
ANDRÉ LUIZ RAINHO TEIXEIRA

**SÍNTESE E ESTUDO DA HIDROXIAPATITA E
VANADATOAPATITA CONTENDO GÁLIO, VISANDO O
USO BIOMÉDICO.**

Campo Grande

2012

ANDRÉ LUIZ RAINHO TEIXEIRA

**SÍNTESE E ESTUDO DA HIDROXIAPATITA E
VANADATOAPATITA CONTENDO GÁLIO, VISANDO O
USO BIOMÉDICO.**

Tese apresentada ao Programa de Pós-graduação em Saúde e Desenvolvimento na Região Centro-Oeste da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, para a obtenção do título de Doutor.

Orientador: Prof. Dr. Petr Melnikov

CAMPO GRANDE

2012

FOLHA DE APROVAÇÃO

ANDRÉ LUIZ RAINHO TEIXEIRA

SÍNTESE E ESTUDO DA HIDROXIAPATITA E VANADATOAPATITA CONTENDO GÁLIO, VISANDO O USO BIOMÉDICO.

Tese apresentada ao Programa de Pós-graduação em Saúde e desenvolvimento na região Centro-Oeste da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, para a obtenção do título de Doutor.

Resultado_____

Campo Grande (MS), 19 de dezembro de 2012

BANCA EXAMINADORA

- Prof. Dr. Petr Melnikov

Instituição: Universidade Federal de Mato Grosso do Sul

- Prof. Dr. Valter Aragão do Nascimento

Instituição: Universidade Federal de Mato Grosso do Sul

- Prof. Dr Danilo Mathias Zanello Guerisoli

Instituição: Universidade Federal de Mato Grosso do Sul

- Prof. Dr. Anísio Lima da Silva

Instituição: Universidade Federal de Mato Grosso do Sul

- Prof. Dr. Marco Antonio Utrera Martines.

Instituição: Universidade Federal de Mato Grosso do Sul

- Prof. Dr. Wander Fernando de Oliveira Filiú

Instituição: Universidade Federal de Mato Grosso do Sul

Dedico este trabalho aos meus pais Sergio Rainho Teixeira e Rosa de Andrade Rainho Teixeira, a minha Irmã Ana Letícia Rainho Teixeira, e ao grande cientista Professor Doutor Petr Melnikov.

AGRADECIMENTOS

Durante a realização deste trabalho eu contei com a colaboração direta ou indireta de um grupo muito grande de pessoas, às quais sou profundamente grato. Sendo assim, gostaria de agradecer:

Ao Prof. Dr. Petr Melnikov, pelo incentivo nos momentos de dificuldades e, principalmente, pela plena dedicação e profissionalismo na execução deste trabalho.

Ao Mestre e Perito Criminal Marcos A. C. Secco pelas discussões, amizade, respeito, companheirismo, dedicação e incentivos.

Ao Mestre Wellington Rodrigues Guimarães pelas discussões, amizade, respeito, companheirismo, dedicação e incentivos.

Ao Mestre Heberton Wender Luiz dos Santos pelas realizações de medidas experimentais, companheirismo e dedicação.

Ao Mestre Renato Vitalino Gonçalves pelas realizações de medidas experimentais, companheirismo e dedicação.

Aos meus pais, irmã, cunhado que sempre estiveram ao meu lado nos momentos de dificuldade.

A PROPP/UFMS que me deu a oportunidade e o apoio material para a realização deste trabalho.

Ao Programa de Pós-Graduação em Saúde e Desenvolvimento na Região Centro-Oeste, que me deu a oportunidade e o apoio para a realização deste trabalho.

E a todas as pessoas que, embora não relacionadas aqui, também contribuíram para a realização desta pesquisa.

RESUMO

Palavras Chaves: hidroxiapatita, vanadatoapatita, gálio, vanádio, biomaterial

Os elementos vanádio e gálio têm participação direta no metabolismo ósseo. Os grupos ortovanadato na composição da hidroxiapatita participam nos processos de ação e regulação das enzimas ligadas aos fatores de crescimento. Essa atividade pode ser devida à concorrência entre fósforo e vanádio nos compostos biologicamente ativos. Por outro lado, os íons gálio são eficazes contra a reabsorção óssea, osteoporose e hipercalcemia. Entretanto, nenhum biomaterial contendo vanádio e gálio está disponível. Por esta razão, o presente trabalho visou à síntese e estudo da hidroxiapatita e vanadatoapatita contendo gálio, para o uso na biomedicina. Os métodos instrumentais utilizados foram: microscopia eletrônica de varredura, análise de energia dispersiva, difratometria de raios-X e mapeamento. Foi desenvolvido um novo método em fase sólida para a preparação da hidroxiapatita e vanadatoapatita que possui boa reprodutibilidade e permite obter estes compostos com bons rendimentos. Foi elaborada a metodologia da introdução do gálio na forma do seu nitrato durante a síntese das apatitas. Outra técnica desenvolvida foi o processo de dopagem: adicionando na hidroxiapatita pequenas quantidades de segunda fase contendo ao mesmo tempo gálio e vanádio. Finalmente, foi realizada a introdução do gálio nas apatitas pelo processo de absorção. No caso da hidroxiapatita é preferível usar nitrato de gálio e o galato de amônio na vanadatoapatita. Os resultados obtidos podem ser usados para preparar composições com propriedades que permitem substituir temporariamente o osso natural.

ABSTRACT

Key Words: hydroxyapatite, vanadateapatite, gallium, vanadium a, biomaterial.

The elements vanadium and gallium have direct involvement in bone metabolism. Orthovanadate groups in the composition of hydroxyapatite participate in the processes of action and regulation of enzymes related to growth factors. This activity may be due to competition between phosphorus and vanadium in biologically active compounds. On the other hand, the gallium ions are effective against bone resorption, osteoporosis and hypercalcemia. However, none of biomaterials containing vanadium and gallium is presently available. For this reason, this study was dedicated to the synthesis and investigation of hydroxyapatite and vanadatoapatite containing gallium for use in orthopedic surgery. The main methods used were synthetic procedures, as well as scanning electron microscopy, energy dispersive analysis, X-ray diffraction and elements mapping. A new standard solid phase method has been proposed for the preparation of hydroxyapatite and vanadatoapatite. Its reproducibility is good and it allows obtaining the above compounds with reasonable yields. The methodology includes the introduction of gallium in the form of its nitrate during synthesis of the apatite. Another technique developed for doping process: consists in adding of small amounts of hydroxyapatite in the form of a second phase containing both gallium and vanadium. Finally, we conducted the introduction of gallium in apatites using the process of absorption. In the case of hydroxyapatite it is preferable to use gallium nitrate and ammonium gallate in the case of vanadatoapatite. The results can be used for preparing the compositions with properties permitting the temporarily replacement of a natural bone.

ÍNDICE

| | |
|--|----|
| 1 LISTA DE TABELAS | 11 |
| 2 LISTA DE FIGURAS | 12 |
| 3 LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS | 15 |
| 4 LISTA DE SÍMBOLOS | 16 |
| 5 INTRODUÇÃO | 17 |
| 6 REVISÃO DE LITERATURA | 18 |
| 6.1 O TECIDO ÓSSEO | 18 |
| 6.2 APATITAS | 20 |
| 6.2.1 Aplicações das apatitas | 27 |
| 6.3 VANÁDIO | 28 |
| 6.3.1 Vanádio e enzimas | 29 |
| 6.3.1.1 Proteína fosfatirocina fosfatase | 29 |
| 6.3.1.2 Fosfatase alcalina | 30 |
| 6.3.2 Vanádio e osso | 30 |
| 6.4 GÁLIO | 31 |
| 7 OBJETIVOS | 37 |
| 7.1 OBJETIVO GERAL | 37 |
| 7.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS | 37 |
| 8 MATERIAIS E MÉTODOS | 38 |
| 8.1 REAGENTES | 38 |
| 8.2 MÉTODOS INSTRUMENTAIS | 38 |
| 8.2.1. Microscopia eletrônica de varredura (MEV) | 38 |

| | |
|--|-----------|
| 8.2.2. Análise de energia dispersiva (EDX) | 39 |
| 8.2.3. Difractometria de raios-X (DRX) | 40 |
| 8.2.4. Mapeamento (MAP) | 41 |
| 8.3 DESCRIÇÕES DA SÍTESE | 41 |
| 8.3.1. Amostra 1 | 41 |
| 8.3.2. Amostra 2 | 42 |
| 8.3.3. Amostra 3 | 42 |
| 8.3.4. Amostra 4 | 42 |
| 8.3.5. Amostra 5 | 43 |
| 8.3.6. Amostra 6 | 43 |
| 8.3.7. Amostra 7 | 44 |
| 8.3.8. Amostra 8 | 44 |
| 8.3.9. Amostra 9 | 44 |
| 8.3.10. Amostra 10 | 45 |
| 8.3.11. Amostra 11 | 45 |
| 9 RESULTADOS | 46 |
| 9.1 AMOSTRA 1 | 46 |
| 9.2 AMOSTRA 2 | 48 |
| 9.3 AMOSTRA 3 | 51 |
| 9.4 AMOSTRA 4 | 54 |
| 9.5 AMOSTRA 5 | 57 |

| | |
|--|-----------|
| 9.6 AMOSTRA 6 | 60 |
| 9.7 AMOSTRA 7 | 62 |
| 9.8 AMOSTRA 8 | 66 |
| 9.8.1 Pastilha de Bi_2GaVO_7 (8a) | 66 |
| 9.8.2 Hidroxiapatita + pastilha de Bi_2GaVO_7 (8b) | 70 |
| 9.9 AMOSTRA 9 | 74 |
| 9.10 AMOSTRA 10 | 77 |
| 9.11 AMOSTRA 11 | 78 |
| 10 DISCUSSÃO | 81 |
| 11 CONCLUSÕES | 88 |
| 12 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS | 89 |

1 LISTA DE TABELAS

| | |
|--|----|
| Tabela I – Distâncias interatômicas (Å) e ângulos (°) no tetraedro MO ₄ | 25 |
| Tabela II – Relação dos reagentes usados | 38 |

2 LISTA DE FIGURAS

| | |
|--|----|
| Figura 1- Estrutura do osso longo. | 19 |
| Figura 2 - A estrutura da apatita. | 21 |
| Figura 3 - Ficha 09-0432 da hidroxiapatita do Banco de dados ICSD | 22 |
| Figura 4 - Ficha 70-1996 da vanadatoapatita do banco de dados ICSD. | 25 |
| Figura 5 - Representação esquemática dos poliedros de vanádio. | 29 |
| Figura 6 - Forma tetraédrica do íon galato. | 32 |
| Figura 7 - Imagem de MEV da amostra 1. Ampliação X 80. | 46 |
| Figura 8 - Imagem de MEV da amostra 1. Ampliação X 400. | 46 |
| Figura 9 - Espectro de raios-X de energia dispersiva da amostra 1. | 47 |
| Figura 10 - Comparação do quadro de difração de raios-x da amostra 1 com banco de dados. | 48 |
| Figura 11 - Imagem de MEV da amostra 2. Ampliação X 1100. | 49 |
| Figura 12 - Imagem de MEV da amostra 2. Ampliação X 2500. | 49 |
| Figura 13 - Espectro de raios-X de energia dispersiva da amostra 2. | 50 |
| Figura 14 - Comparação do quadro de difração de raios-x da amostra 2 com banco de dados. | 51 |
| Figura 15 - Imagem de MEV da amostra 3. Ampliação x 1600. | 52 |
| Figura 16 - Imagem de MEV da amostra 3. Ampliação x 4000. | 52 |
| Figura 17 - Espectro de raios-X de energia dispersiva da amostra 3. | 53 |
| Figura 18 - Comparação do quadro de difração de raios-x da amostra 3 com banco de dados. | 54 |

| | |
|---|----|
| Figura 19 - Imagem de MEV da amostra 4. Ampliação x 850. | 55 |
| Figura 20 - Imagem de MEV da amostra 4. Ampliação x 3300. | 55 |
| Figura 21 - Espectro de raios-X de energia dispersiva da amostra 4. | 56 |
| Figura 22 - Comparação do quadro de difração de raios-x da amostra 4 com banco de dados. | 57 |
| Figura 23 - Imagem de MEV da amostra 5. Ampliação x 5000. | 58 |
| Figura 24 - Imagem de MEV da amostra 5. Ampliação x 8000. | 58 |
| Figura 25 - Espectro de raios-X de energia dispersiva da amostra 5. | 59 |
| Figura 26 - Comparação do quadro de difração de raios-x da amostra 5 com banco de dados. | 60 |
| Figura 27- Espectro de raios-X de energia dispersiva da amostra 6. | 61 |
| Figura 28 - Comparação do quadro de difração de raios-x da amostra 6 com banco de dados. | 62 |
| Figura 29 - Imagem de MEV da amostra 7. Ampliação x 5000. | 63 |
| Figura 30 - Imagem de MEV da amostra 7. Ampliação x 8000. | 63 |
| Figura 31 - Espectro de raios-X de energia dispersiva da amostra 7. | 64 |
| Figura 32 - Comparação do quadro de difração de raios-x da amostra 7 com banco de dados. | 65 |
| Figura 33 - Mapeamento dos elementos químicos da amostra 7. | 66 |
| Figura 34 - Imagem de MEV da amostra 8a. Ampliação x 1600. | 67 |
| Figura 35 - Imagem de MEV da amostra 8a. Ampliação x 7500. | 67 |
| Figura 36 - Espectro de raios-X de energia dispersiva da amostra 8a. | 68 |
| Figura 37 - Comparação do quadro de difração de raios-x da amostra 8a com banco de dados. | 69 |

| | |
|---|----|
| Figura 38 - Mapeamento dos elementos químicos da amostra 8a. | 70 |
| Figura 39 - Imagem de MEV da amostra 8b. Ampliação x 430. | 71 |
| Figura 40 - Imagem de MEV da amostra 8b. Ampliação x 3500. | 71 |
| Figura 41 - Espectro de raios-X de energia dispersiva da amostra 8b. | 72 |
| Figura 42 - Comparação do quadro de difração de raios-x da amostra 8b com banco de dados. | 73 |
| Figura 43 - Mapeamento dos elementos químicos da amostra 8b. | 74 |
| Figura 44 - Imagem de MEV da amostra 9. Ampliação x 750. | 75 |
| Figura 45 - Imagem de MEV da amostra 9. Ampliação x 330. | 75 |
| Figura 46 - Espectro de raios-X de energia dispersiva da amostra 9. | 76 |
| Figura 47 - Mapeamento dos elementos químicos da amostra 9. | 77 |
| Figura 48 - Imagem de MEV da amostra 11. Ampliação x 1600. | 78 |
| Figura 49 - Imagem de MEV da amostra 11. Ampliação x 8000. | 78 |
| Figura 50 - Espectro de raios-X de energia dispersiva da amostra 11. | 79 |
| Figura 51 - Comparação do quadro de difração de raios-x da amostra 11 com banco de dados. | 80 |
| Figura 52 - Mapeamento dos elementos químicos da amostra 11. | 80 |

3 LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ADP ADENOSINA DIFOSFATO

ATP ADENOSINA TRIFOSFATO

DNA ÁCIDO DESOXIRRIBONUCLEICO

PHT HORMÔNIO PARATIREÓIDEO

ICSD INTERNATIONAL CENTRE FOR DIFFRACTION DATA

4 LISTA DE SÍMBOLOS

| | |
|--------|-------------------------------|
| Å | angström |
| °C | graus Celsius |
| g | grama |
| h | hora |
| kv | quilo volts |
| L | litro |
| M | metaloide |
| ml | mililitro |
| min | minuto |
| mg | miligrama |
| pH | potencial hidrogeniônico |
| µl | microlitro |
| µmol | micromol |
| au | unidade de massa atômica |
| a,b, c | parâmetros da célula unitária |

5 INTRODUÇÃO

Os defeitos ósseos procedem de diferentes causas, incluindo traumas, infecções, tumores e deformações congênitas. O preenchimento de defeitos no osso ainda gera dificuldades no trabalho clínico diário. O primeiro simpósio de biomateriais, realizado em 1969 na universidade de Clemson, Carolina do Sul, Estados Unidos marcou o ponto de partida para a necessária integração das disciplinas complementares de engenharia e medicina para o desenvolvimento de materiais bioativos [1].

O biomaterial compreende uma substância pura ou composta, de natureza sintética ou natural, que pode ser utilizada temporariamente ou definitivamente, com a finalidade de melhorar, aumentar ou substituir, parcial ou totalmente, tecido ou órgãos. O conceito do enxerto ósseo tornou-se definitivo com a compreensão fundamental da consolidação óssea e o avanço no conhecimento dos princípios de biologia celular e molecular [2].

O auto-enxerto é o melhor material para preenchimento dos defeitos ósseos apesar de suas limitações, como a disponibilidade e a morbidade causada pelo trauma na área doadora. Efetivamente, este enxerto é o que apresenta as melhores características de osteogênese, osteoindução e osteocondução [3]. É difícil concentrar estas três propriedades num material sintético. A utilização alternativa de aloenxertos apresenta sempre o risco potencial de transmissão de doenças infecciosas. Além disso, nem sempre existe disponibilidade ou acessibilidade fácil para recorrer aos bancos de osso existentes [4].

Desta forma as pesquisas têm avançado, procurando as alternativas viáveis. As apatitas sintéticas apresentam possibilidades de êxito, mas precisam de aditivos que estimulem a osteossíntese. Nesse sentido, as apatitas com base de vanádio em vez de fósforo (vanadatoapatitas) são ainda as mais promissoras para a fabricação de biomateriais funcionais para enxertos ósseos. O presente trabalho dedica-se a síntese e estudo da hidroxiapatita e vanadatoapatita contendo gálio, visando o uso biomédico.

6 REVISÃO DE LITERATURA

6.1 O TECIDO ÓSSEO

O tecido ósseo é um tecido conjuntivo dos mais resistentes e rígidos do corpo humano. Ele corresponde a aproximadamente 15% do peso do corpo. Este tecido protege órgãos vitais, aloja a medula óssea, produz células sanguíneas, promove a sustentação corporal dos animais vertebrados, é ponto de inserção de tendões, é suporte das partes moles do organismo, além de proporcionar base mecânica de apoio aos músculos esqueléticos para a movimentação do organismo, constituindo um sistema de alavancas.

A classificação, baseada no critério histológico, admite apenas duas variantes de tecido ósseo: o tecido ósseo compacto (ou denso) e o tecido ósseo esponjoso (lacunar ou reticulado). Essas variedades apresentam o mesmo tipo de célula e de substância intercelular, diferindo entre si apenas na disposição de seus elementos e na quantidade de espaços medulares. O tecido ósseo esponjoso apresenta espaços medulares mais amplos que dão aspecto poroso ao tecido.

O tecido ósseo compacto praticamente não apresenta espaços medulares, existindo, no entanto, um conjunto de canais que são percorridos por vasos sanguíneos (Figura 1). Por ser uma estrutura inervada e irrigada, o osso e o periósteo apresentam grande sensibilidade e capacidade de regeneração. Além destas funções, os ossos funcionam como um depósito de cálcio, fosfato e outros íons, incluindo, magnésio, potássio, sódio, bicarbonato, citrato e outros em menores proporções, armazenando-os ou liberando-os de maneira controlada, para manter constante a concentração desses importantes eletrólitos nos líquidos corporais. Cálcio e fósforo junto com estes íons, constituem a fração inorgânica, correspondendo de 50% a 70% da massa óssea. A fração orgânica possui substâncias intercelulares com abundante presença de fibras colágenas e glicoproteínas, fornecendo considerável flexibilidade às unidades ósseas. A associação de cristais inorgânicos com as fibras colágenas (parte orgânica) é responsável pela dureza e resistência características do tecido ósseo [5].

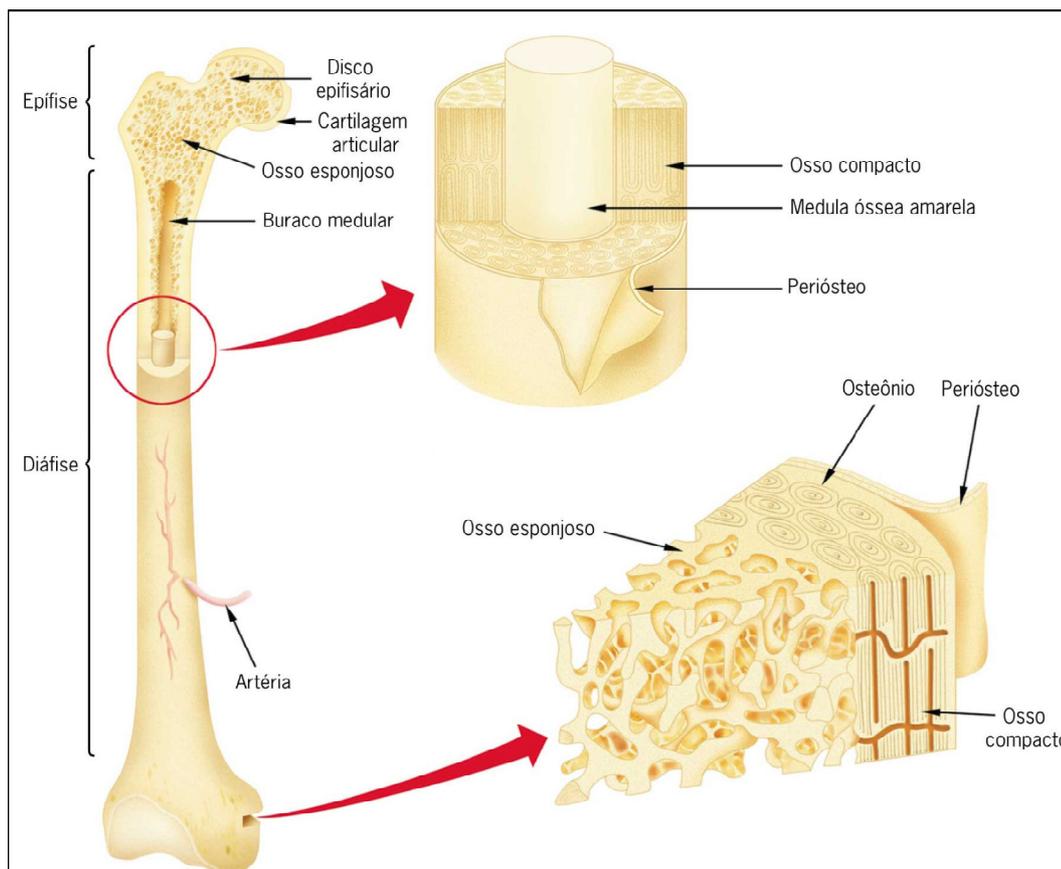


Figura 1- Estrutura do osso longo [6].

O tecido ósseo é altamente organizado, constituído de células dispersas numa matriz mineralizada permeada por outros tecidos incluindo o conjuntivo, hematopoético e cartilagem. As principais células do tecido ósseo são os osteoblastos, osteoclastos e os osteócitos [6].

Os *osteoblastos* sintetizam a região orgânica da matriz óssea e participam da mineralização da matriz, uma vez que possuem capacidade de concentrar fosfato de cálcio e ainda produzem proteínas da matriz extracelular. Estas células apenas são ativas durante cerca de 8 dias, tempo durante o qual produzem a matriz e as fibras. Depois ficam incluídas no tecido ósseo, passando a designar-se como osteócitos [7, 8].

Osteoclastos, ao contrário dos osteócitos e osteoblastos, são células gigantes, móveis e ramificadas irregularmente, com vários núcleos. Apresentam uma zona com vilosidades que se encontram em contato com o osso formado, as quais absorvem a matriz mineralizada, participando dos processos de reabsorção e, portanto, de remodelação óssea.

Os *osteócitos* se localizam no interior da matriz óssea, em lacunas. São via de transporte de nutrientes e metabólitos entre os vasos sanguíneos. Estes são osteoblastos num estágio posterior de diferenciação. Essas células são aprisionadas na matriz mineralizada e responsáveis pela sua manutenção e pela transdução de sinais mecânicos sentidos pelo osso.

A *matriz óssea* é constituída por uma parte orgânica e a parte inorgânica. A parte orgânica da matriz é constituída por grande quantidade (95%) de fibras colágenas de tipo I e uma pequena quantidade de glicoproteínas e proteoglicanas. A fase inorgânica é formada de depósitos de compostos minerais, principalmente fosfatos de cálcio que em sua maior parte estão na forma de hidroxiapatita (HA). Essa apatita é comumente chamada de apatita biológica e se caracteriza por ser pouco cristalina e deficiente em cálcio, além de conter substituintes iônicos em sua estrutura. Um desses íons é o carbonato que está presente em proporções que variam de 4 a 7,4% em peso, o que explica o fato de se definir essa fase mineral, muitas vezes, como carboapatita ou dahlita [9 -11]. Além do carbonato, vários outros íons, e até mesmo moléculas, agem como participantes de rede, como por exemplo, Mg^{2+} , Cl^- , F^- e H_2O .

6.2 APATITAS

Como foi dito, o osso é uma estrutura formada por apatita, contendo, além dele, o oxofosfato de cálcio e proteínas fibrinosas do colágeno, permitindo que o organismo obtenha certas vantagens de locomoção e ao mesmo tempo mantenha uma reserva de cálcio e fósforo [12].

As partículas primárias que se desenvolvem nos tecidos do osso são cristais de apatita, mas sua rede cristalina pode ser distorcida a tal grau que sua estrutura será considerada como intermediária entre a amorfa e a classicamente cristalina [13]. Foi observado que o aquecimento acima de $600^{\circ}C$ aumenta o grau da regularidade cristalina [14].

Em termos gerais, as apatitas de forma simplificada, podem ser descritas conforme a fórmula geral $A_{10}(BO_4)_6X_2$ na qual A são cátions divalentes. B são os metalóides e X representa os halogênios e ânions compostos. Todas as apatitas adotam simetria hexagonal ou pseudo-hexagonal. A habilidade em tolerar tamanha

quantidade de cátions manifesta-se em três aspectos cristaló - químicos peculiares à estrutura da apatita (Figura - 2).

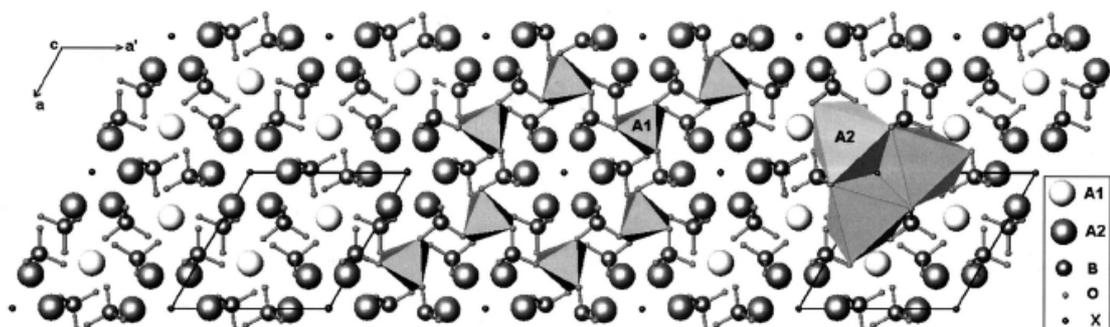


Figura 2 – A estrutura da apatita [15]

O primeiro aspecto é a existência de dois sítios A cristalograficamente distintos. A coordenação do ânion do sítio A(1) é AO_6 ou metaprismática, que é intermediária entre a coordenação octaedro perfeito e o prisma trigonal. A coordenação do ânion mais extenso, sítio A(2), é irregular com a ligação entre sete e nove oxigênios. Tais coordenações aumentam a capacidade de imobilizar cátions de diferentes tamanhos. O sítio (A2) situa-se adjacente a um “túnel” contínuo dentro da estrutura e é parcialmente preenchido com ânions X e fornece uma localização para pares isolados de elétrons. Uma segunda causa de flexibilidade estrutural surge porque tetraedros BO_4 são os únicos poliedros rígidos. Pequeníssimas redistribuições na topologia destas unidades estruturais podem ajustar as dimensões da apatita para acomodar cátions de raios iônicos totalmente distintos. Como terceiro aspecto, as apatitas podem exibir o sítio X não estequiométrico que facilita o equilíbrio de carga, caso o ambiente químico seja complexo [15].

