

Beatriz Rocha Araújo Remoção de citostáticos utilizando materiais funcionalizados com líquidos iónicos



Beatriz Rocha Araújo

Remoção de citostáticos utilizando materiais funcionalizados com líquidos iónicos

Dissertação apresentada à Universidade de Aveiro para cumprimento dos requisitos necessários à obtenção do grau de Mestre em Engenharia Química, realizada sob a orientação científica da Doutora Mara Guadalupe Freire Martins, Investigadora Coordenadora do Departamento de Química da Universidade de Aveiro, e coorientação da Doutora Márcia Carvalho Neves e da Doutora Ana Catarina Sousa, investigadoras de pós-doutoramento do Departamento de Química da Universidade de Aveiro.

O presente estudo foi realizado no âmbito do Projeto Smart Green Homes [POCI-01-0247-FEDER-007678], desenvolvido em copromoção entre a Bosch Termotecnologia S.A. e a Universidade de Aveiro. É financiado pelo Portugal 2020, no âmbito do Programa Operacional Competitividade e Internacionalização, e pelo Fundo Europeu de Desenvolvimento Regional.

Cofinanciado por:



o júri

presidente Professor Doutor Carlos Manuel Santos da Silva Professor Associado, Departamento de Química, Universidade de Aveiro Doutor Oscar Rodríguez Figueiras,

Investigador "Ramón y Cajal", Departamento de Engenharia Química, Universidade de Santiago de Compostela, Espanha

Doutora Mara Guadalupe Freire Martins Investigadora Coordenadora, Departamento de Química, Universidade de Aveiro

agradecimentos

A realização desta dissertação permitiu-me desenvolver um trabalho inovador, do qual adquiri novos conhecimentos científicos, desenvolvi e aperfeiçoei métodos de trabalho, permitindo-me assim crescer a nível intelectual e pessoal. No entanto, todo trabalho não teria sido possível sem a crucial ajuda e dedicação de todas as pessoas envolvidas neste culminar do meu percurso académico.

Em primeiro lugar, um agradecimento à minha orientadora, Doutora Mara Freire, por me ter dado a oportunidade e confiança para trabalhar neste projeto, permitido que eu crescesse a nível pessoal e profissional. Por todo o conhecimento transmitido, por toda a disponibilidade, pelo apoio e incentivo sempre demonstrados, um muito, muito obrigada.

À Doutora Márcia Neves quero exprimir um especial agradecimento. Por todas as horas no laboratório, por todos os conhecimentos e ensinamentos transmitidos, pela ajuda e compreensão e, especialmente, por toda a paciência ao longo destes meses. Pela simpatia, motivação e confiança mostradas, que foram fundamentais e indispensáveis para a realização e conclusão deste trabalho, sem as quais o meu percurso teria sido muito mais atribulado. Por tudo o que referi e o que ficou por referir um sincero obrigada.

À Doutora Ana Catarina Sousa, pelas críticas e comentários fundamentais, que tanto me ajudaram a melhorar o meu trabalho, alertando-me sempre para as questões ambientais, que me fizeram tornar mais crítica em relação a este tema. Foi, sem dúvida, uma ajuda fundamental!

À Ana Rita Teles por toda a ajuda no HPLC, por todos os ensinamentos e paciência demonstrados.

A todo o grupo do PATH agradeço a boa disposição e companheirismo assim como o conhecimento transmitido e métodos de trabalho no laboratório, que me ajudaram imenso no desenvolver desta dissertação.

Aos meus amigos próximos, aveirenses e ribatejanos, por todo o apoio, por ouvirem todas as queixas, pelos conselhos e por estarem ao meu lado durante todo este processo.

Por último, mas não menos importante, à minha família, a quem devo tudo. Por estarem sempre lá, por todo o apoio, dedicação e por nunca me deixarem baixar os braços. Por acreditarem em mim, um enorme obrigada.

| palavras-chave | Citostáticos, Ciclofosfamida, Adsorção/remoção de fármacos, Líquidos iónicos suportados |
|----------------|--|
| resumo | Atualmente, o cancro é a segunda causa de morte a nível mundial. Com o envelhecimento da população e aumento de doenças crónicas, espera-se que a incidência e prevalência de cancro continue a aumentar nos próximos anos e, portanto, o consumo de medicamentos anticancerígenos por via oral continuará também a aumentar. Os citostáticos, em particular a ciclofosfamida (CF), são uma das opções terapêuticas mais utilizadas no tratamento do cancro. Tal como acontece com outros medicamentos, o organismo humano não consegue metabolizar completamente os citostáticos sendo excretados essencialmente através da urina, o que contribui para a contaminação dos ecossistemas aquáticos. Assim, o desenvolvimento de uma tecnologia alternativa capaz de remover eficientemente estes fármacos no seu ponto de entrada, ou seja, diretamente da urina dos pacientes, reveste-se de grande importância. Esta dissertação tem como objetivo o desenvolvimento de materiais funcionalizados com líquidos iónicos (LIs) capazes de remover um dos citostáticos de referência – ciclofosfamida - de soluções aquosas, visando a sua anlicação final em urina. Foram preparados e |
| | visando a sua aplicação final em urina. Foram preparados e caracterizados seis materiais com LIs diferentes (SilPrMImCl, SilPrNMe ₂ BzCl, SilPrNEt ₃ Cl, SilPrN(C ₈) ₃ Cl, SilPrNMe ₂ BuCl, SilPrNBu ₃ Cl). Para otimização do procedimento experimental a adoptar tendo em conta as condições de segurança necessárias para a manipulação de citostáticos, foi primeiramente avaliada a capacidade de remoção destes materiais para o ácido acetilsalicílico. Foram aplicados dois modelos cinéticos aos resultados experimentais de adsorção, e dois modelos às isotérmicas de equilíbrio, sendo que o modelo de pseudo-segunda ordem e o modelo de Langmuir são os mais indicados para a descrição dos valores experimentais. Por fim, o material que apresenta maior capacidade para a adsorção de ácido acetilsalicílico é o SilPrNMe ₂ BuCl, com uma concentração de equilíbrio do adsorvato na fase sólida (q _e) de 0,0232mmol.g ⁻¹ . |
| | a performance dos mesmos materiais para a ciclofosfamida, e foram aplicados os mesmos modelos. O modelo de pseudo-primeira ordem descreve de melhor forma os valores experimentais para o SilPrNBu ₃ Cl, enquanto que o modelo de pseudo-segunda descreve de melhor forma os resultados experimentais quando se utilizam o SilPrNEt ₃ Cl e o SilPrN(C ₈) ₃ Cl. O modelo de isotérmica de equilíbrio que melhor descreve os valores experimentais é o modelo de Langmuir. Para este fármaco, os materiais que apresentam melhores resultados é o SilPrN(C ₈) ₃ Cl e o SilPrNBu ₃ Cl, com um q _e de 0,0563 mmol.g ⁻¹ para ambos os materiais. Os resultados obtidos demostram que materiais modificados com líquidos iónicos conseguem remover eficazmente os fármacos |

Os resultados obtidos demostram que materiais modificados com líquidos iónicos conseguem remover eficazmente os fármacos estudados de soluções aquosas, sendo agora necessário estudar a sua aplicação para a remoção de citostáticos de amostras de urina de pacientes oncológicos.

| keywords | Cytostats, Cyclophosphamide, Drugs adsorption/removal, Supported ionic liquids |
|----------|--|
| abstract | Nowadays, cancer is the second leading cause of death worldwide. With population aging, chronic diseases tend to increase, and the incidence and prevalence of cancer is expected to continue to growth in the coming years. As a result, the consumption of oral anticancer drugs will also continue to growth. Cytostatics, in particular cyclophosphamide (CP), are one of the most widely used therapeutic options in the treatment of cancer. As with other drugs, the human organism cannot completely metabolize them, so they are excreted essentially through urine, which contributes to the contamination of aquatic ecosystems. Thus, the development of a technology capable of efficiently removing these drugs at their entrance point, that is, directly from the patients' urine, is of high importance. The aim of this dissertation is the development of novel materials functionalized with ionic liquids (LIs) capable of removing one of the reference cytostatic drugs - cyclophosphamide - from aqueous solutions, while envisioning their final application in urine samples. Six different materials (SiIPrNImCI, SiIPrNRe ₂ BZCI, SiIPrNEt ₃ CI, SiIPrNEt ₃ CI, SiIPrNL(C ₆) ₃ CI, SiIPrNMe ₂ BUCI, SiIPrNNBu ₃ CI) were synthesized and characterized. Taking into account the required safety conditions for the manipulation of cytostatics, it was first evaluated the adsorption capacity of these materials for acetylsalicylic acid aiming at optimizing the experimental procedure to adopt. Two kinetic models and two models to the equilibrium isotherms were applied to the experimental data. The pseudo-second order and Langmuir models are the most suitable for describing the experimental values. Finally, the material SiIPrNMe ₂ BuCI, with an equilibrium concentration of adsorbate in the solid phase (q _e) of 0.0232mmol.g ⁻¹ . After optimization of the experimental procedure, the performance of the same materials for cyclophosphamide was evaluated, and the same models were applied. The pseudo-first order model best describes the experimental values for S |

Х

Índice

| Lista de Abreviaturasxiii |
|--|
| Lista de Abreviaturas dos líquidos iónicos suportados xiv |
| Índice de Figuras xv |
| Índice de Tabelas xvii |
| 1. Introdução1 |
| 1.1. Doenças Oncológicas 1 |
| 1.2. Ingredientes Farmacêuticos Ativos (IFAs) |
| 1.2.1. Citostáticos e ciclofosfamida 6 |
| 1.2.2. Ácido Acetilsalicílico9 |
| 1.3. Níveis ambientais e sistemas de tratamento para citostáticos 10 |
| 1.4. Líquidos iónicos suportados13 |
| 1.5. Objetivos do trabalho16 |
| 2. Parte Experimental 17 |
| 2.1. Materiais |
| 2.2. Métodos de quantificação de fármacos17 |
| 2.3. Síntese dos líquidos iónicos suportados |
| 2.4. Caracterização do material |
| 2.4.1. Análise Elementar |
| 2.4.2. Ressonância Magnética Nuclear de ¹³ C 20 |
| 2.4.3. Ponto de Carga Zero |
| 2.4.4. Microscopia eletrónica de varrimento |
| 2.5. Estudos de Adsorção |
| 2.5.1. Cinéticas de adsorção |
| 2.5.2. Isotérmicas de adsorção 21 |

| 3. Resultados e Discussão | 3 |
|---|----|
| 3.1. Síntese e caracterização dos materiais | :3 |
| 3.2. Estudos de Adsorção 2 | :9 |
| 3.2.1. Cinética de adsorção | 0 |
| 3.2.2. Isotérmicas de Adsorção | 1 |
| 3.3. Adsorção do Ácido Acetilsalicílico | 2 |
| 3.3.1. Cinéticas de adsorção | 2 |
| 3.3.2. Isotérmicas de adsorção | 6 |
| 3.4. Adsorção da Ciclofosfamida | 9 |
| 3.4.1. Cinética de adsorção 4 | -1 |
| 3.4.2. Isotérmicas de adsorção 4 | .3 |
| 4. Conclusões e Trabalho futuro | .7 |
| 5. Referências 4 | .9 |
| Anexos | 9 |
| A. pKA | 9 |
| B. Espectro de UV-Vis e Cromatograma de HPLC 6 | 60 |
| C. Retas de calibração 6 | 51 |
| C.1. Reta de calibração para o ácido acetilsalicílico | 51 |
| C.2. Reta de calibração para a ciclofosfamida6 | 51 |
| D. Tabelas com resultados experimentais detalhados | 52 |

Lista de Abreviaturas

| ADN | Ácido Desoxirribonucleico | |
|--------------------|--|--|
| AE | Eficiência de adsorção | |
| В | Constante de equilíbrio de Langmuir | |
| C_0 | Concentração inicial da solução aquosa | |
| CAP | Concentração ambiental prevista | |
| Ce | Concentração de equilíbrio da solução aquosa | |
| CF | Ciclofosfamida | |
| CPMAS | Rotação de ângulo mágico de polarização cruzada | |
| EFS | Extração em fase sólida | |
| ETAR | Estação de tratamento de águas residuais | |
| HPLC | Cromatografia Líquida de alta eficiência | |
| IFA | Ingredientes Farmacêuticos Ativos | |
| k1 | Constante de adsorção de pseudo-primeira ordem | |
| k ₂ | Constante de adsorção de pseudo-segunda ordem | |
| k _F | Constante de equilíbrio de Freundlich | |
| LI | Líquido iónico | |
| LIS | Líquidos Iónicos Suportados | |
| logk _{ow} | Coeficiente de partição octanol/àgua | |
| MEFS | Micro-extração em fase sólida | |
| n | Constante de Freundlich | |
| OMS | Organização Mundial de Saúde | |
| PFO | Pseudo-primeira ordem | |
| POA | Processo de oxidação avançada | |
| PSO | Pseudo-segunda ordem | |
| PZC | Carga do potencial Zeta | |
| q _e | Concentração em equilíbrio do adsorvato na fase sólida | |
| SEM | Microscopia eletrónica de varrimento | |

Lista de Abreviaturas dos líquidos iónicos suportados

| SilPrCl | 3-cloropropilsilano |
|---|-------------------------------------|
| SilPrMImCl | Cloreto de propilmetilimidazólio |
| SilPrN(C ₈) ₃ Cl | Cloreto de propiltrioctilamina |
| SilPrNBu ₃ Cl | Cloreto de propiltributilamina |
| SilPrNEt ₃ Cl | Cloreto de propiltrietilamina |
| SilPrNMe ₂ BuCl | Cloreto de propildimetilbutilamina |
| SilPrNMe ₂ BzCl | Cloreto de propildimetilbenzilamina |

Índice de Figuras

| Figura 1 - Perfil de mortalidade por cancro no ano de 2014 em Portugal. Dados |
|--|
| obtidos da Organização Mundial de Saúde [9] 2 |
| Figura 2 - Número de IFAs detetados em águas superficiais, subterrâneas e água |
| potável (adaptado de aus der Beek et al. (2016) [18]) 4 |
| Figura 3 - Classes de fármacos detetados no meio aquático, expressos em |
| percentagem relativa. Dados obtidos de 134 artigos publicados entre 1997 e 2009 |
| (adaptado de Santos et al. (2010) [27]) |
| Figura 4 - Produtos farmacêuticos frequentemente detetados no ambiente |
| (adaptado de Cizmas et al. (2015) [28]) |
| Figura 5 - Citostáticos mais preparados pelo Hospital Universitário de Genebra, |
| em 2009 (adaptado de Nussbaumer et al. (2010) [33]) |
| Figura 6 - Esquema representativo da entrada e transporte dos IFAs no ambiente. |
| (Adaptado de Zhang et al. (2013) [30])11 |
| Figura 7 - Valores médios das concentrações ambientais previstas (CAPs) (em |
| ng.L-1) na Europa, e número de compostos em cada região estudada (n) (Adaptado de |
| Franquet-Griell et al. (2015) [62]) |
| Figura 8 - Exemplo de estruturas químicas de catiões e aniões presentes em |
| líquidos iónicos mais comuns14 |
| Figura 9- Preparação da sílica funcionalizada com cloreto de |
| propilmetilimidazólio |
| Figura 10 - Espectro CPMAS de ¹³ C do SilprCl |
| Figura 11 – Espectro CPMAS de ¹³ C do SilprMImCl |
| Figura 12 - Espectro CPMAS de ¹³ C do SilprNMe ₂ BzCl |
| Figura 13 - Espectro CPMAS de ¹³ C do SilprNMe ₂ BuCl |
| Figura 14 - Espetro CPMAS de ¹³ C dos distintos LIS sintetizados |
| Figura 15 - Representação do PZC para diferentes valores de pH para todos os |
| LIS sintetizados |
| Figura 16 – Imagens de SEM para a sílica, o SilPrMImCl e SilPrNEt ₃ Cl 29 |

Figura 21 - Valores experimentais de q_e (mmol.g⁻¹) em função de C_e (mmol.L⁻¹) para a ciclofosfamida, e representação dos modelos de Langmuir e Freundlich para SilPrNBu₃Cl (A), SilPrN(C₈)₃Cl (B) e SilPrNEt₃Cl (C)......44

Figura 22 - Especiação do ácido acetilsalicílico com o pH [45]. 59

Figura 23 – Especiação da CF com o pH [46]...... 59 Figura 24 - Espectro de UV-visível do ácido acetilsalicílico com uma

Índice de Tabelas

| Tabela 1 - Consumo Nacional diário da CF em alguns países da Europa (adaptado |
|--|
| de Johnson et al. (2013) [32]) |
| Tabela 2 – Propriedades físico químicas da ciclofosfamida e do ácido |
| acetilsalicílico |
| Tabela 3 - Reagentes utilizados na síntese dos materiais e preparação de soluções, |
| e respetivos graus de pureza e fornecedor |
| Tabela 4 – Fonte do catião e representação do LIS correspondente |
| Tabela 5 - Análise elementar (em percentagem mássica) dos LIS sintetizados. 23 |
| Tabela 6 - Tabela com os valores do PZC para os quais os LIS têm carga zero. 28 |
| Tabela 7 – Valores de q _e (mmol.g ⁻¹) e eficiência de adsorção (% AE) |
| correspondente ao estudo da cinética de adsorção do ácido acetilsalicílico |
| Tabela 8 - Parâmetros cinéticos para os modelos de pseudo-primeira ordem (PPO) |
| e pseudo-segunda ordem (PSO) para os diferentes LIS sintetizados |
| Tabela 9 - Constantes calculadas a partir dos modelos de Langmuir e Freundlich |
| e respetivos coeficientes de correlação para a adsorção do ácido acetilsalicilico nos vários |
| SIL sintetizados |
| Tabela 10 - Valores de qe (mmol.g ⁻¹) e eficiência de adsorção (% AE) |
| correspondente ao estudo da cinética de adsorção da ciclofosfamida |
| Tabela 11 - Parâmetros cinéticos para os modelos de pseudo-primeira ordem |
| (PPO) e pseudo-segunda ordem (PSO) para os diferentes LIS sintetizados |
| Tabela 12 - Constantes calculadas a partir dos modelos de Langmuir e Freundlich |
| e respetivos coeficientes de correlação para a adsorção da ciclofosfamida nos vários LIS |
| sintetizados |
| Tabela 13 -Eficiência de adsorção (% AE), concentração de equilíbrio do ácido |
| acetilsalicílico após adsorção (Ce) e concentração de adsorvato na fase sólida (qe), com |
| os respetivos desvios-padrão (σ) para os diferentes LIS |
| Tabela 14 - Eficiência de adsorção (% AE), concentração de equilíbrio da |
| |

| acido acetilsalicílico após adsorção (C_e) | Tabela 15 - Concentração de equilíbrio do á |
|--|--|
| 25 °C | e concentração de adsorvido na fase sólida (q_e) a 2 |
| da ciclofosfamida após adsorção (Ce) e | Tabela 16 - Concentração de equilíbrio da |
| 25 °C | concentração de adsorvido na fase sólida (qe) a 25 |

1. Introdução

1.1. Doenças Oncológicas

O desenvolvimento tecnológico e científico permitiu avanços significativos na medicina ao longo do século XX. Estes avanços permitiram não só diminuir ou até erradicar muitas doenças transmissíveis, como as infetocontagiosas, mas também aumentar a qualidade de vida e a esperança média de vida da população. No entanto, o aumento da longevidade implica o aparecimento de novas doenças. Estas novas doenças crónicas, denominadas de doenças não transmissíveis, acarretam grandes custos e são um dos grandes desafios da medicina do século XXI [1].

