

Universitatea Națională de Știință și Tehnologie POLITENICA București
Facultatea de Inginerie Chimică și Biotehnologii
Scoala doctorala "Inginerie Chimica si Biotehnologii"

TEZA DE DOCTORAT

Influența ionilor dopanți de pământuri rare asupra caracteristicilor de
fotoluminiscentă ale hidroxiapatitei pentru utilizări biomedicale

REZUMAT

Coordonator doctorat,
Prof. dr. Ing. Ecaterina ANDRONESCU

Student doctorand,
Ing. Andrei-Viorel PADURARU

Bucuresti
2023

CUPRINS

Mulumiri.....	3
Lista de acronime.....	5
Introducere.....	6
I.ANALIZA DATELOR DIN LITERATURA	8
CAPITOTUL 1. HIDROXIAPATITA.....	9
1.1.Apatita naturala.....	9
1.2.Apatita sintetica	11
1.2.1.Metode de sinteza.....	13
1.3.Metode de substitutie a hidroxiapatitei	15
1.3.1.Substitutie anionica	17
1.3.2.Substitutie cationica.....	19
CAPITOLUL 2. ELEMENTE FLUORESCENTE (PAMANTURI RARE).....	21
2.1.Europiu.....	22
2.2.Ceriu.....	24
2.3.Erbiu.....	25
2.4.Terbiu.....	25
CAPITOLUL 3. HIDROXIAPATITA DOPATA CU PAMANTURI RARE	25
3.1. Substitutia hidroxiapatitei utilizand europiu	27
3.2.Substitutia hidroxiapatitei utilizand ceriu	31
3.3.Substitutia hidroxiapatitei utilizand erbiu	32
3.4.Substitutia hidroxiapatitei utilizand terbiu	36
CAPITOLUL 4. IMAGISTICA MEDICALA.....	39
4.1. Aplicatii de imagistica moleculara folosind nanoparticule de hidroxiapatita luminescente.....	39

4.2. Imagistica optica folosind nanoparticule de hidroxiapatita luminescenta	40
4.3. Imagistica RMN folosind nanoparticule de hidroxiapatita magnetica.....	41
4.4. Imagistica multimodala folosind nanoparticule de hidroxiapatita luminomagnetica	43
II. CONTRIBUTII ORIGINALE.....	45
CAPITOLUL 5. OBIECTIVELE TEZEI SI ELEMENTE DE ORIGINALITATE.....	46
5.1. Lista de publicatii.....	47
5.2. Participari la conferinte.....	48
CAPITOLUL 6. CONCLUZII.....	88
BIBLIOGRAFIE.....	97

Bioceramicile sunt materiale ceramice care sunt biocompatibile, biodegradabile și bioactive. Ele sunt create pentru a stimula anumite răspunsuri celulare la nivel molecular, fiind astfel potrivite pentru a fi folosite în repararea și regenerarea diferitelor materiale [1-3]. Datorită faptului că există o creștere a cererii de materiale fotosensibile utilizate pentru echipamentele optoelectronice și fotonice contemporane, cu aplicații în numeroase discipline, altele decât domeniul medical, a crescut, de asemenea, și interesul pentru materialele luminescente [4-5]. Datorită proprietăților sale osteogene, de osteoconductivitate bună și de regenerare osoasă, hidroxiapatita este folosită ca înlocuitor al tesuturilor osoare și repararea dinților [1,6], iar datorită suprafeței sale poroase și calităților biodegradabile, aceasta este folosită în chimioterapie și tratament cu medicamente antibiotice [7]. Pentru a modifica caracteristicile hidroxiapatitei sintetice, aceasta poate fi substituită printr-o varietate de metode de sinteză și utilizând numeroși ioni de substituție. Cu toate acestea, multiple cercetări științifice au explicat că controlul și modificarea dimensiunii particulelor, morfologiei și topologiei ar putea fi mai eficientă decât tipul de utilizare a dopantului sau concentrația acestuia [8-16]. Unele investigații au arătat că nanoparticulele de fosfat de calciu ar putea fi dopate cu lantanide pentru a crea sonde fluorescente [17-19].

