

УДК 546.185

*Н.Ю. Струтинська, М.С. Слободяник, Ю.О. Тітов, Т.Ю. Слива***ОСОБЛИВОСТІ ГЕТЕРОВАЛЕНТНОГО ЗАМІЩЕННЯ В КАТІОННІЙ ТА АНІОННІЙ ПІДГРАТКАХ КАЛЬЦІЙ ФОСФАТУ АПАТИТОВОГО ТИПУ****Київський національний університет імені Тараса Шевченка, м. Київ, Україна**

Досліджено особливості комбінованого заміщення в аніонній ($\text{PO}_4^{3-} \rightarrow \text{CO}_3^{2-}$) та катіонній ($\text{Ca}^{2+} \rightarrow \text{M}^+$, $\text{M}^+ - \text{Na, K}$) підгратках кальцій фосфату апатитового типу в умовах співосадження. Встановлено, що для водних розчинів системи $\text{M}^+ - \text{Ca}^{2+} - \text{CO}_3^{2-} - \text{PO}_4^{3-} - \text{NO}_3^-$ в межах досліджених мольних співвідношень $\text{Ca}^{2+}/\text{PO}_4^{3-}=1,67$, $\text{CO}_3^{2-}/\text{PO}_4^{3-}=1,0$ та $\text{M}^+/\text{PO}_4^{3-}=3,0$ і $6,0$ при температурі 25°C характерним є формування наночасточок (10–35 нм) кальцій фосфатів апатитового типу. Дані ІЧ-спектроскопії, а саме положення коливальних мод карбонатних груп в частотних діапазонах $1500-1400 \text{ cm}^{-1}$ та $880-870 \text{ cm}^{-1}$ підтверджують реалізацію часткового заміщення $\text{PO}_4^{3-} \rightarrow \text{CO}_3^{2-}$ (Б типу). Результати елементного аналізу для синтезованих фаз свідчать, що присутність катіонів калію у вихідному розчині сприяє аніонному заміщенню в структурі кальцій фосфату апатитового типу. Дослідження активності синтезованих карбонатвмісних кальцій фосфатів *in vitro* виявило їх схильність до поступового розчинення без суттєвого впливу на рН середовища, що свідчить про перспективи використання синтезованих зразків в інженерії кісткової тканини.

Ключові слова: апатит, карбонат, співосадження, ІЧ-спектроскопія, скануюча електронна мікроскопія.

DOI: 10.32434/0321-4095-2021-135-2-126-131

Вступ

Хімічно модифіковані кальцій фосфати апатитового ($\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$) та вітлокітового ($\beta\text{-Ca}_3(\text{PO}_4)_2$) типу завдяки високій біосумісності, остеоіндуктивності та біорезорбції знаходять широке використання в кістковій інженерії, як замітники кісткової тканини, а також як носії лікарських препаратів [1–5].

Основними підходами щодо регулювання властивостей таких матеріалів є легування вихідної матриці домішковими допантами, а також її наповнення необхідними для життєдіяльності мікроелементами – натрієм, цинком, міддю, тощо [6]. Катіони натрію відіграють важливе значення у адгезії клітин, метаболізмі кісток, а також процесах резорбції [6]. Катіони Zn^{2+} сприяють росту кісток, уповільнюють їх резорбцію, а при використанні матеріалів на основі Zn -вмісних апатитів також виявляють антибактеріальну дію, що суттєво збільшує функціональність кісткових імплантатів [6,7]. При дефіциті Cu^{2+} в хондро- і остеобластах понижуються

активність ферментних систем і уповільнюється обмін білків, в результаті сповільнюється і порушується зростання кісткових тканин [6,8].

Особлива увага також приділяється синтезу матеріалів заданого гранулометричного складу. Все це вимагає пошуку оптимальних умов для одержання біологічно активних хімічнотимодифікованих кальцій фосфатів з розмірами частинок у нанодіапазоні. На сьогодні вже знайдено умови для одержання наночастинок, модифікованих катіонними та аніонними допантами: M^+ та CO_3^{2-} чи M^{2+} , CO_3^{2-} ($\text{M}^+ - \text{Na, K, M}^{2+} - \text{Cu, Zn}$) [7,9–11]. Показано, що склад вихідних розчинів, а саме співвідношення компонентів, значно впливають на характеристики одержаних зразків.

Метою даної роботи було встановити умови контрольованого легування карбонатвмісного кальцій фосфату катіонами натрію, а також впливу природи катіону лужного металу (натрію та калію) на закономірності комбінованого заміщення в катіонній і аніонній підграт-

ках кальцій фосфату апатитового типу. Оцінено також активність синтезованих фосфатів у буферних розчинах складу наближеного до біологічного середовища. Наночастинки складнозаміщених кальцій фосфатів були синтезовані та досліджені методами порошкової рентгенографії, ІЧ спектроскопії, скануючої електронної мікроскопії та елементним аналізом.