Uma das doenças cuja incidência e prevalência tem vindo a aumentar é o cancro. No entanto, não se trata de uma doença exclusiva do seculo XX e XXI. De facto, em 3000 a.C., foi descrita no Papiro de Edwin Smith onde este escreve que "Não há tratamento" [2]. Apesar do seu estudo ter tido início no século XVI, os cientistas descobriram mais sobre o cancro nas 2 últimas décadas do que em todos os outros séculos de estudo, tal como provado pelo aumento do número de pessoas curadas [3].

Segundo a Organização Mundial de Saúde (OMS) o Cancro é um termo genérico para um grupo de doenças caracterizadas pelo crescimento de células anormais, de tal modo que podem invadir partes adjacentes do corpo e/ou espalhar-se pelos órgãos. Este fenómeno é também denominado de neoplasia ou tumor maligno. Atualmente o cancro é considerada a 2ª causa de morte a nível mundial, e de acordo com os dados mais recentes do GLOBALCAN (*Global Burden of Disease Cancer Collaboration*), 17,5 milhões de pessoas eram portadoras desta doença em 2015. Apenas neste ano, o cancro matou cerca de 8,8 milhões de pessoas [4]–[6]. Em Portugal, no ano de 2014, esta doença fez cerca de 97000 vítimas mortais, com maior incidência no sexo masculino, tal como ilustrado na Figura 1 [4]. Estima-se que a sua incidência continue a crescer de tal modo que em 2030 são esperados 23,6 milhões de novos casos [7], [8].



Figura 1 - Perfil de mortalidade por cancro no ano de 2014 em Portugal. Dados obtidos da Organização Mundial de Saúde [9].

O tratamento do cancro depende de vários fatores, nomeadamente o estado da doença, o tipo de cancro, e as condições de saúde do paciente [10], [11]. Geralmente, o tratamento desta doença inclui: terapia local (uma ou mais cirurgias, radioterapia) e terapia sistémica (terapia hormonal, terapia direcionada, imunoterapia e quimioterapia) [11], [12]. Se for detetado num estado inicial, o cancro pode ser curado apenas com a realização de uma cirurgia, não sendo necessário submeter o paciente a tratamentos de radioterapia e/ou quimioterapia [11].

A quimioterapia é realizada, na maior parte dos casos, em hospitais/clínicas [10], sendo que a terapia sistémica é a principal terapia para as doenças oncológicas. Os medicamentos utilizados para o efeito têm como objetivo eliminar ou, pelo menos, desacelerar o crescimento das células cancerígenas que possam ter metastizado para além do tumor original [10]. Recentemente, foram aprovados vários fármacos e há muitos mais em desenvolvimento [13]. Estes medicamentos causam a morte celular por apoptose, interferindo diretamente com o ácido desoxirribonucleico (ADN) ou com as proteínas necessárias à divisão celular [11]. No entanto, estes medicamento são citotóxicos, e afetam também as células saudáveis [10], [11]. Dados recentes demonstram que cerca de 75% dos doentes oncológicos são doentes em ambulatório (*outbound patients*), ou seja, fazem parte do tratamento em habitação própria [14]. A quimioterapia oral é bastante atraente devido à sua conveniência e facilidade de administração, particularmente no

cenário paliativo [15]. É também apropriado para pacientes onde a exposição prolongada ao fármaco é desejável. Com um número crescente de terapêuticas orais emergentes, prevê-se um rápido aumento em quimioterapia oral nos próximos anos [13], [15].

Tal como acontece com outros fármacos, os medicamentos utilizados em terapia sistémica do cancro não são totalmente metabolizados, sendo excretados pela urina/fezes e seguindo para as estações de tratamento de águas residuais (ETARs). Estas não têm capacidade para os remover eficientemente, culminando no ecossistema aquático [16]. Considerando a elevada toxicidade destes fármacos, a sua libertação no ambiente aquático terá implicações negativas nos ecossistemas. Várias evidências científicas já demostraram o impacto negativo da libertação de ingredientes farmacêuticos ativos (IFAs) no ambiente aquático, encontrando-se algumas sumariadas na secção seguinte.

1.2. Ingredientes Farmacêuticos Ativos (IFAs)

Atualmente, mais de 5000 medicamentos são sintetizados e encontram-se disponíveis no mercado para consumo humano ou animal [17]. Anualmente são consumidas cerca de 100,000-200,000 toneladas de medicamentos, sendo que os principais países consumidores são: América do Norte, Europa Central, Brasil, Rússia, India, China, Austrália e África do Sul [18].

Muitos destes fármacos têm sido encontrados no ciclo da água, pois apesar de na sua maioria serem administrados por via oral ou intravenosa, parte é excretada pela urina ou fezes [18]–[20]. Assim, estes seguem para as estações de tratamento de águas residuais (ETARs) que não têm capacidade para tratar estas substâncias, fazendo com que sejam libertados nos ecossistemas aquáticos (rios, lagos, albufeiras e oceanos) e expondo os organismos aquáticos a estas substâncias que acabam por ser transferidas ao longo da cadeia alimentar [19], [21]. Por outro lado, estes compostos podem contaminar as reservas de água potável, e desta forma os humanos podem também estar diretamente expostos através do consumo de água [21]. De um modo geral, os IFAs constituem um grupo de micropoluentes que têm vindo a ganhar atenção por parte da comunidade científica. Apesar de estarem presentes no ecossistema marinho em baixas concentrações (na ordem dos μ g.L⁻¹ ou ng.L⁻¹) representam riscos sérios para o ambiente e para a saúde pública[18], [22], [23].

Existem vários estudos que mostram a contaminação do ciclo da água por IFAs [18]–[24]. A *Global Water Research Coalition* (GWRC) avaliou os níveis de IFAs nas

ETARs e nas águas superficiais a nível internacional, e descreveu concentrações entre 1000 - 10000 μ g.L⁻¹ em ETARs, e entre 100 - 1000 ng.L⁻¹ em águas superficiais [24]. No entanto, estas concentrações aumentam consideravelmente em águas residuais hospitalares [25], [26]. No entanto, os IFA não se restringem apenas a águas superficiais, sendo que também já foram detetados em água para consumo humano [23]–[26].



Figura 2 - Número de IFAs detetados em águas superficiais, subterrâneas e água potável (adaptado de aus der Beek et al. (2016) [18]).

De uma forma geral os ingredientes farmacêuticos ativos mais utilizados e frequentemente detetados no ambiente aquático são anti-inflamatórios, antibióticos, agentes hipolipidémicos, hormonas e antiepiléticos tal como sumariado na Figura 3.



Figura 3 - Classes de fármacos detetados no meio aquático, expressos em percentagem relativa. Dados obtidos de 134 artigos publicados entre 1997 e 2009 (adaptado de Santos et al. (2010) [27]).

Dos grupos de IFA que são detetados em maiores quantidades, destacou-se alguns dos que são mais consumidos- Figura 4.



Figura 4 - Produtos farmacêuticos frequentemente detetados no ambiente (adaptado de Cizmas et al. (2015) [28]).

Os IFAs são concebidos para terem modos de ação dependendo do tipo de doença para o qual são utilizados e, frequentemente, para resistirem à inativação sem que seja exercido o efeito pretendido. No entanto, essas mesmas propriedades são paradoxalmente responsáveis pela bioacumulação e efeitos tóxicos em ecossistemas aquáticos e terrestres. Ao contrário de alguns poluentes convencionais (como pesticidas, detergentes, combustíveis, entre outros), os medicamentos continuam a ser administrados continuamente, o que origina um aumento contínuo da toxicidade no ambiente [27], [28]. Esta classe de contaminantes, geralmente categorizada como contaminantes emergentes (*Emerging contaminants*) ou contaminantes de preocupação emergente (*Contaminants of Emerging Concern*), tem vindo a ser crescentemente estudada. O interesse neste tipo de contaminantes resulta não só da sua potencial toxicidade, mas sobretudo porque

contrariamente a outros compostos químicos não é expectável que sejam regulamentados e que o seu uso seja proibido no futuro. De facto, prevê-se um aumento no seu consumo associado ao aumento da esperança média devida e ao aumento das doenças crónicas. À medida que a idade aumenta, a incidência de doenças crónicas e degenerativas aumenta de forma proporcional. Considerando o envelhecimento populacional, o consumo de medicamentos será cada vez maior [29], sobretudo dos medicamentos usados no tratamento de doenças crónicas associadas ao envelhecimento, como o cancro.

1.2.1. Citostáticos e ciclofosfamida

Para o tratamento de cancro são utilizados citostáticos, também denominados medicamentos antineoplásicos ou anticancerígenos. A Organização Mundial de Saúde (OMS) classifica os anticancerígenos como pertencentes à classe L01, que corresponde aos medicamentos citotóxicos [30]. Podem também ser incluídos na classe L02, da qual fazem parte os medicamentos endócrinos, incluindo agonistas ou antagonistas hormonais usados especificamente no tratamento do cancro. Na classe L01 estão presentes os agentes de alquilação (grupo L01A), onde grande parte são anticancerígenos, entre os quais os citostáticos. Estes foram projetados para "atacar" as células que estão em divisão, característica das células cancerígenas, e são considerados mutagénicos, carcinogénicos e teratogénicos [7], [30]. O problema destes fármacos é que não conseguem "distinguir" células cancerígenas de células saudáveis. Assim, são capazes de interagir diretamente com o DNA, afetando diretamente células, tecidos e órgãos saudáveis [7]. É portanto, crucial que estas substâncias não estejam em contacto com organismos saudáveis, já que existe uma elevada probabilidade destes serem contaminados[7].

A quantidade total de medicamentos antineoplásicas usada não se encontra disponível para o público em geral [7]. No entanto, estudos mostraram que atualmente existem mais de 100 citostáticos diferentes, onde 20 a 30 são utilizados no tratamento de doenças oncológicas [30]. Entre estes, a ciclofosfamida é um dos medicamentos mais utilizados. A Figura 5 evidencia a elevada produção de ciclofosfamida em relação aos restantes citostáticos. A ciclofosfamida (CF) pertence a uma classe de medicamentos denominados por agentes alquilantes. Esta molécula é utilizada para o tratamento de cancro da mama, cancro nos ovários, cancro no pulmão, linfoma maligno, artrite reumatoide, entre outras [31], e é um dos agentes de alquilação mais utilizados desde finais da década de 1950 [32].



Figura 5 - Citostáticos mais preparados pelo Hospital Universitário de Genebra, em 2009 (adaptado de Nussbaumer et al. (2010) [33]).

O consumo de CF, por sua vez, difere de país para país [7], tal como descrito na Tabela 1 [32].

Tabela 1 - Consumo Nacional diário da CF em alguns países da Europa (adaptado de Johnson et al. (2013) [32]).

| País | Ano | Consumo de CF (mg/cap/dia) |
|-----------------|------|----------------------------|
| Alemanha | 2002 | 0,0084 |
| França | 2008 | 0,0129 |
| Itália | 2011 | 0,0034 |
| Holanda | 2009 | 0,0027 |
| Áustria | 1997 | 0,0134 |
| Dinamarca | 2009 | 0,0057 |
| Suíça | 2002 | 0,0127 |
| Suécia | 2010 | 0,0357 |
| Noruega | 2010 | 0,0092 |
| Finlândia | 2010 | 0,0023 |
| República Checa | 2011 | 0,0102 |
| Média Europeia | | 0,0104 |

Os citostáticos atuam diretamente no ADN, mais precisamente nas ligações cruzadas de bases de guanina nas cadeias de dupla hélice, fazendo com que este não se replique [34]. Como anteriormente referido, os citostáticos, e consequentemente a ciclofosfamida, são tóxicos, pelo que devem ser tomadas precauções específicas sempre que um indivíduo esteja em contacto com estes medicamentos. Esse contacto pode acontecer durante a sua produção, administração ou eliminação [35]. Assim, pessoal clínico, pacientes e familiares devem tomar precauções para evitar o contato com estes medicamentos. A absorção transdérmica, através do contacto contato cutâneo com superfícies contaminadas, é sugerida como uma das vias principais de incorporação acidental destas substâncias [36]. Assim, o contato dérmico deve ser evitado e as pessoas em risco de contato devem usar equipamento de proteção e aderir a rigorosas medidas [35]. Essas medidas incluem trabalhar em ambiente fechado, idealmente dentro de uma câmara de fluxo laminar, usar luvas, bata, óculos, lavar todo o material utilizado com hipoclorito de sódio (lixivia), e os resíduos e o material a descartar devem ser classificados como resíduos biológicos para posterior inceneração [37]. Em ambiente hospitalar todo o material que esteve em contacto com citostáticos deve ser recolhido e incinerado [38]. Isto inclui por exemplo amostras biológicas como sangue ou urina. Apesar destas normas de segurança, já foram reportadas contaminações frequentes nas áreas de administração de quimioterapia e nos locais onde os fluidos corporais de pacientes são tratados [39]–[41].

Mais recentemente, a maioria dos tratamentos oncológicos já não são realizados em ambiente hospitalar, mas sim em ambiente doméstico [35]. Esta mudança de ambiente hospitalar com normas de higiene e segurança rígidas [38] para ambientes domésticos menos controlados e com pessoas com menos acesso a informação relevante (pacientes, famílias) [35] acarreta por sua vez maiores riscos de contaminação. Cerca de 20% da ciclofosfamida ingerida/absorvida pelo organismo é excretada através da urina/fezes [32], [42]. A limpeza de superfícies contaminadas (como por exemplo o WC, lençóis, etc.) pode colocar as pessoas em risco [35].

Para compostos alquilantes como a CF, ainda não foi estabelecida a concentração mínima segura [42]. Além disso, a eficácia terapêutica da quimioterapia antineoplásica é geralmente consequência da dose total administrada e não das concentrações individuais de um determinado fármaco [31]. No entanto, a Comissão Alemã de Água Potável e a Agência Federal Ambiental Alemã enfatizaram que a presença de compostos genotóxicos

na água potável seria tolerável em períodos de exposição inferiores a 70 anos para concentrações de 10 ng.L⁻¹ [42].

Em suma, face ao exposto, no decurso do presente trabalho foram tomadas várias medidas de precaução, nomeadamente trabalhar numa câmara de fluxo laminar de modo a contaminar o menos possível áreas de trabalho comuns, e descartar convenientemente todos os resíduos e material que foram encaminhados para incineração. Para otimizar a utilização destas medidas, realizaram-se ensaios preliminares com um fármaco de referência não genotóxico - ácido acetilsalicílico. Este fármaco foi selecionado pois é bastante utilizado diariamente por humanos, e tem um coeficiente de partição octanol/água (logK_{ow}) baixo e semelhante ao da ciclofosfamida, valores apresentados na Tabela 2. Substâncias com baixos valores de logK_{ow}, tendem a ter uma afinidade maior com a água, sendo assim mais solúveis.

Tabela 2 – Propriedades físico-químicas da ciclofosfamida e do ácido acetilsalicílico (adaptado de *Chemspider* (acedido a: 03/02/2018) [43], [44])

| | Ciclofosfamida | Ácido Acetilsalicílico |
|-----------------------------------|--|----------------------------------|
| Estrutura Química | | ОН |
| Fórmula molecular | $C_7H_{15}C_{12}N_2O_2P$ | $C_9H_8O_4$ |
| Massa Molar | 261,083 g.mol ⁻¹ | 180,159 g.mol ⁻¹ |
| CAS | 50-18-0 | 50-78-2 |
| Solubilidade em água | 0,001-0,005 g.L ⁻¹ (a 23°C) | 0,003 g.L ⁻¹ (a 25°C) |
| Ponto de fusão | 49,5 - 53°C | 135°C |
| pK _a [43], [44] | 13,43 | 3,41 |
| LogKow | 0,63 | 1,19 |

Na seção seguinte é apresentada uma breve descrição do ácido acetilsalicílico.