Revizuirea literaturii de specialitate prezentată în **Partea I a tezei (Analiza datelor din literatura de specialitate)** a evidențiat structura hidroxiapatitei naturale și sintetice și posibilitatea utilizării substituției anionice și cationice pentru îmbunătățirea proprietăților specifice. După cum este prezentat în **Capitolul 1**, în cercetarea științifică au fost utilizate diverse metode de sinteză și diverse surse de hidroxiapatită. Chiar dacă hidroxiapatita are o biocompatibilitate excelentă, aceasta devine bioactivă atunci când ioni de substituție sunt acceptați în celula sa unitară, astfel adaptându-se pentru a îndeplini cerințele specifice.

În **Capitolul 2** sunt prezentate posibilitățile de utilizare a lantanidelor ca agent de substituție al hidroxiapatitei datorită proprietăților fizico-chimice și imagistice distincte, contrastului și fotostabilității. Pentru a depăși dezavantajele biomaterialelor autentice, diferite elemente chimice precum Eu^{3+} , Gd^{3+} , La^{3+} , Ce^{3+} și Tb^{3+} , etc., au fost utilizate ca agenți de substituție pentru diferite tipuri de nanostructuri în vederea utilizării în domeniul bioimagisticii medicale.

În **Capitolul 3** al acestei teze a fost studiată influența a patru elemente din grupul pământurilor rare:

- a) Ce^{3+}/Ce^{4+} , un element comun, care este preferat ca substituent deoarece, pe lângă proprietățile luminescente, are și alte beneficii, precum biodegradabilitate și proprietăți antibacteriene.
- b) Eu^{3+} , care a obținut atenție în activitatea de cercetare deoarece prezintă toxicitate scăzută, fotostabilitate, stabilitate chimică și termică și randament cuantic de luminescență ridicat.
- c) Tb^{3+} , un activator utilizat pentru o varietate de composite, care folosește lungimi de undă de excitare cuprinse între 300 nm și 380 nm. Hidroxiapatita substituită cu Tb^{3+} are caracteristici spectrale superioare și biocompatibilitate, prin urmare poate fi utilizată ca etichetă biologică luminescentă.
- d) Er^{3+} , prezent în mod natural în coaste și poate fi utilizat în aplicații biomedicale netoxice, deși utilizarea acestui element în aplicații de bioimagine nu este studiată pe larg.

Chiar dacă numeroase studii publicate în acest domeniu s-au concentrat pe aplicațiile biomedicale ale materialelor pe bază de hidroxiapatită, utilizarea nanoparticulelor de hidroxiapatită ca nanosonde este mai puțin studiată, cel mai probabil din cauza provocărilor care pot apărea în procesul de sinteză. În cercetarea biomedicală modernă, există o nevoie urgentă de a obține nanomateriale biocompatibile adecvate, care să aibă potențialul de a înlocui materialele convenționale. **Partea a II-a – Contribuții originale** își propune să definească obiectivele acestei teze: sinteza și caracterizarea compozitelor pe baza de hidroxiapatite substituite cu pământuri rare și optimizarea proprietăților pentru îmbunătățirea proprietăților luminoase și biologice. Elementul de noutate al acestui studiu constă în dezvoltarea de noi materiale pe baza de hidroxiapatite dopate cu pământuri rare, obținute prin înlocuirea ionilor de Ca^{2+} din hidroxiapatita pură cu ioni de Ce^{3+}/Ce^{4+} , Er^{3+} , Eu^{3+} și Tb^{3+} pentru evaluarea ulterioară a proprietăților de fotoluminescență și utilizarea în imagistica medicală. După cum este prezentat în **Capitolul 5**, pentru a atinge obiectivele tezei, ionii dopanți au fost selectați cu atenție. În ciuda dovezilor că hidroxiapatita dopată cu pământuri rare poate fi utilizată cu succes în aplicații biomedicale, utilizarea sondelor luminescente nu este luată în considerare pe scară largă. Utilizarea compozitelor pe baza de