Variedades naturais de apatita são notoriamente amoldáveis a uma extensa variedade de substituições de cátions e ânions. Uma dessas formas é a hidroxiapatita estequiométrica $Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2$ que é considerada a hidroxiapatita clássica. O composto se cristaliza no sistema hexagonal com dimensões da célula unitária $a = b = 9,42 \text{ \AA}$ e $c = 6,88 \text{ \AA}$.

Sendo o principal constituinte mineral dos ossos e dos dentes, a hidroxiapatita representa em média de 30 a 70% da massa óssea. Os cristais têm formas de agulhas, bastonetes ou placas que medem aproximadamente 30 a 50 \AA de largura e até 600 \AA de comprimento [16]. Está presente em quantidades maiores no tecido

jovem, recém-formado (40-50%) do que no osso de maior idade biológica, ou seja, modificado com amadurecimento do organismo (25-30%) [16].

Na Figura 3, está representada a ficha do mais completo banco de dados ICSD, referente à hidroxiapatita.

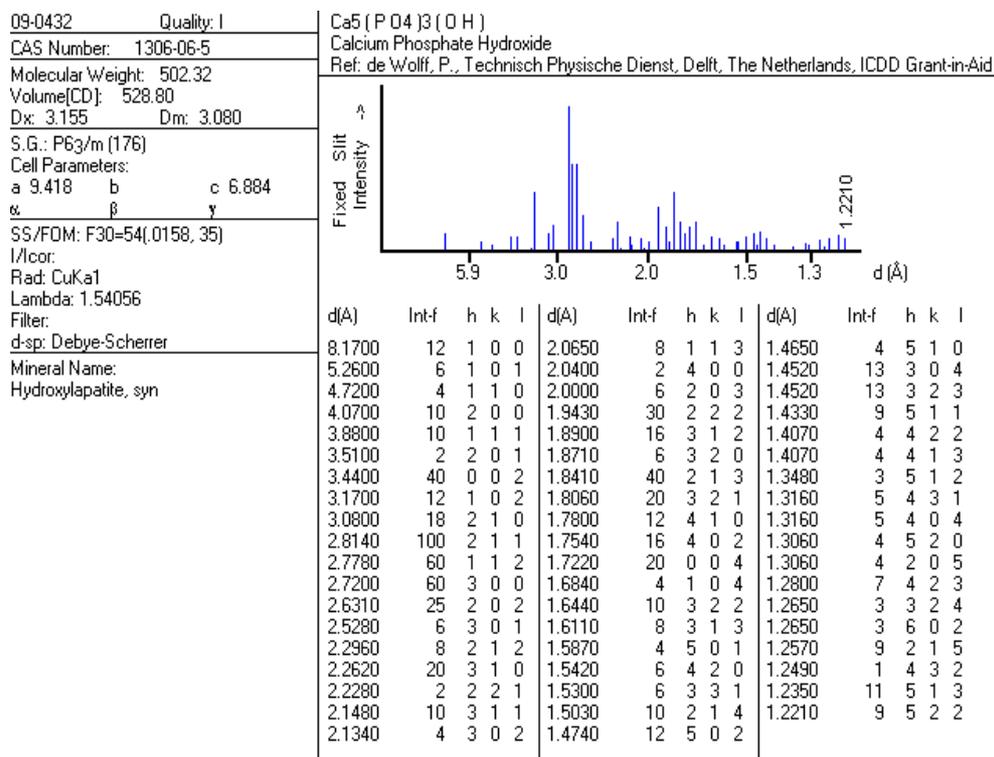
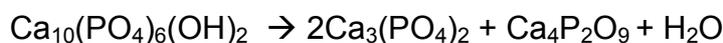
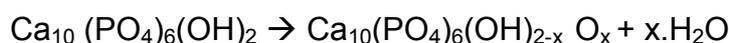


Figura 3 – Ficha 09-0432 da hidroxiapatita do Banco de dados ICSD

A hidroxiapatita estequiométrica perde com muita dificuldade os grupos OH⁻ que se encontram nos túneis. A estrutura fica estável pelo menos até 1000^oC. Além disso, o típico produto precipitado na síntese por via úmida pode conter até 3% de água, inclusive após a secagem a 100^oC. Esta água se elimina ao aquecer o composto a 600-800^oC. Acima de 1000^oC uma pequena quantidade de OH⁻ presente se converte em O₂ e H₂O, sem nenhum prejuízo para a rede cristalina [17]. Acima de 1500^oC a hidroxiapatita se decompõe conforme as reações [16]:



No caso, quando também esteja presente octafosfato de cálcio, este também se torna inicialmente hidroxiapatita e logo se decompõe, conforme as reações anteriores. Seja como for, a hidroxiapatita sempre está acompanhada por octafosfato de cálcio, $\text{Ca}_8\text{H}_2(\text{PO}_3)_6 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$, o que permite ao organismo modular as propriedades mecânicas do aparelho locomotor [18].

A superfície da hidroxiapatita é quimicamente ativa, pois os cristais precipitados durante a formação das apatitas têm tamanho muito pequeno (placas hexagonais com as arestas de aproximadamente 200 Å) e grande superfície (50-200 m^2/g) [19]. Portanto pode ser usada para absorver vários metais e, entre eles, aqueles que poluem o meio ambiente, tais como chumbo e cádmio [20].

Como já foi mencionado, a estrutura da hidroxiapatita permite as substituições isomorfas com grande facilidade. O Ca^{2+} pode ser substituído por metais com raios iônicos compatíveis como o Pb^{2+} , Cd^{2+} , Cu^{2+} , Zn^{2+} , Sr^{2+} , Co^{2+} , Fe^{2+} . Deste modo podem ser obtidos tanto os compostos individuais [12] como, evidentemente, as soluções sólidas de substituição. Basta dizer que os dados cristalográficos para as apatitas substituídas estão contidos em pelo menos 20 fichas do banco de dados internacional ICSD. Este tipo de substituição é conhecido como substituição isovalente já que a carga é idêntica.

A substituição do Ca^{2+} também é possível pelas combinações $\text{M}^+ + \text{M}^{3+}$ que equivaleria a 2Ca^{2+} . Neste caso, o processo não é isovalente, mas sim, heterovalente. Os compostos de maior interesse são aqueles em que M^{3+} corresponde a um elemento da série de terras raras. Recentemente, foram estudadas as soluções sólidas $\text{Ca}_{5-2x}\text{M}^+_x\text{M}^{3+}_x(\text{PO}_4)_3\text{OH}$, onde $\text{M}^+ = \text{Li}, \text{Na}, \text{K}, \text{Rb}$ e Cs e $\text{M}^{3+} = \text{La}, \text{Pr}, \text{Nd}, \text{Sm}, \text{Gd}, \text{Tb}$ e Ho . Na maioria dos casos, a substituição foi possível até de valores de $x = 0,8$. A hidroxiapatita com estrôncio comporta-se de um modo análogo [21].

Em um recente trabalho obteve-se sucesso na introdução do íon gálio dentro da rede cristalina da hidroxiapatita. A dopagem foi feita utilizando nitrato de gálio e solução de galato de sódio. Os parâmetros de rede da hidroxiapatita dopada pelo gálio são idênticos aqueles de hidroxiapatita sintética pura. O gálio não substitui o cálcio como resultado da substituição heterovalente e conseqüentemente não

produz distorção no arcabouço da matriz da hidroxiapatita. Ele permanece fortemente fixado na formação de solução sólida de intercalação. A inserção do gálio não causa nenhuma alteração na estrutura morfológica. Também foi confirmado que a hidroxiapatita dopada com gálio não apresenta citotoxicidade [22].

Os grupos hidroxilas que se encontram nos túneis podem ser substituídos pelos halogenetos: fluoreto, brometo e cloreto. Essas substituições podem alterar a cristalinidade, os parâmetros de rede, as dimensões dos cristais, a textura superficial e a estabilidade da estrutura da hidroxiapatita [12]. Naturalmente, isso deve ser acompanhado pelas mudanças dos parâmetros da rede cristalina.

Afinal, o próprio tetraedro PO_4 pode ser substituído pelo tetraedro contendo vanádio, VO_4 , levando à formação da vanadatoapatita $\text{Ca}_{10}(\text{VO}_4)_6(\text{OH})_2$ e também à formação de soluções sólidas de substituição $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_{6-x}(\text{VO}_4)_x(\text{OH})_2$. Já é sabido que a substituição parcial ou completa do íon PO_4^{3-} pelo íon VO_4^{3-} resulta na formação de compostos isomórficos altamente estáveis. Conforme as recomendações da literatura as soluções sólidas fosfatoapatita-vanadatoapatita podem ser preparadas, misturando-se as soluções contendo os íons fosfato e vanadato com a solução de nitrato de cálcio com aquecimento perto do ponto de ebulição. O precipitado deve ser seco a 100°C por 24h e aquecido a 900°C por 3h sob atmosfera inerte [23].

Na Figura 4 está representada a ficha do mais completo banco de dados ICSD, referente à vanadatoapatita.

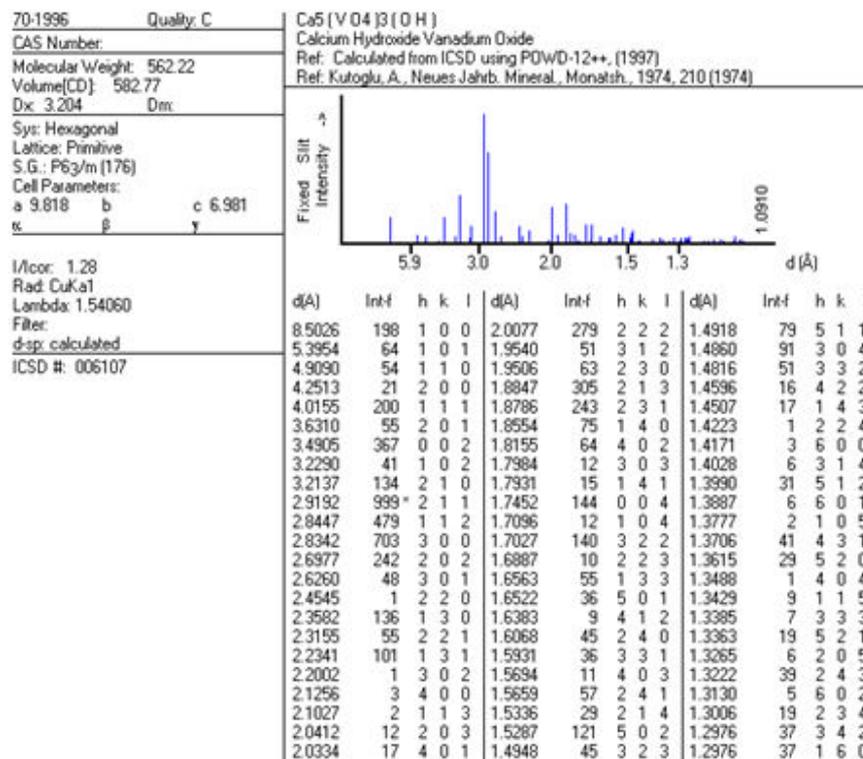


Figura 4 – Ficha 70-1996 da vanadatoapatita do Banco de dados ICSD

O refinamento da estrutura da rede cristalina mostrou que os parâmetros a e c no intervalo de $x = 0,3$ até 6 aumentam linearmente. Isto indica que é cumprida a lei de Vegard e as soluções sólidas são aquelas de substituição. Na Tabela I estão apresentadas as distâncias interatômicas nessas estruturas. Pode-se notar que os tetraedros $P(V)O_4$ ficam mais distorcidos com o aumento de x .

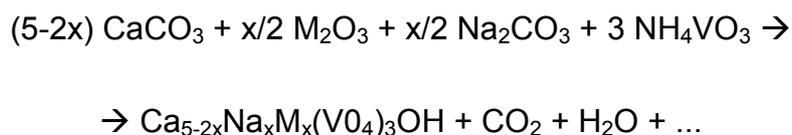
Tabela I – Distâncias interatômicas (Å) e ângulos ($^\circ$) no tetraedro MO_4 *

| M = V,P | x = 0,3 | x = 1,5 | x = 3,0 | x = 4,5 | x = 6,0 |
|-------------|---------|---------|---------|---------|---------|
| M-O (1) | 1,535 | 1,565 | 1,542 | 1,613 | 1,672 |
| M-O(2) | 1,549 | 1,597 | 1,618 | 1,700 | 1,738 |
| M-O(3) | 1,568 | 1,585 | 1,618 | 1,653 | 1,687 |
| O(1)-M-O(2) | 109,3 | 109,3 | 113,2 | 113,2 | 112,1 |
| O(1)-M-O(3) | 112,4 | 112,3 | 112,6 | 111,4 | 111,0 |
| O(2)-M-O(3) | 107,7 | 107,6 | 106,0 | 106,2 | 107,4 |
| O(3)-M-O(3) | 107,0 | 107,7 | 105,7 | 108,1 | 107,9 |

* x é o coeficiente estequiométrico refletindo a fração molar do íon vanadato.

Fonte: [23]

Para a vanadatoapatita, igualmente a hidroxiapatita com fósforo, são possíveis substituições no sítio do cálcio. Pode ser substituído pelos elementos alcalino terrosos e, com mais dificuldade, com outros elementos bivalentes, como zinco, cádmio e chumbo. Também podem ocorrer as substituições heterovalentes tipo $2\text{Ca}^{2+} \rightarrow \text{Na}^+ + \text{M}^{3+}$. Os casos mais estudados são as substituições com $\text{M}^{3+} = \text{Nd}, \text{Sm}, \text{Gd}, \text{Ho}$ [24]. O processo foi realizado conforme a seguinte reação:



As amostras foram preparadas pela pirolise a 500°C das soluções tartáricas dos componentes usados na reação. O produto seco foi triturado e reaquecido a 700°C durante 10h. Durante o aquecimento, foi realizada uma trituração adicional. As condições experimentais devem ser rigorosamente obedecidas, pois já no caso da vanadatoapatita pura, simultaneamente, pode formar-se o vanadato de cálcio $\text{Ca}_3(\text{VO}_4)_2$ ou mesmo CaO .

A difratometria de raios X mostrou que os parâmetros da rede hexagonal da vanadatoapatita, no sistema $\text{Ca}_{5-2x}\text{Na}_x\text{Nd}_x(\text{VO}_4)_3\text{OH}$, no intervalo de $x = 0-1.0$, mudam em direções contrárias. O parâmetro a diminui de um modo insignificante (praticamente dentro do erro) e o c aumenta substancialmente. Portanto, em todos os casos, ocorre a substituição dos íons de cálcio com a formação de soluções sólidas. Porém observa-se que as amostras monofásicas podem ser obtidas apenas para as composições com $x \leq 0,45$.

Nos sistemas com Sm, Gd e Ho, o processo ocorre de um modo semelhante, também com a formação de $\text{Ca}_3(\text{VO}_4)_2$ com $x \geq 0,10$. Além disso, sempre está presente uma fase não identificada com as interplanares máximas 3,21; 3,18; 3,16Å.

O sistema com La mostra outro tipo de substituição. Neste caso, o La foi introduzido sem ser acompanhado de um metal alcalino, supondo o seguinte esquema: $\text{Ca}^{2+} + \text{OH}^- \rightarrow \text{La}^{3+} + \text{O}^{2-}$ com a participação da hidroxila. As amostras foram sintetizadas conforme a reação:





Neste caso, em vez das soluções sólidas, mencionadas anteriormente, formam-se fases $\text{Ca}_{5-x}\text{La}_x(\text{VO}_4)_3(\text{OH})_{1-x}\text{O}_x$ onde $x = 0$ e $0,65$. A presença do íon de oxigênio é necessária para balancear as cargas [25].

6.2.1 Aplicações das apatitas

Biomateriais são novos materiais projetados para substituir partes do corpo e permitir a recuperação de funções biológicas, afetadas por doenças ou acidentes. Biocompatibilidade e biofuncionalidade são as principais características necessárias para que esses materiais exerçam essas funções. A biocompatibilidade é a aceitação do biomaterial pelo corpo, já a biofuncionalidade representa a habilidade do material para desempenhar a função desejada [12]. O esqueleto médio humano contém aproximadamente 700 g de fósforo na forma da apatita. A proporção Ca/ P nas apatitas biológicas é geralmente da ordem 1,67 [19].

A hidroxiapatita tem sido profundamente estudada por ser o principal constituinte da fase inorgânica do osso. Suas características químicas e estruturais possibilitam seu uso na área médica como material biocompatível em implantes e próteses. Na ortopedia existe um particular interesse em usá-la como revestimento de próteses metálicas para promover a ligação interfacial estável entre o material implantado e o tecido vivo [12].

No tratamento de tumores, esse biomaterial vem sendo usado como suporte de ação prolongada. A introdução de drogas anticancerígenas, em blocos de hidroxiapatita porosa, permite que o tratamento da doença seja realizado com a liberação gradual da droga no organismo. Sob este aspecto, essa técnica é atrativa, pois combina o tratamento do tumor com a substituição do osso doente [12].

Na área odontológica, a hidroxiapatita é utilizada para evitar perda óssea, após a restauração ou extração de um dente. Pinos de titânio, revestidos com hidroxiapatita são usados no implante para a substituição da raiz [12].

As aplicações da hidroxiapatita sintética não se restringem à área biomédica. Devido à sua grande afinidade por proteínas, o composto tem sido aplicado como

adsorvente em cromatografia líquida. A capacidade de adsorção está relacionada à estrutura do poro e à natureza físico-química da superfície do sólido [12].

Não foram encontrados dados na literatura sobre a aplicação da vanadatoapatita, porém ela apresentou ser um material promissor pelo fato de o vanádio possuir bioatividade própria, em especial, no que diz respeito ao osso. É interessante também aproveitar as possibilidades de dopagem com outros metais que têm afinidade com o osso, dentre eles, o gálio.

6.3 VANÁDIO

O vanádio é um elemento químico de símbolo V , número atômico 23, massa atômica 51 e configuração eletrônica $[Ar]3d^34s^2$. Apresenta alta resistência ao ataque das bases, ao ácido sulfúrico e ao ácido clorídrico. É um metal dúctil, macio, brilhante e de cor cinzenta, com a temperatura de fusão de 1020°C e de ebulição 3450°C [26].

Foi descoberto por um mineralogista espanhol Andrés Manuel del Río, no México, em 1801, num mineral de chumbo. Primeiro foi denominado "pancromo", pela semelhança de sua cor com a do cromo, depois de "eritrônio", devido à coloração avermelhada de seus sais aquecidos. Entretanto, o químico francês Hippolyte Victor Collet-Descotils questionou a descoberta, alegando que o obtido tratava-se realmente do cromo impuro, provocando a retratação de Andrés Manuel del Río. Em 1830, o sueco Nils Gabriel Sefström redescobriu o elemento num óxido que encontrou enquanto trabalhava numa mina de ferro e deu-lhe o nome pelo qual é conhecido atualmente. Mais tarde, em 1831, Friedrich Woehler concluiu que se tratava do mesmo elemento descoberto em 1801 por Andrés Manuel del Rio. O vanádio metálico foi obtido, em 1867, por Henry Enfield Roscoe, mediante a redução do tricloreto de vanádio, VCl_3 , com hidrogênio [26].

O vanádio nunca é encontrado no estado nativo, porém está presente em cerca de 65 diferentes minerais, entre os quais se destacam a patronita, a vanadinita, a carnotita e a bauxita. A maior parte das reservas mundiais, cerca de 10 milhões de toneladas, encontra-se na Rússia, China e África do Sul.

O vanádio apresenta estados de oxidação +2, +3, +4 e +5, sendo os três últimos os mais comuns. Os potenciais de ionização dos respectivos processos são baixos, portanto os processos de oxidação e redução ocorrem facilmente.

No limite do pH neutro, as soluções aquosas de vanadato consistem na mistura de espécies aniônicas e oxovanadatos. O oxovanadato mais simples é monomérico. A flexibilidade estrutural do átomo de vanádio no vanadato monomérico é ilustrada cristalograficamente na Figura 5 [27].

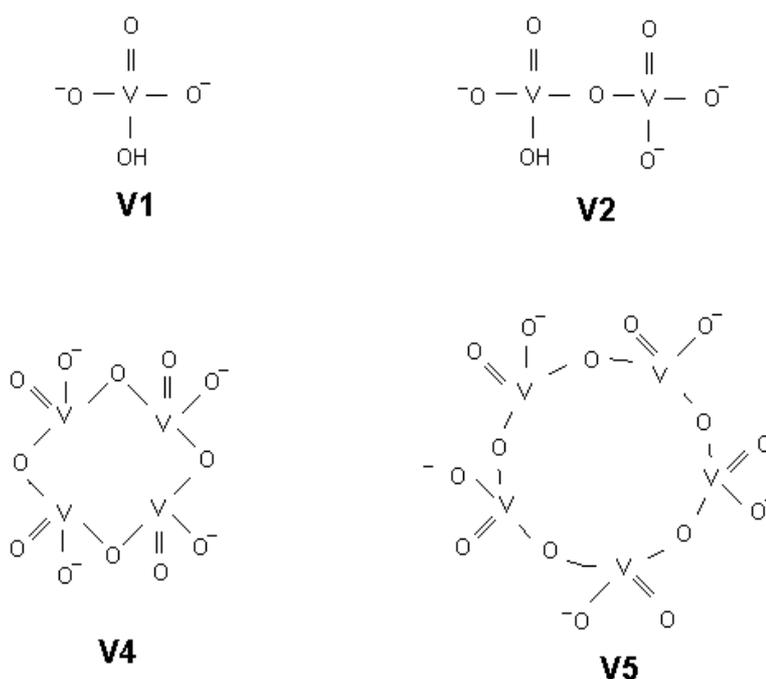


Figura 5 – Representação esquemática dos poliedros de vanádio.

O vanádio é um elemento bioativo que está contido nas enzimas, em particular naquelas que regulam o metabolismo do osso. Existem organismos (moluscos), que contém o complexo equivalente a hemoglobina, no qual o ferro está substituído pelo vanádio (vanadioglobina) [28].

6.3.1. Vanádio e enzimas

6.3.1.1 Proteína fosfatrosina fosfatase

As estruturas, mecanismos de ação e regulação da fosfotirosil fosfatase não são suficientemente conhecidas. Uma premissa amplamente aceita é a de que o

vanadato iniba essa enzima, alterando fatores de crescimento. Contudo, o vanadato não é um inibidor específico de todas as atividades fosfotirosil fosfatase. Isso tem repercussão na atividade das fosfatases em geral. Por exemplo, uma fosfatase ácida no osso requer 2mM de vanadato para alcançar 70% de inibição [29].

6.3.1.2 Fosfatase alcalina

A fosfatase alcalina, que diretamente participa no metabolismo do osso, pode ser inibida por vanádio em estados de oxidação IV ou V. Na maioria dos casos, o íon vanadilo é melhor inibidor que o vanadato. Outros inibidores potentes da fosfatase alcalina são o molibdato e periodato. Por isso é altamente provável que o vanadato iniba espécies com a geometria bipiramidal trigonal e o vanadilo de maneira similar. A estrutura cristalina da fosfatase alcalina mostra que a área ativa está próxima à superfície da molécula [27].

6.3.2 Vanádio e osso

O efeito do vanádio no metabolismo ósseo foi investigado na diáfise femoral de ratos. Pentóxido de vanádio (1.0-20.0 μ mol V/100g) foi administrado oralmente durante 3 dias. As doses de 15,0 e 20,0 μ mol V/100g causaram um aumento significativo na concentração de cálcio sérico. *In vitro*, a atividade óssea (fosfatase alcalina) foi aumentada de forma expressiva, com as doses de 1.0-20.0 μ mol V/100g. No entanto, a atividade de fosfatase ácida não foi alterada significativamente. O conteúdo de DNA do osso aumentou de forma relevante, com as doses de 1.0-10.0 μ mol V/100g. A quantidade de cálcio no osso não foi alterada significativamente pela administração de vanádio. O aumento da concentração sérica de cálcio, causada pela administração de vanádio (20,0 μ mol/100g), foi inibido completamente por injeção simultânea de sulfato de zinco (15,3 μ mol Zn/100g) durante 3 dias, embora o zinco sozinho, não tenha qualquer efeito. A administração de zinco (15,3 μ mol/100g) produziu um aumento sensível na atividade da fosfatase alcalina óssea, conteúdo de DNA, e de cálcio. Nesse estudo, mostra-se que uma dose relativamente baixa de vanádio pode desempenhar um papel estimulante para o metabolismo no osso dos ratos. O zinco, neste caso, não permite que a quantidade excessiva de vanádio tenha efeitos tóxicos [30].

Apesar de existir várias informações sobre a atividade biológica do vanádio, pouco é conhecido sobre os mecanismos bioquímicos envolvidos. No nível molecular, essa atividade pode ser devida à concorrência entre fósforo e vanádio nos compostos biologicamente ativos, tais como ATP, ADP e outros [31].

6.4 GÁLIO

O gálio é um elemento químico de símbolo Ga, de número atômico 31 e massa atômica 69,7u. Foi descoberto através da espectroscopia, em 1875, por seu espectro característico (duas linhas no ultravioleta), ao examinar uma blenda de zinco procedente dos Pireneus. No mesmo ano, foi isolado por Lecoq de Boisbaudran, através do processo de eletrólise do hidróxido numa solução de hidróxido de potássio dando ao novo elemento o nome do seu país natal: Gallia. Como era de costume, finais do século XIX, o descobridor utilizou um jogo de palavras com seu próprio nome para nomear o elemento: “gallus” significa “galo”, “coq” em francês. Em solução aquosa, encontra-se particularmente em estado de íon trivalente (Ga^{3+}). Possui conhecida propriedade anabólica no tecido ósseo, especialmente onde ocorrem os processos de formação e remodelação [32]. Observações clínicas sugerem que interfere na reabsorção óssea, reduzindo sua taxa de dissolução (turnover), pela inibição na atividade dos osteoclastos [33].

O íon gálio (Ga^{3+}) pertence aos ácidos fortes e, portanto, deve unir-se aos de bases fortes de Lewis, particularmente OH, mostrando uma alta tendência para formar quelatos por meio de sua ligação com oxigênio e, em menor proporção, por intermédio dos átomos de nitrogênio [34].

O íon gálio Ga^{3+} supostamente “livre”, na realidade, está hidratado por seis moléculas de água conforme um arranjo octaédrico. A hidrólise ocorre quando uma molécula de água adicional retira um próton de uma das moléculas que rodeiam o gálio. Como resultado, forma-se um íon hidrônio (H_3O^+) e, deste modo, o meio torna-se ácido [35]. O “OH restante” da molécula de água interna continuará no arranjo octaédrico, substituindo o H_2O retirado. O final é a formação de hidróxido de gálio $Ga(OH)_3$ na forma amorfa [2]. Se o hidróxido amorfo $Ga(OH)_3$ perder uma molécula de água converte-se em uma fase cristalina estável $GaO(OH)$, menos solúvel em

solução neutra do que $\text{Ga}(\text{OH})_3$. No entanto, o hidróxido é solúvel em meio básico com a formação de $\text{Ga}(\text{OH})_4^-$ (galato) [36]

Neste íon, a coordenação do gálio muda e já é tetraédrica (Figura 6), ou seja, o íon está rodeado por quatro grupos OH^- que são facilmente substituídos por outros grupos ou átomos no meio fisiológico. Isto faz com que a ação biológica do gálio seja determinada na sua maior parte por esta geometria tetraédrica. Ao contrário, o hidróxido $\text{Ga}(\text{OH})_3$ e oxidohidróxido $\text{GaO}(\text{OH})$ têm baixa solubilidade dentro de um abrangente intervalo de pH, como também baixa biodisponibilidade do gálio quando seus sais são administrados por via oral, precipitando em hidróxido e oxihidróxido [31].