1.2.2. Ácido Acetilsalicílico

O ácido acetilsalicílico, conhecido como aspirina, é um medicamento antiinflamatório não-esteroide [45], com propriedades anti-inflamatórias, analgésicas, antipiréticas e antirreumáticas [46]. É bastante utilizado em casos de dor, febre e inflamação [46], [47]. Também é utilizado na prevenção de ataques cardíacos e outras doenças cardiovasculares [47], [48], e pode ainda diminuir o risco de certos tipos de cancro, particularmente o cancro do colo retal [47], [49]. Devido à sua vasta aplicação, a aspirina é um dos medicamentos mais utilizados no mundo, com um consumo estimado de 40000 toneladas anuais, o que representa entre 50000 e 120000 milhões de comprimidos [50], [51].

Tal como acontece com a ciclofosfamida, este fármaco também não é completamente metabolizado pelo organismo, sendo excretado através da urina e/ou fezes [45], acabando nas estações de tratamento de águas residuais e no ambiente aquático. Para este fármaco já foram descritos valores de 1,51 mg.L⁻¹ em ETARs [45]. Apesar de não ser tão tóxico para o ser humano como a ciclofosfamida, é potencialmente tóxico para diversos organismos, sendo, portanto, também importante tentar remover este fármaco do ambiente aquático.

1.3. Níveis ambientais e sistemas de tratamento para citostáticos

Tal como discutido na seção anterior, os citostáticos são bastantes tóxicos, e daí todo e qualquer material, produto ou amostra biológica que esteja em contacto com citostáticos, quer seja na produção dos fármacos, ou durante a sua utilização, devem ser incinerados. Muitos dos fármacos usados no tratamento de doenças oncológicas são moléculas polares com elevada solubilidade em água, tal como descrito na Tabela 2, mas não são totalmente metabolizadas pelo nosso organismo [52] acabando por ser excretados através da urina e/ou fezes. A utilização destes produtos nem sempre é realizada em ambiente hospitalar no qual a sua eliminação é controlada. De facto, os doentes oncológicos que são tratados em hospitais com citostáticos correspondem apenas a uma pequena parte dos pacientes, sendo que cerca de 80% dos pacientes realizam o tratamento em casa [53]. Em Portugal o consumo de anticancerígenos por pacientes a realizar tratamento fora dos hospitais é muito superior ao consumo por pacientes hospitalizados (aproximadamente 32 milhões de embalagens em comparação com 2 milhões de embalagens, respetivamente) [54]. O facto de estes medicamentos serem consumidos em ambiente doméstico acarreta consequências e riscos para membros familiares e pessoas próximas, já que os consumidores destas substâncias acabam por contaminar superfícies que não estão sujeitas a uma limpeza e desinfestação tão rigorosa como nos hospitais [55], [56]. No entanto, já foram implementadas algumas diretrizes para reduzir os riscos e a contaminação, por exemplo despejar o autoclismo pelo menos duas vezes [55]. Mas isto

irá acarretar outras consequências, já que cada descarga faz com que estas substâncias sejam libertadas pelos sistemas de esgotos, entrando nas ETARs onde a taxa de eliminação e/ou degradação destas moléculas é baixa [57]–[59]. A Figura 6 mostra como os citostáticos e outros medicamentos acabam no ecossistema aquático.



Figura 6 - Esquema representativo da entrada e transporte dos IFAs no ambiente. (Adaptado de Zhang et al. (2013) [30]).

A preocupação com a presença de medicamentos anticancerígenos no ambiente aquático tem vindo a ser cada vez maior, já que estes compostos são considerados um risco ambiental. Apesar das baixas concentrações encontradas, estas moléculas têm efeitos negativos em diversos organismos [59]. Estudos consideram que a curto prazo existirão níveis de toxicidade letais e, a longo prazo, as interações com o ADN dos organismos causará um risco elevado [58]. De uma forma geral, as concentrações atuais de citostáticos em águas superficiais rondam as ng.L⁻¹, e em esgotos hospitalares e efluentes de ETARs as μ g.L⁻¹ [59]. A Figura 7 representa a concentraçõe prevista de compostos citostáticos em alguns países da Europa, apresentando os valores médios das concentrações ambientais previstas (CAP) e o número de citostáticos estudados [60]. No caso particular da ciclofosfamida, esta já foi detetada em águas superficiais em concentrações que variam entre 10,1 ng.L⁻¹ e 50 μ g.L⁻¹, e em efluentes de ETARs em concentrações de 97–192 ng.L⁻¹ [42].

Figura 7 - Valores médios das concentrações ambientais previstas (CAPs) (em ng.L⁻¹) na Europa, e número de compostos em cada região estudada (n) (Adaptado de Franquet-Griell et al. (2015) [60]).

Face à toxicidade associada aos citostáticos discutida anteriormente, já foram propostas várias técnicas que visam melhorar o tratamento/remoção de citostáticos das ETARs, nomeadamente processos de filtração por membrana [61], [62], e processos de oxidação avançados [63]–[66]. Os processos de filtração por membrana acionados por pressão são usados no tratamento de água e águas residuais [61]. Dentro destes processos incluem-se a microfiltração, a ultrafiltração, a nanofiltração e a osmose inversa [61]. O que os distingue é o tamanho das partículas que retêm, e embora a microfiltração e a ultrafiltração não sejam totalmente eficazes na remoção de fármacos, principalmente devido ao tamanho dos poros, a nanofiltração e a osmose inversa têm sido foco de atenção para o tratamento de água potável [61], [67], [68].

Os processos de oxidação avançada (POAs) são recomendados para o tratamento de águas residuais contaminadas com compostos com uma elevada estabilidade química e/ou baixa biodegradabilidade. Por exemplo, a ozonização, devido às suas fortes propriedades de esterilização e desinfeção, tem sido utilizada no tratamento de efluentes farmacêuticos [69], [70]. A ozonização tem sido um importante método de tratamento de efluentes, aumentando a biodegradabilidade e eficiência do tratamento global, apresentando um bom desempenho para a remoção de antibióticos (> 90%) [71]. Um estudo anterior mostrou que a ozonização removeu a efetivamente ciclofosfamida, mas exigindo um tempo de contato significativo [72].

Outro exemplo de um POA é a reação de Fenton, sendo um processo muito utilizado na degradação de hidrocarbonetos [63]. Este processo também já foi estudado para um citostático (5-Fluorouracil) onde, sob as melhores condições de operação obtidas, o citostático foi completamente eliminado após 2 h [65]. No entanto, esta técnica só atinge a sua eficiência máxima a um pH muito restrito (entre 2,5 e 3,0) [63]. Para além de que outra grande desvantagem é a quantidade de ferro necessária para a reação, que está bem acima da quantidade legal permitida para descarga de efluentes, o que torna necessário precipitar o ferro no final do processo, que produz uma grande quantidade de resíduos causando um grave problema ambiental [73]. Muitas vezes, se a degradação não for completa podemos produzir produtos secundários que não estão caracterizados em termos de toxicidade podendo ser potencialmente tóxicos ou voláteis [73].

Para além de escassas, as técnicas reportadas para a eliminação de citostáticos são de difícil implementação em ETARs, sendo assim essencial desenvolver uma técnica alternativa mais eficiente e económica [74]. Para além do mais, considerando que a urina representa a principal fonte de contaminação pelos IFAs [74] e que o conceito de separação da urina a partir da fonte está bem estabelecido, especialmente para a remoção de nutrientes e a produção de fertilizantes [75], a possibilidade de remover os citostáticos diretamente da urina dos doentes oncológicos, apresenta-se como uma estratégia promissora. Ao eliminar os citostáticos diretamente da urina, é possível prevenir a contaminação do ciclo da água (no seu ponto de entrada).

1.4. Líquidos iónicos suportados

Os líquidos iónicos (LIs) são descritos como sais que têm o seu ponto de fusão abaixo da temperatura de ebulição da água (100°C) [76]–[78]. Atualmente, os LIs são

muito estudados devido às suas propriedades singulares como solventes não-moleculares: baixa pressão de vapor; elevada estabilidade térmica e química; elevada condutividade iónica; facilidade em dissolver materiais orgânicos, inorgânicos e poliméricos; e são não inflamáveis [79]. Estas propriedades singulares advêm do facto de serem constituídos por um catião orgânico (por exemplo: imidazólio, amónio quaternário, e fosfónio quaternário) e um anião que pode ser orgânico ou inorgânico (por exemplo: tetrafluoroborato, hexafluorofosfato, halogéneos) [77]. São também conhecidos como "designer solvents", já que devido às várias combinações de catiões e aniões, podem originar um elevado número de LIs com diferentes propriedades [77]. A Figura 8 mostra as estruturas químicas de alguns iões que constituem LIs.

Figura 8 - Exemplo de estruturas químicas de catiões e aniões presentes em líquidos iónicos mais comuns.

Devido à sua variabilidade, os LIs são estudados nas mais diversas áreas, tais como catálise, sensores químicos, técnicas analíticas, processos de separação, eletroquímica, entre outras [80]. Na sua grande maioria, os LIs têm sido alvo de estudo como alternativa aos solventes orgânicos voláteis [81]. Apesar das inúmeras vantagens

associadas aos LIs, muitas vezes é mais eficiente e necessário imobilizá-los em materiais [79]. Os LIs suportados podem ser dispersos na superfície interna de uma estrutura porosa, mantendo, portanto, a área de superfície específica e as propriedades mecânicas do suporte, e evitando assim o problema da limitação do transporte de massa e a necessidade de grandes quantidades destes solventes. Neste caso, o LI está adsorvido no material, não estando ligado covalentemente à superfície do material. Por outro lado, os LIs podem ser imobilizados em suportes sólidos, pela ligação covalente de pelo menos um dos iões que os constituem, resultando em materiais funcionalizados – líquidos iónicos suportados (LIS) - com algumas das características vantajosas descritas atrás para os LIs [82], [83]. Um dos materiais de suporte mais usado é a sílica, pois para além de ser de baixo custo, é biocompatível [84].

A primeira aplicação de LIS foi realizada em 2005, na extração de compostos aromáticos (benzeno, tolueno, etilbenzeno e xileno) de tintas, utilizando uma técnica microextração em fase sólida (MEFS) [85]. Desde então, for estudados processos de extração, separação e pré-tratamento através do uso combinado de LIs e de vários materiais de suporte, sendo a sílica um dos materiais mais utilizados [76], [86]. No que toca à extração de IFAs, em 2009, foi realizado um estudo onde se removeu ácido salicílico, 4-nitrofenol, carbamazepina, ácido nalidíxico, flumequina, naproxeno, fenoprofeno, diclofenaco de sódio, ibuprofeno e gemfibrozil de diferentes amostras aquosas, utilizando um material modificado com LIs [87]. Mais tarde, demonstrou-se a utilização de materiais à base de sílica funcionalizada com catiões imidazólio para a extração de ácidos orgânicos, aminas e aldeídos, onde se obtiveram eficiências de extração para os ácidos orgânicos de 87 a 100%, e de 0 a 37% para aminas e aldeídos [76]. Os materiais descritos atrás são aplicados em extração em fase sólida (EFS), utilizada para o isolamento e concentração de analitos num fluxo gasoso, fluido ou líquido através da sua transferência e retenção (sorção) numa fase sólida [88]. A EFS foi inicialmente desenvolvida como alternativa à extração líquido-líquido, sendo que atualmente é o método de separação mais utilizado [89]. Uma das razões para este facto prende-se com a pressão a que os laboratórios foram sujeitos para diminuir a utilização de solventes orgânicos [89]. Esta técnica também permite solucionar alguns problemas da extração líquido-líquido, tais como separações de fases incompletas, usos de materiais dispendiosos, descarte de grandes quantidades de solventes orgânicos, entre outros [89]. Na EFS, o adsorvente selecionado controla os parâmetros analíticos, como seletividade,

afinidade e o fator de retenção. Por esta razão, a modificação química dos materiais (como sílica e polímeros) é muito utilizada de modo a aumentar a capacidade de adsorção e seletividade, indo de encontro aos trabalhos discutidos atrás com modificação de materiais com LIs [76], [86].

1.5.Objetivos do trabalho

O principal objetivo deste trabalho visa contribuir para o desenvolvimento de um material eficiente e de baixa toxicidade, para a remoção de citostáticos, nomeadamente a ciclofosfamida, de soluções aquosas, visando a sua futura aplicação na remoção de citostáticos da urina. Esta abordagem permitirá remover poluentes emergentes no seu ponto de entrada evitando a sua acumulação no ambiente. Para tal, foram sintetizados e caracterizados seis líquidos iónicos suportados (LIS). Estes materiais foram inicialmente testados na remoção do ácido acetilsalicílico de soluções aquosas de modo a familiarizar o operador com todas as condições de segurança necessárias ao manuseamento de citostáticos. Sendo a ciclofosfamida um fármaco com elevada citotoxicidade, este deve ser manipulado em ambiente fechado (câmara de fluxo laminar) e todo o material utilizado no seu manuseamento, ou as suas soluções, incinerado. Para ambos os fármacos, foram obtidos dados experimentais cinéticos e de equilíbrio e foram ajustados modelos.
2. Parte Experimental

2.1.Materiais

Os reagentes utilizados na síntese dos materiais e preparação das soluções, encontram-se descritos na Tabela 3.

Tabela 3 - Reagentes utilizados na síntese dos materiais e preparação de soluções, e respetivos graus de pureza e fornecedor.

| Reagente | Pureza | Fornecedor |
|--------------------------------|-------------------|-----------------|
| (3-cloropropil)trimetoxisilano | 98% | Acros Organics |
| Ácido acetilsalicílico | 99.9% | Sigma Aldrich |
| Ácido clorídrico | 37% (sol. aquosa) | Sigma Aldrich |
| Ciclofosfamida | 97% | Acros Organics |
| Dimetilbutilamina | 99% | Aldrich |
| Etanol | 99.9% | Carlo Erba |
| Metanol | >99.9% | CHEM-LAB |
| N-metilimidazol | 99% | Acros Organics |
| N-N dimetilbenziamina | >99% | Sigma Aldrich |
| Sílica gel (60Å) | | Merck |
| Tolueno | 99.8% | Fisher Chemical |
| Tributilamina | 99% | Acros Organics |
| Trietilamina | 99,6% | Fisher Chemical |
| Trioctilamina | <98% | Fluka |

2.2. Métodos de quantificação de fármacos

A quantificação do ácido acetilsalicílico nas várias soluções aquosas foi efetuada por espectroscopia de UV-Vis, utilizando um Shimadzu UV-1800, Pharma-Spec UV-Vis, e células de quartzo de 1x1 cm. Para tal estabeleceu-se a curva de calibração respetiva (apresentada na Figura 26 do anexo D) ao comprimento de onda máximo do ácido acetilsalicílico (273 nm).

A quantificação da ciclofosfamida em solução aquosa foi realizada por cromatografia líquida de alta eficiência com detetor *diode-array* (HPLC-DAD). Os cromatogramas foram registados utilizando o equipamento Shimadzu, Prominence Modular HPLC, com uma coluna analítica Reprosil C-18 (com sílica esférica porosa de

5 µm e diâmetro de poro de 100 Å e 250 × 4.6 mm de tamanho) da GmbH. A temperatura de operação da coluna foi fixada a 25 °C. A fase móvel utilizada consistiu numa mistura de acetonitrilo (A) e água (B) em que a relação A/B foi de 30:70 (v/v). A eluição foi realizada com um caudal de 0,8 mL/min e o volume de injeção foi de 20 µL. O comprimento de onda para a quantificação da ciclofosfamida foi estabelecido a 197 nm, sendo que a curva de calibração respetiva encontra-se na Figura 27 do anexo D.

2.3. Síntese dos líquidos iónicos suportados

Os LIS foram sintetizados a partir de sílica gel comercial, com tamanho de poro de 60 Å. Previamente à sua funcionalização com LIs, a sílica foi ativada por tratamento com uma solução de ácido clorídrico (37%, m/m) durante 24 h. Após este período, lavouse com água destilada e secou-se numa estufa a 60 °C durante 24 h. À sílica ativada (5,0 g) adicionaram-se 60 mL de tolueno, e de seguida adicionaram-se 5 mL de 3cloropropiltimetoxisilano. A suspensão foi colocada em refluxo e sob agitação magnética durante 24 h. Após este período, filtrou-se, e o material foi lavado com tolueno (100 mL), etanol:água 1:1 (200 mL), água destilada (500 mL) e metanol (100 mL), e secou-se a 60 °C durante 24 h. A sílica funcionalizada com 3-cloropropilsilano designa-se por SilprCl. A este material (5,0 g) adicionaram-se 50 mL de tolueno e 5 mL de 1-metilimidazole (fonte do catião). Esta suspensão ficou sob agitação magnética e em refluxo durante 24 h. Após este período, filtrou-se, e o material foi lavado com tolueno (100 mL), metanol (350 mL), água destilada (300 mL) e metanol (150 mL), e foi seco a 60 °C durante 24 h, tendo-se obtido a sílica funcionalizada com o liquido iónico cloreto de propilmetilimidazólio (SilprMImCl). Na Figura 9 está representado um esquema da síntese usada para a preparação deste LIS.



Figura 9- Preparação da sílica funcionalizada com cloreto de propilmetilimidazólio.

Para a síntese dos restantes LIS, foi repetido o procedimento anterior, tendo-se substituído o N-metilimidazol por outros reagentes que representam a fonte do catião. Na Tabela 4 estão apresentados os diferentes reagentes utilizados como fonte do catião e o LIS a que dão origem.

| Fonte do catião | LIS |
|------------------------|--|
| N-metilimidazole | OH OSi OH Cr Cr |
| | SilPrMImCl |
| N-N dimetilbenzilamina | OH OH CI |
| | SilPrNMe ₂ BzCl |
| Trietilamina | |
| | SilPrNEt ₃ Cl |
| Trioctilamina | $ \begin{array}{c} $ |
| Dimetilbutilamina | |
| | |
| | SilPrNMe ₂ BuCl |

Tabela 4 – Fonte do catião e representação do LIS correspondente.