hidroxiapatita dopată cu erbiu este foarte puțin studiată în literatură, dar reprezintă un domeniu de interes pentru cercetările viitoare. Analizând literatura de specialitate, se poate observa că au fost publicate doar câteva rapoarte care demonstrează capacitatea compozitelor pe baza de hidroxiapatita dopată cu europiu de utilizare în bioimagistică și nanomedicină, iar scopul acestei teze este de a evalua utilizarea cu succes a ionilor Eu^{3+} pentru sonde luminescente. În plus, substituirea ionilor din structura hidroxiapatitei cu ioni de $\text{Ce}^{3+}/\text{Ce}^{4+}$ a atras mult interes în ultima perioadă, studiile fiind axate pe dezvoltarea materialelor cu proprietăți biologice. Această teză de doctorat urmărește să investigheze potențialele aplicații ale nanoparticulelor compozite ca agent de contrast pentru procedurile imagistice, cum ar fi RMN-urile și scanările CT.

Capitolul 5 este axat pe procesul de sinteză a biomaterialelor pe baza de hidroxiapatita și ioni de Er^{3+} , $\text{Ce}^{3+}/\text{Ce}^{4+}$, Eu^{3+} și Tb^{3+} prin metoda de precipitare pentru a obține sonde fotoluminescente pentru imagistica celulară. Structura $\text{Ca}_{10-x}\text{REEx}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ reprezintă adăugarea diferitelor concentrații de ioni de elemente de pământuri rare în structura hidroxiapatitei. Pentru a determina compoziția elementară ideală, concentrația ionilor a fost variată de la 0 la 1. În plus, au fost investigate diferențele și impactul tuturor ionilor de substituție asupra structurii cristaline, formei, dimensiunilor și caracteristicilor suprafeței hidroxiapatitei, precum și proprietățile de fotoluminescență ale tuturor probelor.

Proprietățile de luminescență ale hidroxiapatitei substituie cu europiu, ceriu, erbiu și terbiu au fost alese pentru a fi investigate în această teză, iar datele adunate de-a lungul activității de cercetare au demonstrat rezultate consistente.

Pentru a examina proprietățile morfologice, structurale și optice ale probelor obținute s-au utilizat următoarele metode de analiză: spectrometrie de masă cu plasmă cuplată inductiv (ICP-MS), spectrometrie în infraroșu cu transformată Fourier (FT-IR), microscopie electronică de baleiaj (SEM), microscopie electronică cu transmisie în câmp luminos (TEM), difracție de raze X (XRD) și UV-Vis și Spectroscopie de fotoluminescență (PL).

ICP-MS a fost folosit pentru a analiza ionii de pământuri rare din structura hidroxiapatitei. Rezultatele au arătat că fiecare ion de pământ rar era prezent în pulberile de HA dopate. Conținutul de ioni dopanți a crescut de la 0,05 la 1%.

Sinteza HA a fost verificată prin teste FTIR și prin difracție cu raze X. Rezultatele indică faptul că ionii de Er^{3+} , $\text{Ce}^{3+}/\text{Ce}^{4+}$, Eu^{3+} și Tb^{3+} au înlocuit cu succes ionii de calciu din structura cristalină a hidroxiapatitei. Spectrele FT-IR ale hidroxiapatitei substituie cu diferite concentrații de REE s-au dovedit a fi identice cu spectrele FT-IR ale HA pure, la momentul comparării spectrelor tuturor pulberilor de HA dopate cu elemente de pământ rare. Spre deosebire de Tb^{3+}/HA , pe măsură ce concentrația de REE crește la 0,25% procente molare Er^{3+} , $\text{Ce}^{3+}/\text{Ce}^{4+}$ și Eu^{3+} , rezistența benzilor de fosfat PO_4^{3-} scade. Reducerea cristalinității HA este asociată cu creșterea concentrației ionilor REE. Aceleași rezultate au fost obținute și în urma difracțiilor de raze X.

