazenadas à 4° C após a coleta.

As análises de espectrometria de massas e das técnicas acopladas foram feitas em um equipamento Bruker AmaZon SL modificado para permitir a passagem de um feixe de radiação sintonizável entre 2800 e 3800 cm^{-1} em seu íon trap.

As análises de FAIMS foram feitas com o acoplamento de uma célula à entrada do espectrômetro de massas com aparato comercial da Heartland MS. Os parâmetros utilizados foram: Voltagem de Dispersão (DV): 4,5 kV, Voltagem de compensação (CV) de -20 V a +20 V com taxa de 4 V/min.

Resultados

Os produtos de degradação forçada da ciclofosfamida foram analisados por MS e MS/MS no modo positivo. Foi possível

identificar um sinal de m/z 261. Análises de MS^2 foram feitas com o íon de m/z 261 para observar a possível presença de produtos de degradação isobáricos. Essas análises revelaram fragmentos de m/z condizente com a literatura, entretanto foram detectados fragmentos adicionais, indicando a presença de produtos de degradação isobáricos com a ciclofosfamida.

Para corroborar a existência de populações de íons com m/z 261 e possivelmente separá-las, foram feitas varreduras de FAIMS com CV entre -20 e +20 V. Foram encontradas duas populações do íon m/z 261 com padrão de fragmentação por CID diferentes, Figura 1A. Para finalizar a caracterização dessas populações foram feitas medidas de IRMPD. Conforme a Figura 1B e 1C, cada população apresentou fragmentação em um comprimento de onda, permitindo a comparação com estruturas através de cálculos de DFT.¹

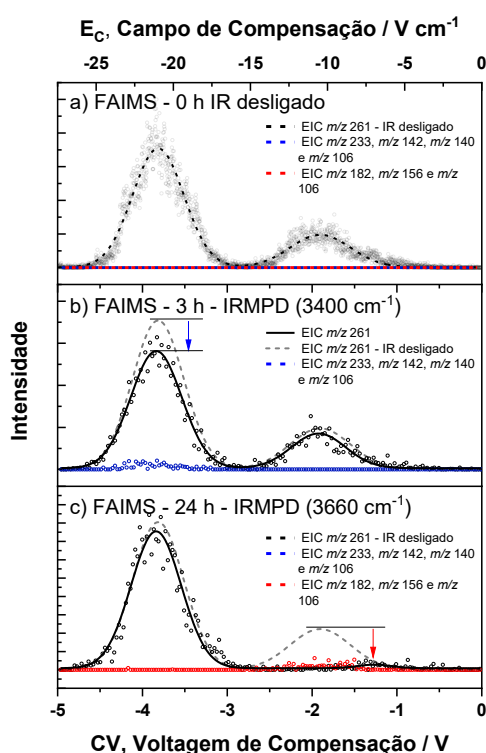


Figura 1: Espectros de mobilidade do íon de m/z 261

Conclusões

Neste trabalho foi possível separar e caracterizar um produto isobárico de degradação forçada de um fármaco através da combinação das técnicas de FAIMS e IRMPD, apresentadas como alternativa para o uso tradicional de HPLC, que requer mais tempo de análise e maior uso de solventes. A separação e caracterização dessas espécies demonstra a capacidade das técnicas em atuar nos casos de amostras mais complexas e seve como prova de conceito da separação de outros isômeros, sem necessitar da síntese de um padrão de referência dessas espécies.

Autor Thiago Carita Correra concebeu e planejou o estudo. Autores Pedro Henrique Martins Garcia e César Augusto Gonçalves Dantas realizaram a coleta e análise dos dados. Todos os autores participaram da redação e revisão final do manuscrito. Todos os autores aprovaram a versão final do resumo. Os autores declaram não haver conflito de interesses.

Agradecimentos

Os autores gostariam de agradecer à FAPESP (projetos 2015/08539-1, 2021/06726-0, 2022/00498-8, 2025/06785-7), CAPES (001) e CNPq (306701/2023-5).

Este trabalho foi realizado com o apoio do Programa Unificado de Bolsas (PUB) da Universidade de São Paulo.

Referências

- (1) Dantas, C. A. G.; Garcia, P. H. M.; Correra, T. C. Characterization of Pharmaceutical Transformation Products by High-Field Asymmetric Ion Mobility and Infrared Ion Spectroscopy Coupled to Mass Spectrometry. *J. Am. Soc. Mass Spectrom.* **2025**, *36* (6), 1277–1285. <https://doi.org/10.1021/jasms.5c00039>.