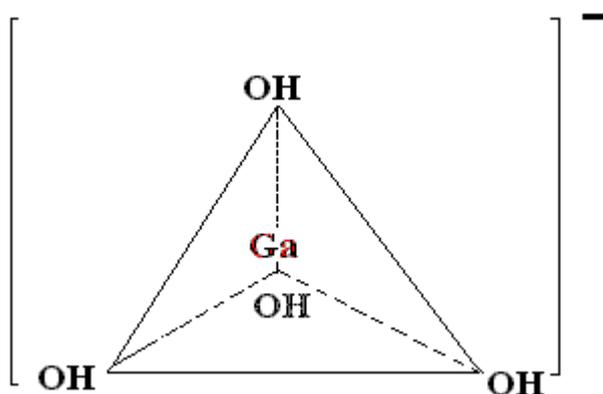


Figura 6 - Forma tetraédrica do íon galato.

As características bioquímicas do Ga^{3+} são muito similares às do Fe^{3+} , especialmente na capacidade de ligação protéica e para formar quelatos, estas características em parte, podem explicar os efeitos fisiológicos do gálio. O alto grau de correspondência no comportamento químico destes íons pode ser atribuído aos valores comparáveis dos seus raios iônicos e capacidade eletrostática.

O gálio pode substituir o Fe^{3+} em algumas proteínas que contêm Fe^{3+} do corpo humano, entretanto esta propriedade ocorre na presença de ribonucleotídeo redutase [37]. Por outro lado, não poderá entrar em uma proteína que contenha Fe^{2+} , como é o caso da hemoglobina e citocromo, devido à diferença em raios iônicos. Este comportamento é importante, pois impede o gálio de penetrar em glóbulos vermelhos e, deste modo, não interfere no transporte de oxigênio [38].

Os íons gálio têm provado ser particularmente eficazes como agentes terapêuticos na hipercalcemia, associada a certos tumores malignos [39]. Os níveis de calcemia rapidamente normalizam, diminuindo a acelerada reabsorção óssea. O mecanismo fisiológico da ação deste metal no osso ainda não está completamente esclarecido [40].

A eficácia clínica do gálio tem sugerido seu emprego no tratamento da reabsorção óssea acelerada, com hipercalcemia ou não, na modulação de doenças autoimunes e rejeição de aloenxerto, sem imunossupressão [41]. Em doenças oncológicas [42], especialmente naquelas com metástase para o osso [43] e em doenças infecciosas, particularmente tripanossomíase, tuberculose e sífilis [44].

A atividade anti-reabsortiva do gálio permitiu o seu emprego no tratamento do mieloma múltiplo [45], doença de Paget do osso [46] e na metástase, envolvendo o tecido ósseo [47]. Tem sido sugerido também como tratamento para a osteoporose pós-menopausa.

O gálio na forma de nitrato, introduzido em diferentes concentrações, tem sido identificado no osso, especialmente nas regiões de depósito e remodelação óssea, mostrando ser potente inibidor de osteoclastos isolados em cultura de osso cortical [48].

A prática de usar o gálio radioativo para visualizar o tecido esquelético, levou à descoberta de seus depósitos nas regiões de remodelação óssea [49]. Nas áreas de crescimento ósseo, está concentrado na camada hipertrófica da placa de crescimento (fise), bem como no foco da consolidação das fraturas, em menor proporção na superfície endosteal e periosteal da diáfise do osso [50].

O gálio não inibe o desenvolvimento ou recrutamento dos osteoclastos no tecido ósseo, diferente dos bisfosfonatos que induzem à apoptose osteoclástica. Esta ação farmacológica no osso aumenta os níveis de cálcio e fosfato, aumentando sua resistência biomecânica [51].

O efeito do gálio na formação óssea pode ser explicado pelo processo de mineralização, que segue o mesmo mecanismo padrão do cálcio durante o

crescimento mineral. *In vitro* tem a propriedade de aderir na superfície da hidroxiapatita, retardando sua cristalização e provável dissolução [52].

No que diz respeito à interação do gálio com hidroxiapatita e outros componentes do osso, pode-se falar do seu efeito combinado na mineralização óssea, como potente bloqueador de absorção mineral pela diminuição da secreção ácida dos osteoclastos, interferindo no processo de cristalização. Isto parece ser mediado pela inibição da bomba de próton ATP-ase, dependente da sensível membrana osteoclástica [53].

O estudo da cinética na incorporação do gálio está na função de aderência na superfície da hidroxiapatita, enquanto que na comparação com o cálcio e fosfato, estes por sua vez, estão no crescimento do cristal [54].

Dados experimentais *in vitro* mostraram que, o gálio em solução inibe a dissolução da hidroxiapatita em uma concentração maior que 10 μ M. A sua incorporação foi muito mais rápida, 95% nos primeiros 15 minutos, enquanto menos 50% do cálcio e fosfato [55].

Evidências experimentais em ratos mostraram que após duas semanas em contato com sal de gálio, a solubilidade do osso em acetato diminui substancialmente [55].

Outro estudo, envolvendo partículas ósseas de ratos tratados com gálio, demonstrou ter significativamente maior resistência a carga, comparados com o grupo controle que apresentava aparente absorção de células, sem diferença na capacidade para recrutamento dos osteoclastos. A inibição da reabsorção óssea foi independente da presença do hormônio paratireóideo (PTH), também não se observou qualquer alteração morfológica ou inviabilidade do osteoclasto [56].

A atividade inibitória do osteoclasto (reabsorção óssea), motivada pelo gálio, foi dose-dependente em um estudo *in vitro*, entretanto para que isso ocorra, sem causar citotoxicidade, é necessário antes de tudo que haja sua aderência com a superfície do osso pela adsorção [56].

De acordo com evidências experimentais, além de sua influência direta nos osteoclastos, os íons gálio podem inibir a reabsorção óssea e estimular a formação de osso novo, graças a sua ação sobre os osteoblastos (atividade anabólica). O fato foi comprovado pelo aumento dos níveis plasmáticos de fosfatase alcalina (marcador de formação óssea) [57].

A glândula paratireóide ajuda a regular os níveis de cálcio plasmático pela secreção do PTH, que estimula a reabsorção óssea. Os recentes estudos mostraram que o gálio na concentração de 200µM inibe o PTH, sugerindo que seu efeito hipocalcêmico é antiosteolítico [56].

A formação do osteoclasto é estimulada pela interleucina (IL-6) e outras citocinas como IL-1, IL-3 e IL-11, as quais sofrem influência do gálio por meio de modulação no bloqueio de sua síntese. Esta atividade pode ser sugerida em razão da eficácia do gálio na doença de Paget e na supressão da osteólise, associada ao mieloma múltiplo, situações em que se encontram altos níveis destas citocinas nas lesões ósseas [57].

O mecanismo de ação do gálio sobre o metabolismo esquelético permanece desconhecido. Evidências experimentais suportam o conceito de que haja precipitação como fosfato inorgânico no tecido ósseo, particularmente no neoformado. Este fenômeno reforça o achado *in vitro* da capacidade deste elemento em aderir com a superfície da hidroxiapatita sintética [41].

A atividade imunomodulatória do gálio foi observada na supressão da resposta alérgica, inibindo a atividade das células T e macrófagos, sem efeito imunossupressor ou citotóxico. Nas doenças autoimunes, mediadas por células T como doença de Reiter e artrite reumatóide, desenvolveu-se uma menor reação inflamatória, com menos sinovite, 'panus', reabsorção subcondral, degeneração cartilaginosa e neoformação óssea periosteal, apesar de que, neste caso, a escolha do grupo controle é problemática [57].

O bloqueio da resposta mitogênica proliferativa e antígeno específico pelo gálio indica que sua ação sobre a célula não é tóxica, contudo atua nas fases iniciais de ativação da imunomodulação [56].

Devido as suas características interessantes e promissoras, o gálio merece ser futuramente avaliado do ponto de vista experimental e clínico, em ortopedia, traumatologia e doenças relacionadas com o câncer. Maior conhecimento dos mecanismos envolvidos pode fornecer as idéias para estratégia terapêutica, com o objetivo de diminuir hipercalcemia e perda óssea. Espera-se que novos compostos do gálio sejam desenvolvidos e avaliados clinicamente [58,59].

O presente trabalho dedica-se ao estudo da vanadatoapatita e hidroxiapatita contendo gálio, visando o uso biomédico.

7 OBJETIVOS

7.1 OBJETIVO GERAL

- Síntese e estudo da hidroxiapatita e vanadatoapatita contendo gálio, visando o uso biomédico.

7.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Desenvolver uma nova metodologia para a síntese da hidroxiapatita e vanadatoapatita.
- Indagar sobre a possibilidade da introdução do gálio na hidroxiapatita seja na forma de soluções sólidas ou produto de intercalação.
- Verificar sobre a possibilidade da introdução do gálio na vanadatoapatita seja na forma de soluções sólidas ou produto de intercalação.
- Observar a possibilidade de estabelecer um caminho experimental para a introdução simultânea do gálio e vanádio na hidroxiapatita.
- Realizar experimentos de absorção do gálio na vanadatoapatita e hidroxiapatita.

8 MATERIAIS E MÉTODOS

8.1 REAGENTES

Na Tabela II estão representados os reagentes que foram utilizados para obtenção da hidroxiapatita, vanadatoapatita e no processo de dopagem com o sal de gálio e galato de sódio.

Tabela II – Relação dos reagentes usados

| Reagente | Composição | Procedência | Pureza |
|--------------------------------|---|---------------|--------|
| Hidróxido de sódio | NaOH | Merck | 99.0% |
| Hidróxido de cálcio | Ca(OH) ₂ | Merck | 99.0% |
| Fosfato de amônio bibásico | (NH ₄) ₂ HPO ₄ | Synth | 98.0% |
| Óxido de gálio | Ga ₂ O ₃ | Gosreagent | 99.9% |
| Óxido de bismuto | Bi ₂ O ₃ | Gosreagent | 99.9% |
| Pentóxido de vanádio | V ₂ O ₅ | Gosreagent | 99.9% |
| Nitrato de gálio hidratado | Ga(NO ₃) ₃ · xH ₂ O | Sigma-Aldrich | 99.9% |
| Solução de hidróxido de amônio | NH ₄ OH | Merck | 99.0% |
| Metavanadato de amônio | NH ₄ VO ₃ | Riedel-Dehaen | 99.0% |
| Álcool etílico | C ₂ H ₅ OH | Chemco | 98.0% |

8.2 MÉTODOS INSTRUMENTAIS USADOS

8.2.1 Microscopia eletrônica de varredura (MEV)

O microscópio eletrônico de varredura é um equipamento capaz de produzir imagens de alta ampliação (até 300.000x) e resolução. As imagens possuem um caráter virtual, pois o que é visualizado no monitor do aparelho é a transcodificação

da energia emitida pelos elétrons, ao contrário da radiação de luz a qual estamos habitualmente acostumados. O princípio de funcionamento consiste na emissão de feixe de elétrons mediante a aplicação de uma diferença de potencial que pode variar de 0,5 a 30kV. Essa variação de voltagem permite controlar a aceleração dos elétrons e, também, provoca o aquecimento do filamento. A parte positiva em relação ao filamento do microscópio (eletrodo positivo) atrai fortemente os elétrons gerados, resultando numa aceleração em direção ao eletrodo positivo.

A MEV está destinada à análise morfológica do corpo sólido. Essa técnica, até certo grau, pode diferenciar as fases cristalinas das amorfas, bem como caracterizar o tamanho dos cristalitos e de seus aglomerados. Nesse sentido, é fundamental na verificação da não homogeneidade do material, que pode passar despercebida na microscopia óptica. Também pode indicar a instabilidade das fases sob o feixe dos elétrons.

É preciso destacar que há necessidade de recobrimento por um material condutor, já que as amostras com amolecimento ou temperatura de fusões relativamente baixas podem sofrer transformações devido à exposição ao feixe de elétrons. Nesse caso, poderiam surgir efeitos artificiais que dificultam a interpretação das imagens. As micrografias foram obtidas utilizando um equipamento JEOL 6830.

8.2.2 Análise de energia dispersiva (EDX)

O princípio deste método baseia-se na radiação produzida quando um feixe de elétrons que atinge a amostra, seus átomos são excitados e, ao voltarem para o estado fundamental, produzem radiação de raios-X característica do átomo. A radiação é identificada conforme sua energia e contada pelo detector localizado dentro da câmara de vácuo. Dessa forma, o conjunto hardware e software do sistema fazem à aquisição dos sinais e gera o espectro relativo ao número de contagens em função da energia, em keV, identificando, sem lugar a dúvida, os elementos químicos presentes na amostra. São identificáveis os átomos a partir do boro. Além dos espectros característicos, o sistema realiza análise de pontos, linhas e regiões definidas sobre a amostra. O conjunto dos dados permite gerar mapas da distribuição dos elementos (mapeamento) da imagem em estudo. A análise de EDX

foi realizada paralelamente à microscopia eletrônica por varredura, usando uma sonda acoplada ao mesmo equipamento, JEOL 6830 da MEV.

8.2.3 Difratomia de raios-X (DRX).

O princípio de difratometria de raios-X consiste em interação de dois feixes de raios-X coerentes, ou seja, procedentes de uma fonte, com a substância cristalina. Devido à proximidade do comprimento de onda de raios-X e as distâncias interplanares (d) de um cristal, este último atua como grade de difração. Dependendo do ângulo de incidência, diferentes planos refletem os raios iniciais que já tem uma diferença de fase. Estes dois feixes refletidos permitem caracterizar a distância interplanar e como os planos são numerosos, o quadro total vai caracterizar a estrutura cristalina do composto. Não se trata da determinação de distâncias interatômicas e ângulos, mas somente do conjunto de intensidades e distâncias interplanares. Estes dados permitem computar os parâmetros da rede cristalina e identificar o composto através de base de dados ICSD que atualmente contém aproximadamente 90.000 itens. Essa técnica é às vezes chamada de difratometria de pó, já que não precisa de monocristais para o refinamento da estrutura, mas apenas o produto triturado.

A difratometria de raios-X possibilita a identificação dos produtos obtidos, assim como a verificação das fases cristalina e amorfa. Se os sistemas obtidos forem complexos como, por exemplo, soluções sólidas ou compostos mistos, a difratometria de raios-X aponta as fases individualmente, o que permite uma análise semi-quantitativa e qualitativa do processo de obtenção. A partir do difratograma de raios-X, em alguns casos, podem ser calculados os parâmetros de rede dos compostos individuais. O equipamento usado para registro de difratogramas foi o Difrátometro Siemens Kristalloflex radiação de Cu, filtro de Ni, no intervalo 2θ de 4-70°, e com passo de 0,05d.

Para a indexação dos difratogramas e refinamento dos parâmetros cristalinos, foi usado o pacote de programas computacionais que se baseia na interpretação de imagens e no método dos mínimos quadrados (Diffrac, AFD, DHKL e outros).

8.2.4 Mapeamento (MAP)

O mapeamento de eletrogramas é um instrumento adicional para verificar a composição de fases de uma amostra. Esta identificação se realiza por meio da superposição de mapas para cada elemento que constitui a amostra. Se esses mapas obtidos separadamente coincidem perfeitamente com a imagem MEV, isto significa que a amostra é homogênea e, portanto contém uma só fase. No caso das discrepâncias trata-se de duas ou mais fases ou contaminação da amostra.

8.3 DESCRIÇÕES DA SÍTESE

8.3.1. Amostra 1

Pesou-se 20.66g de nitrato de cálcio e adicionou-se 50ml de água destilada (pH = 5). Na mesma acrescentou-se 3 gotas de hidróxido de amônio para atingir o pH 10-11 (Solução 1).

Pesou-se 4.95g de fosfato de amônio e adicionou-se 37.5ml de água destilada (pH = 9). Na mesma acrescentou-se 2 gotas hidróxido de amônio para atingir o pH 10-11 (Solução 2).

Usando uma bureta gotejou-se lentamente a solução 2 na solução 1, que estava sob agitação magnética. Esse processo levou um tempo próximo de 50min. No precipitado formado acrescentou-se mais 2 gotas de hidróxido de amônio.

A mistura foi aquecida a 95^oC com agitação magnética por 1h. A parede do becker foi lavada com água destilada para remover os microcristais. Colocou-se novamente para agitar por mais 2h sem aquecimento. Em seguida, o becker foi lacrado com parafilme e deixou-se descansar por 20h.

O material obtido foi filtrado a vácuo em um funil Buchner com papel de filtro. Lavou-se com água destilada no próprio filtro por aproximadamente 8 vezes.

O composto branco que foi retido no filtro foi colocado em um dissecador que continha cápsula de P₂O₅. Para completar a secagem colocou-se em uma estufa a

60°C por 4h. Deixou-se descansar por mais 20h a temperatura ambiente. A amostra, em um cadinho de platina, foi levada a uma mufla com programação da temperatura: 1100°C, patamar 3h.

8.3.2. Amostra 2

Pesou-se 1,64g de hidróxido de cálcio e 1,21g de pentóxido de vanádio. Em um almofariz de ágata, os reagentes foram triturados até se obter um pó homogêneo. A mistura foi colocada em um cadinho de porcelana que foi levado ao forno para ser aquecido com a seguinte programação: 600°C, patamar 24h.

8.3.3. Amostra 3

Pesou-se 5,90g de nitrato de cálcio e adicionou-se 250ml de água destilada para se obter uma solução de molaridade igual a 0,1M. Pesou-se o 1,75g de metavanadato de amônio e adicionou-se 125ml de água destilada para se obter uma solução de molaridade igual a 0,12M. Pela dificuldade de dissolver o metavanadato de amônio foi necessário utilizar banho maria. Foi mantido em constante agitação para evitar a precipitação do metavanadato de amônio. A solução de metavanadato de amônio foi gotejada lentamente na solução de nitrato de cálcio, que estava sendo agitada sob aquecimento de 80°C. Esse processo levou um tempo próximo de 50min. Ao termino do gotejamento acrescentou-se 12,5ml de hidróxido de amônio e esperou-se 15 min.

A mistura aquecida foi filtrada à vácuo usando um filtro de papel até atingir o pH 7. A amostra foi seca a 70°C na estufa por 24h. Posteriormente o material foi triturado e em cadinho de platina, foi levado a uma mufla com a seguinte programação da temperatura: 900°C, patamar 4h.

8.3.4. Amostra 4

Pesou-se 1,84 g de hidróxido de cálcio e 1,97 g de fosfato de amônio bibásico.

Os reagentes foram misturados em um almofariz de ágata. Acrescentou-se água destilada para formar uma pasta de consistência correspondente ao creme

dental. Novamente, os reagentes foram misturados e triturados continuamente durante 1h repondo a água a medida que a pasta foi secando

Posteriormente, o almofariz foi levado para uma estufa e deixado por 24h a uma temperatura de 90⁰C. Logo a amostra foi retriturada, e ficou por mais 30mim na estufa. Finalmente, foi levada em cadinho de platina a uma mufla com a seguinte programação de temperatura: 600⁰C, patamar 24h.

8.3.5. Amostra 5

Pesou-se 1,65g de hidróxido de cálcio e 1,56g de metavanadato de amônio. Os reagentes foram misturados em um almofariz de ágata. Acrescentou-se água destilada para formar uma pasta de consistência correspondente ao creme dental. Os reagentes foram misturados e triturados continuamente durante 1h repondo a água à medida que a pasta seca. Posteriormente, o almofariz foi levado para uma estufa e deixado por 24h a uma temperatura de 90⁰C. Logo a amostra foi retriturada, e ficou por mais 30mim na estufa. Finalmente foi levada a uma mufla em cadinho de platina com a programação de temperatura: 600⁰C, patamar 24h.

8.3.6. Amostra 6

Pesou-se 1,84g de hidróxido de cálcio, 1,97g de fosfato da amônio bibásico e 1g de nitrato de gálio hexahidratado. Os dois primeiros reagentes foram misturados em um almofariz de ágata. Acrescentou-se água destilada para formar uma pasta de consistência correspondente ao creme dental. Nesse momento acrescentou-se o nitrato de gálio e novamente os reagentes foram misturados e triturados continuamente durante 1h repondo a água à medida que a pasta seca. Posteriormente, o almofariz foi levado para uma estufa e deixado por 24h a uma temperatura de 90⁰C. Logo a amostra foi retriturada, e ficou por mais 30mim na estufa. Finalmente foi levada a uma mufla em cadinho de platina com a seguinte programação de temperatura: 600⁰C, patamar 24h.

8.3.7. Amostra 7

Pesou-se 1,65 g de hidróxido de cálcio e 1,56 g de metavanadato de amônio. Os reagentes foram misturados em um almofariz de ágata. Acrescentou-se água destilada para formar uma pasta de consistência correspondente ao creme dental. Nesse momento acrescentou-se 1 g de nitrato de gálio. Novamente os reagentes foram misturados e triturados continuamente durante 1 h repondo a água a medida que a pasta foi secando. O almofariz foi levado para estufa e deixado por 24h a 90 °C. A amostra é retriturada e fica por mais 30 min na estufa. Finalmente a amostra é aquecida em uma mufla em cadinho de platina com a seguinte programação de temperatura: 600 °C, patamar 24 h.

8.3.8. Amostra 8

Inicialmente preparou-se uma pastilha de Bi_2GaVO_7 da seguinte forma:

Pesou-se 0,14g de óxido de gálio, 0,71g de óxido de bismuto e 0,13g de óxido de vanádio. Os reagentes, separadamente, foram aquecidos a 200°C, patamar 4h. Os reagentes foram misturados em um almofariz de ágata, logo prensados usando dispositivo para preparação de pastilhas; a pressão aplicada foi de 1-2 t. A pastilha foi colocada em um cadinho de platina e deixada em um forno com a seguinte programação de temperatura: 800°C, patamar 48h. (8a).

Com encerramento dessa etapa, pesou-se 1g de hidroxiapatita (comercial: Sigma-Aldrich). Triturou-se a pastilha de Bi_2GaVO_7 e pesou-se 0,1g da mesma. Em um almofariz de ágata, ambos os produtos foram colocados juntamente com álcool absoluto e triturou-se até a evaporação do solvente. Em um cadinho de platina a amostra foi colocada na mufla com a seguinte programação: 800°C, patamar 24h. (8b).

8.3.9. Amostra 9

Pesou-se 9,09g de nitrato de gálio que foi dissolvido em 1000ml de água destilada em um balão volumétrico para se obter a molaridade de 25mM. Posteriormente, em um balão volumétrico de 50ml acrescentou-se 0,25g de hidroxiapatita e completou-se o volume com a solução de nitrato de gálio. O balão foi

colocado sob uma plataforma vibratória por 3h e deixou-se descansar por 240h, agitando esporadicamente para aumentar o contato da fase sólida com a solução. Finalmente, a amostra foi filtrada e lavada usando aproximadamente 1000 ml de água destilada.

8.3.10. Amostra 10

Em um balão volumétrico de 50ml acrescentou-se 0,25g de vanadatoapatita e completou-se o volume com a solução de nitrato de gálio anteriormente preparada. O balão foi colocado sob uma plataforma vibratória por 3h.

8.3.11. Amostra 11

Pesou-se 0,30g de nitrato de gálio que foi dissolvido em 50ml de água destilada. Diluiu-se 1,50ml de hidróxido de amônio em 150ml de água destilada. Na solução de nitrato de gálio acrescentou-se pouco a pouco a solução de hidróxido de amônio. Verificou-se a formação de flocos de hidróxido de gálio, deixando a água bem opaca. Continuou-se acrescentar a solução de hidróxido de amônio até dissolver completamente os flocos de hidróxido de gálio, formando o galato de amônio. Foi necessário utilizar todos os 150ml da solução de hidróxido de amônio.

Em um balão volumétrico de 50ml acrescentou-se 0,25g de vanadatoapatita e completou-se o volume com a solução de galato de amônio. O balão foi colocado sob uma plataforma vibratória por 3h e deixou-se descansar por mais 240h, agitando esporadicamente para aumentar o contato da fase sólida com a solução. Finalmente, a amostra foi filtrada e lavada com aproximadamente 1000 ml de água destilada.

9 RESULTADOS

9.1 AMOSTRA 1

As imagens da microscopia eletrônica de varredura da amostra 1 estão apresentadas nas Figuras 7 e 8. Na Figura 7, verificam-se partículas de diferentes tamanhos, sem sinais de cristalização. Tem-se a impressão de que as partículas maiores estão parcialmente hidrolisadas na sua superfície.

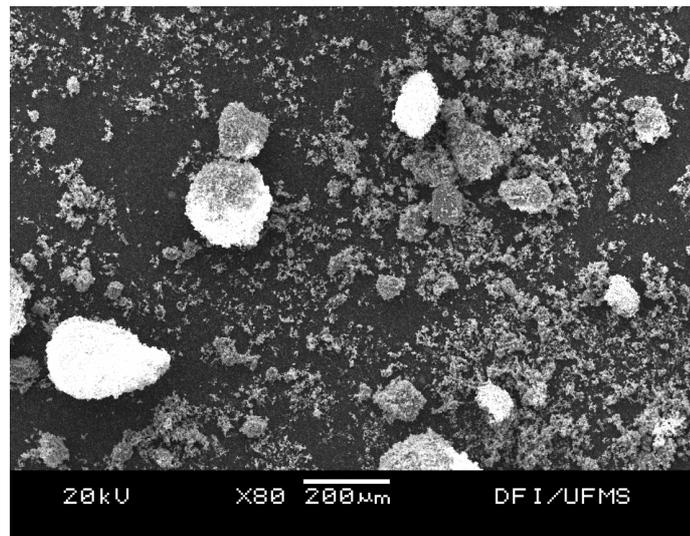


Figura 7 - Imagem de MEV da amostra 1. Ampliação X 80

Na Figura 8, na ampliação x 400 está representada uma das partículas pequenas do quadro anterior. Desta vez, a presença de um corpo central e do material destruído, faz-se mais evidente.

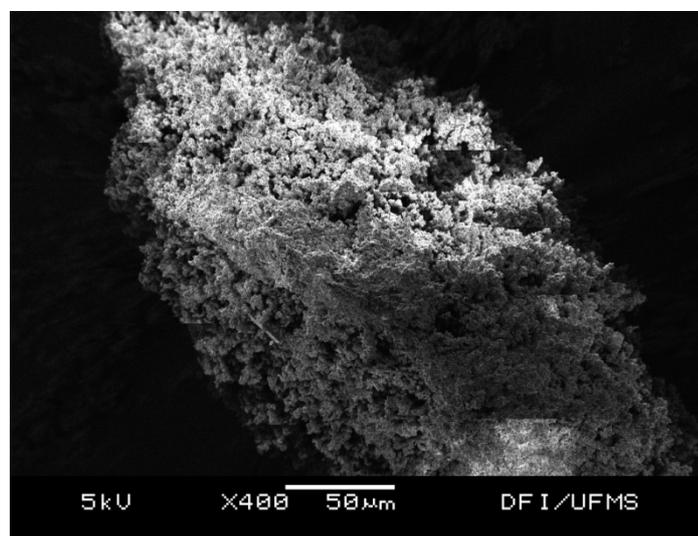


Figura 8 - Imagem de MEV da amostra 1. Ampliação X 400.

A Figura 9 representa o espectro de raios-X da mesma amostra onde pode se ver intensas linhas K do cálcio, que dominam o quadro. Além dessas linhas, está presente uma intensa linha K do fósforo. A linha K de oxigênio está bem resolvida no espectro, apesar de ser, de um modo geral, dificilmente percebida.

Este quadro permite apenas afirmar que todos os ingredientes da hidroxiapatita estão presentes e que o material não contém contaminações. Porém, conclusões finais podem ser feitas somente com base de difratometria de raios-X.