Dimensiunea medie a cristalitelor hidroxiapatitei pure a fost de 6,07 nm, cu toate acestea, pentru Er/HA , Eu/HA și Tb/HA , dimensiunea de cristalit a scăzut treptat odată cu creșterea concentrația de ioni de substituție. Analizând datele obținute, se poate evidenția faptul că adăugarea ionilor Er^{3+} în rețeaua HA duce la o creștere a dimensiunii cristalitelor de la 5,71 la 6,46 nm pentru o concentrație de 0,1 pentru ionii Er^{3+} . Dacă gradul de substituție crește până la 1, dimensiunea de cristalit scade la 4,74 nm. Valorilor parametrilor de rețea scad lent în cazul pulberilor de Eu/HA , odată cu creșterea conținutului de Eu^{3+} . Dimensiunile de cristalit ale Eu/HA scade de la 5,98 la 5,55 nm, în timp ce **micropata** crește de la 1,54% la 1,67%. O mică creștere a dimensiunii de cristalit a fost observată în cazul unui grad de substituție mai mare, urmată de o scădere. Aceeași tendință au fost observată și pentru pulberile de Tb/HA , unde dimensiunile cristalitelor au scăzut de la 5,72 la 4,83 nm, odată cu creșterea concentrației ionilor de Tb. Pentru Ce/HA pot fi evidențiate unele diferențe: (i) pentru un grad de substituție de 0,25 ioni de Ce^{3+} a apărut o creștere a mărimii cristalitelor; (ii) din cauza includerii ionilor de ceriu în rețeaua HA, cristalinitățile au scăzut pe măsură ce concentrația de ceriu a crescut.

Morfologiile hidroxiapatitei pure și hidroxiapatitei substituie cu ioni de pământuri rare obținute în urma efectuării microscopiei electronice de baleiaj au confirmat impactul ionilor dopanți în comparație cu HA pură. Forma sferică a particulelor și dimensiunea de la 5 la 9 nm sunt vizibile în imaginile SEM ale hidroxiapatitei pure. În cazul utilizării ionilor de europium și erbium, dimensiunea nanoparticulelor scade pe măsură ce concentrația de ioni dopanți crește. Dimensiunea de cristalit scade pe măsură ce concentrația ionilor crește și în cazul hidroxiapatitei dopate cu ceriu, cu o dimensiune mai mare a cristalitelor pentru ionii Ce(IV) comparativ cu ionii Ce(III) la aceeași

concentrație. În ceea ce privește imaginile SEM ale Tb/HA, s-au format mici aglomerări de particule odată cu creșterea conținutului de terbiu.

Imaginile HRTEM permit diferențierea particulelor bine cristalizate și măsurarea distanței față de indicii Miller care se potrivesc cu hidroxiapatita cu simetrie hexagonală. Rezultatele prezente indică faptul că gradul de substituție de 10% este limita maximă pentru ca ionii de terbiu să fie acceptați în rețeaua de hidroxiapatită.

Pentru toate probele, s-a observat o tendință tipică în cazul spectrelor de absorbție ale probelor de hidroxiapatită dopată cu REE – pe măsură ce cantitatea de ioni dopanți crește, intensitatea vârfurilor de absorbție tinde să crească, rezultând o absorbție UV puternică. Spectrele de fotoluminescență ale hidroxiapatitei substituie cu pământuri rare prezintă vârfuri mari de emisie fluorescentă, confirmând că proprietățile fotoluminescente au fost îmbunătățite odată cu utilizarea elementelor pământurilor rare.

Testul MTT a fost implementat pentru a evalua biocompatibilitatea globală a pulberilor de hidroxiapatită dopate cu pământuri rare folosind celule stem de lichid amniotic mezenchimal uman (AFSC). Testul GSH-Glo Glutathione a fost utilizat pentru a evalua stresul oxidativ, iar un microscop fluorescent și un fluorofor RED CMTPX, un instrument pentru monitorizarea celulelor vii de-a lungul timpului într-o singură celulă, au fost folosite pentru a evalua viabilitatea.