2.4. Caracterização do material

2.4.1. Análise Elementar

O teor (em percentagem de massa) de carbono, hidrogénio e azoto dos LIS sintetizados (SilPrMImCl, SilPrNMe₂BzCl, SilPrNEt₃Cl, SilPrN(C₈)₃Cl, SilPrNMe₂BuCl e SilPrNBu₃Cl) foi determinado por análise elementar utilizando o equipamento TruSpec 630-200-200, com uma amostra de aproximadamente 2 mg, uma temperatura do forno de combustão de 1075 °C, e uma temperatura do forno de pós-combustão de 850 °C. O método de quantificação de carbono e hidrogénio corresponde a absorção de infravermelho, e o de azoto a condutividade térmica.

2.4.2. Ressonância Magnética Nuclear de ¹³C

Os espectros de ressonância magnética nuclear de carbono no estado sólido (¹³C RMN) foram registados a 9,7 T num espectrómetro Bruker Avance III - 400 MHz (modelo DSX) com uma sonda VTN e rotação de ângulo mágico de polarização cruzada (CPMAS) de 4 mm a 100,6 MHz, à temperatura ambiente.

2.4.3. Ponto de Carga Zero

O ponto de carga zero (PZC) dos materiais foram determinados a partir de medidas de potencial zeta obtidas com o equipamento Malvern Zetasizer Nano ZS (Malvern Instruments Ltd. Malvern). Os valores de potencial Zeta foram registados para suspensões dos materiais em água a diferentes valores de pH. Para ajustar os valores de pH das suspensões foram utilizadas soluções de NaOH e HCl (0,01 M). As medidas foram efetuadas a 25 °C utilizando uma célula própria para o efeito.

2.4.4. Microscopia eletrónica de varrimento

A microscopia eletrónica de varrimento (SEM) foi realizada utilizando um microscópio Hitashi SU-70, equipado com EDX Bruker, modelo Quantax 400. Foi preparada uma suspensão dos materiais pela sua deposição em água sobre um substrato de vidro. Após

a evaporação do solvente, foi depositado um filme de carbono para aumentar a condutividade da amostra.

2.5.Estudos de Adsorção

2.5.1. Cinéticas de adsorção

Para o ácido acetilsalicílico, as cinéticas de adsorção para cada SIL foram determinadas utilizando 10 mL de soluções aquosas com uma concentração de 0,032 g.L⁻¹ (0,178 mmol.L⁻¹) de fármaco com 0,064 g dos LIS. Estas suspensões foram colocadas em erlenmeyers distintos num agitador orbital a 150 rpm e a $(25 \pm 0,5)$ °C. Para se avaliar a cinética de adsorção, foram recolhidas amostras da solução aquosa entre 0 e 180 min. De cada erlenmeyer (um para cada tempo de recolha), foram retirados 5 mL e colocados em falcons de 15 mL. Estes foram centrifugados a 6000 rpm durante 10 min, e a quantidade de ácido acetilsalicílico em solução foi quantificada através da espectroscopia de UV-Vis a 272 nm. Foram realizadas duas réplicas para cada tempo em análise.

As cinéticas de adsorção para a ciclofosfamida para cada material foram determinadas com 10 mL de solução aquosa com uma concentração de 100 μ g.mL⁻¹ (0,383 mmol.L⁻¹) utilizando 0,05 g de LIS. Colocaram-se asa amostras num agitador orbital, a 150 rpm e (25 ± 0,5) °C, em copos descartáveis que no final das experiências seguiram para inceneração. Tal como com o ácido acetilsalicílico, foram recolhidas amostras da solução aquosa entre 0 e 180 min. Foram retirados 1,5 mL de amostra, colocados em eppendorfs, e centrifugados a 6000 rpm durante 10 min. A quantidade de ciclofosfamida em solução foi quantificada por cromatografia líquida de alta eficiência, HPLC-DAD, a 197 nm. Foram realizadas duas réplicas para cada tempo em análise.

2.5.2. Isotérmicas de adsorção

Para determinar as isotérmicas de adsorção do ácido acetilsalicílico nos vários materiais, foi utilizado um procedimento semelhante ao descrito anteriormente. Foram utilizadas diferentes concentrações da solução de ácido acetilsalicílico que variam entre $0,012 \ e \ 0,32 \ g.L^{-1}$. Utilizou-se a mesma quantidade de LIS utilizada anteriormente para os estudos cinéticos ($0,064 \ g$) e definiu-se o tempo de equilíbrio aos 140 min. As condições de agitação e de centrifugação foram as mesmas aplicadas no estudo cinético. Estes valores encontram-se na Tabela 15 do anexo D.

Também para a ciclofosfamida, o procedimento utilizado foi semelhante ao descrito anteriormente. Foram utilizadas soluções aquosas de diferentes concentrações de

ciclofosfamida, que variam entre 10 e 200 μ g.mL⁻¹. Utilizou-se a mesma quantidade de LIS utilizada nos estudos cinéticos (0,05 g) e definiu-se o tempo de equilíbrio aos 140 min. As condições de agitação e de centrifugação foram as mesmas aplicadas ao estudo cinético. Estes valores encontram-se na Tabela 16 do anexo D.

3. Resultados e Discussão

3.1. Síntese e caracterização dos materiais

Os resultados do teor de carbono, hidrogénio e azoto dos vários LIS preparados encontram-se descritos na Tabela 5. O material SilprCl apresenta C e H, mas como esperado não contém N, indicado a ausência do anel aromático imidazólio. Os teores de carbono e azoto (em percentagem mássica) dos materiais finais suportados variam de 64,4% a 80,7 e de 0,8% a 20,3%, respetivamente. Relativamente ao azoto, esta percentagem vem do azoto existente no catião, permitindo concluir que os LIs foram imobilizados na superfície da sílica.

| Amostra | % C | % H | % N |
|---|------|------|------|
| SilPrCL | 79,3 | 20,7 | 0,0 |
| SilPrMImCl | 64,4 | 16,3 | 20,3 |
| SilPrNMe ₂ BzCl | 79,5 | 16,0 | 4,54 |
| SilprN(C ₈) ₃ Cl | 79,2 | 20,0 | 0,8 |
| SilPrNEt ₃ Cl | 80,7 | 15,2 | 4,05 |
| SilPrNBu ₃ Cl | 76,3 | 21,0 | 2,7 |
| SilPrNMe2BuCl | 78,8 | 16,3 | 4,95 |

Tabela 5 - Análise elementar (em percentagem mássica) dos LIS sintetizados.

Quanto aos espectros de RMN de ¹³C do material SilprCl, observam-se sinais a 10, 27 e 47 ppm, representados na Figura 10, e que correspondem aos três átomos de carbono (C2, C1 e C3).



Figura 10 - Espectro CPMAS de ¹³C do SilprCl.

O sucesso da preparação do SilprMImCl foi confirmado através de RMN de estado sólido de ¹³C, como demonstrado na Figura 11 onde os sinais a 10, 24 e 37 ppm correspondem aos três átomos de carbono da cadeia lateral alquílica do anel aromático (C2, C1 e C6), os sinais entre 120-140 ppm correspondem aos carbonos aromáticos do imidazólio (C5 e C4), e o sinal a 52 ppm corresponde ao carbono da cadeia metílica (C3).



Figura 11 – Espectro CPMAS de ¹³C do SilprMImCl.

Também foi confirmada a preparação do SilprNMe₂BzCl através de RMN de estado sólido de ¹³C, como demonstrado na Figura 12, onde os sinais a 10, 26 e 64 ppm correspondem aos três átomos de carbono da cadeia principal do SilprCl (C2, C1 e C3), o pico a 47 ppm corresponde aos carbonos da cadeia metílica (C4), o sinal a 68 ppm

corresponde ao carbono da cadeia metílica que se liga ao aromático (C5), e os sinais que variam de 120-140 ppm correspondem aos carbonos aromáticos do grupo dimetilbenzilo (C6, C7 e C8).



Figura 12 - Espectro CPMAS de ¹³C do SilprNMe₂BzCl.

A preparação do SilprNMe₂BuCl foi também confirmada através de RMN de estado sólido de ¹³C, como demonstrado na Figura 13, onde os sinais a 10, 15 e 64 ppm correspondem aos três átomos de carbono da cadeia principal do SilprCl (C2, C1 e C3), sendo que os picos a 15 e a 64 ppm também correspondem a dois dos carbonos da cadeia do dimetilbutilo (C8 e C5, respetivamente), os picos a 19 a 24 ppm correspondem aos carbonos C7 e C6, respetivamente (provenientes da cadeia de dimetilbutilo), e o pico a 50 ppm corresponde ao carbono C4 que confirma a existência das cadeias alquílicas no amónio quaternário.



Figura 13 - Espectro CPMAS de ¹³C do SilprNMe₂BuCl.

Para os restantes LIS, SilPrN(C₈)₃Cl, SilPrNBu₃Cl e SilPrNEt₃Cl, e pela análise dos espectros de CPMAS ¹³C, Figura 14, não se pode concluir se estes estão ou não funcionalizados, talvez devido à baixa extensão de funcionalização dos materiais com os respetivos líquidos iónicos. No entanto, outras técnicas (análise elementar apresentada atrás e PZC discutida de seguida) confirmam a funcionalização destes materiais.



Figura 14 - Espetro CPMAS de ¹³C dos distintos LIS sintetizados.

O potencial Zeta foi utilizado para estudar a carga superficial das partículas de sílica. Este refere-se ao potencial elétrico entre a camada interfacial de uma partícula dispersa e um ponto mais afastado desta camada [90]. Um dos fatores que tem maior influência no potencial zeta é o pH do meio. A Figura 15 mostra o potencial zeta em função do pH para os vários LIS sintetizados, comparando-os com o SilprCl. Registando-se a variação do potencial zeta com o pH podemos aferir o valor PZC do material, isto é, a que pH é que o material tem carga zero. Na Tabela 6 estão indicados os valores de PZC dos diferentes LIS.



Figura 15 - Representação do PZC para diferentes valores de pH para todos os LIS sintetizados.

| LIS | PZC |
|--|------|
| SilprCl | 4,50 |
| SilprMImCl | 9,52 |
| SilprNMe ₂ BzCl | 8,90 |
| SilprNEt ₃ Cl | 9,12 |
| SilprNBu ₃ Cl | 7,33 |
| SilprNMe ₂ BuCl | 9,19 |
| Silpr(C ₈) ₃ Cl | 6,30 |

Tabela 6 - Tabela com os valores do PZC para os quais os LIS têm carga zero.

Como se observa na Figura 15 e na Tabela 6 pode concluir-se que os valores dos seis LIS sintetizados são diferentes do SilPrCl, sendo que todos têm o seu ponto de carga zero a um pH superior ao do SilPrCl. Assim pode-se concluir que os LIS foram sintetizados com sucesso dado que estes valores devem-se à presença do catião.

A técnica de microscopia eletrónica de varrimento foi utilizada para caracterizar morfologicamente os vários LIS. A Figura 16 apresenta as imagens de SEM para alguns dos LIS sintetizados, nomeadamente SilPrMImCl e SilPrNEt₃Cl, com duas ampliações distintas. Em suma, não se observam alterações morfológicas nos LIS relativamente à sílica sem funcionalização, fenómeno análogo em todos os materiais preparados.



Figura 16 – Imagens de SEM para a sílica, o SilPrMImCl e SilPrNEt₃Cl.

3.2. Estudos de Adsorção

A adsorção ocorre quando um soluto gasoso ou líquido se acumula na superfície de um sólido ou de um líquido (adsorvente), formando um filme molecular ou atómico (o adsorvato). O adsorvato pode ser fixado através de ligações físicas ou químicas sobre um adsorvente e, consequentemente, ocorrerá adsorção física ou química [91]. A adsorção é considerada um dos métodos com melhor relação custo-benefício no tratamento de água [91].

Neste trabalho, os adsorventes investigados foram os vários LIS sintetizados, que visam remover o ácido acetilsalicílico e ciclofosfamida de soluções aquosas. As experiências de adsorção realizadas incluem o estudo da cinética de adsorção e do equilíbrio isotérmico de adsorção. Aos resultados experimentais obtidos foram aplicados vários modelos descritos de seguida.

A concentração de equilíbrio do adsorvato na fase sólida $(q_e /mmol.g^{-1})$ foi determinada a partir da Equação (1) [92]:

$$qe = \frac{(C_0 - C_e) \times V}{w} \tag{1}$$

onde w é a massa do LIS (g), V é o volume da solução de ácido acetilsalicílico (L), C_0 e C_e (mmol.L⁻¹) são, respetivamente, a concentração de equilíbrio da solução antes e depois do processo de adsorção nos LIS.

3.2.1. Cinética de adsorção

Foram aplicados dois modelos cinéticos, modelo de Lagergren [93] de pseudoprimeira ordem (PFO) e modelo de Ho [94] de pseudo-segunda ordem (PSO) aos resultados experimentais em termos de cinética de adsorção.

O modelo de Lagergren [93] é utilizado principalmente para descrever a adsorção de um adsorvato a partir de uma solução aquosa, tal como descrito pela Equação (2), onde S representa os locais de adsorção, M é o adsorvato e MS a concentração de adsorvato ligado ao sorvente [95]:

$$S + M \to MS$$
 (2)

Este modelo é descrito pela Equação (3):

$$\frac{dq_t}{dt} = k_1 \times (q_e - q_t) \tag{3}$$

onde t é o tempo (min), q_e é a quantidade de adsorvato adsorvido pelo adsorvente em equilíbrio (mmol.g⁻¹), q_t é a quantidade de adsorvato adsorvido pelo adsorvente nos diferentes tempos (mmol.g⁻¹), e k₁ (min⁻¹) é a constante de adsorção de pseudo-primeira ordem.

O modelo de pseudo-segunda ordem ou modelo de Ho [94], ao contrário do modelo anterior, descreve o comportamento do sistema em toda a faixa de sorção baseando-se, também, na capacidade de sorção do sólido. Este é representado pela equação (4) [96], [97].

$$2S + M \to M(S)_2 \tag{4}$$

Este modelo é semelhante ao de primeira ordem, excetuando que a adsorção do adsorvato no adsorvente é governada por uma equação de segunda ordem, onde a cinética é descrita pela Equação (5) [94], [95]:

$$\frac{dq_t}{dt} = k_2 \times (q_e - q_t)^2 \tag{5}$$

onde k_2 (g.mmol⁻¹.min⁻¹) é a constante de pseudo-segunda ordem.

Os modelos foram ajustados aos dados experimentais utilizando o software Matlab R2015a.

3.2.2. Isotérmicas de Adsorção

Os estudos das isotérmicas de adsorção fornecem informações sobre o mecanismo de adsorção, as propriedades da superfície e a afinidade do adsorvato para o adsorvente. Estes modelos indicam também como as moléculas de adsorvato se distribuem entre as fases líquida e sólida no equilíbrio. Os modelos de equilíbrio de adsorção mais comuns são os modelos de Langmuir [98] e Freundlich [99].

O modelo da isotérmica de Langmuir [98], [100], [101] é baseado em quatro pressupostos:

- a adsorção ocorre em locais definidos na superfície (centros ativos);
- a adsorção é homogénea, o que significa que uma única molécula de adsorvato é capaz de se ligar aos locais específicos do adsorvente;
- as moléculas adsorvidas não interagem umas com as outras;
- a adsorção apresenta um máximo (q_{max}) correspondente à formação de uma monocamada.

A isotérmica de Langmuir descreve-se pela equação (6):

$$q_e = \frac{q_{max} \times B \times C_e}{1 + B \times C_e} \tag{6}$$

onde C_e é a concentração em equilíbrio do adsorvato (mmol.L⁻¹), q_e é a concentração em equilíbrio do adsorvato na fase sólida (mmol.g⁻¹), B (L.mmol⁻¹) é a constante da isotérmica de Langmuir, e q_{max} (mmol.g⁻¹) é a capacidade máxima de adsorção da monocamada.

O modelo da isotérmica de Freundlich [99] assume que a cobertura do material se deve aproximar de um valor constante correspondente a uma camada monomolecular de soluto, à medida que C_e aumenta [100]. A equação (7) descreve a isotérmica de Freundlich:

$$q_e = K_f \times C_e^{1/n} \tag{7}$$

onde K_f e n são as constantes da isotérmica de Freundlich e representam a capacidade de adsorção e a intensidade de adsorção, respetivamente [102], [103]. Valores de n entre 1 e 10 indicam uma adsorção favorável e está relacionado com a não linearidade do modelo.

Os modelos foram ajustados aos dados experimentais utilizando o software Matlab R2015a.

Também foi também calculada a eficiência de adsorção (%AE) para todos os LIS a partir da equação (8):

$$\% AE = \frac{C_0 - C_e}{C_0} \times 100$$
⁽⁸⁾

onde C_0 e C_e (mmol.L⁻¹) são as concentrações de equilíbrio de cada um dos fármacos antes e depois da adsorção nos LIS, respetivamente. As concentrações iniciais de ácido acetilsalicílico foi de 0,178 mmol.L⁻¹ e de ciclofosfamida foi de 100µmol.L⁻¹.