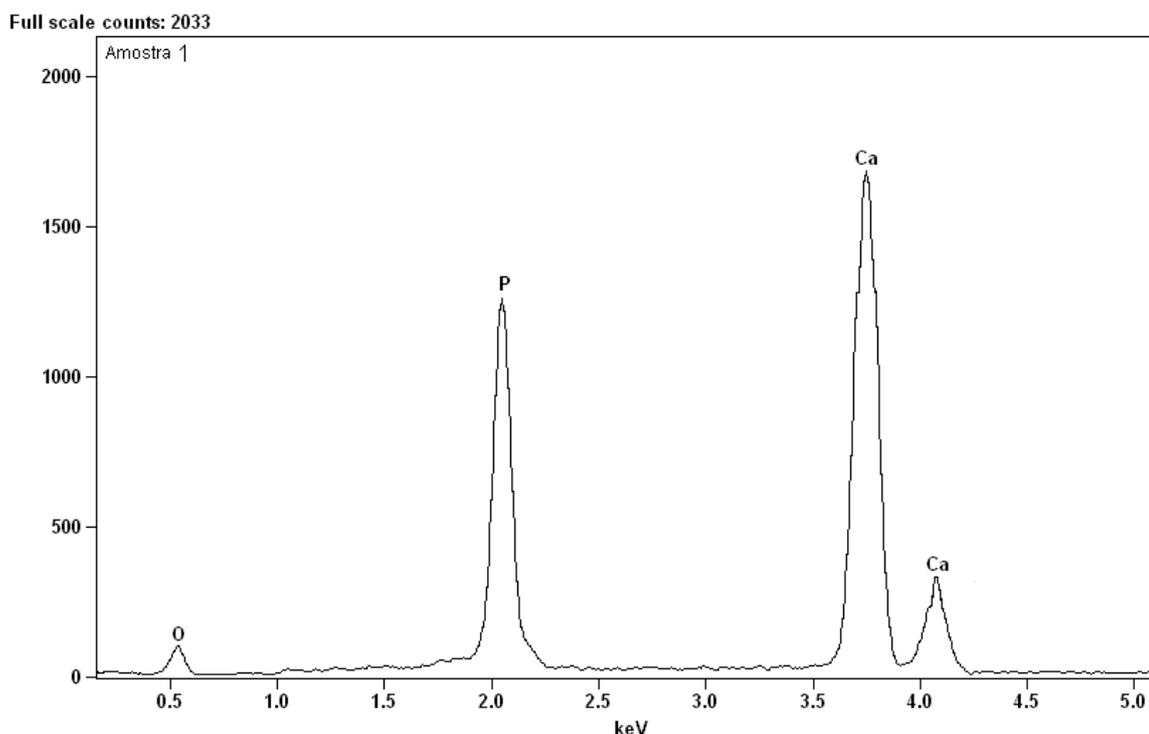


Figura 9 - Espectro de raios-X de energia dispersiva da amostra 1.

A Figura 10 representa o quadro de difração de raios-X da amostra 1. Conforme o conjunto das reflexões presentes, pode se concluir que não se trata da hidroxiapatita, e sim de uma mistura de fases entre os quais, em particular, podem ser distinguidas as reflexões de tetrametafosfato de cálcio (ICSD file 000410483) em quantidade maior que 5%.

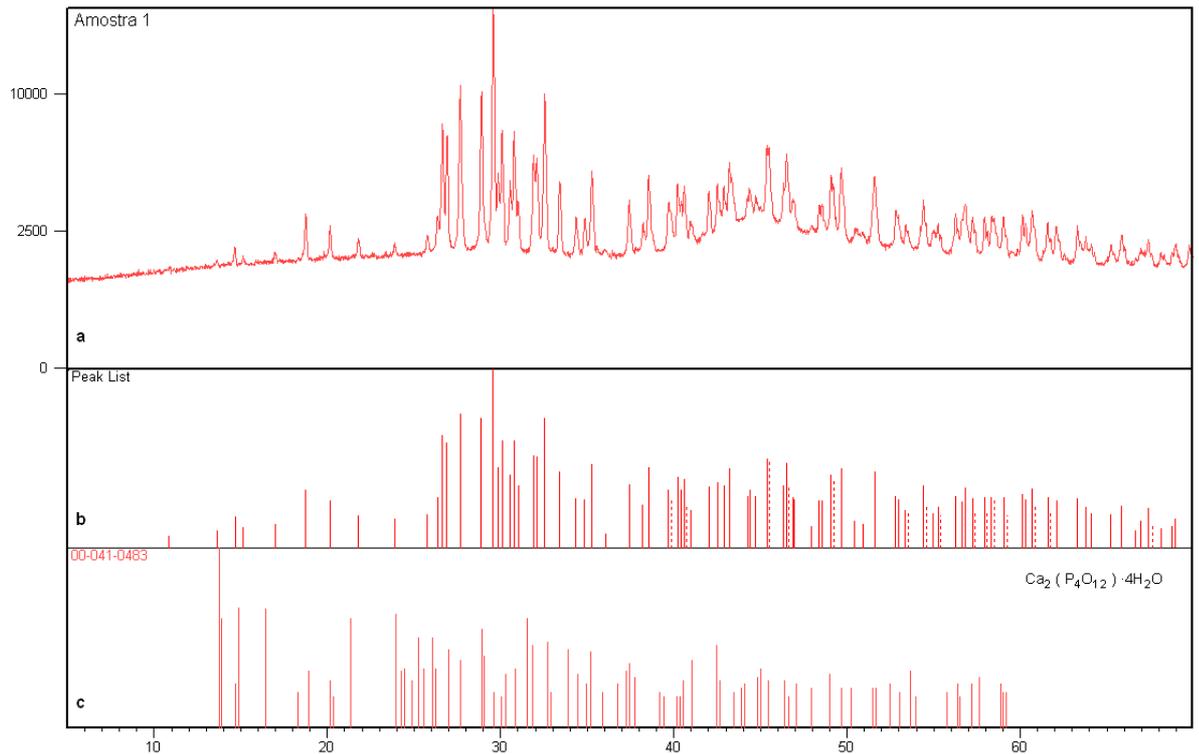


Figura 10 - Comparação do quadro de difração de raios-X da amostra 1 com banco de dados. a - quadro de difração da amostra 1, b – o mesmo quadro na forma de barras e c – ficha número 00-041-0483 correspondente a $\text{Ca}_2(\text{P}_4\text{O}_{12}) \cdot 4\text{H}_2\text{O}$.

9.2 AMOSTRA 2

As imagens da microscopia eletrônica de varredura da amostra 2 estão apresentadas nas Figuras 11 e 12. Ambos os quadros, apenas com a diferença na magnificação, mostram “estilhaços” de um gel parcialmente transparente, sem sinais de cristalização. Os fragmentos têm aspecto liso, brilhante e uniforme. Na parte direita superior da maior ampliação observam-se dois fragmentos complementares que evidenciam uma recente fragilização das superfícies maiores durante a secagem. A Figura 12 na parte central representa a ampliação de um desses aglomerados, onde se torna possível, a visualização de partículas esféricas, que não eram evidentes na imagem anterior.

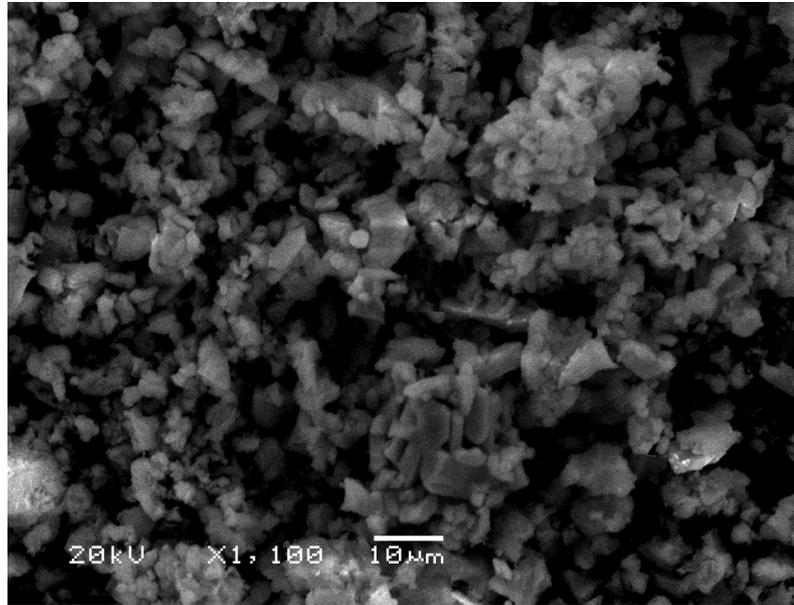


Figura 11 - Imagem de MEV da amostra 2. Ampliação X 1100

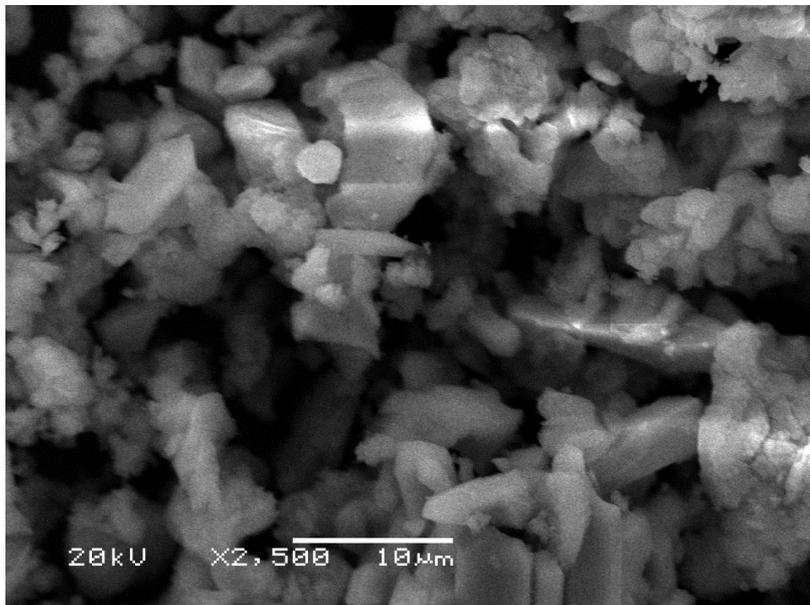


Figura 12 - Imagem de MEV da amostra 2. Ampliação X 2500.

A Figura 13 representa o espectro de raios-X da amostra 2 que, igualmente que a Figura 9, contém as linhas K do cálcio, porém a linha beta esta presente na forma de ombro. A segunda linha K intensa pertence ao vanádio. Neste caso, o oxigênio está expresso em forma de traços, o que não é surpreendente, pois dificilmente identificável.

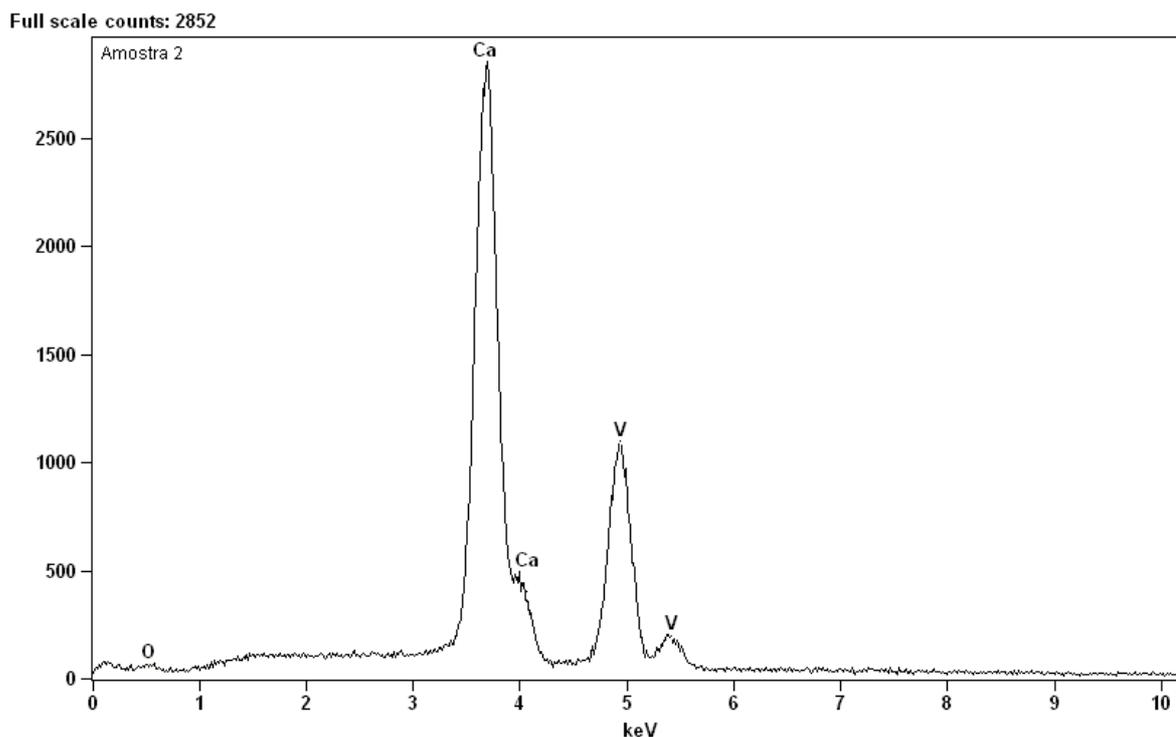


Figura 13- Espectro de raios-X de energia dispersiva da amostra 2.

A Figura 14 mostra através da difratometria de raios-X, que o conteúdo da amostra 2 não corresponde a vanadatoapatita esperada. Em vez deste composto foi identificado o hidróxido de cálcio (ICSD file 010720156), que é um dos reagentes de partida, significando que a reação química não ocorreu. Algumas reflexões podem ser identificadas como pertencentes ao metavanadato de cálcio (ICSD file 010730186). Estas observações demonstram que a metodologia usada não permite obter um vanadato de cálcio contendo hidroxilas. Pode se afirmar que também está presente a fase que corresponde ao vanadato de cálcio.

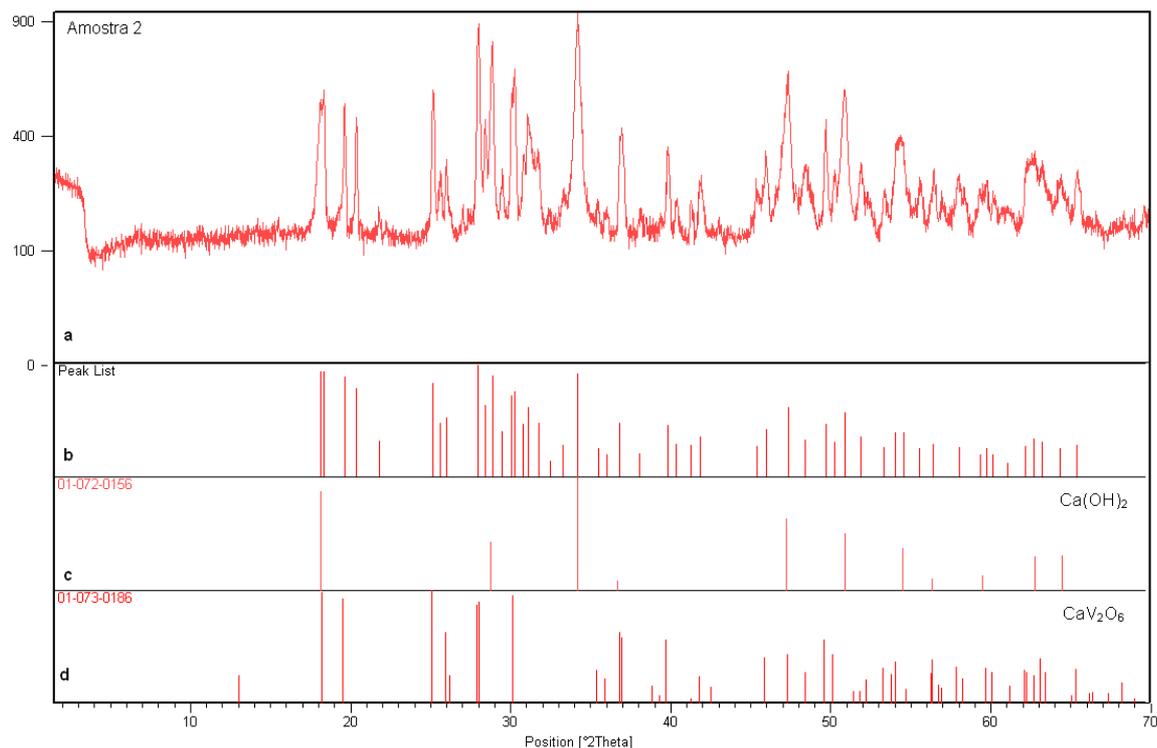


Figura 14 - Comparação do quadro de difração de raios-X da amostra 2 com banco de dados. a - quadro de difração da amostra 2, b – o mesmo quadro na forma de barras, c – ficha número 01-072-0156 correspondente a Ca(OH)_2 , d – ficha número 01-073-0186 correspondente a CaV_2O_6 .

9.3 AMOSTRA 3

As imagens da microscopia eletrônica de varredura da amostra 3 estão apresentadas nas Figuras 15 e 16. Em altas ampliações observam-se cristais de tamanho relativamente uniforme na forma de placas retangulares bem visíveis no quadrante esquerdo inferior. Parte delas encontra-se no plano paralelo a Figura 14 e outra fica na posição perpendicular. Uma maior ampliação permite visualizar as placas de cor intensamente branca a esquerda da Figura 16. É notável que os contornos das placas apresentam-se lisas. Por isso não é excluído o outro processo: a interação do feixe de elétrons com a substância, levando a decomposição do material microcristalino, com a formação de superfícies lisas.

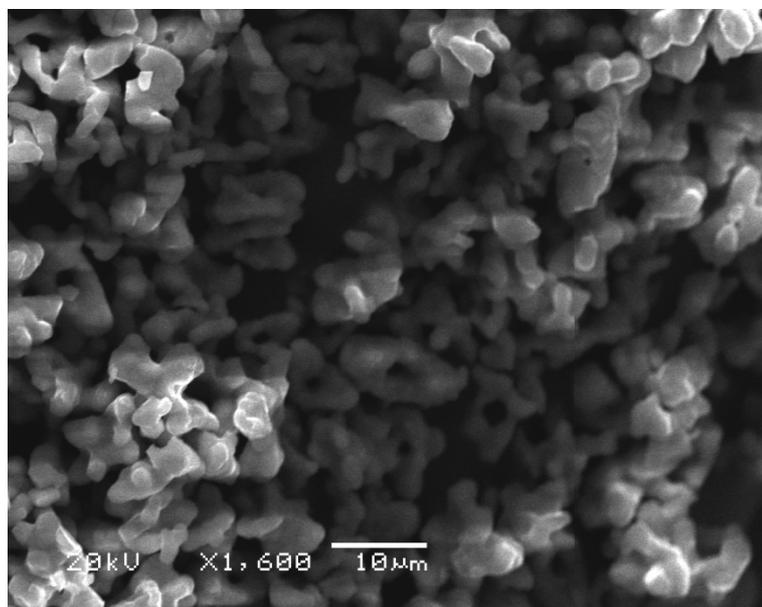


Figura 15 - Imagem de MEV da amostra 3. Ampliação x 1600.

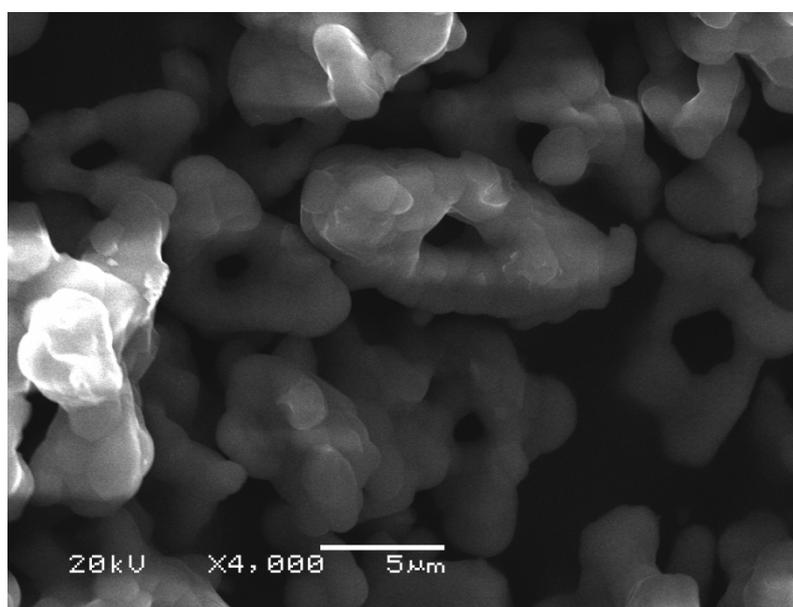


Figura 16 - Imagem de MEV da amostra 3. Ampliação x 4000

A Figura 17 representa o espectro de raios-X da amostra 3, que contém as linhas intensas K do cálcio e do vanádio. Neste caso, o oxigênio não está expresso, mesmo na forma de traços. O método de EDX, neste caso, não é conclusivo.

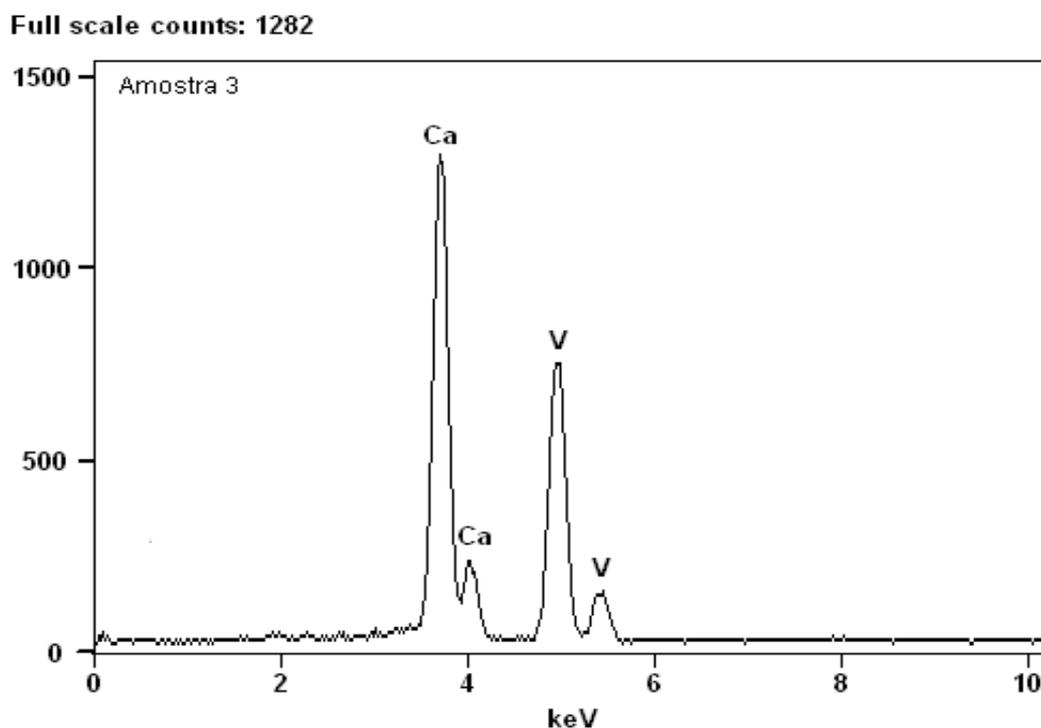


Figura 17 - Espectro de raios-X de energia dispersiva da amostra 3.

O difratograma de raios x da amostra 3, apresentada na Figura 18, mostra que o conteúdo do produto não corresponde a vanadatoapatita esperada. Em vez deste composto foi obtido o pirovanadato de cálcio (ICSD file 010722312) que é o produto da condensação parcial do íon ortovanadato, sem que se forme a rede hexagonal com grupos OH^- que são características da estrutura de vanadatoapatitas. Assim que, mesmo que a cristalinidade da amostra seja evidente a partir do quadro MEV, não existe garantia de se obter a composição desejada.

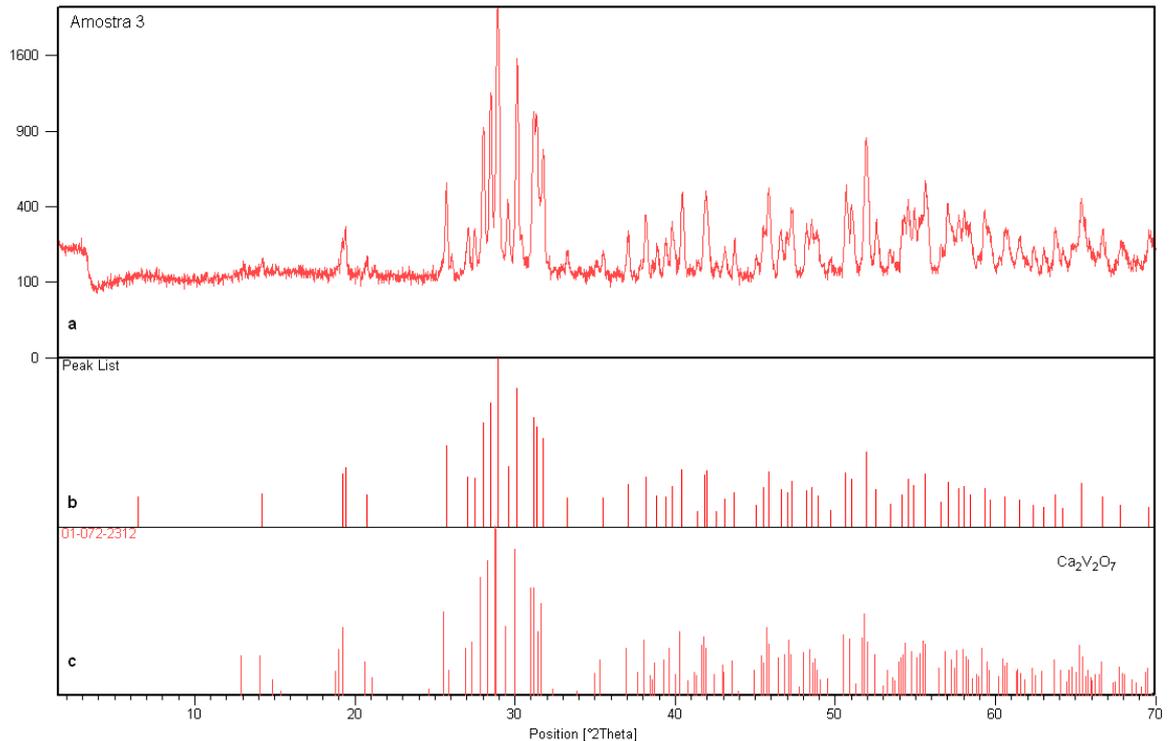


Figura 18 - Comparação do quadro de difração de raios-X da amostra 3 com banco de dados. a - quadro de difração da amostra 3, b – o mesmo quadro na forma de barras, c – ficha número 01-072-2312 correspondente a $\text{Ca}_2\text{V}_2\text{O}_7$.

9.4 AMOSTRA 4

As imagens da microscopia eletrônica de varredura da amostra 4 estão apresentadas nas Figuras 19 e 20, com diferentes ampliações. Observa-se o material microcristalino que provém da destruição das placas paralelas parcialmente sobrepostas. Essas placas estão presentes principalmente no quadrante superior direito da Figura 19. Isto indica o processo do endurecimento paulatino do material aquecido. Algumas placas têm forma semelhante a hexágonos imperfeitos (quadrante esquerdo inferior) o que é quadro macroscópico típico para os cristais da rede hexagonal. A grande ampliação mostra a presença do material amorfo ou semi amorfo, no processo do aperfeiçoamento dos cristais. O acompanhamento do tratamento térmico com velocidades menores de aquecimento teria dado imagens mais convincentes, pois a velocidade do aquecimento ($30^\circ\text{C}/\text{min}$) parece rápida para produzir um quadro melhor.