Testul MTT a demonstrat că, chiar și la concentrații mai mari și cu valori de absorbție apropiate, mai mici sau mai mari decât cele ale probei de control, nanoparticulele sintetizate nu au avut efecte dăunătoare. La 72 de ore, probele testate au sporit substanțial proliferarea celulară în raport cu martor, stimulând astfel metabolismul celular. În prezența hidroxiapatitei dopate cu REE, glutathionul, un marker al stresului oxidativ, poate reduce daunele celulare cauzate de radicalii liberi, peroxizi, metale grele și peroxizi lipidici. Celulele AFSC au prezentat un comportament similar cu cel al celulele de control în cazul probelor de hidroxiapatită dopate cu REE, demonstrând că probele nu generează stres celular, confirmând astfel rezultatele biochimice. Putem concluziona ca probele sintetizate ar putea fi utilizate ca antioxidanți pentru a preveni deteriorarea celulară cauzată de stresul oxidativ, precum și ca sonde fluorescente pentru imagistica celulară. Imaginile fluorescente au arătat că AFSC-urile au o morfologie normală, sunt viabile și nu au celule moarte sau fragmente.

Hidroxiapatita și derivatele sale au o semnificație substanțială în multe domenii ale științei. Datele prezentate oferă dovezi ale interesului continuu pentru utilizarea elementelor pământurilor rare pentru obținerea unor materiale cu proprietati biologice avansate.

Nanomaterialele sintetizate după cum a fost prezentate, alcătuite din hidroxiapatită dopată cu patru elemente de pământuri rare la concentrații diferite, arată o creștere a proprietăților fotoluminiscente odată cu creșterea concentrației ionilor dopanți, rezultând astfel candidați atractivi pentru dezvoltarea și utilizarea materialelor în imagistica sistemului biologic. Coroborarea proprietăților structurale, morfologice și optice cu evaluarea citotoxicității și a fluorescenței demonstrează că metoda de co-precipitare poate fi utilizată cu succes pentru a obține noi compozite pe baza de hidroxiapatită dopată cu diferite concentrații de ioni de pământuri rare (până la 1%), care pot servi ca nanomateriale promițătoare pentru aplicații medicale.

Lista de publicatii

Publicatii in reviste cotate ISI

1. **Paduraru Andrei**, Oprea, Ovidiu, Musuc Adina Magdalena, Vasile Bogdan, Iordache Florin, Andronescu Ecaterina, Influence of terbium ions and their concentration on the photoluminescence properties of hydroxyapatite for biomedical applications, *Nanomaterials*, 2021, no. 11, pp. 2442, DOI:0.3390/nano11092442 (**IF= 5.076**) – **Q1**
2. **Paduraru Andrei**, Musuc Adina Magdalena, Oprea Ovidiu, Trusca Roxana, Iordache Florin, Vasile Bogdan, Andronescu Ecaterina. Synthesis and characterization of photoluminescent ce(iii) and ce(iv) substituted hydroxyapatite nanomaterials by coprecipitation method: cytotoxicity and biocompatibility evaluation, *Nanomaterials*, 2021, no. 11, pp. 1911, DOI: 10.3390/nano11081911 (**IF= 5.076**) – **Q1**
3. **Andrei Viorel Paduraru**, Ovidiu Oprea, Adina Magdalena Musuc, Bogdan Stefan Vasile, Anton Ficai, Ecaterina Andronescu, Photoluminescent nanomaterials based on europium doped hydroxyapatite. *Romanian Journal of Materials* 2021, 51 (3), 353 – 360 (**IF= 0.628**)
4. Diana Georgiana Filip, Vasile Adrian Surdu, **Andrei Paduraru**, Ecaterina Andronescu. Current Development in Biomaterials—Hydroxyapatite and bioglass for applications in biomedical field: A Review. *Journal of Functional Biomaterials*, 2022.11. 13(4):248, DOI: 10.3390/jfb13040248 (**IF= 4.901**) – **Q2**
5. Ecaterina Andronescu, Daniela Predoi, Ionela Andreea Neacsu, **Andrei Viorel Paduraru**, Adina Magdalena Musuc, Roxana Trusca, Ovidiu Oprea, Eugenia Tansa, Otilia Ruxandra Vasile, Adrian Ionut Nicoara, Adrian Vasile Surdu, Florin Iordache, Alexandra Catalina Birca, Simona Liliana Iconaru, Bogdan Stefan Vasile, Photoluminescent Hydroxyapatite: Eu³⁺ Doping Effect on Biological Behaviour, *Nanomaterials*, 2019, 07. 9(9):1187, DOI: 10.3390/nano9091187 (**IF= 5.076**) – **Q1**