3.3. Adsorção do Ácido Acetilsalicílico

3.3.1. Cinéticas de adsorção

As curvas cinéticas de adsorção do ácido acetilsalicílico nos vários LIS foram determinadas com o objetivo de avaliar e estabelecer o tempo de contato adequado para estudos posteriores em isotérmicas de adsorção. Os valores experimentais de q_e, assim

como os da eficiência de adsorção, assumidos como máximos, estão descritos na Tabela 7. A concentração inicial do fármaco nestes ensaios corresponde a 0,178 mmol.L⁻¹, onde se utilizou um volume de 10 mL de solução aquosa com fármaco e 0,064 g de material.

| SIL | q e,experimental (mmol.g ⁻¹) | $\% AE \pm \sigma$ |
|--------------------------|---|--------------------|
| SilPrMImCl | $0,0044 \pm 0,0001$ | $14,0\pm8,7$ |
| SilPrNMe2BzCl | $0,0214 \pm 0,0003$ | $72,1\pm0,3$ |
| SilPrNBu ₃ Cl | $0,\!0157\pm0,\!0004$ | $55,9 \pm 3,2$ |
| SilPrNMe2BuCl | $0,0232 \pm 0,0016$ | $63,5\pm0,1$ |
| SilPrN(C8)3Cl | $0,\!0149\pm0,\!0014$ | $53,0\pm0,0$ |

Tabela 7 – Valores de q_e (mmol.g⁻¹) e eficiência de adsorção (% AE) correspondente ao estudo da cinética de adsorção do ácido acetilsalicílico.

Para explorar os mecanismos de adsorção do ácido acetilsalicílico nos LIS sintetizados, foram aplicados dois modelos cinéticos, um de pseudo-primeira ordem (equação (3)) e um de pseudo-segunda ordem (equação (5)). As comparações dos resultados experimentais com os vários ajustes encontram-se na Figura 17, e os parâmetros cinéticos de adsorção encontram-se resumidos na Tabela 8.



Figura 17 - Valores experimentais do q_e (mmol.g⁻¹) do ácido acetilsalicílico em função do tempo (min), com as respetivas barras de erro, e representação dos modelos cinéticos de pseudo-primeira ordem (PFO) e pseudo-segunda ordem (PSO) para os materiais: SilprNBu₃Cl (A), SilprNMe₂BzCl (B), SilprN(C₈)₃Cl (C), SilprNMe₂BuCl (D) e SilprMImCl (E).

| | Pseudo-P | rimeira oi | rdem | Pseudo-Segunda ordem | | | |
|----------------------------|-------------------------|----------------------|-----------------------|-------------------------|----------------------|----------------|--|
| SIL | q _e | \mathbf{k}_1 | D ² | q _e | k_2 | \mathbb{R}^2 | |
| | (mmol.g ⁻¹) | (min ⁻¹) | K | (mmol.g ⁻¹) | (min ⁻¹) | | |
| SilPrMImCl | 0,0043 | 0,197 | 0,980 | 0,0044 | 216,187 | 0,993 | |
| SilPrNMe ₂ BzCl | 0,0210 | 0,332 | 0,971 | 0,0212 | 142,290 | 0,993 | |
| SilPrNBu ₃ Cl | 0,0151 | 0,351 | 0,989 | 0,0158 | 43,866 | 0,994 | |
| SilPrNMe2BuCl | 0,0227 | 0,388 | 0,955 | 0,0230 | 115,670 | 0,985 | |
| SilPrN(C8)3Cl | 0,0141 | 0,434 | 0,980 | 0,0148 | 51,472 | 0,982 | |

Tabela 8 - Parâmetros cinéticos para os modelos de pseudo-primeira ordem (PPO) e pseudo-segunda ordem (PSO) para os diferentes LIS sintetizados.

Com todos os materiais, e nas condições avaliadas, verificou-se que após 20 min já se tinha estabelecido o equilíbrio do adsorvato na fase sólida, que se manteve constante até aos 180 min avaliados. A adsorção do ácido acetilsalicílico é muito rápida (\approx 20 min), o que significa uma rápida ligação deste fármaco à superfície do adsorvente. As concentrações máximas de equilíbrio de adsorvato na fase sólida foram de (0,0044 ± 0,0001) mmol.g⁻¹, (0,0214 ± 0,0003) mmol.g⁻¹, (0,0157 ± 0,0004) mmol.g⁻¹, (0,0232 ± 0,0016) mmol.g⁻¹ e (0,0149 ± 0,0014) mmol.g⁻¹ para os materiais SilPrMImCl, SilPrNMe₂BzCl, SilPrNBu₃Cl, SilPrNMe₂BuCl, e SilPrN(C₈)₃Cl, respetivamente. De acordo com os resultados obtidos, a concentração de equilíbrio do adsorvato na fase sólida diminui na seguinte sequência de LIS: SilPrNMe₂BuCl > SilPrNMe₂BzCl > SilPrNBu₃Cl > SilPrN(C₈)₃Cl > SilPrMImCl. Em suma, conclui-se que os materiais mais eficientes são o SilPrMe₂BuCl e o SilPrNMe₂BzCl, sendo que as eficiências de adsorção experimentais foram de (63,5±0,1)% e de (72,1±0,3)%, respetivamente.

De acordo com os coeficientes de correlação (R²) obtidos para o modelo cinético e listados na Tabela 8, conclui-se o modelo de pseudo-segunda ordem descreve de melhor forma os dados experimentais de adsorção. Esses resultados indicam que o processo de adsorção é controlado pela adsorção na interface líquido-sólido no adsorvente.

No estudo do ácido acetilsalicílico foi também determinado o pH a que se realizaram os estudos de adsorção afim de verificar se a adsorção pode ser favorecida por interações electroestáticas entre o fármaco e os LIS testados. O pH medido para a solução aquosa foi de 3,18. Tendo em consideração o pKa do ácido acetilsalicílico dado na Tabela

2 e na Figura 22 do Anexo A, a este pH o fármaco encontra-se em ambas as formas, neutra e carregada negativamente, pelo que devem existir interações electroestáticas e interações dispersivas entre o fármaco e o SIL responsáveis pelas elevadas eficiência de adsorção observadas.

3.3.2. Isotérmicas de adsorção

Os dados experimentais das isotérmicas de adsorção a 25°C foram ajustados pelos modelos de Langmuir [98] e Freundlich [99], dados pelas equações (6) e (7), respetivamente. O tempo de contato para realizar os estudos de isotérmicas de adsorção foi fixado em 140 min para garantir que o equilíbrio fosse totalmente atingido. A relação entre as concentrações de equilíbrio do ácido acetilsalicílico entre as fases sólida e líquida é apresentada na Figura 18, onde se encontram também representados os modelos utilizados.



Figura 18 - Valores experimentais de q_e (mmol.g⁻¹) em função de C_e(mmol.L⁻¹) para o ácido acetilsalicílico, e representação dos modelos de Langmuir e Freundlich para os materiais: SilPrNBu₃Cl (A), SilPrNMe₂BzCl(B), SilPrN(C₈)₃Cl (C), SilPrNMe₂BuCl (D) e SilPrMImCl (E).

A adsorção do ácido acetilsalicílico em LIS aumenta com o aumento da sua concentração inicial até à saturação, onde se observa posteriormente um patamar em q_e que corresponde ao equilíbrio e saturação do material. Tal como descrito pela Figura 18, as isotérmicas de adsorção apresentam um perfil adequando, mostrando que a saturação e equilíbrio foram atingidos e que não existe desorção do analito nestes ensaios.

Na Tabela 9 estão apresentados os parâmetros das isotérmicas de adsorção e os coeficientes de correlação (R²) correspondentes aos modelos de Langmuir (equação (6)) e de Freundlich (equação (7)).

Tabela 9 - Constantes calculadas a partir dos modelos de Langmuir e Freundlich e respetivos coeficientes de correlação para a adsorção do ácido acetilsalicilico nos vários SIL sintetizados.

| | La | ngmuir | | Freundlich | | |
|---|-------------------------|-------------------------|----------------|------------|------|----------------|
| SIL | q _{max} | В | \mathbf{P}^2 | kc | n | \mathbf{P}^2 |
| | (mmol.g ⁻¹) | (L.mmol ⁻¹) | К | κī | 11 | K |
| SilPrMImCl | 0,03 | 2,27 | 0,967 | 0,0250 | 1,83 | 0,929 |
| SilPrNMe ₂ BzCl | 0,12 | 4,00 | 0,961 | 0,1194 | 1,80 | 0,929 |
| SilPrNBu ₃ Cl | 0,06 | 4,43 | 0,972 | 0,0511 | 2,33 | 0,925 |
| SilPrNMe ₂ BuCl | 0,08 | 4,03 | 0,982 | 0,0612 | 2,76 | 0,945 |
| SilPrN(C ₈) ₃ Cl | 0,03 | 27,5 | 0,986 | 0,0589 | 2,35 | 0,950 |

Para o modelo de Langmuir os R² são: 0,967, 0,961, 0,972, 0,982 e 0,986 para SilPrMImCl, SilPrNMe₂BzCl, SilPrNBu₃Cl, SilPrNMe₂BuCl e SilPrN(C₈)₃Cl, respetivamente. Para o modelo de Freundlich os R² são: 0,929, 0,929, 0,925, 0,945 e 0,950 para SilPrMImCl, SilPrNMe₂BzCl, SilPrNBu₃Cl, SilPrNMe₂BuCl e SilPrN(C₈)₃Cl, respetivamente. Assim, comparando os valores de R², observa-se que os R²_{Langmuir} > R²_{Freundlich} em todos os LIS, levando a concluir que a adsorção do ácido acetilsalicílico nos cinco LIS é melhor descrita pelo modelo de Langmuir. Esta tendência sugere que a adsorção do fármaco ocorre através da formação de uma monocamada na superfície externa do adsorvente.

Pelo modelo de Langmuir, a capacidade máxima de adsorção na monocamada é de 0,03, 0,12, 0,06, 0,08 e 0,03 mmol.g⁻¹ para SilPrMImCl, SilPrNMe₂BzCl, SilPrNBu₃Cl, SilPrNMe₂BuCl e SilPrN(C₈)₃Cl, respetivamente (Tabela 9). Estes valores correspondem a uma quantidade máxima de equilíbrio de 0,005g, 0,022g, 0,011g, 0,014g e 0,005g de fármaco por grama de material, para SilPrMImCl, SilPrNMe₂BzCl, SilPrNBu₃Cl, SilPrNMe₂BuCl e SilPrN(C₈)₃Cl, respetivamente.

O ácido acetilsalicílico é encontrado em águas residuais em valores na ordem dos $\mu g.L^{-1}$ [104]. Considerando um valor é 1 $\mu g.L^{-1}$, e considerando o valor máximo de q_{max}

(0,120 mmol.g⁻¹) determinado pelo modelo de Langmuir correspondente ao SIL SilPrNMe₂BzCl, pode-se concluir que 1 g deste material será capaz de tratar cerca de 22000 L de água (em condições ideais).

Existem alguns estudos na literatura sobre a utilização de outros materiais para a remoção do mesmo fármaco de soluções aquosas. Por exemplo, já foi reportada a utilização de um zeólito natural (clinoptilolita) modificado com catiões metálicos (Cu(II), Zn(II), Ni(II) e Mn(II)) e com argilas (caulino e bentonita, puras ou modificadas por troca iónica com cloreto de octadecildimetilbenzilamónio) para remover ácido acetilsalicílico, com capacidades de adsorção que variam entre 0,011 e 0,021 mmol.g⁻¹ [52]. Comparando com os resultados obtidos neste trabalho, os LIS surgem como materiais mais promissores para a remoção deste fármaco. Também se estudaram 3 tipos de carvão ativado para remover o ácido acetilsalicílico de soluções aquosas, com um q_e reportado de 0,1 mmol.g⁻¹ [92]. Este valor é semelhante ao obtido com o SilPrNMe₂BzCl neste trabalho. Deve-se no entanto salientar que a utilização de carvão ativado acarreta algumas desvantagens, nomeadamente tem de ser descartado após o seu tratamento, para além de que o seu transporte e/ou reciclagem têm elevados custos operacionais.

3.4. Adsorção da Ciclofosfamida

N os estudos de adsorção da ciclofosfamida foi efetuado primeiramente um ensaio preliminar em termos de cinética de adsorção de modo a identificar quais os melhores LIS para remover este fármaco. Assim preparou-se para uma solução de ciclofosfamida com uma concentração de 100 µmol.L⁻¹, onde se utilizou um volume de 10 mL em equilíbrio com 0,05 g de material. Os resultados obtidos encontram-se sumariados na Figura 19.



Figura 19 - Estudo preliminar em termos de cinética de adsorção da ciclofosfamida nos vários LIS.

O comportamento observado com os LIS SilrMe₂BuCl, SilprMe₂BzCl e SilprMImCl é diferente do dos LIS SilprNBu₃Cl, SilprNEt₃Cl e SilprN(C₈)₃Cl. Nestes três últimos materiais, ocorre uma adsorção muito rápida onde é estabelecido um patamar de equilíbrio entre os 15-20 min. Nestes observa-se um processo de adsorção tal como previsto, sem desorção do fármaco para tempos superiores. O comportamento em termos de cinética de adsorção evidenciado pelos materiais SilprMe₂BuCl, SilprMe₂BzCl e SilprMImCl indica processos de desorção ao longo do tempo, assim como alguns erros experimentais que possam ter acontecido na amostragem e quantificação, necessitando portanto de estudos mais aprofundados no futuro para avaliar a performance destes materiais na remoção da ciclofosfamida.

Em todos os casos o pH da solução aquosa é cerca de 6. Tendo em atenção o valor de pKa da CF dado na Tabela 2 e a sua especiação em função do pH descrita na Figura 23 do Anexo A, o fármaco encontra-se na sua forma neutra às condições em que foram realizados os ensaios. Assim, não se esperam interações eletrostáticas entre a CF e os LIS testados, o que por sua vez pode justificar o fato de os LIS com cadeias alquílicas de diferentes tamanhos, apresentarem uma melhor performance para a remoção do citostático dado que se favorecem interações de van der Waals.

Os resultados que se apresentam e discutem de seguida referem-se aos 3 SILs onde o comportamento em termos de cinética de adsorção foi de acordo com o esperado.

3.4.1. Cinética de adsorção

As cinéticas de adsorção da ciclofosfamida foram avaliadas para os três LIS selecionados: SilprNBu₃Cl, SilprNEt₃Cl, SilprN(C₈)₃Cl. Estes ensaios foram realizados para se avaliar o tempo de contato a partir do qual existe equilíbrio entre o analito em solução e o adsorvado, possibilitando estudos posteriores das isotérmicas de adsorção. As concentrações de fármaco, volume de solução e massa de material correspondem às descritas anteriormente. Aplicaram-se as equações (3) e (5) para o modelo de pseudo-primeira ordem e para o modelo de pseudo-segunda ordem, respetivamente, aos dados experimentais. Tal como realizado para o ácido acetilsalicílico, também foi calculada a %AE dos 3 SIL para a ciclofosfamida pela equação (8). Os valores experimentais de q_e, assim como os da eficiência de adsorção, assumidos como máximos, estão descritos na Tabela 10. A concentração inicial do fármaco nestes ensaios corresponde a 100µmol.L⁻¹, onde se utilizou um volume de 10mL de solução aquosa de fármaco e 0,05 g de material.

| SIL | q e,experimental (mmol.g ⁻¹) | $MAE \pm \sigma$ |
|--------------------------|---|------------------|
| SilPrNBu ₃ Cl | $0,0563 \pm 0,0007$ | $82,6 \pm 0,4$ |
| SilPrNEt ₃ Cl | $0,0560 \pm 0,0001$ | $81,8\pm0,2$ |
| SilPrN(C8)3Cl | $0,0563 \pm 0,0001$ | $83,3 \pm 0,2$ |

Tabela 10 - Valores de q_e (mmol.g⁻¹) e eficiência de adsorção (% AE) correspondente ao estudo da cinética de adsorção da ciclofosfamida.

Para explorar os mecanismos de adsorção da ciclofosfamida nos LIS selecionados foram posteriormente aplicados dois modelos cinéticos, os modelos cinéticos de pseudo-

primeira ordem (equação (3)) e pseudo-segunda ordem (equação (5)). Os respectivos ajustes encontram-se na Figura 20 e os parâmetros cinéticos de adsorção estão resumidos na Tabela 11.



Figura 20 - Valores experimentais de q_e (mmol.g-1) da ciclofosfamida em função do tempo (min), com as respetivas barras de erro, e representação dos modelos cinéticos de pseudo-primeira ordem (PFO) e pseudo-segunda ordem (PSO) para os materiais SilPrNBu₃Cl (A), SilPrN(C₈)₃Cl (B) e SilPrNEt₃Cl (C).

| Pseudo-Primeira ordemSILqek1RR | Pseudo-P | rimeira or | dem | Pseudo-Segunda ordem | | | |
|--------------------------------|------------------------|----------------------|----------------|------------------------|----------------------|-------|--|
| | \mathbb{R}^2 | q _e | k ₂ | \mathbb{R}^2 | | | |
| | (mmol.g^{-1}) | (min ⁻¹) | | (mmol.g^{-1}) | (min ⁻¹) | | |
| SilPrNBu ₃ Cl | 0,0559 | 0,599 | 0,979 | 0,0562 | 166,410 | 0,876 | |
| SilPrNEt ₃ Cl | 0,0556 | 0,442 | 0,965 | 0,0558 | 173,592 | 0,991 | |
| SilPrN(C8)3Cl | 0,0557 | 0,709 | 0,969 | 0,0560 | 164,148 | 0,992 | |

Tabela 11 - Parâmetros cinéticos para os modelos de pseudo-primeira ordem (PPO) e pseudo-segunda ordem (PSO) para os diferentes LIS sintetizados.