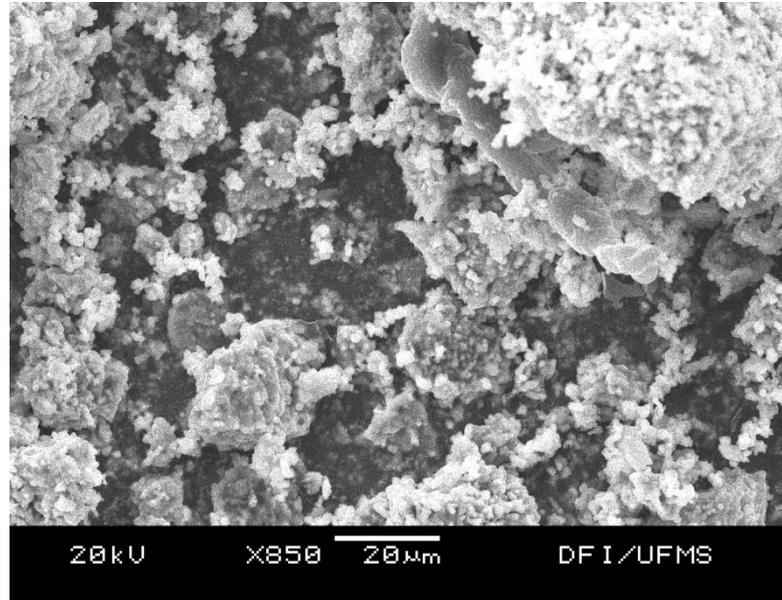


Figura 19 - Imagem de MEV da amostra 4. Ampliação x 850

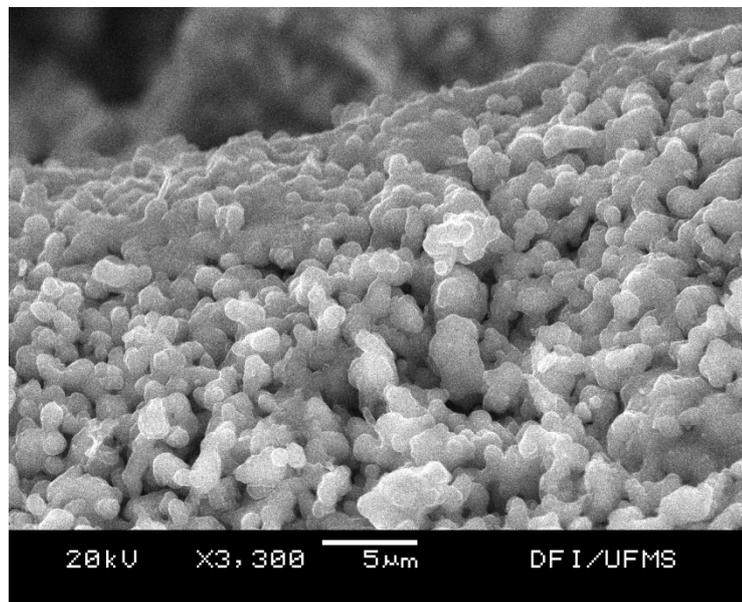


Figura 20 - Imagem de MEV da amostra 4. Ampliação x 3300.

A análise de EDX representada na Figura 21 identifica no caso da amostra 4, as linhas K do cálcio. Além dessas linhas, está presente uma intensa linha K do fósforo. A linha K de oxigênio está bem resolvida no espectro. Também está presente um pico que é um artefato de carbono que deve ser desconsiderado.

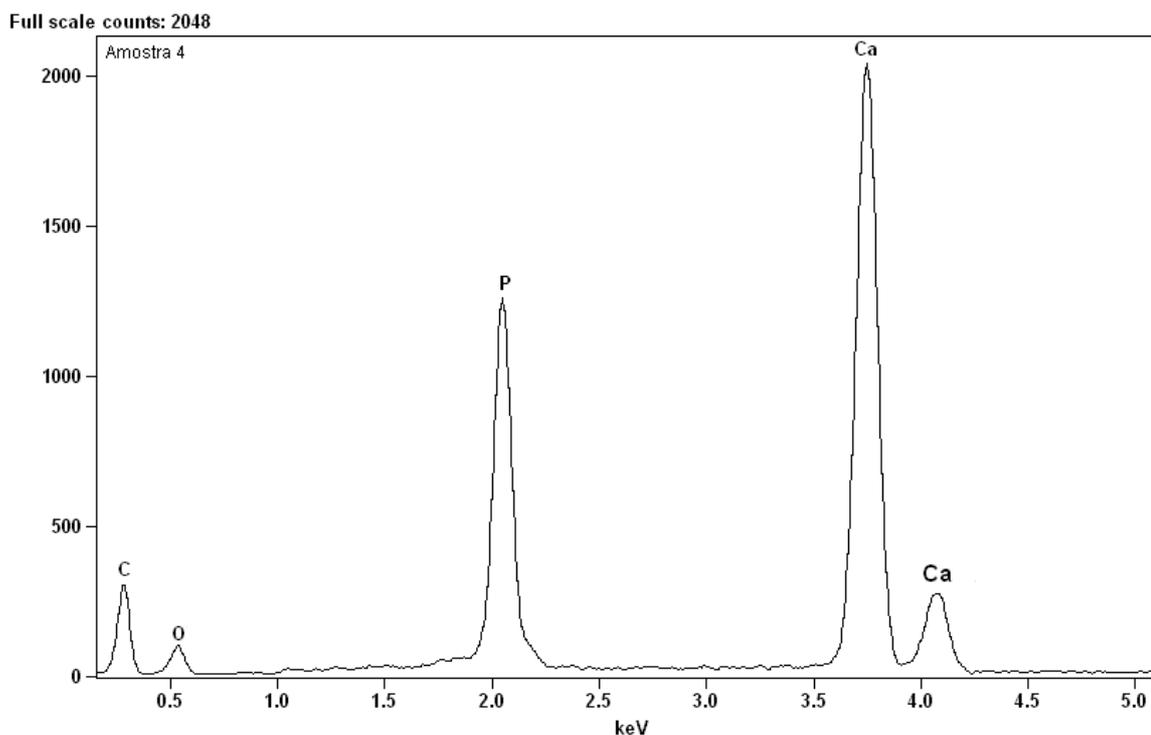


Figura 21 - Espectro de raios-X de energia dispersiva da amostra 4.

O quadro de difração de raios-X da amostra 4 representado na Figura 22 mostra que o produto cristalino é a hidroxiapatita clássica. A forma do difratograma acusa também a presença da hidroxiapatita mal cristalizada. Assim, a metodologia da obtenção usando a técnica em fase sólida permitiu obter o composto desejado.

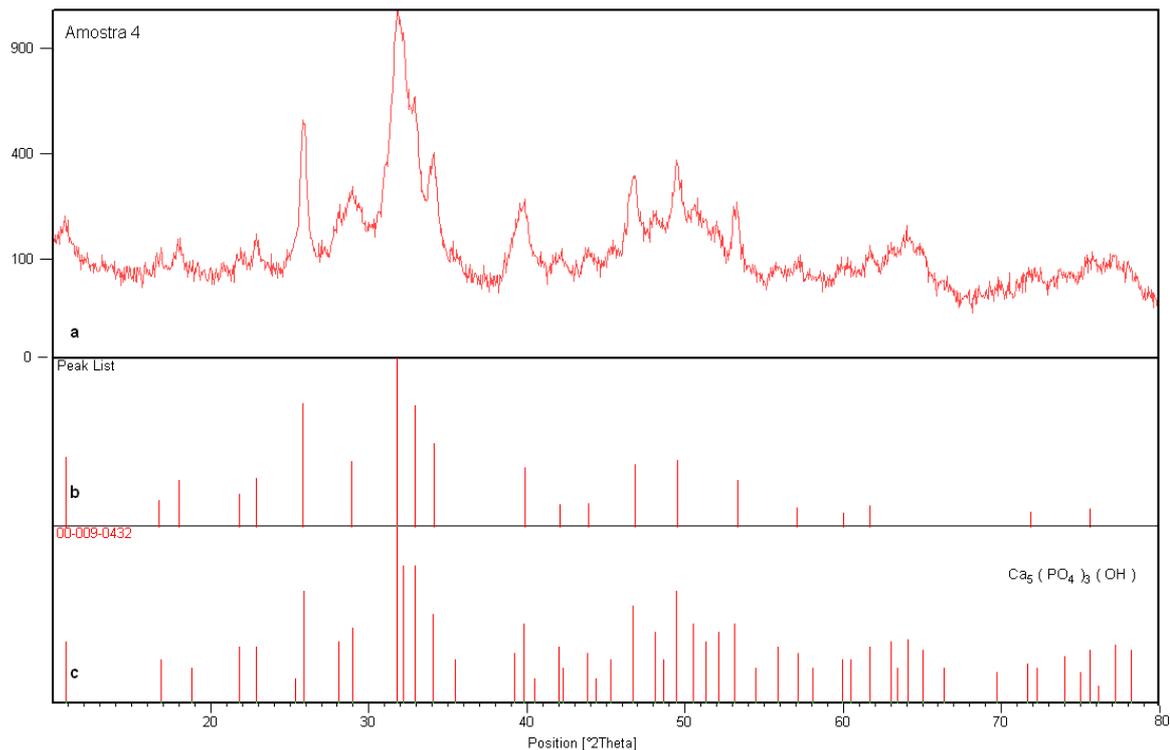


Figura 22 - Comparação do quadro de difração de raios-X da amostra 4 com banco de dados. a - quadro de difração da amostra 4, b – o mesmo quadro na forma de barras, c – ficha número 00-009-0432 correspondente a $\text{Ca}_5(\text{PO}_4)_3\text{OH}$.

9.5 AMOSTRA 5

As imagens da microscopia eletrônica de varredura da amostra 5 estão apresentadas nas Figuras 23 e 24, com diferentes ampliações. Os quadros da microscopia revelam uma perfeita cristalinidade e homogeneidade. A MEV mostra que a técnica da síntese é adequada para se obter o produto cristalino.

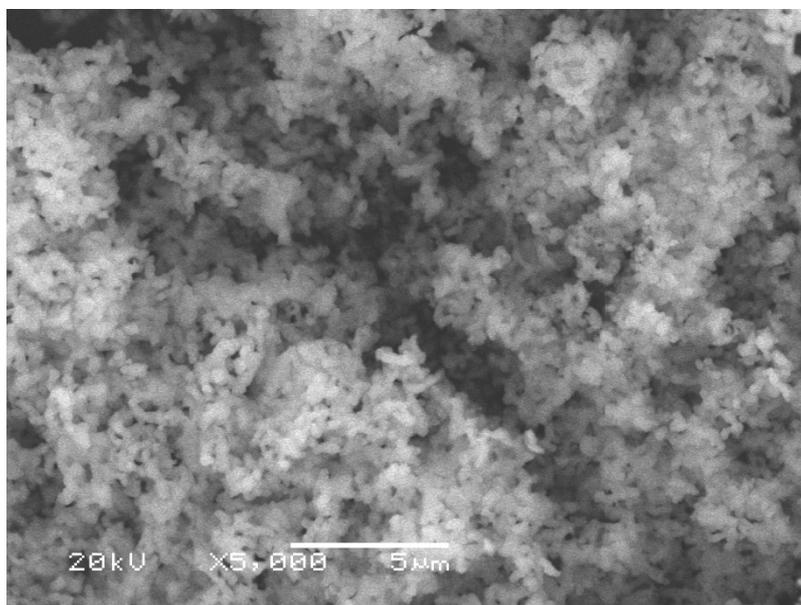


Figura 23- Imagem de MEV da amostra 5. Ampliação x 5000

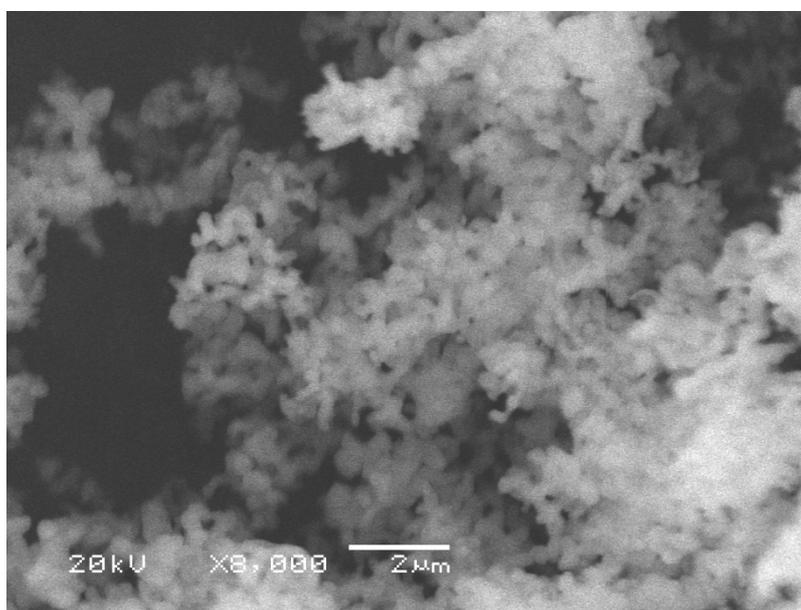


Figura 24- Imagem de MEV da amostra 5. Ampliação x 8000

A espectroscopia de energia dispersiva de raios - X apresentada na Figura 25, identificou pontualmente na amostra 5, os elementos químicos cálcio e vanádio, ambos com suas linhas K.

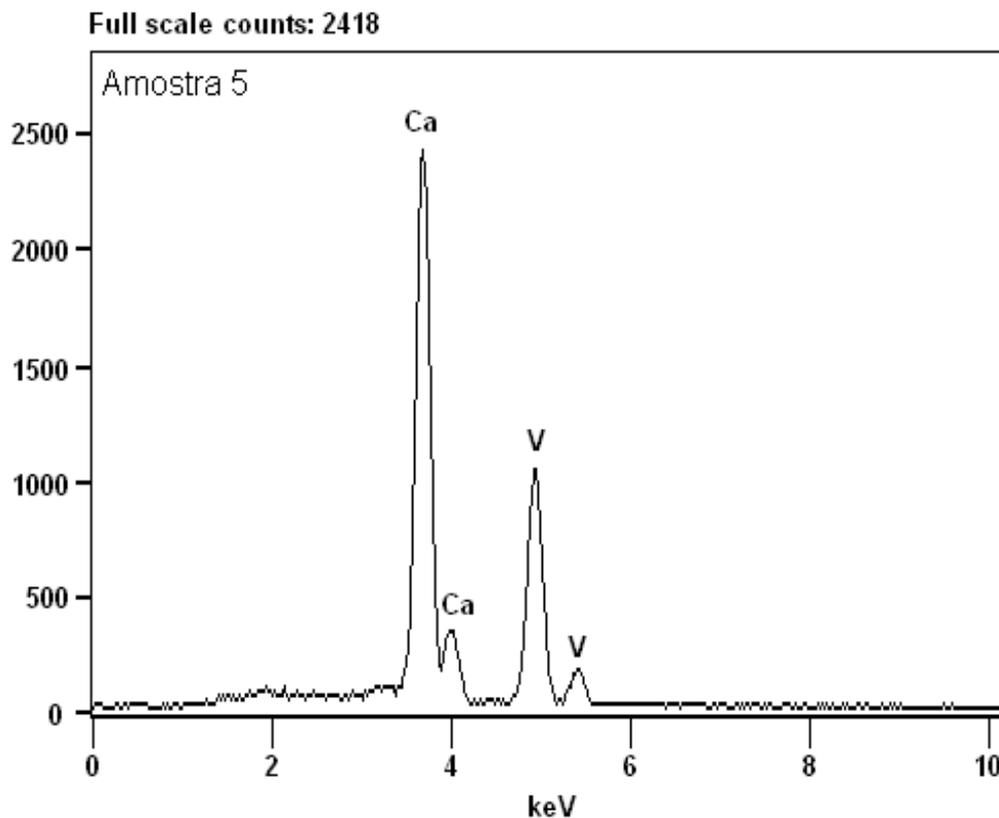


Figura 25 - Espectro de raios-X de energia dispersiva da amostra 5.

Na Figura 26, como previsto, a comparação do quadro de difração da amostra 5 com a base de dados ICSD possibilitou identificar a vanadatoapatita (ICSD file 010701996). Existe uma segunda fase que contém um conjunto individual das distâncias interplanares e intensidades que não pôde ser identificado. Não se pode excluir a presença do ortovanadato de cálcio.

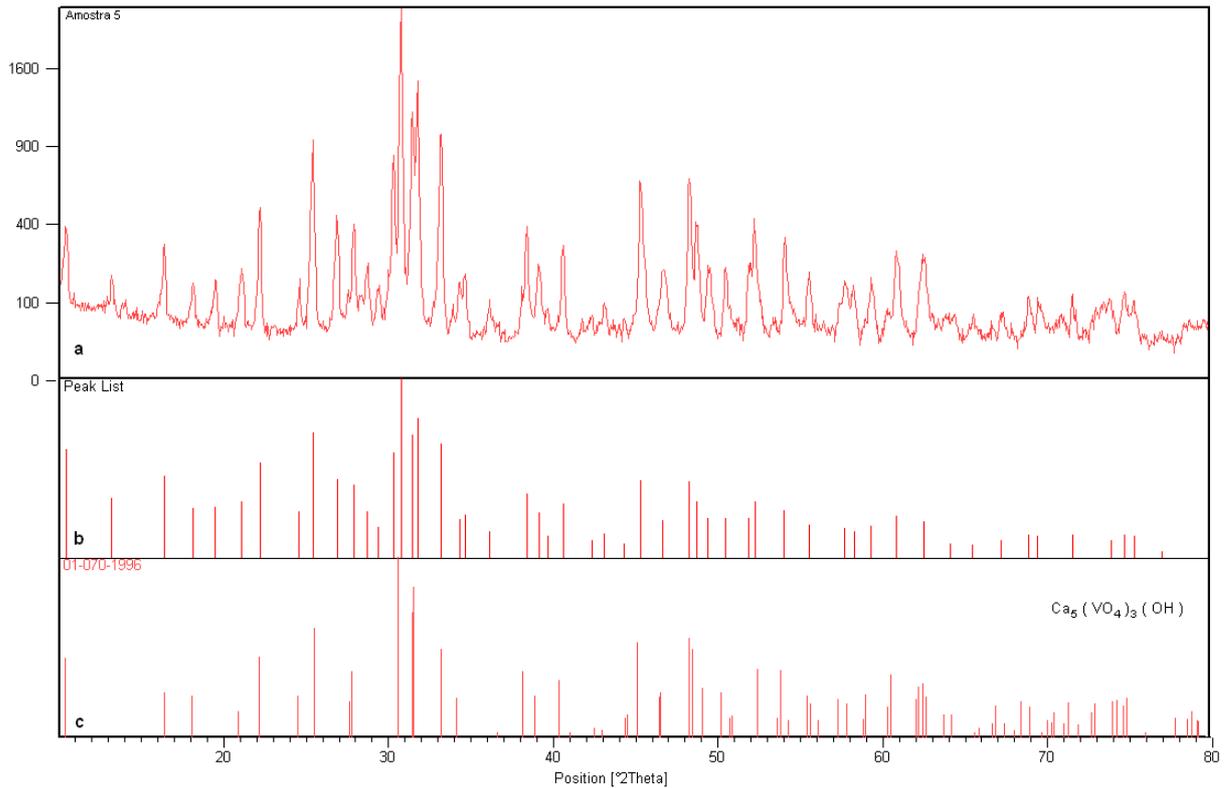


Figura 26 - Comparação do quadro de difração de raios-X da amostra 5 com banco de dados. a - quadro de difração da amostra 5, b – o mesmo quadro na forma de barras, c – ficha número 00-009-0432 correspondente a $\text{Ca}_5(\text{VO}_4)_3\text{OH}$.

9.6 AMOSTRA 6

Neste caso não estão apresentados os dados da microscopia eletrônica, posto que a amostra foi fundida sob o feixe dos elétrons por causa da exposição prolongada.

O espectro da energia dispersiva de raios-X representado na Figura 27, da amostra 6 exibe as linhas K características do cálcio e do fósforo, e as linhas K e L do gálio, confirmando a presença de todos os elementos envolvidos.

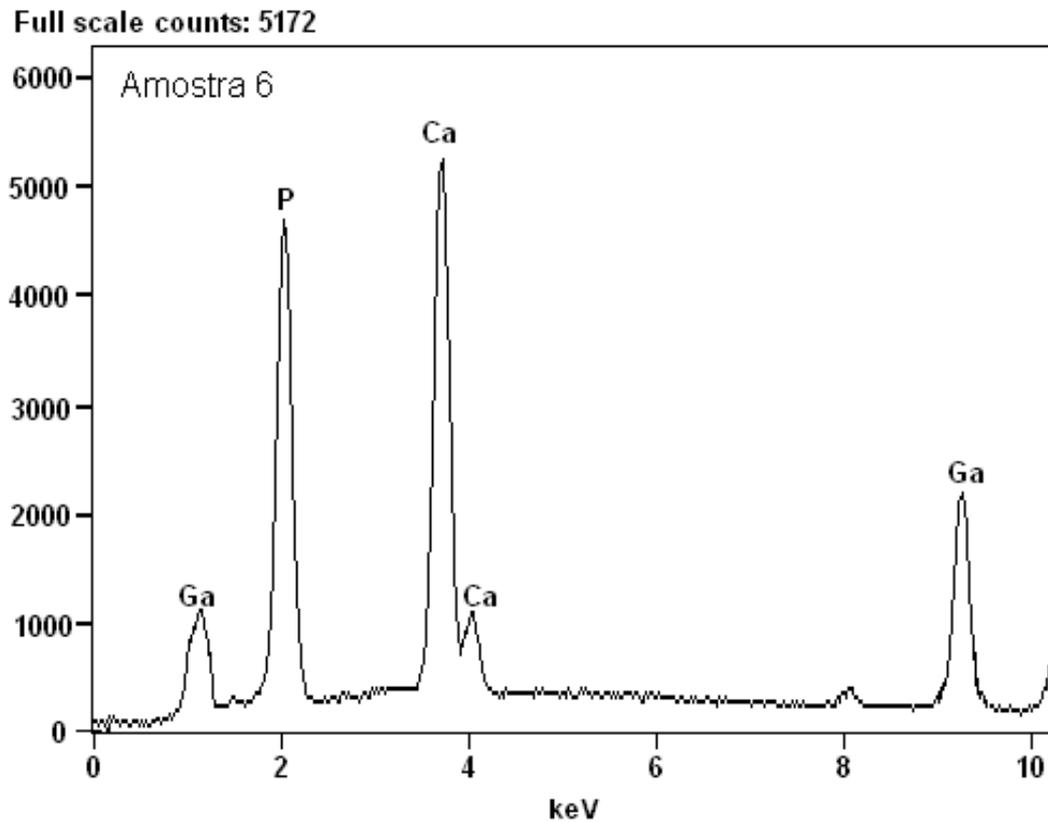


Figura 27 - Espectro de raios-X de energia dispersiva da amostra 6.

O quadro de difração de raios-X da amostra 6 representado na Figura 28, mostra como fase majoritária a hidroxiapatita. Devido à baixa quantidade de gálio a formação de fases cristalinas contendo gálio é desfavorecida, impossibilitando sua identificação.

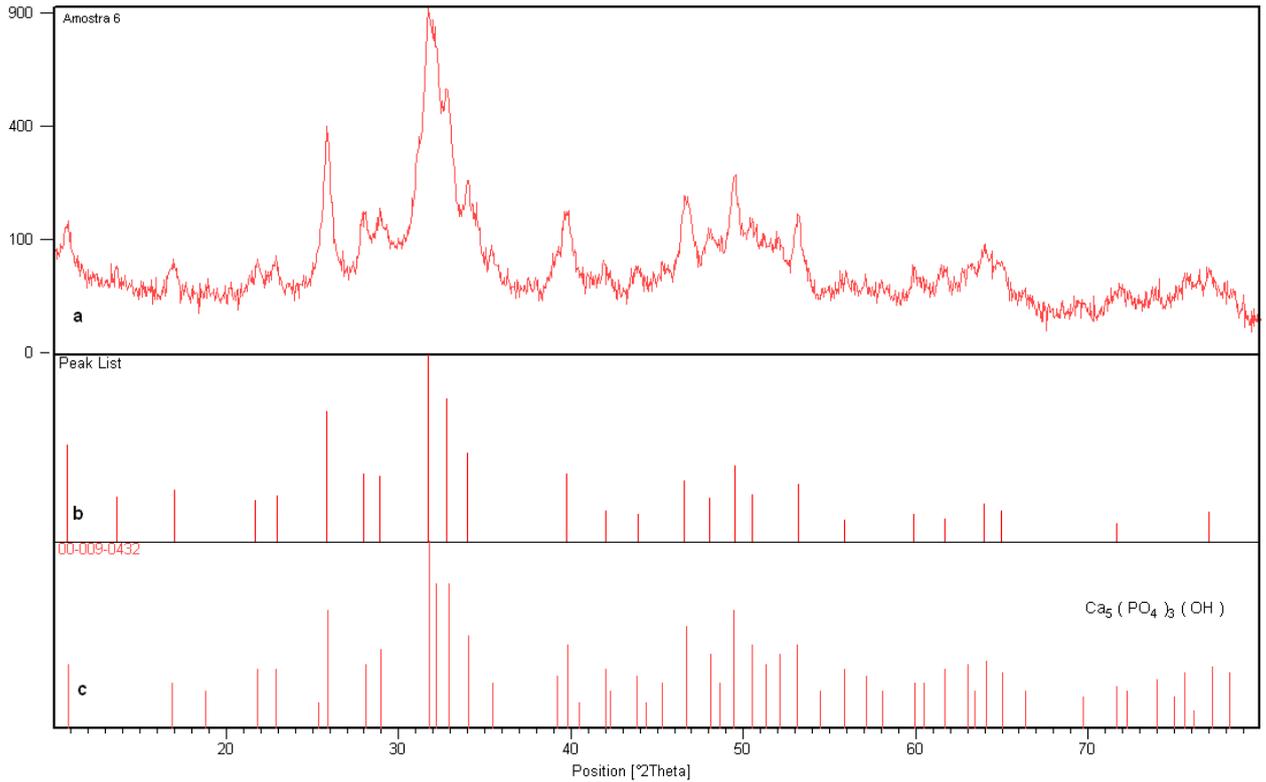


Figura 28 - Comparação do quadro de difração de raios-X da amostra 6 com banco de dados. a - quadro de difração da amostra 6, b – o mesmo quadro na forma de barras, c – ficha número 00-009-0432 correspondente a $\text{Ca}_5(\text{PO}_4)_3(\text{OH})$

9.7 AMOSTRA 7

As imagens da microscopia eletrônica de varredura da amostra 7 estão apresentadas nas Figuras 29 e 30, com diferentes ampliações. Os cristais são bem visíveis na forma de aglomerados de bastonetes que concorda, com a imagem prevista para um composto hexagonal, com o parâmetro c da rede cristalina alongado.