- 6. Andrei Paduraru**, Diana Georgiana Filip, Adina Magdalena Musuc, Ovidiu Cristian Oprea, Roxana Trusca, Vasile Adrian Surdu, Bogdan Stefan Vasile, Ecaterina Andronescu, Structural and morphological characterization of erbium doped hydroxyapatite for medical imaging, *Scientific Bulletin, Series B, Chemistry and Materials Science*, ISSN 1454-2331. **(IF= 0.35)**

Participari la conferinte

- 1. Paduraru Andrei**, Musuc Adina Magdalena, Oprea Ovidiu, Trusca Roxana, Vasile Bogdan, Andronescu Ecaterina. New cerium substituted hydroxyapatites for biological fluorescence labeling, *SICHEM 2020 Conference*, 17-18 September 2020, Bucharest, Romania
- 2. Paduraru Andrei**, Musuc Adina Magdalena, Oprea Ovidiu, Trusca Roxana, Vasile Bogdan, Andronescu Ecaterina. Hydroxyapatite dopped with cerium for medical imaging. *National Scientific Conference of Academy of Romanian Scientists (AOSR)*, 20-27 November 2020
- 3. Paduraru Andrei**, Musuc Adina Magdalena, Oprea Ovidiu, Trusca Roxana, Vasile Bogdan, Iordache Florin, Andronescu Ecaterina. Terbium-doped hydroxyapatite, *Scientific Conference of Academy of Romanian Scientists (AOSR)*, 25-26 June 2021

Bibliografie selectiva

- [1] B. Yilmaz, A. Z. Alshemary, Z. Evis, “Co-doped hydroxyapatites as potential materials for biomedical applications,” *Microchem. J.* 144, **2018**, pp. 443–453, 2019, doi: 10.1016/j.microc.2018.10.007.
- [2] A. Oryan, S. Alidadi, A. Moshiri, N. Maffulli, “Bone regenerative medicine: classic options, novel strategies, and future directions. Journal of orthopaedic surgery and research.,” *J. Orthop. Surg. Res.*, 9(1), pp. 1–27, **2014**, [Online]. Available: <https://josr-online.biomedcentral.com/track/pdf/10.1186/1749-799X-9-18>.
- [3] S. V. Dorozhkin, “Calcium orthophosphates: occurrence, properties, biomineralization, pathological calcification and biomimetic applications.,” *Biomatter* 1(2), pp. 121–164, **2011**, doi: 10.4161/biom.18790.
- [4] C. Zhang *et al.*, “Self-activated luminescent and mesoporous strontium hydroxyapatite nanorods for drug delivery,” *Biomaterials* 31(12), pp. 3374–3383, **2010**, doi: 10.1016/j.biomaterials.2010.01.044.
- [5] H. Liu *et al.*, “Biocompatible fluorescent hydroxyapatite: Synthesis and live cell imaging applications,” *J. Phys. Chem. C* 115(38), pp. 18538–18544, **2011**, doi: 10.1021/jp206843w.
- [6] S. W. Tsai, S. S. Huang, W. X. Yu, Y. W. Hsu, F. Y. Hsu, “Fabrication and characteristics of porous hydroxyapatite-CaO composite nanofibers for biomedical applications,” *Nanomaterials* 8(8), **2018**, doi: 10.3390/nano8080570.
- [7] M. Y. Ma, Y. J. Zhu, L. Li, S. W. Cao, “Nanostructured porous hollow ellipsoidal capsules of hydroxyapatite and calcium silicate: Preparation and application in drug delivery,” *J. Mater. Chem.* 18(23), pp. 2722–2727, **2008**, doi: 10.1039/b800389k.
- [8] A. Z. Alshemary, M. Akram, Y. F. Goh, M. R. Abdul Kadir, A. Abdolahi, R. Hussain, “Structural characterization, optical properties and in vitro bioactivity of mesoporous erbium-doped hydroxyapatite,” *J. Alloys Compd.* 645, pp. 478–486, **2015**, doi: 10.1016/j.jallcom.2015.05.064.
- [9] V. Uskoković, “Ion-doped hydroxyapatite: An impasse or the road to follow?,” *Ceram. Int.* 46(8), pp. 11443–11465, **2020**, doi: 10.1016/j.ceramint.2020.02.001.
- [10] M. Šupová, “Substituted hydroxyapatites for biomedical applications: A review,” *Ceram. Int.*, 41(8), pp. 9203–9231, **2015**, doi: 10.1016/j.ceramint.2015.03.316.
- [11] W. Y. Zhou, M. Wang, W. L. Cheung, B. C. Guo, D. M. Jia, “Synthesis of carbonated