Nas condições avaliadas, verificou-se que após 15 min já se tinha estabelecido o equilíbrio do adsorvato na fase sólida, que se mantém constante até aos 180 min

avaliados. Tal como para o ácido acetilsalicílico (20min), a adsorção da ciclofosfamida é muito rápida o que significa uma rápida ligação deste fármaco na superfície do adsorvente. A concentração máxima de equilíbrio de adsorvato na fase sólida é semelhante para os três LIS: (0,0563 \pm 0,0007) mmol.g⁻¹, (0,0560 \pm 0,0001) mmol.g⁻¹ e (0,0563 \pm 0,0001) mmol.g⁻¹ para o SilPrN(C₈)₃Cl, SilPrNBu₃Cl e SilPrNEt₃Cl, respetivamente. Os coeficientes de correlação (R²) obtidos para o modelo cinético de pseudo-primeira ordem são 0,969, 0,979 e 0,965, enquanto que os obtidos para o modelo de segunda ordem são 0,969, 0,976 e 0,991, para SilPrN(C₈)₃Cl, SilPrNBu₃Cl e SilPrNEt₃Cl e SilPrNEt₃Cl, respetivamente. Conclui-se que o modelo de pseudo-primeira ordem descreve melhor os dados experimentais de adsorção para o SilPrNBu₃Cl, enquanto que para os outros dois LIS o modelo cinético de pseudo-segunda ordem é o que descreve melhor os dados experimentais. Assim, podemos dizer que para o SilPrN(C₈)₃Cl e o SilPrNEt₃Cl o processo de adsorção é controlado pela adsorção na interface líquido-sólido no adsorvente, enquanto que no caso do SilPrNBu₃Cl o processo de adsorção é controlado pela adsorção na interface líquido-sólido por difusão na partícula do adsorvente [105].

3.4.2. Isotérmicas de adsorção

Os modelos de Langmuir [98] e Freundlich [99] foram aplicados aos dados experimentais das isotérmicas de adsorção a 25°C. O tempo de contato para realizar os estudos de isotérmicas de adsorção foi fixado em 140 min para garantir que o equilíbrio fosse totalmente atingido. A relação entre as concentrações de equilíbrio da ciclofosfamida entre as fases sólida e líquida é apresentada na Figura 21, onde estão também representados os dois modelos utilizados.



Figura 21 - Valores experimentais de $q_e \pmod{g^{-1}}$ em função de $C_e \pmod{L^{-1}}$ para a ciclofosfamida, e representação dos modelos de Langmuir e Freundlich para SilPrNBu₃Cl (A), SilPrN(C₈)₃Cl (B) e SilPrNEt₃Cl (C).

A adsorção da ciclofosfamida nos LIS aumenta com o aumento da sua concentração inicial até a saturação, até se atingir um patamar em q_e. Figura 21 é também possível verificar que as isotérmicas apresentam um perfil favorável.

| | • | Langmuir | Freundlich | | | |
|--------------------------|------------------------|-------------------------|----------------|----------|------|----------------|
| SIL | q _{max} | В | \mathbf{R}^2 | kf | n | \mathbf{R}^2 |
| | (mmol.g^{-1}) | (L.mmol ⁻¹) | к 1) | ту ту | 11 | ix i |
| SilPrNBu ₃ Cl | 0,09 | 8,188 | 0,968 | 0,107 | 2,09 | 0,935 |
| SilPrNEt ₃ Cl | 0,08 | 8,190 | 0,925 | 0,097 | 2,14 | 0,881 |
| SilPrN(C8)3Cl | 0,08 | 10,87 | 0,942 | 0,097 | 2,40 | 0,890 |

Tabela 12 - Constantes calculadas a partir dos modelos de Langmuir e Freundlich e respetivos coeficientes de correlação para a adsorção da ciclofosfamida nos vários LIS sintetizados.

Na Tabela 12 são apresentados os parâmetros das isotérmicas e os coeficientes de correlação (R^2) calculados pelas equações (6) e (7), derivados dos modelos de Langmuir e de Freundlich. Para o modelo de Langmuir os R^2 são: 0,968, 0,925 e 0,942 para SilPrNBu₃Cl, SilPrNEt₃Cl e SilPrN(C₈)₃Cl, respetivamente. Para o modelo de Freundlich os R^2 são: 0,935, 0,881 e 0,890 para SilPrNBu₃Cl, SilPrNEt₃Cl e SilPrN(C₈)₃Cl, respetivamente. SilPrNEt₃Cl e SilPrN(C₈)₃Cl, respetivamente. Assim, observa-se que $R^2_{Langmuir} > R^2_{Freundlich}$ em todos os LIS, indicando que a adsorção da ciclofosfamida é melhor descrita pelo modelo de Langmuir, tal como se verificou com o ácido acetilsalicílico. Esta tendência sugere que a adsorção do fármaco ocorre através da formação de uma monocamada na superfície externa do adsorvente, onde não ocorre mais adsorção.

Obteve-se uma concentração máxima de equilíbrio de adsorvato, pelo modelo de Langmuir, muito semelhante nos três LIS: 0,08, 0,09 e 0,08 mmol.g⁻¹ para SilprNEt₃Cl, SilprNBu₃Cl, e SilprN(C₈)₃Cl, respetivamente. Estes valores correspondem a uma concentração máxima de equilíbrio de 0,0209, 0,0236 e 0,0209 g de ciclofosfamida adsorvido por grama de material.

Segundo pesquisa efetuada, não foram encontrados artigos científicos que reportem a remoção da ciclofosfamida com outros materiais. No entanto, foi encontrado um trabalho que utiliza métodos de oxidação para a degradação do fármaco [106]. Segundo este estudo, obteve-se uma remoção de ciclofosfamida de 59% para uma concentração inicial da solução de 0,0000053 g.L⁻¹ [106]. Comparando este valor com o valor mais elevado de eficiência de adsorção obtida neste trabalho (83,3% para o SilPrN(C₈)₃Cl para uma concentração inicial de 0,09 g.L⁻¹), podemos concluir que os SIL preparados são muito mais eficientes. Para além disso, neste trabalho são utilizados

adsorventes onde não ocorre a degradação dos fármacos, mas sim a sua remoção, não produzindo assim produtos de degradação com toxicidade muitas vezes desconhecida. Deste modo, a sílica modificada com LIs pode ser considerada como um material de adsorção eficiente para remover este tipo de fármacos de amostras aquosas.

Visando aplicação destes materiais na remoção de ciclofosfamida de urina, e atentando que a quantidade máxima de ciclofosfamida que é administrada num paciente diariamente é 300 mg [107], que a quantidade que é excretada pela urina é de 25% da quantidade administrada [14], e que a quantidade média de urina de uma pessoa é de 2 L/dia, obtém-se uma concentração de ciclofosfamida na urina de 0,0375 g/L. Assim, tendo em conta o material com uma maior capacidade de adsorção (SilprNBu₃Cl), uma grama deste material é capaz de tratar 0,577 L de urina.

Se estes materiais forem considerados para possível remoção de ciclofosfamida em efluentes de ETAR, onde este fármaco foi detetada em níveis que variam entre 50 μ g.L⁻¹ a 10 ng.L⁻¹ [42], considerando a concentração máxima (50 μ g.L⁻¹), temos que 1 g do melhor material preparado consegue tratar ("idealmente") cerca de 418 L de água.

4. Conclusões e Trabalho futuro

O objetivo principal desta dissertação consistiu no estudo da adsorção de um citostático, a ciclofosfamida, utilizando líquidos iónicos suportados (LIS) em sílica, visando a potencial aplicação destes materiais na remoção de citostáticos de amostras de urina de pacientes oncológicos. Foram sintetizados e caracterizados seis LIS para o efeito. Devido à elevada toxicidade deste fármaco e condições de segurança necessárias, todo o procedimento experimental a adotar foi primeiramente validado com o ácido acetilsalicílico.

No caso do ácido acetilsalicílico, e para todos os LIS e condições estudadas, verificou-se que o equilíbrio de adsorção é alcançado aproximadamente aos 20 min. Para a ciclofosfamida, o equilíbrio é alcançado aproximadamente aos 15 min para todos os LIS estudados. Os resultados cinéticos e de equilíbrio de adsorção foram interpretados por modelos bem conhecidos e amplamente utilizados. Para o ácido acetilsalicílico, os valores experimentais de cinética de adsorção são melhores descritos pelo modelo de pseudo-segunda ordem para todos os LIS, e as concentrações máximas de equilíbrio de adsorvato na fase sólida são de (0,0044 \pm 0,0025) mmol.g⁻¹, (0,0214 \pm 0,0003) mmol.g⁻¹, (0,0157 \pm 0,0004) mmol.g⁻¹, (0,0232 \pm 0,0066) mmol.g⁻¹ e (0,0149 \pm 0,0014) mmol.g⁻¹, para SilPrMImCl, SilPrNMe₂BzCl, SilPrNBu₃Cl, SilPrNMe₂BuCl, e SilPrN(C₈)₃Cl, respetivamente. Também foram determinadas as isotérmicas de adsorção do ácido acetilsalicílico, sendo o melhor ajuste conseguido pelo modelo de Langmuir.

No caso da ciclofosfamida foi realizado um ensaio preliminar para verificar quais os LIS que apresentavam um melhor comportamento para a adsorção deste fármaco, permitindo a seleção de três LIS: SilPrNBu₃Cl, SilPrNEt₃Cl e SilPrN(C₈)₃Cl. O melhor ajuste dos dados experimentais de cinética de adsorção é conseguido pelo modelo de pseudo-segunda ordem para os dois últimos LIS, sendo que para o SilPrNBu₃Cl o modelo de pseudo-primeira ordem ajusta-se melhor aos dados experimentais. A concentração máxima de equilíbrio de adsorvato na fase sólida é semelhante para os três LIS: (0,0563 \pm 0,0007) mmol.g⁻¹, (0,0560 \pm 0,0001) mmol.g⁻¹ e (0,0563 \pm 0,0001) mmol.g⁻¹ para SilPrN(C₈)₃Cl, SilPrNBu₃Cl e SilPrNEt₃Cl, respetivamente. No que toca às isotérmicas de equilíbrio, o modelo de Langmuir é o que melhor descreve os dados experimentais.

Como proposta de trabalho futuro, e relativamente à síntese de materiais, e sabendo agora a influência da estrutura química do LI sobre a adsorção da CF, será de

apostar na síntese de LIS utilizando LIs com cadeias alquílicas longas. Posteriormente, deveria ser avaliada a capacidade destes materiais para remover ciclofosfamida de amostras reais de urina, primeiramente de pacientes saudáveis com quantidades conhecidas de fármaco adicionadas, seguida de amostras de urina de pacientes oncológicos.

Contrariamente às técnicas de oxidação que degradam a ciclofosfamida, a técnica aqui proposta permite a remoção e não a degradação da ciclofosfamida, pelo que é expectável uma redução significativa da toxicidade das soluções aquosas tratadas. De um modo geral, devem, no entanto, ser realizados ensaios de citotoxicidade das amostras tratadas.

5. Referências

- [1] WHO, «Global Action Plan for the Prevention and Control of NCDs 2013–2020»,
 2017. [Em linha]. Disponível em: http://www.who.int/nmh/events/ncd_action_plan/en/. [Acedido: 10-Jul-2018].
- [2] American Cancer Society, «The History of Cancer | First Cancer Diagnosis». [Em linha]. Disponível em: https://www.cancer.org/cancer/cancer-basics/history-ofcancer.html. [Acedido: 03-Mar-2018].
- [3] American Cancer Society, «Cancer in the Twenty-first Century | American Cancer Society». [Em linha]. Disponível em: https://www.cancer.org/cancer/cancerbasics/history-of-cancer/twenty-first-century-and-beyond.html. [Acedido: 31-Jan-2018].
- [4] WHO, «WHO | Cancer», WHO, 2018. [Em linha]. Disponível em: http://www.who.int/cancer/en/. [Acedido: 29-Jan-2018].
- [5] C. Fitzmaurice, C. Allen, R. M. Barber, e E. All, «Global, Regional, and National Cancer Incidence, Mortality, Years of Life Lost, Years Lived With Disability, and Disability-Adjusted Life-years for 32 Cancer Groups, 1990 to 2015», *JAMA Oncol.*, vol. 3, n. 4, p. 524, Abr. 2017.
- [6] J. Ferlay, I. Soerjomataram, R. Dikshit, S. Eser, C. Mathers, M. Rebelo, D. M. Parkin, D. Forman, e F. Bray, «Cancer incidence and mortality worldwide: Sources, methods and major patterns in GLOBOCAN 2012», *Int. J. Cancer*, vol. 136, n. 5, pp. E359–E386, Mar. 2015.
- [7] K. Kümmerer, A. Haiß, A. Schuster, A. Hein, e I. Ebert, «Antineoplastic compounds in the environment—substances of special concern», *Environ. Sci. Pollut. Res.*, vol. 23, n. 15, pp. 14791–14804, Ago. 2016.
- [8] Cancer Research UK, «Worldwide cancer statistics | Cancer Research UK». [Em linha]. Disponível em: http://www.cancerresearchuk.org/healthprofessional/cancer-statistics/worldwide-cancer#heading-Zero. [Acedido: 01-Jan-2018].
- [9] WHO, «Cancer Primary Prevention Policies Total high energy teletherapy units / million inhabitants Number of radiotherapy centres Yes Cancer Plans, Monitoring and Surveillance Cancer Treatment and Palliative Care», 2010.
- [10] Liga Portuguesa Contra o Cancro, «Métodos de Tratamento», 2017. [Em linha].

Disponível em: https://www.ligacontracancro.pt/metodos-de-tratamento/. [Acedido: 06-Jun-2018].

- [11] E. Dickens e S. Ahmed, «Principles of cancer treatment by chemotherapy», *Surg.*, vol. 36, n. 3, pp. 134–138, Mar. 2018.
- [12] National Cancer Institute, «Types of Cancer Treatment», 2017. [Em linha].
 Disponível em: https://www.cancer.gov/about-cancer/treatment/types. [Acedido: 06-Jun-2018].
- [13] V. J. O'Neill e C. J. Twelves, «Oral cancer treatment: developments in chemotherapy and beyond», *Br. J. Cancer*, vol. 87, n. 9, pp. 933–937, Out. 2002.
- [14] L. Kovalova, «Cytostatics in the aquatic environment : analysis, occurrence, and possibilities for removal», 2014.
- [15] S. A. Payne, «A study of quality of life in cancer patients receiving palliative chemotherapy», Soc. Sci. Med., vol. 35, n. 12, pp. 1505–1509, Dez. 1992.
- [16] M. Isidori, M. Lavorgna, C. Russo, M. Kundi, B. Žegura, M. Novak, M. Filipič, M. Mišík, S. Knasmueller, M. L. de Alda, D. Barceló, B. Žonja, M. Česen, J. Ščančar, T. Kosjek, e E. Heath, «Chemical and toxicological characterisation of anticancer drugs in hospital and municipal wastewaters from Slovenia and Spain», *Environ. Pollut.*, vol. 219, pp. 275–287, 2016.
- [17] N. Dorival-García, A. Zafra-Gómez, S. Cantarero, A. Navalón, e J. L. Vílchez, «Simultaneous determination of 13 quinolone antibiotic derivatives in wastewater samples using solid-phase extraction and ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry», *Microchem. J.*, vol. 106, pp. 323– 333, Jan. 2013.
- [18] T. aus der Beek, F.-A. Weber, A. Bergmann, S. Hickmann, I. Ebert, A. Hein, e A. Küster, «Pharmaceuticals in the environment-Global occurrences and perspectives», *Environ. Toxicol. Chem.*, vol. 35, n. 4, pp. 823–835, Abr. 2016.
- [19] B. Kasprzyk-Hordern, R. M. Dinsdale, e A. J. Guwy, «The removal of pharmaceuticals, personal care products, endocrine disruptors and illicit drugs during wastewater treatment and its impact on the quality of receiving waters», *Water Res.*, vol. 43, n. 2, pp. 363–380, Fev. 2009.
- [20] K. Kümmerer, «The presence of pharmaceuticals in the environment due to human use present knowledge and future challenges», *J. Environ. Manage.*, vol. 90, n. 8, pp. 2354–2366, Jun. 2009.
- [21] V. L. Cunningham, S. P. Binks, e M. J. Olson, «Human health risk assessment

from the presence of human pharmaceuticals in the aquatic environment», *Regul. Toxicol. Pharmacol.*, vol. 53, n. 1, pp. 39–45, Fev. 2009.

- [22] T. Ternes, «Pharmaceuticals and Metabolites as Contaminants of the Aquatic Environment», Am. Chem. Soc., vol. 791, pp. 39–54, Jul. 2001.
- [23] C. G. Daughton, «Contaminants of Emerging Concern in the Environment: Ecological and Human Health Considerations», *Am. Chem. Soc.*, vol. 1048, pp. 9– 68, Jan. 2010.
- [24] GWRC, «Pharmaceuticals and personal care products in the water cycle. An international review», *Glob. Water Res. Coalit.*, vol. 1, pp. 1–35, 2004.
- [25] Y. Yang, Y. S. Ok, K.-H. Kim, E. E. Kwon, e Y. F. Tsang, «Occurrences and removal of pharmaceuticals and personal care products (PPCPs) in drinking water and water/sewage treatment plants: A review», *Sci. Total Environ.*, vol. 596–597, pp. 303–320, Out. 2017.
- [26] T. S. Oliveira, M. Murphy, N. Mendola, V. Wong, D. Carlson, e L. Waring, «Characterization of Pharmaceuticals and Personal Care products in hospital effluent and waste water influent/effluent by direct-injection LC-MS-MS», *Sci. Total Environ.*, vol. 518–519, pp. 459–478, Jun. 2015.
- [27] L. H. M. L. M. Santos, A. N. Araújo, A. Fachini, A. Pena, C. Delerue-Matos, e M. C. B. S. M. Montenegro, «Ecotoxicological aspects related to the presence of pharmaceuticals in the aquatic environment», *J. Hazard. Mater.*, vol. 175, n. 1–3, pp. 45–95, Mar. 2010.
- [28] L. Cizmas, V. K. Sharma, C. M. Gray, e T. J. McDonald, «Pharmaceuticals and personal care products in waters: occurrence, toxicity, and risk.», *Environ. Chem. Lett.*, vol. 13, n. 4, pp. 381–394, Dez. 2015.
- [29] C. Midões, «Fatores determinantes no consumo de medicamento: um estudo em idosos no concelho de Macedo de Cavaleiros», Instituto Polotécnico de Bragança, 2012.
- [30] J. Zhang, V. W. C. Chang, A. Giannis, e J.-Y. Wang, «Removal of cytostatic drugs from aquatic environment: A review», *Sci. Total Environ.*, vol. 445–446, pp. 281– 298, Fev. 2013.
- [31] P. K. Jjemba, «Usage of Pharmaceutical and Personal Care Products for Different Therapeutic End Points in Relation to Environment», em *Pharma-Ecology*, Hoboken, NJ, USA: John Wiley & Sons, Inc., pp. 1–79.
- [32] A. C. Johnson, R. Oldenkamp, E. Dumont, e J. P. Sumpter, «Predicting

concentrations of the cytostatic drugs cyclophosphamide, carboplatin, 5-fluorouracil, and capecitabine throughout the sewage effluents and surface waters of europe», *Environ. Toxicol. Chem.*, vol. 32, n. 9, pp. 1954–1961, Set. 2013.