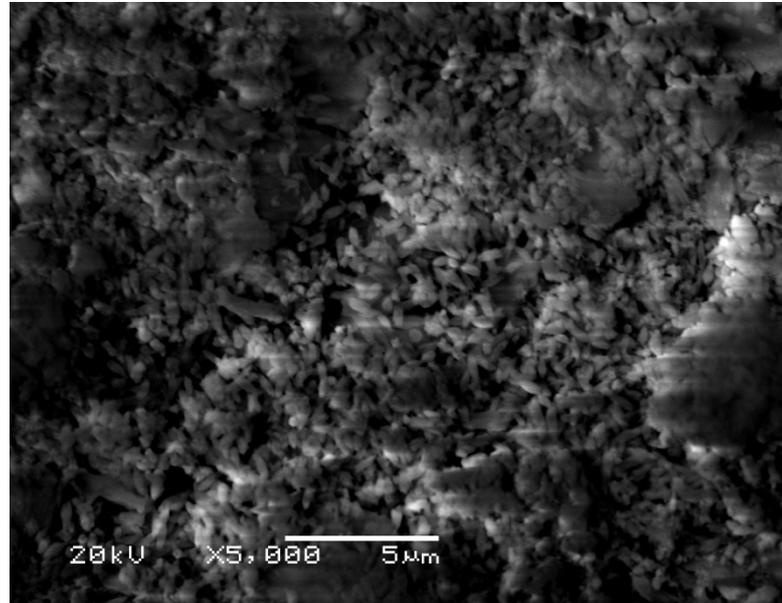


Figura 29 - Imagem de MEV da amostra 7. Ampliação x 5000

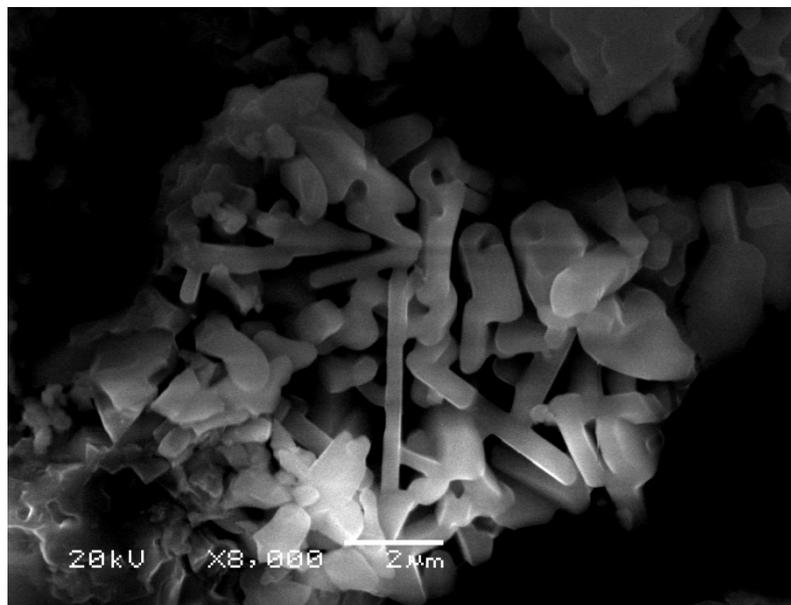


Figura 30 - Imagem de MEV da amostra 7. Ampliação x 8000.

Como esperado, o EDX da amostra 7 apresentado na Figura 31 confirma a presença dos elementos químicos cálcio e vanádio, ambos com suas linhas K. De fato, o gálio também se mostra presente com suas linhas K e L.

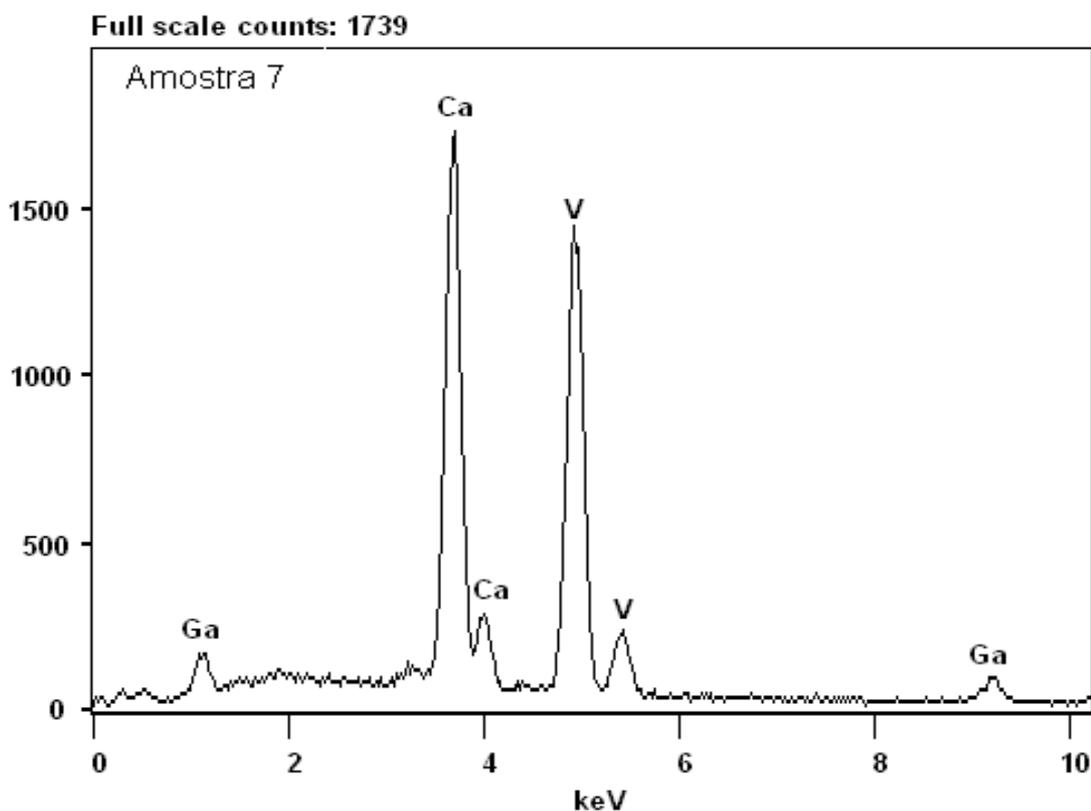


Figura 31 - Espectro de raios-X de energia dispersiva da amostra 7

Em concordância com os resultados previstos, o difratograma da amostra 7 representado na Figura 32 confirma que o nitrato de gálio não impossibilitou a formação da vanadatoapatita cristalina. Infelizmente, não foi possível identificar a fase cristalina do gálio, devido à baixa quantidade.

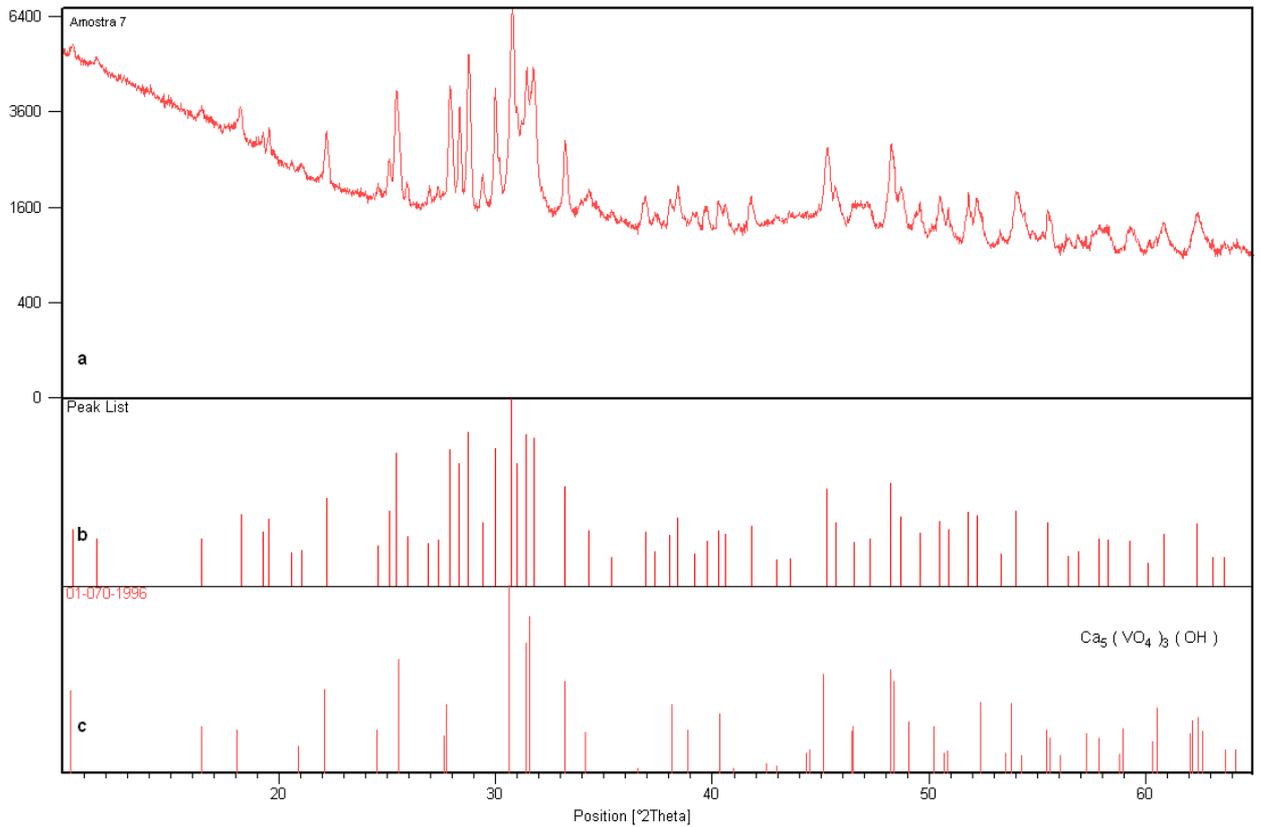


Figura 32 - Comparação do quadro de difração de raios-X da amostra 7 com banco de dados. a - quadro de difração da amostra 7, b – o mesmo quadro na forma de barras, c – ficha número 01-070-1996 correspondente a $\text{Ca}_5(\text{VO}_4)_3(\text{OH})$.

Nos quadros de mapeamento da amostra 7 realizado para a região denominada “grey” pode-se observar que os três maiores componentes do produto estão distribuídos de um modo homogêneo: a parte branca é totalmente preenchida por pontos que correspondem ao cálcio, vanádio e gálio.

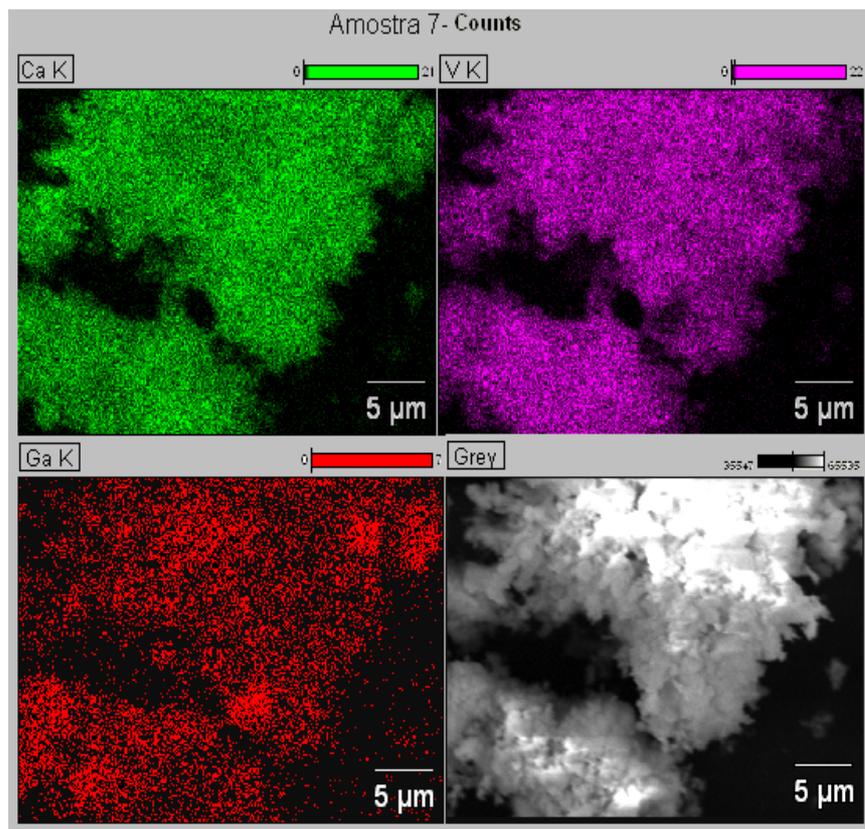


Figura 33 – Mapeamento dos elementos químicos da amostra 7.

9.8 AMOSTRA 8

9.8.1 Pastilha de Bi_2GaVO_7 (8a)

As imagens da microscopia eletrônica de varredura da amostra 8a estão apresentadas nas figuras 34 e 35, com diferentes ampliações. O quadro permite reconstruir o processo da cristalização, já que se observam placas de diferentes tamanhos rachadas paralelamente a sua superfície com que se formam placas menores. Nas bordas laterais observam-se pequenas quantidades de material amorfo dificilmente identificável.

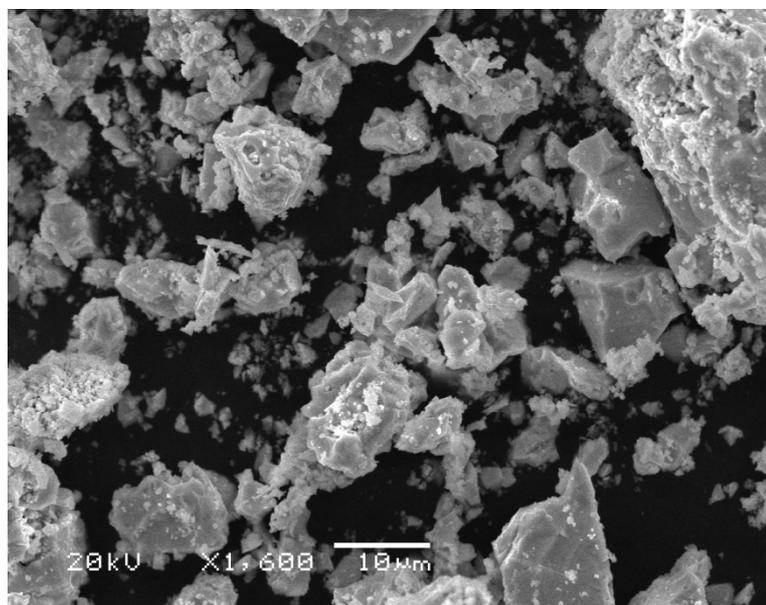


Figura 34 - Imagem de MEV da amostra 8a. Ampliação x 1600.

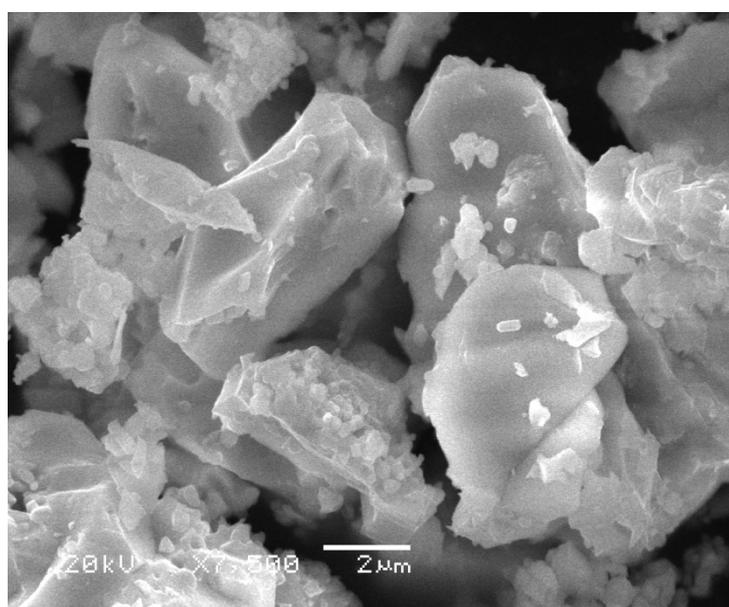


Figura 35 - Imagem de MEV da amostra 8a. Ampliação x 7500

O espectro de raios-X, no caso da pastilha (Figura 36), é dominado pela linha K do bismuto que não é biologicamente ativo. Nota-se também a presença das linhas K do vanádio e as linhas K e L do gálio.

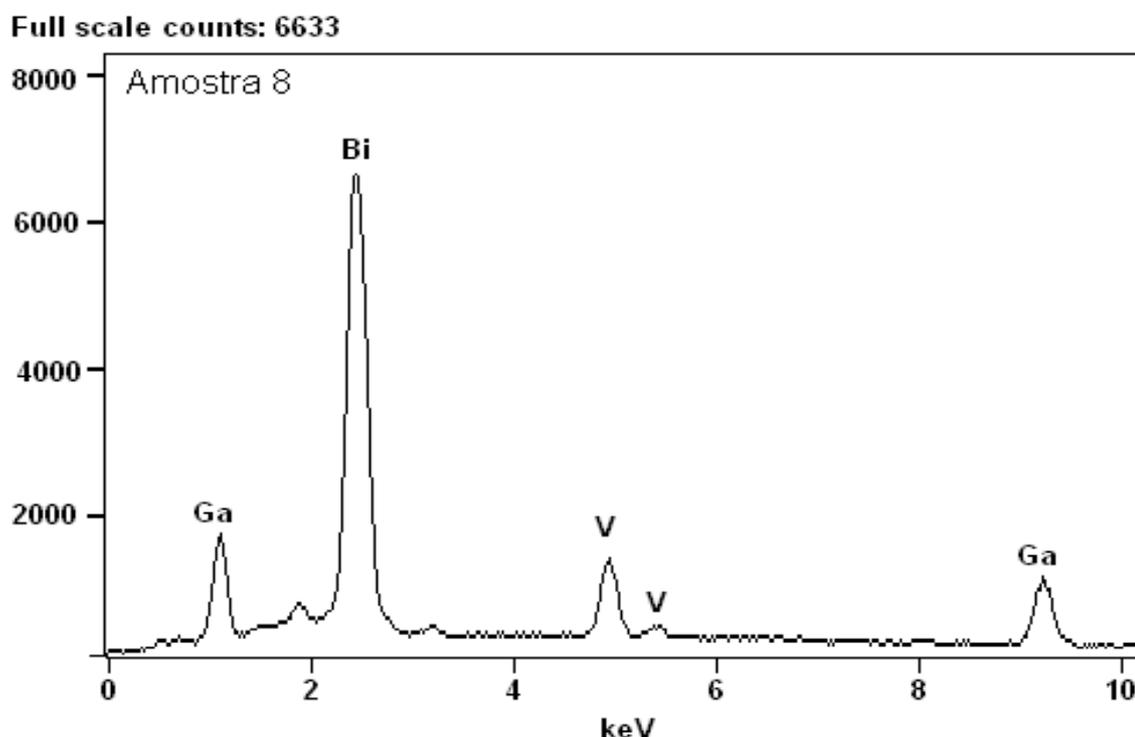


Figura 36 - Espectro de raios-X de energia dispersiva da amostra 8a.

O quadro de difração da Figura 37 mostra que todas as reflexões da amostra 8a coincidem com o difratograma publicado no artigo Structural and photocatalytic properties of novel Bi_2GaVO_7 .

A comparação com banco de dados ICSD, mostra uma marcante coincidência dos reflexos com a amostra de composição $\text{Bi}_{4,2}\text{Ga}_{0,2}\text{V}_{1,6}\text{O}_{10,6}$. Esta composição pertence à ampla família BIMEVOX cuja base estrutural é $\text{g-Bi}_4\text{V}_2\text{O}_{11}$, na qual é possível a intercalação do gálio.

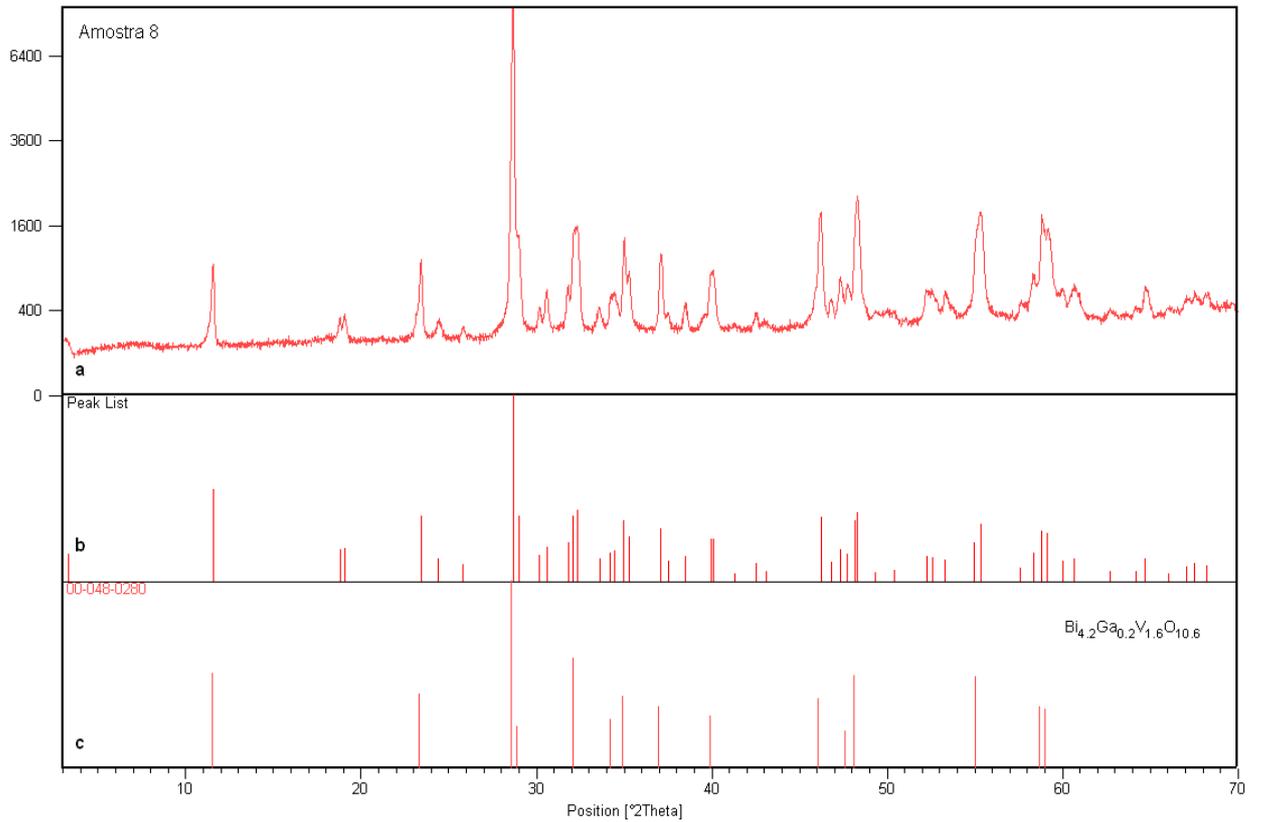


Figura 37 - Comparação do quadro de difração de raios-X da amostra 8a com banco de dados. a - quadro de difração da amostra 8a, b – o mesmo quadro na forma de barras, c – ficha número 00-048-0260 correspondente a $\text{Bi}_{4,2}\text{Ga}_{0,2}\text{V}_{1,6}\text{O}_{10,6}$.

O mapeamento realizado para a amostra 8a permite enxergar não só a presença dos elementos escolhidos, o que é natural, mas também a distribuição a *grosso modo* desses elementos na imagem da microscopia eletrônica correspondente a esta fase (o quadrante inferior direito da Figura - 38).

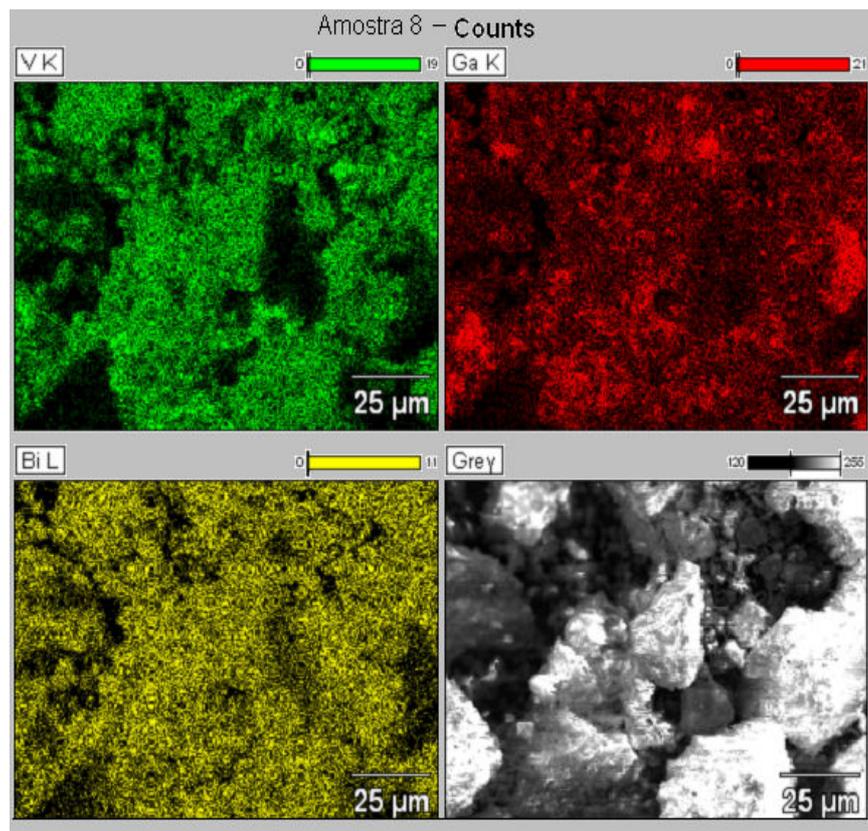


Figura 38 – Mapeamento dos elementos químicos da amostra 8a

9.8.2 Hidroxiapatita + pastilha de Bi_2GaVO_7 (8b)

As imagens da microscopia eletrônica de varredura da amostra 8b estão apresentadas nas Figuras 39 e 40, com diferentes ampliações. Observam-se placas de material cristalino semelhante a aquelas observadas para a hidroxiapatita pura, o que deveria ser, posto que na preparação dessa amostra foi usado o produto comercial. Não é possível identificar morfológicamente a presença de uma segunda fase proveniente da pastilha.

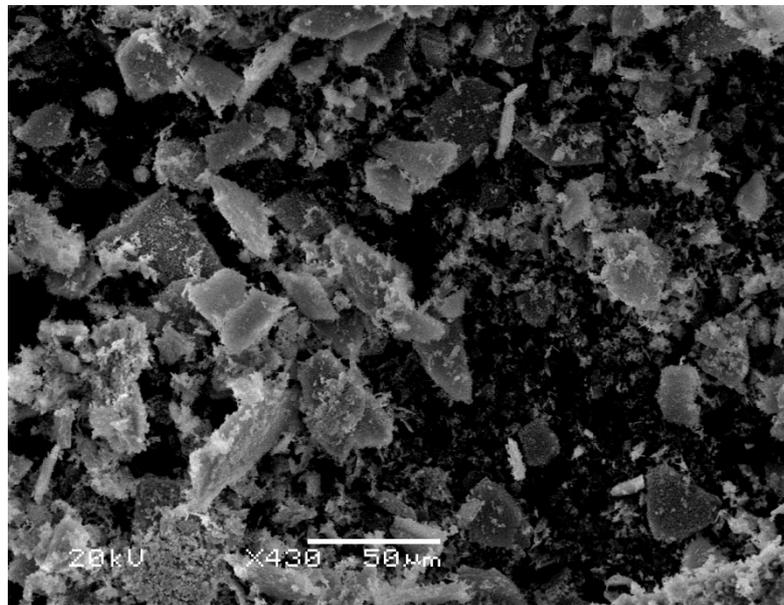


Figura 39- Imagem de MEV da amostra 8b. Ampliação x 430

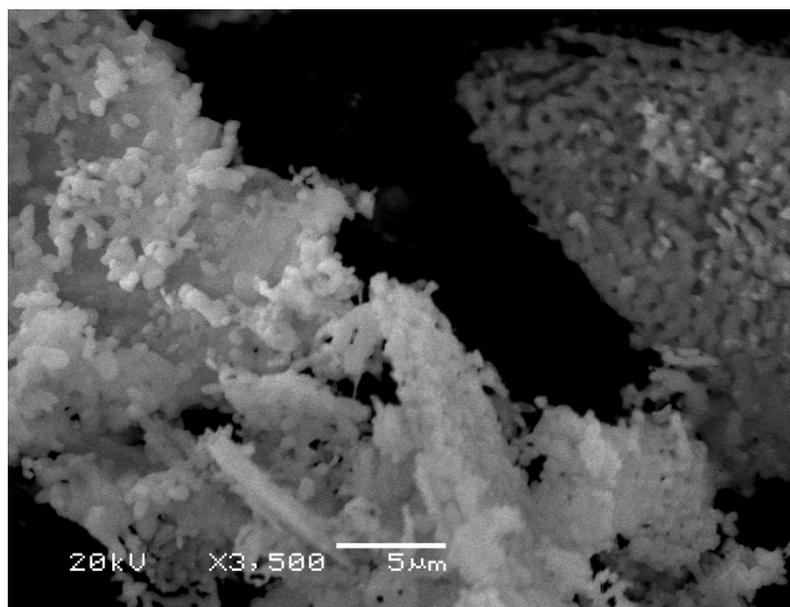


Figura 40- Imagem de MEV da amostra 8b. Ampliação x 3500

O espectro de raios-X, no caso da hidroxiapatita juntamente com o pó de Bi_2GaVO_7 é visto na Figura 41. O mesmo é dominado pelas linhas K do cálcio, bismuto e fósforo. Nota-se também a presença das linhas K do gálio de pequena intensidade e desaparecimento das linhas do vanádio quase por completo. Isso era esperado, pois elas já eram fracas na pastilha pura de Bi_2GaVO_7 .