- hydroxyapatite nanospheres through nanoemulsion,” *J. Mater. Sci. Mater. Med.* 19(1), pp. 103–110, **2008**, doi: 10.1007/s10856-007-3156-9.
- [12] E. Landi, A. Tampieri, G. Celotti, S. Sprio, “Densification behaviour and mechanisms of synthetic hydroxyapatites,” *J. Eur. Ceram. Soc.* 20(14–15), pp. 2377–2387, **2000**, doi: 10.1016/S0955-2219(00)00154-0.
- [13] O. Kaygili, S. Keser, T. Ates, F. Yakuphanoglu, “Synthesis and characterization of lithium calcium phosphate ceramics,” *Ceram. Int.* 39(7), pp. 7779–7785, **2013**, doi: 10.1016/j.ceramint.2013.03.037.
- [14] M. Li, X. Xiao, R. Liu, C. Chen, L. Huang, “Structural characterization of zinc-substituted hydroxyapatite prepared by hydrothermal method,” *J. Mater. Sci. Mater. Med.* 19(2), pp. 797–803, **2008**, doi: 10.1007/s10856-007-3213-4.
- [15] R. J. Chung, M. F. Hsieh, C. W. Huang, L. H. Perng, H. W. Wen, T. S. Chin, “Antimicrobial effects and human gingival biocompatibility of hydroxyapatite sol-gel coatings,” *J. Biomed. Mater. Res. - Part B Appl. Biomater.* 76, pp. 169–178, **2006**, doi: 10.1002/jbm.b.30365.
- [16] T. Tite, A.-C. Popa, L. M. Balescu, I. M. Bogdan, I. Pasuk, J. M.F. Ferreira, G. E. Stan, “Cationic substitutions in hydroxyapatite: Current status of the derived biofunctional effects and their in vitro interrogation methods,” *Materials (Basel)*. 11, pp. 1–62, **2018**, doi: 10.3390/ma11112081.
- [17] L. Li *et al.*, “Surface modification of hydroxyapatite nanocrystallite by a small amount of terbium provides a biocompatible fluorescent probe,” *J. Phys. Chem. C* 112(32), pp. 12219–12224, **2008**, doi: 10.1021/jp8026463.
- [18] J. Y. Chane-Ching, A. Lebugle, I. Rousselot, A. Pourpoint, F. Pellé, “Colloidal synthesis and characterization of monocrystalline apatite nanophosphors,” *J. Mater. Chem.* 17(28), pp. 2904–2913, **2007**, doi: 10.1039/b701194f.
- [19] R. J. Chung, “Study of hydroxyapatite nano composites with photoluminescence properties,” *Biomed. Eng. - Appl. Basis Commun.* 23(2), pp. 107–112, **2011**, doi: 10.4015/S1016237211002451.