- [33] S. Nussbaumer, S. Fleury-Souverain, P. Antinori, F. Sadeghipour, D. F. Hochstrasser, P. Bonnabry, J.-L. Veuthey, e L. Geiser, «Simultaneous quantification of ten cytotoxic drugs by a validated LC–ESI–MS/MS method», *Anal. Bioanal. Chem.*, vol. 398, n. 7–8, pp. 3033–3042, Dez. 2010.
- [34] PubChem, «Cyclophosphamide», PubChem Open chemistry Database. [Em linha]. Disponível em: http://link.springer.com/10.1007/s00280-008-0842-3. [Acedido: 15-Jun-2018].
- [35] A. Böhlandt, Y. Sverdel, e R. Schierl, «Antineoplastic drug residues inside homes of chemotherapy patients», *Int. J. Hyg. Environ. Health*, vol. 220, n. 4, pp. 757– 765, 2017.
- [36] W. Fransman, R. Vermeulen, e H. Kromhout, «Dermal exposure to cyclophosphamide in hospitals during preparation, nursing and cleaning activities», *Int. Arch. Occup. Environ. Health*, vol. 78, n. 5, pp. 403–412, Jun. 2005.
- [37] A. Eitel, M. Scherrer, e K. Kümmerer, «Handling Cytostatics A Practical Guide», 1999.
- [38] NIOSH, «Preventing occupational exposures to antineoplastic and other hazardous drugs in health care settings.», Set. 2004.
- [39] S. Sugiura, H. Nakanishi, M. Asano, T. Hashida, M. Tanimura, T. Hama, e T. Nabeshima, «Multicenter study for environmental and biological monitoring of occupational exposure to cyclophosphamide in Japan», *J. Oncol. Pharm. Pract.*, vol. 17, n. 1, pp. 20–28, Mar. 2011.
- [40] B. Kopp, R. Schierl, e D. Nowak, «Evaluation of working practices and surface contamination with antineoplastic drugs in outpatient oncology health care settings», *Int. Arch. Occup. Environ. Health*, vol. 86, n. 1, pp. 47–55, Jan. 2013.
- [41] A. Janes, C. Tanguay, N. J. Caron, e J.-F. Bussières, «Environmental Contamination with Cyclophosphamide, Ifosfamide, and Methotrexate: A Study of 51 Canadian Centres», *Can. J. Hosp. Pharm.*, vol. 68, n. 4, Ago. 2015.
- [42] K. Kümmerer e A. Al-Ahmad, «Estimation of the cancer risk to humans resulting from the presence of cyclophosphamide and ifosfamide in surface water», *Environ. Sci. Pollut. Res.*, vol. 17, n. 2, pp. 486–496, Fev. 2010.
- [43] ChemAxon, «Acetylsalicylic Acid», Chemicalize Instant Cheminformatics Solutions, 1998. [Em linha]. Disponível em: https://chemicalize.com/. [Acedido: 14-Abr-2018].
- [44] ChemAxon, «Cyclophosphamide», Solutions, Chemicalize Instant Cheminformatic, 1998. [Em linha]. Disponível em: https://chemicalize.com/.
 [Acedido: 14-Abr-2018].
- [45] M. Cleuvers, «Mixture toxicity of the anti-inflammatory drugs diclofenac, ibuprofen, naproxen, and acetylsalicylic acid», *Ecotoxicol. Environ. Saf.*, vol. 59, n. 3, pp. 309–315, Nov. 2004.
- [46] World Health Organization, WHO Model Prescribing Information Drugs used in Anaestesia. Geneva, 1989.
- [47] M. J. R. Desborough e D. M. Keeling, «The aspirin story from willow to wonder drug», *Br. J. Haematol.*, vol. 177, n. 5, pp. 674–683, Jun. 2017.
- [48] I. B. Richman e D. K. Owens, «Aspirin for Primary Prevention», Med. Clin. North Am., vol. 101, n. 4, pp. 713–724, Jul. 2017.
- [49] J. Ma, Z. Cai, H. Wei, X. Liu, Q. Zhao, e T. Zhang, «The anti-tumor effect of aspirin: What we know and what we expect», *Biomed. Pharmacother.*, vol. 95, pp. 656–661, Nov. 2017.
- [50] A. Jones, Chemistry: An Introduction for Medical and Health Sciences. 2005.
- [51] T. D. Warner e J. A. Mitchell, «Cyclooxygenase-3 (COX-3): filling in the gaps toward a COX continuum?», *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, vol. 99, n. 21, pp. 13371–3, Out. 2002.
- [52] V. Rakić, N. Rajić, A. Daković, e A. Auroux, «The adsorption of salicylic acid, acetylsalicylic acid and atenolol from aqueous solutions onto natural zeolites and clays: Clinoptilolite, bentonite and kaolin», *Microporous Mesoporous Mater.*, vol. 166, pp. 185–194, 2012.
- [53] J.-P. Besse, J.-F. Latour, e J. Garric, «Anticancer drugs in surface waters: What can we say about the occurrence and environmental significance of cytotoxic, cytostatic and endocrine therapy drugs?», *Environ. Int.*, vol. 39, n. 1, pp. 73–86, Fev. 2012.
- [54] DGS Portugal, Doenças Oncológicas em Números 2015 Programa Nacional para as Doenças Oncológicas. Lisboa, 2015.
- [55] M. Yuki, S. Sekine, K. Takase, T. Ishida, e P. J. Sessink, «Exposure of family members to antineoplastic drugs via excreta of treated cancer patients», *J. Oncol.*

Pharm. Pract., vol. 19, n. 3, pp. 208-217, Set. 2013.

- [56] M. Yuki, T. Ishida, e S. Sekine, «Secondary Exposure of Family Members to Cyclophosphamide After Chemotherapy of Outpatients With Cancer: A Pilot Study», Oncol. Nurs. Forum, vol. 42, n. 6, pp. 665–671, Nov. 2015.
- [57] M. Česen, T. Eleršek, M. Novak, B. Žegura, T. Kosjek, M. Filipič, e E. Heath, «Ecotoxicity and genotoxicity of cyclophospamide, ifosfamide, their metabolites/transformation products and their mixtures», *Environ. Pollut.*, vol. 210, pp. 192–201, 2016.
- [58] H. Franquet-Griell, C. Gómez-Canela, F. Ventura, e S. Lacorte, «Anticancer drugs: Consumption trends in Spain, prediction of environmental concentrations and potential risks», *Environ. Pollut.*, vol. 229, pp. 505–515, 2017.
- [59] C. Trombini, T. Garcia da Fonseca, M. Morais, T. L. Rocha, J. Blasco, e M. J. Bebianno, «Toxic effects of cisplatin cytostatic drug in mussel Mytilus galloprovincialis», *Mar. Environ. Res.*, vol. 119, pp. 12–21, 2016.
- [60] H. Franquet-Griell, C. Gómez-Canela, F. Ventura, e S. Lacorte, «Predicting concentrations of cytostatic drugs in sewage effluents and surface waters of Catalonia (NE Spain)», *Environ. Res.*, vol. 138, pp. 161–172, Abr. 2015.
- [61] C. Kazner, A. Joss, T. Ternes, E. Van Houtte, e T. Wintgens, «Chapter 15 Water Reclamation Technologies for Safe Managed Aquifer Recharge», em Water Reclamation Technologies for Safe Managed Aquifer Recharge, IWA, 2012, pp. 259–279.
- [62] J. E. F. Moraes, F. H. Quina, C. A. O. Nascimento, D. N. Silva, e O. Chiavone-Filho, «Treatment of Saline Wastewater Contaminated with Hydrocarbons by the Photo-Fenton Process», *Environ. Sci. Technol.*, vol. 38, n. 4, pp. 1183–1187, Fev. 2004.
- [63] J. E. F. Moraes, F. H. Quina, C. A. O. Nascimento, D. N. Silva, e O. Chiavone-Filho, «Treatment of Saline Wastewater Contaminated with Hydrocarbons by the Photo-Fenton Process», *Environ. Sci. Technol.*, vol. 38, n. 4, pp. 1183–1187, Fev. 2004.
- [64] M. Fioreze, E. Pereira, D. Santos, e N. Schmachtenberg, «Processos oxidativos avançados: fundamentos e aplicação ambiental», *Revista Electrônica em Gestão*, *Educação e Tecnologia Digital*, vol. 18, pp. 79–91, 2014.
- [65] M. Governo, M. S. F. Santos, A. Alves, e L. M. Madeira, «Degradation of the cytostatic 5-Fluorouracil in water by Fenton and photo-assisted oxidation

processes», Environ. Sci. Pollut. Res., vol. 24, n. 1, pp. 844-854, Jan. 2017.

- [66] A. Y.-C. Lin, X.-H. Wang, e W.-N. Lee, «Phototransformation Determines the Fate of 5-Fluorouracil and Cyclophosphamide in Natural Surface Waters», *Environ. Sci. Technol.*, vol. 47, n. 9, pp. 4104–4112, Mai. 2013.
- [67] S. A. Snyder, S. Adham, A. M. Redding, F. S. Cannon, J. DeCarolis, J. Oppenheimer, E. C. Wert, e Y. Yoon, «Role of membranes and activated carbon in the removal of endocrine disruptors and pharmaceuticals», *Desalination*, vol. 202, n. 1–3, pp. 156–181, Jan. 2007.
- [68] A. J. Watkinson, E. J. Murby, e S. D. Costanzo, «Removal of antibiotics in conventional and advanced wastewater treatment: Implications for environmental discharge and wastewater recycling», *Water Res.*, vol. 41, n. 18, pp. 4164–4176, Out. 2007.
- [69] A. Y.-C. Lin, J. H.-F. Hsueh, e P. K. A. Hong, «Removal of antineoplastic drugs cyclophosphamide, ifosfamide, and 5-fluorouracil and a vasodilator drug pentoxifylline from wastewaters by ozonation», *Environ. Sci. Pollut. Res.*, vol. 22, n. 1, pp. 508–515, Jan. 2015.
- [70] J. Ferre-Aracil, Y. Valcárcel, N. Negreira, M. L. de Alda, D. Barceló, S. C. Cardona, e J. Navarro-Laboulais, «Ozonation of hospital raw wastewaters for cytostatic compounds removal. Kinetic modelling and economic assessment of the process», *Sci. Total Environ.*, vol. 556, pp. 70–79, Jun. 2016.
- [71] I. Akmehmet Balcioğlu e M. Otker, «Treatment of pharmaceutical wastewater containing antibiotics by O3 and O3/H2O2 processes.», *Chemosphere*, vol. 50, n. 1, pp. 85–95, Jan. 2003.
- [72] A. Garcia-Ac, R. Broséus, S. Vincent, B. Barbeau, M. Prévost, e S. Sauvé, «Oxidation kinetics of cyclophosphamide and methotrexate by ozone in drinking water», *Chemosphere*, vol. 79, n. 11, pp. 1056–1063, Mai. 2010.
- [73] A. Rossi, «Fenton's Process Applied to Wastewaters Treatment», Universidade de Coimbra, 2014.
- [74] B. I. Escher, W. Pronk, M. J.-F. Suter, e M. Maurer, «Monitoring the Removal Efficiency of Pharmaceuticals and Hormones in Different Treatment Processes of Source-Separated Urine with Bioassays», *Environ. Sci. Technol.*, vol. 40, n. 16, pp. 5095–5101, Ago. 2006.
- [75] J. Lienert e T. A. Larsen, «High Acceptance of Urine Source Separation in Seven European Countries: A Review», *Environ. Sci. Technol.*, vol. 44, n. 2, pp. 556–

566, Jan. 2010.

- [76] L. Vidal, M. L. Riekkola, e A. Canals, «Ionic liquid-modified materials for solidphase extraction and separation: A review», *Anal. Chim. Acta*, vol. 715, pp. 19– 41, 2012.
- [77] J. Lemus, J. Palomar, M. A. Gilarranz, e J. J. Rodriguez, «Characterization of Supported Ionic Liquid Phase (SILP) materials prepared from different supports», *Adsorption*, vol. 17, n. 3, pp. 561–571, 2011.
- [78] L. Vidal, J. Parshintsev, K. Hartonen, A. Canals, e M. L. Riekkola, «Ionic liquidfunctionalized silica for selective solid-phase extraction of organic acids, amines and aldehydes», J. Chromatogr. A, vol. 1226, pp. 2–10, 2012.
- [79] B. Xin e J. Hao, «Imidazolium-based ionic liquids grafted on solid surfaces», *Chem. Soc. Rev.*, vol. 43, n. 20, pp. 7171–7187, 2014.
- [80] P. Wasserscheid e T. Welton, *Ionic Liquids in Synthesis*. 2002.
- [81] M. Bier e S. Dietrich, Small-Angle X-ray Scattering Study of Au Nanoparticles Dispersed in the Ionic Liquids 1-Alkyl-3-methylimidazolium Tetrafluoroborate, Wiley-VCH., vol. 8, n. 1. 2011.
- [82] H. Qiu, S. Jiang, X. Liu, e L. Zhao, «Novel imidazolium stationary phase for highperformance liquid chromatography», *J. Chromatogr. A*, vol. 1116, n. 1–2, pp. 46– 50, Mai. 2006.
- [83] L.-L. HUANG, Y. HUANG, Y.-K. CHEN, Y.-H. DING, W.-F. ZHANG, X.-J. LI, e X.-P. WU, «Supported Ionic Liquids Solid-Phase Extraction Coupled to Electrochemical Detection for Determination of Trace Bisphenol A», *Chinese J. Anal. Chem.*, vol. 43, n. 3, pp. 313–318, Mar. 2015.
- [84] T. Asefa e Z. Tao, «Biocompatibility of Mesoporous Silica Nanoparticles», *Chem. Res. Toxicol.*, vol. 25, n. 11, pp. 2265–2284, Nov. 2012.
- [85] J.-F. Liu, N. Li, G. Jiang, J. Liu, J. A. Jönsson, e M. Wen, «Disposable ionic liquid coating for headspace solid-phase microextraction of benzene, toluene, ethylbenzene, and xylenes in paints followed by gas chromatography-flame ionization detection.», J. Chromatogr. A, vol. 1066, n. 1–2, pp. 27–32, Fev. 2005.
- [86] N. Fontanals, F. Borrull, e R. M. Marcé, «Ionic liquids in solid-phase extraction», *TrAC - Trends Anal. Chem.*, vol. 41, pp. 15–26, 2012.
- [87] N. Fontanals, S. Ronka, F. Borrull, A. W. Trochimczuk, e R. M. Marcé, «Supported imidazolium ionic liquid phases: A new material for solid-phase extraction», *Talanta*, vol. 80, n. 1, pp. 250–256, Nov. 2009.

- [88] C. F. Poole, «Chapter 12 Principles and practice of solid-phase extraction», em *Comprehensive Analytical Chemistry*, 2002, pp. 341–387.
- [89] M.-C. Hennion, «Solid-phase extraction: method development, sorbents, and coupling with liquid chromatography», *J. Chromatogr. A*, vol. 856, n. 1–2, pp. 3– 54, Set. 1999.
- [90] G. W. Lu e P. Gao, «Emulsions and Microemulsions for Topical and Transdermal Drug Delivery», *Handb. Non-Invasive Drug Deliv. Syst.*, vol. 1, pp. 59–94, Jan. 2010.
- [91] K. Schneemann, Ullmann's Encyclopedia of Industrial Chemistry. 2007.
- [92] V. Rakić, V. Rac, M. Krmar, O. Otman, e A. Auroux, «The adsorption of pharmaceutically active compounds from aqueous solutions onto activated carbons», *J. Hazard. Mater.*, vol. 282, pp. 141–149, Jan. 2015.
- [93] S. Y. Lagergren, Zur Theorie der sogenannten Adsorption gelöster Stoffe, 1898.
- [94] Y. Ho e G. McKay, «Pseudo-second order model for sorption processes», Process Biochem., vol. 34, n. 5, pp. 451–465, Jul. 1999.
- [95] L. Largitte e R. Pasquier, «A review of the kinetics adsorption models and their application to the adsorption of lead by an activated carbon», *Chem. Eng. Res. Des.*, vol. 109, pp. 495–504, Mai. 2016.
- [96] K. V. Kumar, «Linear and non-linear regression analysis for the sorption kinetics of methylene blue onto activated carbon», *J. Hazard. Mater.*, vol. 137, pp. 1538– 1544, 2006.
- [97] Z. Aksu, «Application of biosorption for the removal of organic pollutants: a review», *Process Biochem.*, vol. 40, n. 3–4, pp. 997–1026, Mar. 2005.
- [98] I. Langmuir, «THE ADSORPTION OF GASES ON PLANE SURFACES OF GLASS, MICA AND PLATINUM.», J. Am. Chem. Soc., vol. 40, n. 9, pp. 1361– 1403, Set. 1918.
- [99] H. Freundlich, «Über die Adsorption in Lösungen», Zeitschrift für Phys. Chemie, vol. 57U, n. 1, Jan. 1907.
- [100] S. J. Allen, G. Mckay, e J. F. Porter, «Adsorption isotherm models for basic dye adsorption by peat in single and binary component systems», *J. Colloid Interface Sci.*, vol. 280, n. 2, pp. 322–333, Dez. 2004.
- [101] R. D. Harter, «Curve-fit errors in Langmuir adsorption maxima.», Soil Sci. Soc. Am., vol. 48, n. 1981, pp. 749–752, 1984.
- [102] D. M. Ruthven, «Adsorption, Fundamentals», em Kirk-Othmer Encyclopedia of

Chemical Technology, Hoboken, NJ, USA: John Wiley & Sons, Inc., 2001.