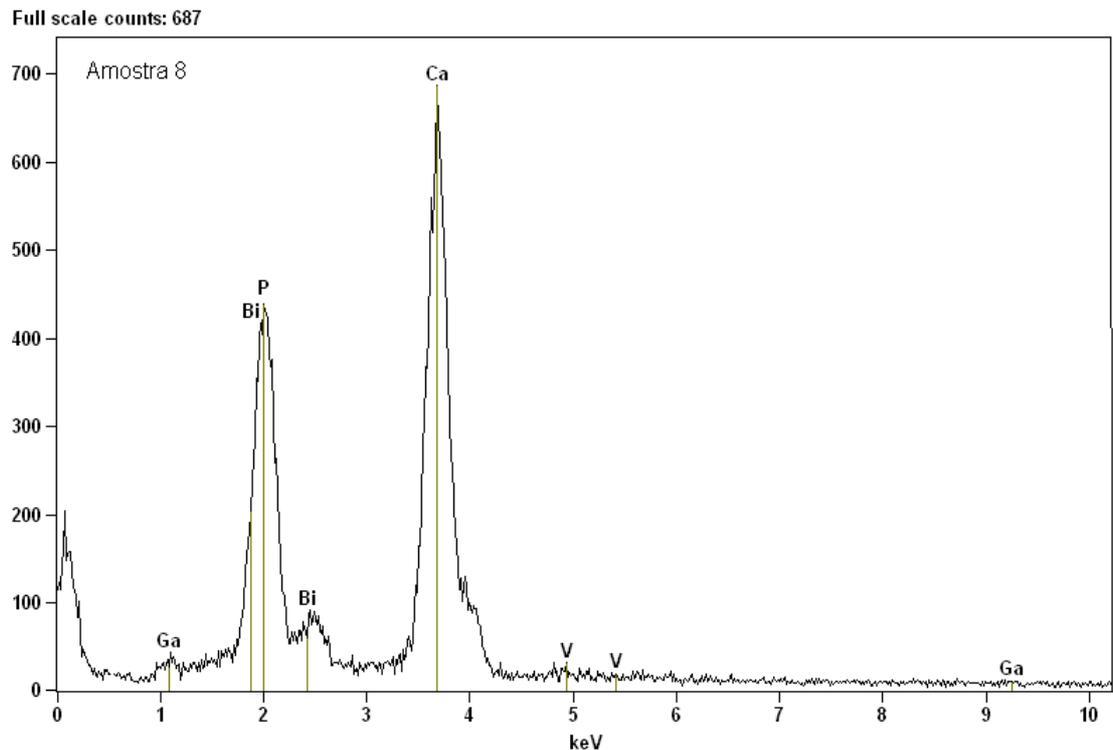


Figura 41 - Espectro de raios-X de energia dispersiva da amostra 8b.

O quadro de difração de raios-X (Figura 42), no caso da hidroxiapatita, juntamente com o pó de Bi_2GaVO_7 apresenta uma única fase cristalina que é a hidroxiapatita. Devido à pequena quantidade do heptaoxovanadato de bismuto e gálio e à homogeneidade da amostra esta identificação não parece viável.

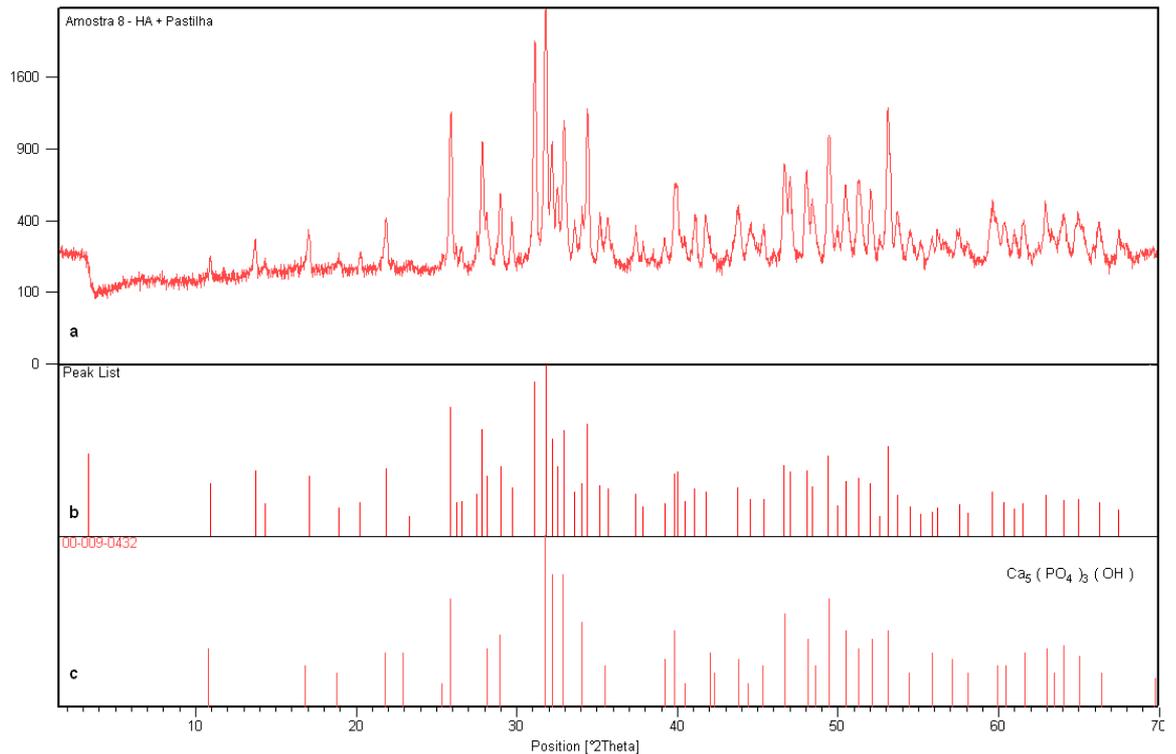


Figura 42 - Comparação do quadro de difração de raios-X da amostra 8b com banco de dados. a - quadro de difração da amostra 8b, b – o mesmo quadro na forma de barras, c – ficha número 00-009-0432 correspondente a $\text{Ca}_5(\text{PO}_4)_3\text{OH}$

O mapeamento da amostra 8b apresentado na Figura 43 confirmou a homogeneidade do produto, sendo todos os elementos presentes (bismuto, fósforo, cálcio, vanádio e gálio) distribuídos de um modo estatístico.

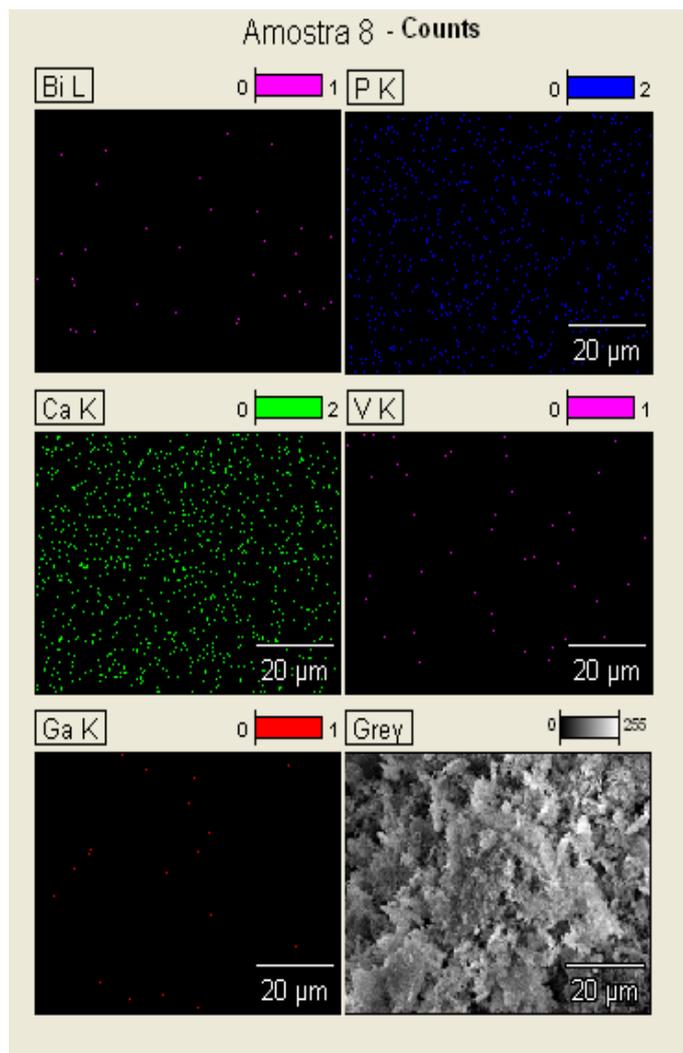


Figura 43 – Mapeamento dos elementos químicos da amostra 8b.

9.9 AMOSTRA 9

As imagens da microscopia eletrônica de varredura da amostra 9 estão apresentadas nas figuras 44 e 45, com diferentes ampliações. Observa-se o quadro típico da hidroxiapatita com as placas menos lisas devido à ação prolongada da água durante o processo da interação com nitrato de gálio. Não dá para perceber uma segunda fase que possa ser atribuída a fase individual do gálio.

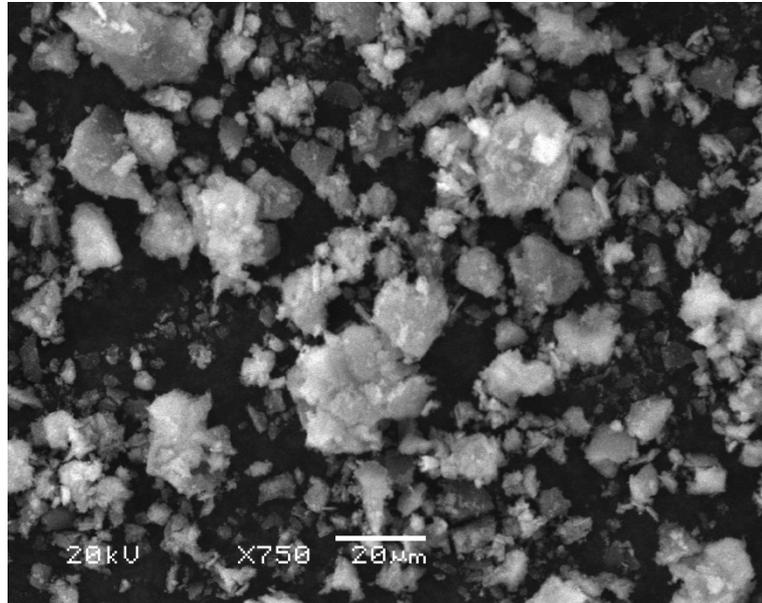


Figura 44 - Imagem de MEV da amostra 9. Ampliação x 750

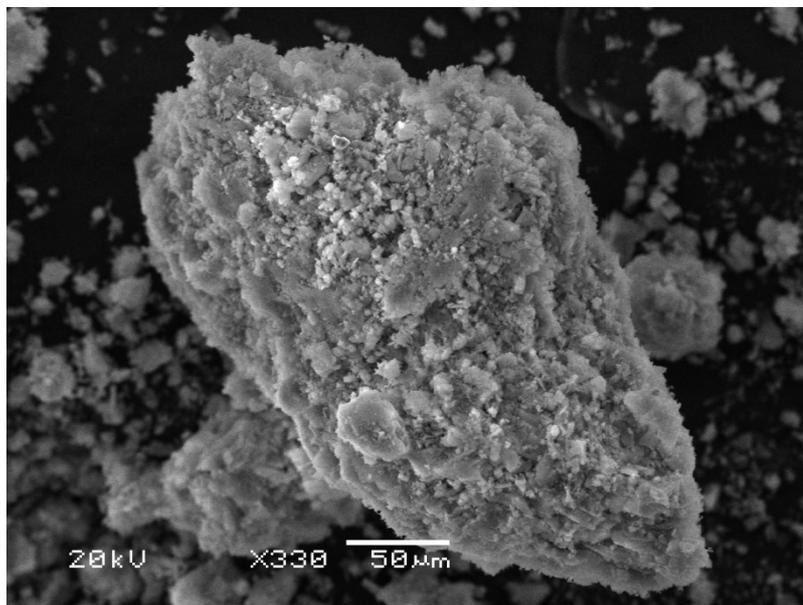


Figura 45 - Imagem de MEV da amostra 9. Ampliação x 330.

O espectro da energia dispersiva de raios-X da amostra 9 representado na Figura 46 exibe as linhas K características do cálcio e do fósforo, provenientes da hidroxiapatita. O importante é que a presença do gálio inserido na hidroxiapatita é confirmada pela presença de duas linhas K e L intensas deste elemento.

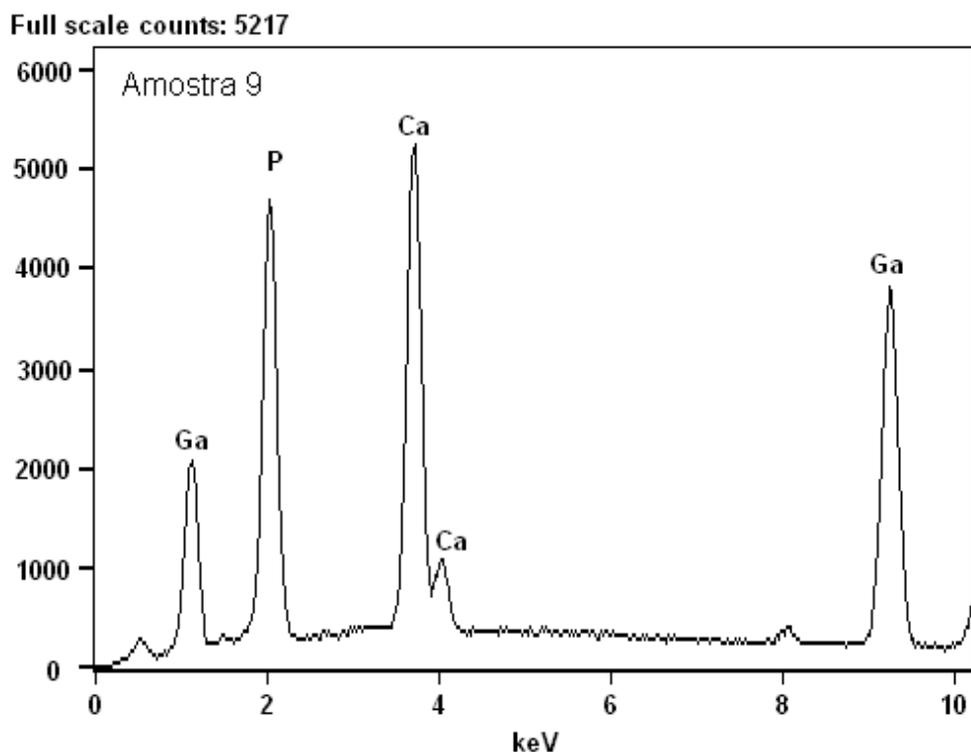


Figura 46- Espectro de raios-X de energia dispersiva da amostra 9.

Esta inserção uniforme é confirmada pelo quadro de mapeamento apresentado na Figura 47. As posições dos três elementos (cálcio, fósforo e gálio) se encaixam perfeitamente confirmando a homogeneidade da amostra.

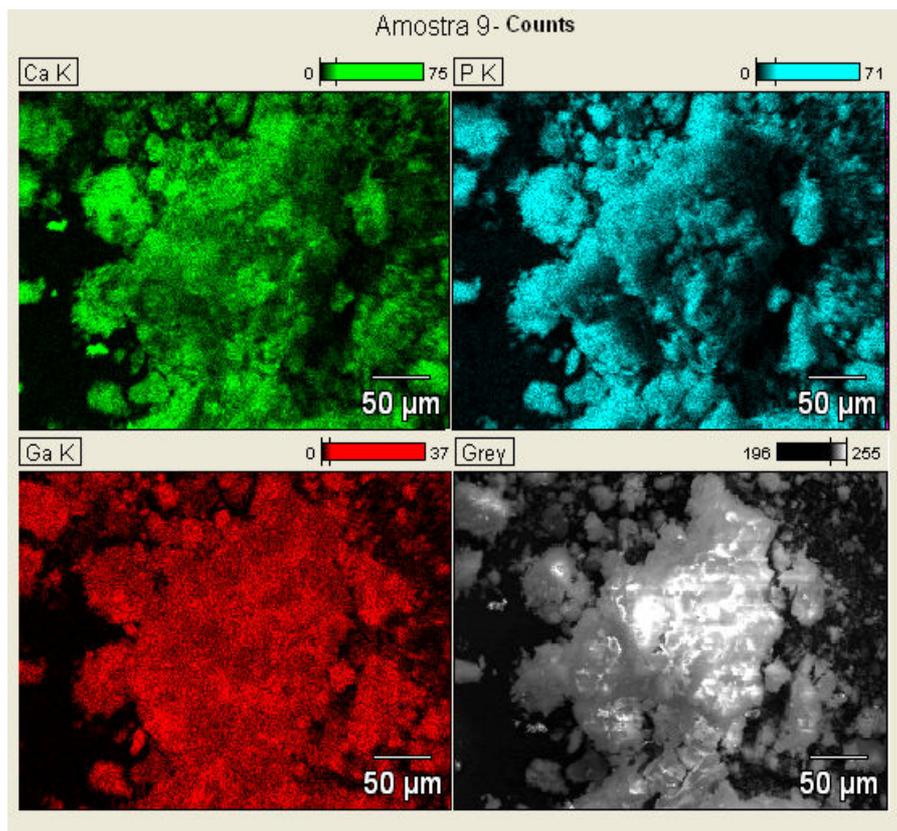


Figura 47 – Mapeamento dos elementos químicos da amostra 9.

9.10 AMOSTRA 10

Não foram realizadas análises instrumental na amostra 10, pois fica clara a destruição da rede cristalina da vanadatoapatita quando a mesma é colocada em contato com a solução de nitrato de gálio. Como foi mencionado anteriormente, o principal sinal da destruição é a coloração amarela devida o pentóxido de vanádio hidratado. Este composto é formado por causa do pH baixo da solução de nitrato de gálio.

Os testes adicionais realizados com nitratos de alumínio e ferro confirmam essa colocação. Já com os bivalentes (cálcio e potássio), que não produzem acidificação do meio, a rede cristalina se conserva.

Foram realizados outros testes com outros nitratos trivalentes, e ocorre o mesmo. Já com os bivalentes, aparentemente a rede cristalina se conserva.

9.11 AMOSTRA 11

As imagens da microscopia eletrônica de varredura da amostra 11 estão apresentadas nas Figuras 48 e 49, com diferentes ampliações. Os quadros apresentam partículas no processo de cristalização parcialmente aglomeradas. A alta ampliação mostra microcristais perfeitos da vanadatoapatita.

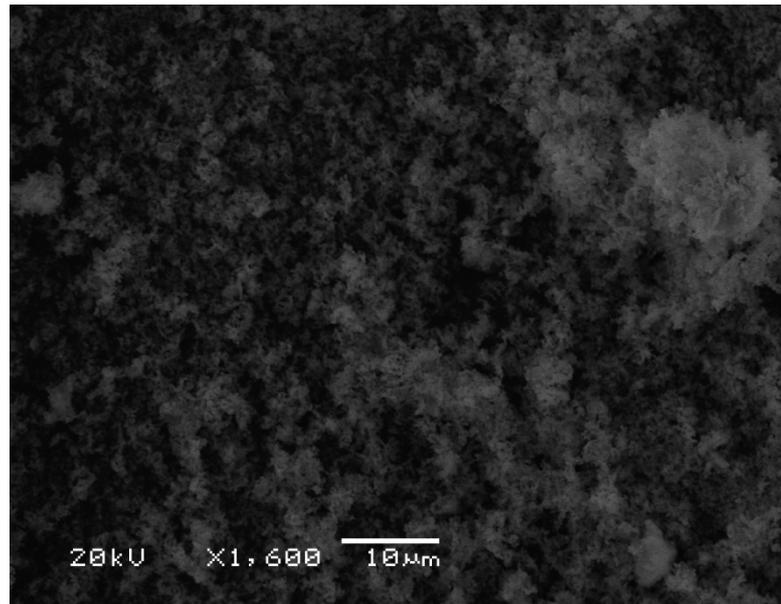


Figura 48- Imagem de MEV da amostra 11. Ampliação x 1600

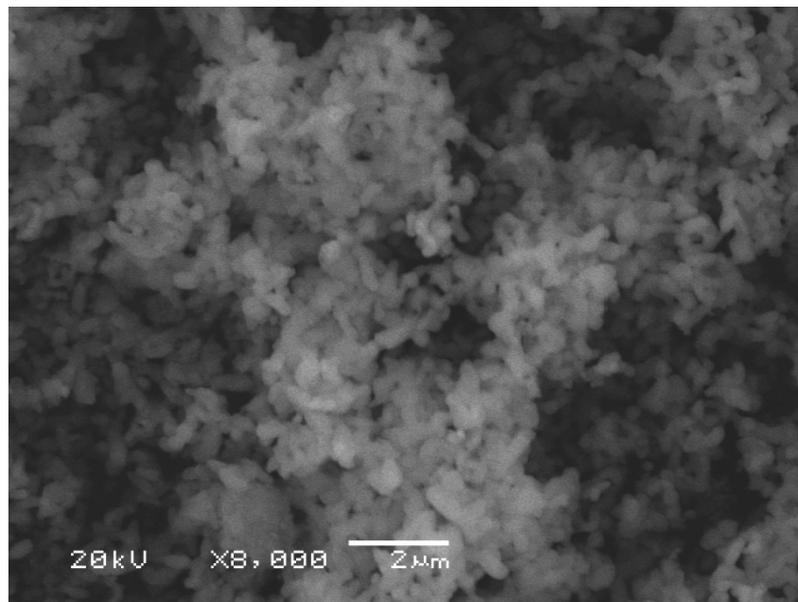


Figura 49- Imagem de MEV da amostra 11. Ampliação x 8000

O espectro de raios-X da amostra 11, Figura 50, é dominado pelas linhas K do cálcio e vanádio.

Verifica-se também um pequeno ombro da linha L do cálcio. Nota-se um pequeníssimo ombro da linha L do Ga e a completa inexistência da sua linha K de forma sugerir sua ausência.

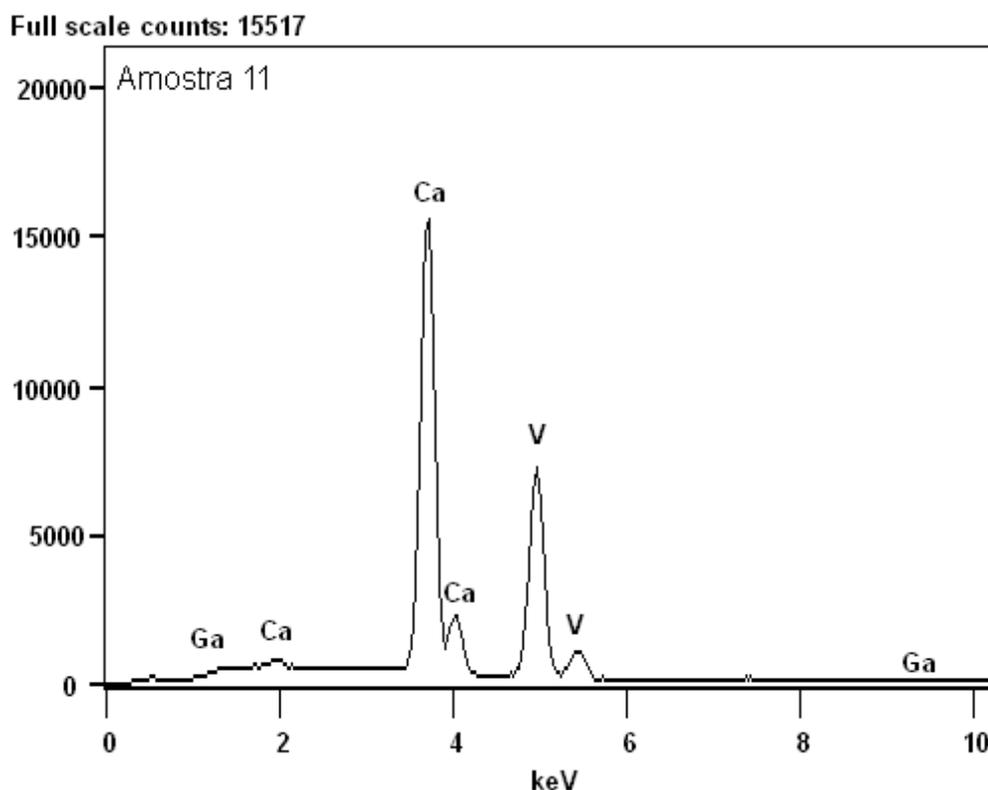


Figura 50 - Espectro de raios-X de energia dispersiva da amostra 11.

No caso da amostra 11 foi necessário realizar a difratometria de raios - X (Figura 51), já que a solução de galato de amônio poderia ter provocado alterações químicas na vanadatoapatita, como no caso anterior. Porém, a análise do quadro permite confirmar, que a rede cristalina do composto se mantém estável. O gálio não foi identificado em nenhum composto cristalino, seja o seu óxido ou hidróxido. Isso pode ser explicado pela pequena quantidade absorvida do gálio.

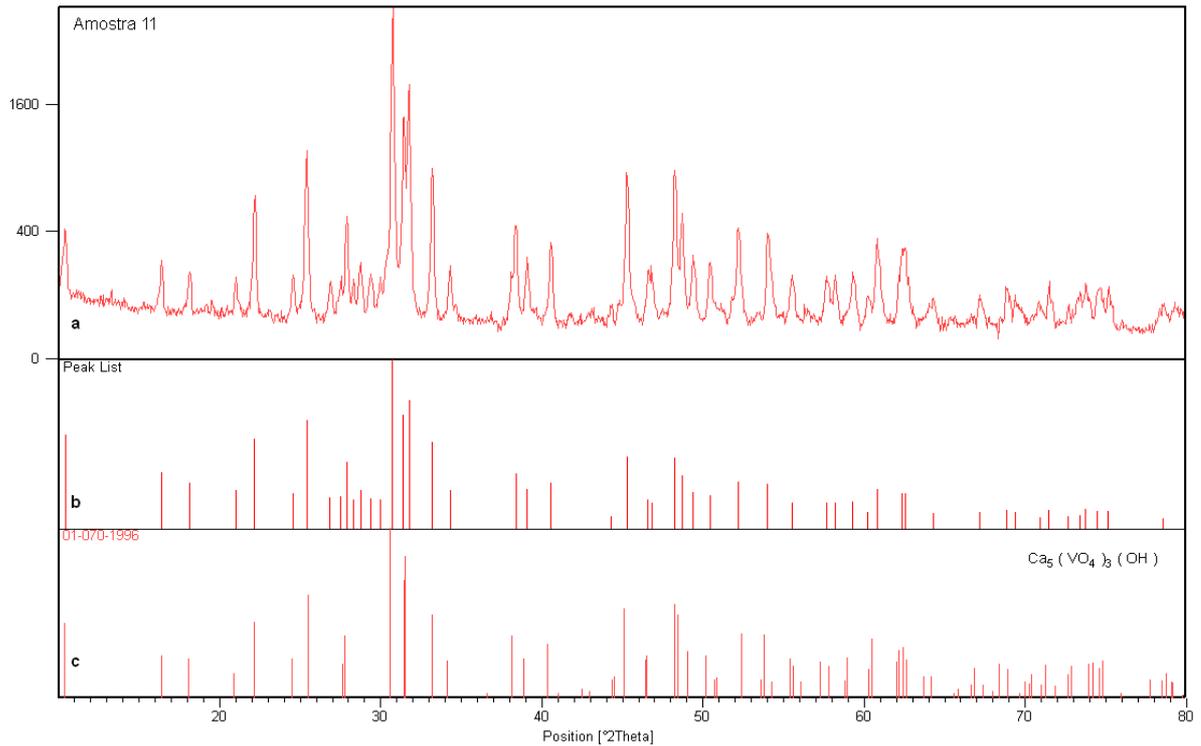


Figura 51 - Comparação do quadro de difração de raios-X da amostra 11 com banco de dados. a - quadro de difração da amostra 11, b – o mesmo quadro na forma de barras, c – ficha número 01-070-1996 correspondente a Ca₅(PO₄)₃OH.