- [103] C. Sheindorf, M. Rebhun, e M. Sheintuch, «A Freundlich-type multicomponent isotherm», J. Colloid Interface Sci., vol. 79, n. 1, pp. 136–142, Jan. 1981.
- [104] V. Rakić, V. Rac, M. Krmar, O. Otman, e A. Auroux, «The adsorption of pharmaceutically active compounds from aqueous solutions onto activated carbons», J. Hazard. Mater., vol. 282, pp. 141–149, Jan. 2015.
- [105] J.-P. Simonin, «On the comparison of pseudo-first order and pseudo-second order rate laws in the modeling of adsorption kinetics», *Chem. Eng. J.*, vol. 300, pp. 254– 263, Set. 2016.
- [106] T. Kosjek, M. Laimou-Geraniou, B. Kompare, M. Česen, B. Širok, D. Lambropolou, e E. Heath, «Occurrence of cyclophosphamide and ifosfamide in aqueous environment and their removal by biological and abiotic wastewater treatment processes», *Sci. Total Environ.*, vol. 527–528, pp. 465–473, 2015.
- [107] Baxter, «Folheto informativo: Informação para o utilizador ENDOXAN». Infarmed, 2013.

Anexos





Figura 22 - Especiação do ácido acetilsalicílico com o pH [45].



Figura 23 – Especiação da CF com o pH [44].

B. Espectro de UV-Vis e Cromatograma de HPLC



Figura 24 - Espectro de UV-visível do ácido acetilsalicílico com uma concentração de $0,054 \text{ g.L}^{-1}$.



Figura 25 - Cromatograma da CF de uma solução com concentração de 10 µg.mL⁻¹.

C. Retas de calibração



C.1. Reta de calibração para o ácido acetilsalicílico

Figura 26 - Reta de calibração para o ácido acetilsalicílico determinada por espectroscopia de UV-Vis a 273 nm.

C.2. Reta de calibração para a ciclofosfamida



Figura 27 - Reta de calibração para a ciclofosfamida determinada por HPLC-DAD a 197nm.

D. Tabelas com resultados experimentais detalhados

Tabela 13 -Eficiência de adsorção (% AE), concentração de equilíbrio do ácido acetilsalicílico após adsorção (C_e) e concentração de adsorvato na fase sólida (q_e), com os respetivos desvios-padrão (σ) para os diferentes LIS.

| | | SilPrNBu ₃ Cl | | | SilPrNMe2BzCl | | | SilPrN(C8)3Cl | |
|---------|-------------------------------|---|-------------------|--|---|--------------------|-------------------------------|---|-------------------|
| t (min) | Ce (mmol.L ⁻¹) | $q_e \pm \sigma$ (mmol.g ⁻¹) | % $AE \pm \sigma$ | Ce (mmol.L ⁻ ¹) | $q_e \pm \sigma$ (mmol.g ⁻¹) | $\% AE \pm \sigma$ | Ce (mmol.L ⁻¹) | $q_e \pm \sigma$ (mmol.g ⁻¹) | % $AE \pm \sigma$ |
| 0 | 0,0000 | 0,0000±0,0000 | $0,0\pm 0,0$ | 0,0000 | 0,0000±0,0000 | 0,0±0,0 | 0,0000 | 0,0000±0,0000 | 0,0±0,0 |
| 0,5 | 0,1588 | 0,0033±0,0001 | 11,7±0,2 | 0,0753 | $0,0180 \pm 0,0015$ | 60,4±4,2 | 0,1650 | 0,0030±0,0006 | $10,7\pm 2,6$ |
| 1 | 0,1326 | 0,0073±0,0018 | 26,4±7,0 | 0,0683 | $0,0190\pm0,0008$ | 64,1±1,2 | 0,1498 | 0,0054±0,0004 | $18,8\pm0,8$ |
| 2 | 0,1174 | 0,0098±0,0001 | 34,8±1,0 | 0,0656 | $0,0197 \pm 0,0007$ | 65,6±1,2 | 0,1153 | 0,0108±0,0004 | 37,6±2,9 |
| 5 | 0,0628 | 0,0117±0,0012 | 41,2±3,9 | 0,0628 | 0,0201±0,0007 | 67,0±1,2 | 0,0145 | 0,0122±0,0005 | 42,0±0,1 |
| 10 | 0,0877 | 0,0144±0,0006 | 51,2±1,5 | 0,0594 | 0,0206±0,0006 | 68,8±0,8 | 0,1070 | 0,0131±0,0003 | 45,5±2,8 |
| 20 | 0,0870 | 0,0147±0,0005 | 51,6±1,1 | 0,0587 | 0,0207±0,0006 | 69,2±1,1 | 0,1008 | 0,0135±0,0002 | 46,5±1,0 |
| 30 | 0,0808 | 0,0155±0,0002 | 55,1±1,6 | 0,0573 | 0,0209±0,0006 | 69,9±1,1 | 0,0145 | 0,0139±0,0008 | 48,0±1,2 |
| 45 | 0,0794 | 0,0157±0,0006 | 55,9±3,2 | 0,0573 | 0,0211±0,0006 | 69,9±1,1 | 0,0987 | 0,0144±0,0016 | 49,7±3,8 |
| 60 | 0,0801 | 0,0157±0,0004 | 55,5±2,0 | 0,0690 | 0,0212±0,0018 | 63,9±7,1 | 0,0960 | 0,0149±0,0014 | 51,3±3,0 |
| 120 | 0,0849 | 0,0150±0,0001 | 52,8±0,8 | 0,0545 | 0,0213±0,0003 | 71,4±0,3 | 0,0925 | 0,0146±0,0005 | 52,2±0,01 |
| 180 | 0,0842 | 0,0150±0,0005 | 53,2±2,8 | 0,0532 | 0,0214±0,0003 | 72,1±0,3 | 0,0898 | 0,0146±0,0007 | 52,9±0,1 |

| | | SilPrMImCl | SilPrNMe2BuCl | | | |
|---------|-------------------------------|---|-------------------|--|---|-------------|
| t (min) | Ce (mmol.L ⁻¹) | $q_e \pm \sigma$ (mmol.g ⁻¹) | % $AE \pm \sigma$ | Ce (mmol.L ⁻ ¹) | $q_e \pm \sigma$ (mmol.g ⁻¹) | % AE ± σ |
| 0 | 0,0000 | 0,0000±0,0000 | 0,0±0,0 | 0,0000 | 0,0000±0,0000 | 0,0±0,0 |
| 0,5 | 0,1926 | 0,0031±0,0002 | 10,1±8,4 | 0,0939 | 0,0183±0,0012 | 49,5±3,1 |
| 1 | 0,1905 | 0,0034±0,0005 | 11,0±8,1 | 0,0835 | 0,0202±0,0002 | 55,1±0,2 |
| 2 | 0,1892 | 0,0036±0,0002 | 11,6±7,5 | 0,0808 | 0,0209±0,0009 | 56,6±2,4 |
| 5 | 0,1885 | 0,0037±0,0008 | 12,0±7,9 | 0,0794 | 0,0212±0,0009 | 59,5±0,2 |
| 10 | 0,1864 | 0,0040±0,0002 | 13,0±8,3 | 0,0753 | 0,0221±0,0007 | 58,0±3,2 |
| 20 | 0,1857 | $0,0041\pm0,0001$ | 13,4±9,3 | 0,0732 | 0,0224±0,0007 | 60,3±2,4 |
| 30 | 0,1850 | 0,0042±0,0003 | 13,8±9,7 | 0,0718 | 0,0226±0,0004 | 60,6±2,0 |
| 45 | 0,1850 | 0,0043±0,0003 | 13,8±9,7 | 0,0718 | 0,0230±0,0009 | 62,1±2,0 |
| 60 | 0,1843 | 0,0044±0,0010 | 14,0±8,7 | 0,0697 | 0,0230±0,0002 | 62,5±0,9 |
| 120 | 0,1843 | $0,0044 \pm 0,0007$ | $14,0\pm 8,1$ | 0,0704 | 0,0231±0,0015 | 62,1±6,5 |
| 180 | 0,1843 | $0,0044 \pm 0,0001$ | 14,0±8,7 | 0,1015 | 0,0232±0,0016 | 63,5±0,1 |

| | | SilPrNBu ₃ Cl | | | SilPrN(C8)3Cl | | | SilPrNEt ₃ Cl | |
|---------|-----------------|--------------------------|----------------------|-------------------------|-------------------------|-----------------------|-------------------------|--------------------------|-----------------------|
| t (min) | Ce | $q_e\pm\sigma$ | $\% \ AE \pm \sigma$ | Ce | $q_e\pm\sigma$ | | Ce | $q_e\pm\sigma$ | |
| | $(mmol.L^{-1})$ | (mmol.g ⁻¹) | | (mmol.L ⁻¹) | (mmol.g ⁻¹) | $70 \text{ AL} \pm 0$ | (mmol.L ⁻¹) | (mmol.g ⁻¹) | $70 \text{ AE} \pm 0$ |
| 0 | 0,0000 | 0,0000±0,0000 | 0,0±0,0 | 0,0000 | 0,0000±0,0000 | $0,0\pm 0,0$ | 0,0000 | 0,0000±0,0000 | 0,0±0,0 |
| 0,5 | 0,0889 | 0,0512±0,00004 | 74,2±0,1 | 0,0969 | 0,0493±0,0013 | $71,9 \pm 1,8$ | 0,0880 | $0,0519\pm0,0001$ | $74,5\pm0,1$ |
| 1 | 0,0725 | $0,0534{\pm}0,0001$ | 79,0±0,2 | 0,0758 | $0,0529 \pm 0,0009$ | 78,0±1,3 | 0,0811 | 0,0536±0,0003 | 76,5±0,4 |
| 2 | 0,0646 | $0,0544 \pm 0,0003$ | 81,3±0,5 | 0,0712 | 0,0538±0,0006 | 79,3±0,9 | 0,0736 | $0,0542 \pm 0,0001$ | $78,6\pm0,1$ |
| 5 | 0,0685 | $0,0550\pm0,0002$ | 80,1±0,2 | 0,0733 | $0,0545\pm0,0000$ | 78,7±0,04 | 0,0712 | 0,0547±0,0003 | 79,4±0,4 |
| 10 | 0,0676 | 0,0554±0,0002 | 80,4±0,3 | 0,0683 | 0,0551±0,0003 | 80,2±0,5 | 0,0724 | 0,0550±0,0003 | 79,0±0,4 |
| 20 | 0,0662 | 0,0558±0,0003 | 80,8±0,4 | 0,0640 | $0,0555 \pm 0,0005$ | 81,4±0,8 | 0,0735 | 0,0553±0,0007 | 78,7±1,0 |
| 30 | 0,0601 | 0,0558±0,0002 | 82,6±0,4 | 0,0652 | 0,0557±0,0003 | 81,1±0,4 | 0,0679 | 0,0556±0,0001 | 80,3±0,1 |
| 45 | 0,0681 | 0,0561±0,0003 | 80,2±0,4 | 0,0627 | 0,0560±0,0004 | 81,8±0,6 | 0,0674 | 0,0557±0,0002 | 80,4±0,3 |
| 60 | 0,0650 | 0,0563±0,0007 | 81,1±1,1 | 0,0611 | 0,0562±0,0002 | 82,3±0,3 | 0,0637 | 0,0558±0,0001 | 81,5±0,1 |
| 120 | 0,0612 | $0,0562 \pm 0,0000$ | 82,2±0,1 | 0,0666 | 0,0562±0,0007 | 80,7±1,0 | 0,0631 | 0,0559±0,0002 | 81,7±0,2 |
| 180 | 0,0604 | 0,0562±0,0002 | 82,5±0,4 | 0,0575 | 0,0563±0,0001 | 83,3±0,2 | 0,0628 | 0,0560±0,0001 | 81,8±0,2 |

Tabela 14 - Eficiência de adsorção (% AE), concentração de equilíbrio da ciclofosfamida após adsorção (C_e) e concentração de adsorvato na fase sólida (q_e), com os respetivos desvios-padrão (σ) para os diferentes LIS.

| SilPrNBu ₃ Cl | | SilPrNMe2BuCl | | SilPrNMe2BzCl | | SilPrN(C8)3Cl | | SilPrMImCl | |
|--------------------------|-------------------------|-------------------------|-------------------------|-------------------------|-------------------------|-------------------------|-------------------------|-------------------------|-------------------------|
| Ce | q _e | Ce | qe | Ce | q _e | Ce | q _e | Ce | q _e |
| $(mmol.L^{-1})$ | (mmol.g ⁻¹) | (mmol.L ⁻¹) | (mmol.g ⁻¹) |
| 0,000 | 0,000 | 0,000 | 0,000 | 0,000 | 0,000 | 0,000 | 0,000 | 0,000 | 0,000 |
| 0,050 | 0,002 | 0,055 | 0,009 | 0,048 | 0,004 | 0,0476 | 0,0029 | 0,0711 | 0,0001 |
| 0,055 | 0,015 | 0,057 | 0,020 | 0,059 | 0,010 | 0,1112 | 0,0104 | 0,1388 | 0,0069 |
| 0,084 | 0,019 | 0,106 | 0,021 | 0,061 | 0,020 | 0,1457 | 0,0146 | 0,1940 | 0,0092 |
| 0,110 | 0,025 | 0,147 | 0,031 | 0,078 | 0,025 | 0,2313 | 0,0176 | 0,2548 | 0,0144 |
| 0,187 | 0,032 | 0,248 | 0,036 | 0,104 | 0,040 | 0,3556 | 0,0195 | 0,2630 | 0,0131 |
| 0,252 | 0,043 | 0,328 | 0,043 | 0,168 | 0,048 | 0,4909 | 0,0222 | 0,3514 | 0,0174 |
| 0,327 | 0,038 | 0,534 | 0,048 | 0,220 | 0,059 | 0,6110 | 0,0232 | 0,4978 | 0,0196 |
| 0,448 | 0,045 | 0,599 | 0,056 | 0,246 | 0,062 | 0,7325 | 0,0240 | 0,7463 | 0,0218 |
| 0,514 | 0,043 | 0,688 | 0,061 | 0,351 | 0,071 | 0,8071 | 0,0240 | 0,8706 | 0,0222 |
| 0,672 | 0,044 | 0,901 | 0,066 | 0,397 | 0,075 | | | 0,9410 | 0,0216 |
| 0,821 | 0,013 | 1,354 | 0,065 | 0,466 | 0,076 | | | | |
| 1,043 | 0,044 | 1,783 | 0,066 | 0,585 | 0,076 | | | | |

Tabela 15 - Concentração de equilíbrio do ácido acetilsalicílico após adsorção (C_e) e concentração de adsorvido na fase sólida (q_e) a 25 °C.

| SilPi | rNEt ₃ Cl | SilP | PrNBu ₃ Cl | SilPrN(C ₈) ₃ Cl | | |
|-----------------|-------------------------|-----------------|------------------------|---|------------------------|--|
| Ce | $q_e\pm\sigma$ | Ce | $q_e\pm\sigma$ | Ce | $q_e\pm\sigma$ | |
| $(mmol.L^{-1})$ | (mmol.g ⁻¹) | $(mmol.L^{-1})$ | (mmol.g^{-1}) | $(mmol.L^{-1})$ | (mmol.g^{-1}) | |
| 0,0000 | 0,0000±0,0000 | 0,0000 | 0,0000±0,0000 | 0,0000 | 0,0000±0,0000 | |
| 0,0216 | 0,0033±0,0002 | 0,0147 | 0,0047±0,00002 | 0,0125 | 0,0051±0,00005 | |
| 0,0574 | 0,0116±0,00002 | 0,0477 | 0,0134±0,0006 | 0,0458 | 0,0139±0,0002 | |
| 0,0631 | 0,0334±0,0002 | 0,0612 | 0,0338±0,00004 | 0,0666 | 0,0327±0,0007 | |
| 0,1142 | 0,0538±0,0002 | 0,1189 | 0,0518±0,00001 | 0,1007 | $0,0565 \pm 0,0004$ | |
| 0,2612 | 0,0551±0,0011 | 0,2472 | 0,0577±0,0003 | 0,2342 | 0,0605±0,0002 | |
| 0,3870 | 0,0595±0,0001 | 0,3598 | 0,0662±0,0002 | 0,3761 | 0,0613±0,0003 | |
| 0,4511 | 0,0618±0,0004 | 0,4364 | $0,0650 \pm 0,0016$ | 0,4470 | $0,0625\pm0,0003$ | |

Tabela 16 - Concentração de equilíbrio da ciclofosfamida após adsorção (C_e) e concentração de adsorvido na fase sólida (q_e) a 25 °C.