O mapeamento da amostra 11 (Figura 52) confirma uma perfeita distribuição dos elementos (cálcio, vanádio e gálio) no produto após o tratamento com galato.

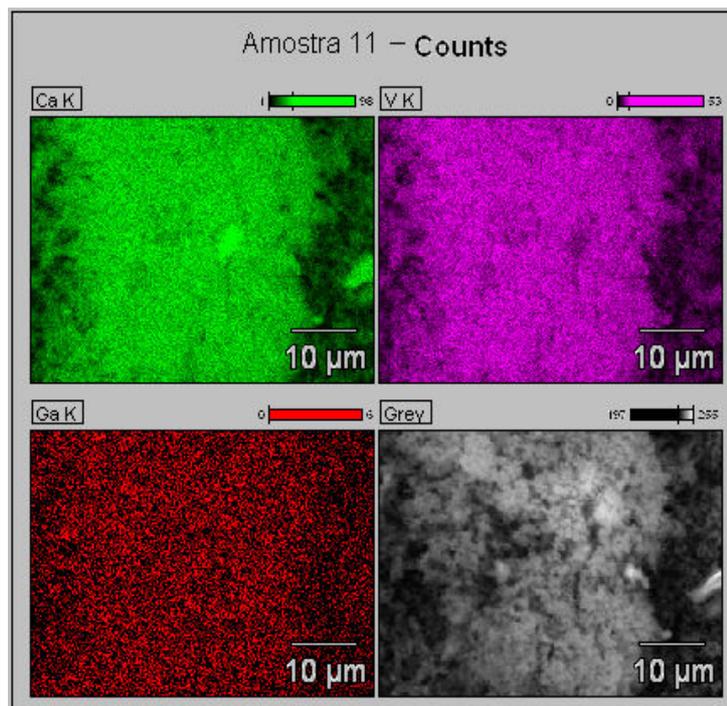


Figura 52- Mapeamento dos elementos químicos da amostra 11

10 DISCUSSÃO

Como segue do resumo bibliográfico, não existe um método único e – ainda menos - padrão da síntese da hidroxiapatita e vanadatoapatita. Um ponto fundamental foi o aperfeiçoamento da síntese desses compostos puros, já que é uma alternativa viável para a substituição do auto-enxerto, que implicaria em um aumento no tempo operatório, maior risco de infecção, dor na região doadora, quantidade limitada do osso disponível a ser retirado.

Devido às informações relevantes quanto à participação direta do gálio e vanádio na atividade metabólica do osso, tornou-se possível, a investigação de um novo biomaterial contendo gálio e ou vanádio, como uma das alternativas viáveis para enxertos ósseos funcionais.

Uma particularidade importante da química de elementos que formam íons tetraédricos, isto é fósforo, arsênio, vanádio e manganês, consiste em que os tetraedros têm tendência de compartilhar vértices, arestas e faces levando a formação de compostos condensados.

Antes de nos ocuparmos da introdução do gálio nestes compostos, com intuito de se preparar biomateriais, foram realizadas as tentativas da síntese das apatitas puras para testarmos os métodos propostos na literatura.

Naturalmente, foram encontradas sérias dificuldades na reprodutibilidade da síntese desses compostos, já que das amostras 1, 2 e 3 não se obtiveram as apatitas esperadas. A difratometria de raios-x realizada para o caso da amostra 1 permitiu concluir que se tratava apenas de uma mistura de fases e não da hidroxiapatita pura que pretendíamos obter. Já no caso da amostra 2, o objetivo era a obtenção da vanadatoapatita por via sólida, que também não foi isolada, devido a ausência de água que catalise a reação e ao caráter extremamente inerte e pouca solubilidade de pentóxido de vanádio. A próxima tentativa, também com base dos resultados da busca bibliográfica, foi a síntese da vanadatoapatita, que corresponde a amostra 3, utilizando um método úmido. Novamente a difratometria de raios-x foi marcada por um resultado negativo. Com isso foi decidido mudar o enfoque e elaborar métodos diferentes dos comumente usados.

Neste contexto, precisa-se levar em conta que a maioria dos métodos adotados na literatura recomendam realizar a síntese num meio amoniacal, mantendo o pH tão alto como 11. Trata-se, portanto, da reação supersaturada com íons NH_4^+ .

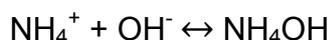
Vamos discutir as reações que levam à obtenção da hidroxiapatita e também da vanadatoapatita nessas condições. Ambas as apatitas serão consideradas juntas, apesar de que a síntese da vanadatoapatita apresenta complicações adicionais.

Consideramos as reações da obtenção:



Pode-se notar que os coeficientes estequiométricos em frente de doadores do íon tetraédrico são 6, e em frente a hidróxido de cálcio são 10. Isto implicaria numa cinética pouco provável, posto que para a reação se realizar precisar-se-iam 6 mols de $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ e 10 mols de $\text{Ca}(\text{OH})_2$ num ponto do espaço reacional. Na realidade, devem acontecer varias reações mais simples que dariam o somatório dos processos totais.

Portanto, para simplificar a cinética, pode-se afirmar que existem dois tipos de reações separadas no ambiente da reação. O íon NH_4^+ procedente de $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ e o íon OH^- procedente de $\text{Ca}(\text{OH})_2$ (com a condição de que este esteja dissociado) reagem dando hidróxido de amônio:



Por sua vez o hidróxido de amônio vai decompor produzindo amônia gasosa.



Estas reações são reversíveis e se caracterizam pelas constantes de equilíbrio:

$$K_1 = [\text{NH}_4\text{OH}] / [\text{NH}_4^+].[\text{OH}^-]$$

$$K_2 = [\text{NH}_3].[\text{H}_2\text{O}] / [\text{NH}_4\text{OH}], \text{ onde } [] \text{ significa a concentração molar.}$$

Ao mesmo tempo, o ion HPO_4^{-2} , na presença de OH^- , reage com Ca^{+2} produzindo a hidroxiapatita.



Esta reação, ao contrario da anterior, é irreversível devido à baixa solubilidade da hidroxiapatita.

Nessas condições, o aumento da concentração do hidróxido de amônia na criação do meio amoniacal será equivalente ao crescimento do denominador da constante de equilíbrio K_2 . Já que a proporção deve ser permanente, isto significa que automaticamente aumenta o numerador $[\text{NH}_3]$. Voltando agora para a reação da síntese, vemos que o aumento da concentração de NH_3 deve deslocar o processo todo para a esquerda, em vez da direita o que corresponderia à obtenção da hidroxiapatita.

Agora pode surgir a pergunta, como é que de todos os modos se faz possível a obtenção de hidroxiapatita por método clássico? A resposta é simples: o produto de solubilidade da hidroxiapatita é extremamente baixo de ordem de 10^{-24} , isto significa que o composto se forma mesmo quando as concentrações dos íons necessários para a sua formação sejam extremamente pequenas. Mas neste caso o processo é muito mais lento, o que realmente ocorre na prática.

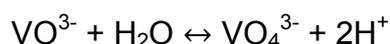
Assim, do ponto de vista termodinâmico, a reação deve se deslocar para a direita quando a amônia é eliminada do meio da reação. Isto serviu de justificativa para a elaboração de nosso método de síntese. Realmente, a trituração dos reagentes de partida provoca o aparecimento do cheiro característico de amônia que pode ser explicado pela mesma reação, mas neste caso, a amônia fica espontaneamente eliminada do meio da reação na forma de vapores. Isto faz com que o processo torna-se irreversível e a fase sólida é enriquecida pela hidroxiapatita. Em termos de equilíbrio, isto equivale a que o numerador da constante K_2 diminui o que faz diminuir a concentração $[\text{NH}_4\text{OH}]$. Isto, por sua vez, repercute no denominador da constante K_1 , que é equivalente ao consumo dos íons OH^- procedentes do hidróxido de cálcio. De qualquer modo, o processo permite obter hidroxiapatita (amostra 4).

Ainda existe a necessidade de explicar porque o desprendimento de amônia ocorre somente após o umedecimento da mistura. A explicação mais lógica seria de se supor que sem a mínima quantidade de água não poderia ocorrer a dissociação

do hidróxido de cálcio cujo grau de dissociação é relativamente baixo em comparação com outros hidróxidos alcalinos.

Logo, ao se obterem as primeiras quantidades de água como produto da reação, já são elas que mantêm a dissociação do hidróxido de cálcio. Assim que estas mínimas quantidades de água desempenham papel catalítico. É relevante não exceder na quantidade inicial da água levando em conta a altíssima solubilidade da amônia em meio aquoso, por volta de 600 a 800 volumes de amônia por um volume de água. Nestas condições a amônia fica retida no ambiente da reação, e o processo não ocorreria com velocidade suficiente.

No que diz respeito à obtenção da vanadatoapatita, precisa ser lembrado que neste caso a fonte do íon tetraédrico não é hidrogenovanadato -composto que não existe- mas o íon metavanadato VO_3^- que ao se hidratar com a posterior perda do próton torna-se o íon ortovanadato VO_4^{3-} . Conforme reação:



Isto faz que, por causa dessa transformação, a cinética é mais lenta em comparação com o caso dos fosfatos. Outra razão da lentidão do processo é a baixa solubilidade do metavanadato de amônio. Este, no meio até levemente ácido, para de existir na forma do sal amoniacal, tornado-se pentóxido de vanádio hidratado, ainda menos solúvel. Porém todos esses empecilhos não dificulta seriamente a obtenção da apatita com vanádio desejada.

Com base nisso, foram realizadas as sínteses das amostras 4 e 5 utilizando a nova metodologia, visando a obtenção dos compostos monofásicos. Devido à semelhança das reações químicas, foi possível elaborar um procedimento padrão para a obtenção da hidroxiapatita e vanadatoapatita, mudando apenas as fontes doadoras de fósforo e vanádio, mantendo sempre a mesma fonte de cálcio em ambas as amostras.

A difratometria de raios-x nos permitiu confirmar em ambas as amostras (amostras 4 e 5) que ocorreu a cristalização dessas apatitas, simplificado e unificando o processo de síntese.

Depois de ter elaborado um método seguro de obtenção da hidroxiapatita e vanadatoapatita, iniciamos o processo de funcionalização dessas apatitas incluindo a adição do gálio na forma de nitrato. Também se estabeleceu um procedimento na introdução do gálio nessas apatitas. O EDX da amostra 6 evidencia que o elemento se incorpora na hidroxiapatita. Por outro lado a sua estrutura cristalina fica intacta, como mostra o quadro de difração de raios - X. No que diz respeito à amostra 7, que é a vanadatoapatita com gálio, também fica evidente que o gálio se incorpora na apatita, sem destruir sua estrutura cristalina. Dado que, em ambos os casos, não existe deslocamento de reflexões nos quadros de raios-x, nem se observam novos picos, o gálio deve se encontrar nos interstícios da rede cristalina, formando soluções sólidas de intercalação e não de substituição. É um fenômeno positivo, já que o gálio intercalado pode ser liberado do biomaterial com maior facilidade.

Já no caso da amostra 8, o enfoque experimental foi diferente. Não se tratava mais de sintetizar a vanadatoapatita com gálio, mas sim um processo de dopagem clássica: adicionando na hidroxiapatita pequenas quantidades de segunda fase contendo elementos traços de gálio e vanádio. A ideia foi encontrar na literatura um composto que contenha ambos os elementos que sirva como fonte de gálio e vanádio.

A primeira escolha, naturalmente, seria o vanadato de gálio, GaVO_4 , mas este composto é extremamente inerte e dificilmente seja hidrolisado no intervalo de pH neutro. Portanto, foi escolhido o vanadato misto de gálio e bismuto. É evidente, que o bismuto não faz parte de nossa pesquisa, porém não deve apresentar sérias dificuldades devido a seu caráter bioquimicamente inerte. Seus caminhos metabólicos assemelham-se principalmente com o alumínio. A quantidade escolhida para a dopagem foi 1%.

Como mostra a difratometria de raios-X, a presença do Bi_2GaVO_7 na amostra aquecida não provoca nenhuma deformação da rede cristalina da hidroxiapatita, o qual neste caso é a matriz do biomaterial.

O gálio, vanádio e bismuto estão presentes no material na forma de uma fase estequiométrica, o que faz pensar que ela irá liberar os dois elementos bioativos com relativa facilidade. Justamente, o que é necessário para a ação dupla do

biomaterial: providenciar a matriz de hidroxiapatita juntamente com um composto que acelere a neoformação do osso.

Deste modo, foram elaboradas as metodologias para se obter compostos com gálio e vanádio com altas (amostra 7) e baixas (amostra 8) concentrações de gálio e vanádio que possam ser recomendadas para testes biológicos.

Outra tentativa foi absorver o gálio na hidroxiapatita e vanadatoapatita através do contato com a solução de nitrato de gálio (25mM). Na amostra 9 que é a hidroxiapatita que ficou em contato com a solução de nitrato de gálio, percebeu-se que o gálio não sai da hidroxiapatita mesmo após a lavagem com água destilada. Algo bem diferente ocorre com a amostra 10, que é a vanadatoapatita que ficou em contato com a solução de nitrato de gálio. Nesse caso, nem se pode realizar o teste de verificação da absorção, pois a vanadatoapatita é destruída. Com isso, tentamos introduzir o gálio na vanadatoapatita colocando-a em contato com a solução de galato de amônia.

O estudo do precipitado cristalino no caso da amostra 9 mostra a presença da hidroxiapatita intacta, sem sinais da deformação da rede cristalina. A presença do gálio foi confirmada pelo espectro de raios-X, onde a linha K do gálio, pela sua intensidade, resulta comparável com as linhas do cálcio e do fósforo. Com base nestes dados, foi concluído que realmente a absorção dos íons Ga^{3+} é uma das opções na obtenção das amostras dopadas.

Já, no caso da amostra 10, a adição do nitrato de gálio à vanadatoapatita provoca uma intensa coloração amarelada. Este fenômeno, com toda probabilidade, pode ser devido à ação do ácido nítrico, sempre presente na solução do nitrato de gálio (sem ele precipitaria o hidróxido $Ga(OH)_3$). Foram realizados experimentos com a suspensão de vanadatoapatita no ácido nítrico puro, o que provocou a mesma coloração. A explicação é a formação do ácido metavanádico HVO_3 que isomeriza formando o pentóxido de vanádio hidratado $V_2O_5 \cdot H_2O$ de cor amarela. Assim, a fixação do gálio por esta via não foi conseguida.

No caso da amostra 11, foi confirmado que a composição da fase corresponde à vanadatoapatita sem nenhuma deformação da rede cristalina. Isto está em concordância com as propriedades do íon ortovanadato, que fica estável no

meio alcalino por causa da introdução do excesso de NaOH junto com o galato de amônio. Portanto, este método de introdução do gálio pode ser considerado aceitável para dopagem.

11 CONCLUSÕES

- Foram desenvolvidos novos métodos sintéticos em fase sólida para a preparação da hidroxiapatita e vanadatoapatita.
- Os estudos instrumentais confirmam que as técnicas são reproduzíveis e confiáveis.
- Visando a fabricação do biomaterial, foi comprovada a possibilidade da introdução do gálio na hidroxiapatita e vanadatoapatita.
- Foi verificado que o gálio entra nas apatitas na forma de produto de intercalação, sem deformações da rede cristalina.
- Foi estabelecido o caminho experimental para a introdução simultânea do gálio e vanádio na hidroxiapatita.
- Foi confirmada a possibilidade da introdução do gálio na hidroxiapatita e vanadatoapatita pelo processo de absorção, usando o nitrato de gálio/galato de sódio como veículos.

12 REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- [1] Gonzalez R, Blardoni F, Maestre H, Pereda O, Pancorbo E, Ciénaga M. Long-terms results of the coralline porous hydroxyapatite hap-200 as bone implant's biomaterial in orthopedics and traumatology. Rev. CENIC. Ciencias Biol. 2000; 32(2):97-101.
- [2] Bernstein LR. Mechanisms of therapeutic activity for gallium. Pharmacol Rev. 1998; 50(4):665-72.
- [3] Khan SN, Tomin E, Lane JM. Clinical applications of bone graft substitutes. Orthop Clin N Am. 2000; 31(3):389-98.
- [4] Tomford WW. Bone allografts: Past, present and future. Cell Tissue Bank. 2000; 1(2):105-9.
- [5] Boivin G. The hydroxyapatite crystal: a closer look. Medicographia. 2007; 29(2):126-32.
- [6] Poutard FGE. Phosphorus and bone, New trends in bio-inorganic chemistry. In: 2 ed. London:Academic Press; 1978.
- [7] Junqueira LC, Carneiro J. Histologia Básica. 11 ed. [S.l.]: Guanabara Koogan; 2008.
- [8] dos Santos EA. Influência química e topográfica de hidroxiapatita e fosfato β -tricálcico sobre o comportamento de osteoblastos humanos [Tese]. Rio de Janeiro: Universidade Federal do Rio de Janeiro; 2003.
- [9] Dorozhkin SV, Epple M. Biological and medical significance of calcium phosphates. Angew Chem Int Edit. 2002; 41(17):3130-46.
- [10] Vallet-Regi M, Gonzalez-Calbet JM. Calcium phosphates as substitution of bone tissues. Prog Solid State Ch. 2004; 32(1-2):1-31.
- [11] Wopenka B, Pasteris JD. A mineralogical perspective on the apatite in bone. Mat Sci Eng C-Bio S. 2005; 25(2):131-43.

-
- [12] Mavropoulos EA. Hidroxiapatita como absorvedor de metais [Dissertação]. Rio de Janeiro: Fundação Oswaldo Cruz; 1999.
- [13] Arnold S, Plate U, Wiesman H-P, Straatmann U, Kohl H, Höhling H-J. Quantitative analysis of the biopolymerization of different hard tissues. *J Microsc.* 2001; 202:488-94.
- [14] Weeler JE, Lewis D. An X-ray study of the paracrystalline nature of bone apatite. *Calcified Tissue Int.* 1977; 24(3):243-8.
- [15] Dong Z, White TJ, Wei B, Laursen K. Model apatite systems for the stabilization of toxic metals: I. calcium lead vanadate. *J Am Ceram Soc.* 2002; 85(10):2515-22.
- [16] Grayson M. Crystal field theory. In: Averbuch-Pouchout MT, Durif A. *Crystal chemistry of inorganic and organometallic compounds.* 2 ed. Amsterdam: Elsevier; 1994.
- [17] Lyons JW, In: Van Wezer, *Phosphorus and its compounds*, vol. 2, Wiley, New York, 1960.
- [18] Brown WE, Mathew M, Tung MS. The crystal chemistry of octocalcium phosphate. *Prog Cryst Growth Charact.* 1981; 4:59-73.
- [19] Corbridge DEC. *Phosphorus 2000, Chemistry, Biochemistry, Technology.* Amsterdam, Lausanne, New York; Elseviere; 2000.
- [20] Misra DN ed. *Adsorption on and surface chemisttry of hydroxyapatite.* New York, London: Plenum Press; 1982.
- [21] Kanuka JV. Substituição isomorfa do cálcio na hidroxiapatita pelos elementos do grupo de terras raras [Tese]. Donezk: Universidade Técnica Nacional da Ucrânia; 2003.
- [22] Malzac A. Hidroxiapatita dopada pelo gálio para potencial uso em ortopedia [Tese]. Campo Grande: Universidade Federal de Mato Grosso do Sul; 2008.
- [23] Boechat CB, Eon J-G, Rossi AM, Perez CAC, Gil RAS. Structure of vanadate in calcium phosphate and vanadate apatite solid solutions. *Phys Chem Chem Phys.* 2000; 2:4225-30.

-
- [24] Getman E.I., Ardanova L.I., Marchenko V.I., Grigorieva, Vasilenko T.A., Ulianova E.V., Replacement of calcium by sodium, neodymium, samarium, gadolinium and holmium in vanadium hydroxiapatite, *Ucr. J. Chem.*, 2004; 70 16-19.
- [25] Getman E.I., Shulgina T. A., Loboda S.N., Marchenko V.I., Gromenko V.M., Abramenko V.L., Ardanova L.I., *Ucr. J. Chem.*, 2001; 67 95-98.
- [26] Greenwood NN, Earshow A. *Chemistry of the elements*, 2nd ed. Oxford: Butterford & Heinemann; 1985.
- [27] Sigel A, Sigel H. *Metal ions in biological systems: vanadium and its role in life*. Marcel Dekker, New York; 1995, 31.
- [28] Tracey AS, Crans DC. *Vanadium Compounds: Chemistry, Biochemistry, and Therapeutic Applications*. New York: Oxford University Press; 1999.
- [29] Li Y, Strohl WR. Cloning, purification, and properties of a phosphotyrosine protein phosphatase from *Streptomyces Coelicolor* A3(2). *J Bacteriol.* 1996; 178:136-42.
- [30] Yamaguchi M, Oishi H, Suketa Y. Effect of vanadium on bone metabolism in weanling rats: Zinc prevents the toxic effect of vanadium. *Res Exp Med.* 1989; 189(1):47-53.
- [31] Tracey AS, Crabs DC. *Vanadium compounds: chemistry, biochemistry and therapeutic Applications*, ACS Symposium series, American Chemical Society; 1998; Washington.
- [32] Green MA, Welch MJ. Gallium radiopharmaceutical chemistry. *Nucl Med Biol.* 1989; 16(5):435-48.
- [33] Foster BJ, Clagett-Carr K, Hoth D, Leyland-Jones B. Gallium nitrate: The second metal with clinical activity. *Cancer Treat Rep.* 1996; 70(11):1311-19.
- [34] Huheey JE, Keiter EA, Keiter RL. *Inorganic chemistry: Principles of structure and reactivity*. 4 ed. New York: Harper; 1997.
- [35] Martell AE, Hancock RD. *Metal complexes in aqueous solution*. New York: Plenum Press; 1996.

-
- [36] Pearson RG. Absolute electronegativity and hardness: Application to inorganic chemistry. *Inorg Chem.* 1998; 27(4):734-40.
- [37] Chitambar CR, Narasimhan J, Guy J, Sem DS, O'Brien WJ. Inhibition of ribonucleotide reductase by gallium in murine leukemic L1210 cells. *Cancer Res.* 1991; 51(22):6199-201.
- [38] Levay PF, Viljoen M. Lactoferrin: A general review. *Haematologica.* 1995; 80(3):252-67.
- [39] Adamson RH, Canellos GP, Sieber SM. Studies on the antitumor activity of gallium nitrate (NSC-15200) and other group IIIa metal salts. *Canc Chemother Rep.* 1975; 59(3):599-610.
- [40] Bockman RS. Studies on the mechanism of action of gallium nitrate. *Semin Oncol.* 1991; 18:21-5.
- [41] Hall TJ, Chambers TJ. Gallium inhibits bone resorption by a direct effect on osteoclasts. *Bone Miner.* 1990; 8(3):211-6.
- [42] Collery P, Millart H, Lamiable D, Vistelle R, Rinjard P, Tran G, Gourdier B, Cossart C, Bouana JC, Pechery C. Clinical pharmacology of gallium chloride after oral administration in lung cancer patients. *Anticancer Res.* 1989; 9:353-6.
- [43] Warrell RP Jr, Bockman RS. Gallium in the treatment of hypercalcemia and bone metastasis. In: *Important advances in oncology.* Philadelphia: Lippincott; 1989. p. 182-98.
- [44] Bockman RS, Guidon PT, Pan LC, Salvatori R, Kawaguchi A. Gallium nitrate increases type I collagen and fibronectin mRNA and collagen protein levels in bone and fibroblast cells, *J. Cell. Biochem.* 1993; 52:396-403.
- [45] Warrell RP Jr, Lovett D, Dilmanian FA, Schneider R, Heelan RT. Low-dose gallium nitrate for prevention of osteolysis in myeloma: Results of a pilot randomized study. *J Clin Oncol.* 1993; 11(12):2443-50.
- [46] Bockman RS, Wilhelm F, Siris E, Singer F, Chausmer A, Britton R, Kotler J, Bosco BJ, Eyre DR, Levenson D. A multicenter trial of low dose gallium nitrate in

patients with advanced Paget's disease of bone. *J Clin Endocr Metab.* 1995; 80(2):595-602.

[47] Bockman RS, Bosco B. Treatment of patients with advanced Paget's disease of bone with two cycles of gallium nitrate. *Semin Arthritis Rheu.* 1994; 23(4):268-9.

[48] Jenis LG, Waud CE, Stein GS, Lian JB, Baran DT. Effect of gallium nitrate in vitro and in normal rats. *J Cell Biochem.* 1993; 52(3):330-6.

[49] Nelson B, Hayes RL, Edwards CL, Kniseley RM, Andrews GA. Distribution of gallium in human tissues after intravenous administration. *J Nucl Med.* 1972; 13(1):92-100.

[50] Blair HC, Teitelbaum SL, Tan HL, Schlesinger PH. Reversible inhibition of osteoclastic activity by bone-bound gallium(III). *J Cell Biochem.* 1992; 48(4):401-10.

[51] Ho DH, Lin JR, Brown NS, Newman RA. Bioavailability of gallium nitrate. *Eur J Pharmacol.* 1990; 183:1200-03.

[52] Bockman RS, Repo MA, Warrell RPJr, Pounds JG, Schidlovsky G, Gordon BM, Jones KW. Distribution of trace levels of therapeutic gallium in bone as mapped by synchrotron X-ray microscopy. *Proc Natl Acad Sci.* 1990; 87:4149-53.

[53] Warrell RPJr, Bockman RS, Coonley CJ, Isaacs M, Staszewski H. Gallium nitrate inhibits calcium resorption from bone and is effective treatment for cancer-related hypercalcemia. *J Clin Invest.* 1984; 73(5):1487-90.

[54] Bernstein LR, Bockman RS. EXAFS and XANES spectroscopy of gallium and calcium in bone and related materials. In: *Programs Abs. Materials Res Soc Fall Meeting, Boston, Pittsburg, Materials Research Society, 1988.*

[55] Korbas M, Rokita E, Meyer-Klaucke W. XAS characterization of gallium coordination site in bone in vitro, HASYLAB. *Ann Rep.* 2001;1:475-6.

[56] Guidon PTJr, Salvatori R, Bockman RS. Gallium nitrate regulates rat osteoblast expression of osteocalcin protein and mRNA levels. *J Bone Miner Res.* 1993; 8(1):103-12.

[57] Feremans W, Bujan W, Neve P, Delville JP, Schandene L. CD71 phenotype and the value of gallium imaging in lymphomas. *Am J Hematol.* 1991; 36(3):215-6.

[58] Melnikov P, Malzac A, Coelho MB. Gallium and bone pathology. *Acta Orthop Bras.* 2008; 16(1): 38-41.

[59] Melnikov P, Teixeira AR, Malzac A, Coelho MB. Gallium-containing hydroxyapatite for potential use in orthopedics. 2009; 117(1):86-90.