Методика експерименту

Формування модифікованих кальцій фосфатів досліджували в умовах співосадження з водних розчинів системи $M^+ - Ca^{2+} - CO_3^{2-} - PO_4^{3-} - NO_3^-$. Як вихідні компоненти використовували: $Ca(NO_3)_2 \cdot 4H_2O$, $(NH_4)_2HPO_4$, MNO_3 та M_2CO_3 ($M - Na, K$). Всі вихідні речовини були хімічно чисті («х.ч.»). Взаємодію в системі досліджували при фіксованих мольних співвідношеннях: $Ca^{2+}/PO_4^{3-}=1,67$, $CO_3^{2-}/PO_4^{3-}=1,0$ та змінних значеннях $M^+/PO_4^{3-}=3,0$ та $6,0$ при температурі $25^\circ C$. Розчин, що містив розраховані кількості $(NH_4)_2HPO_4$, та M_2CO_3 швидко додавали до розчину суміші $Ca(NO_3)_2 \cdot 4H_2O$ і MNO_3 ($M - Na, K$). Одержаний аморфний осад відділяли фільтруванням і промивали дистильованою водою до видалення розчинних солей. Синтезовані зразки висушували при температурі $100^\circ C$ (24 год). Після цього всі зразки нагрівали до $700^\circ C$ протягом години для подальшого дослідження їх фазового складу.

Фазовий склад синтезованих фосфатів визначали методом порошкової рентгенографії. Рентгенограми записували на дифрактометрі Shimadzu XRD-6000 з графітовим монохроматором, методом 2θ безперервного сканування зі швидкістю $1,2^\circ/хв$ в діапазоні $2\theta=5,0-70,0^\circ$. Ідентифікацію фаз здійснювали шляхом порівняння експериментальних дифрактограм синтезованих фаз з відповідними, які наведено в базі The International Centre for Diffraction Data (ICDD). Програму Fullprof використовували для обчислення параметрів елементарних комірок синтезованих фосфатів.

Присутність різних типів оксоаніонів в складі синтезованих фаз встановлювали методом ІЧ-спектроскопії. Спектри записували з використанням спектрометра «PerkinElmer Spectrum BX» для зразків запресованих у диски з КВг в діапазоні $400-4000\text{ см}^{-1}$.

Морфологію та форму частинок синтезованих фосфатів досліджували методом скануючої електронної мікроскопії (мікроскоп FEI Quanta 400 ESEM) при високому вакуумі після нанесення на поверхню зразків шару з Au:Pd.

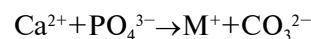
Елементний склад зразків встановлено ме-

тодами атомно-абсорбційної спектроскопії (ThermoElectron M-Series) та CHN аналізу (Elementar-Analysensysteme).

Для синтезованих зразків оцінено активність *in vitro*. Для цього наважку синтезованого фосфату (0,2 г) витримували в фосфатному буферному розчині (20 мл) при рН 7,4 та температурі $37^\circ C$ протягом 160 год, з періодичним контролем зміни рН. Буферний розчин містив хлориди натрію і калію, гідрофосфат натрію та дигідрофосфат калію, осмолярність і концентрації іонів в якому відповідали концентраціям в біологічному середовищі.

Результати та їх обговорення

В роботі в умовах співосадження з водного розчину досліджено особливості комбінованого заміщення в аніонній та катіонній підґратці структури кальцій фосфату апатитового типу за принципом:



При цьому змінювали кількість катіона лужного металу, внесеного у вихідний розчин у формі нітрату, змінюючи мольне співвідношення M^+/PO_4^{3-} (3,0 та 6,0). Мольне співвідношення $M^+/PO_4^{3-}=3,0$ є таким, як у ортофосфатах лужних металів M_3PO_4 ($M - Na, K$), що додатково дозволяє, базуючись на раніше опублікованих результатах [9,10], прослідкувати вплив форми вихідних речовин на особливості гетеровалентного катіонного заміщення в матриці кальцій фосфату апатитового типу.

За даними порошкової рентгенографії встановлено, що синтезовані фосфати є наноструктурованими, про що свідчать два широкі гало на їх дифрактограмах в діапазонах $2\theta=23-35^\circ$ (рис. 1). Нагрівання зразків до $700^\circ C$, приводить лише до незначного підвищення їх кристалічності, що відображається на розщепленні рефлексів з характерним їх набором для наночастинок апатитів. Порівняння значень розрахованих параметрів елементарних комірок для синтезованих фосфатів (табл. 1) з відповідними для оксиапатиту (PDF № 2 № 00-089-6495, $a=9,432\text{ \AA}$, $c=6,881\text{ \AA}$, просторова група P6) показало незначне зменшення параметра a , що може бути зумовлено заміщенням фосфат-аніону на карбонатну групу у аніонній підґратці.

Результати скануючої електронної мікроскопії показали, що частинки мають сферичну форму та характеризуються розміром в межах значень 15–25 нм (рис. 2). Аналіз кривих статистичного розподілу по розмірах наночастинок

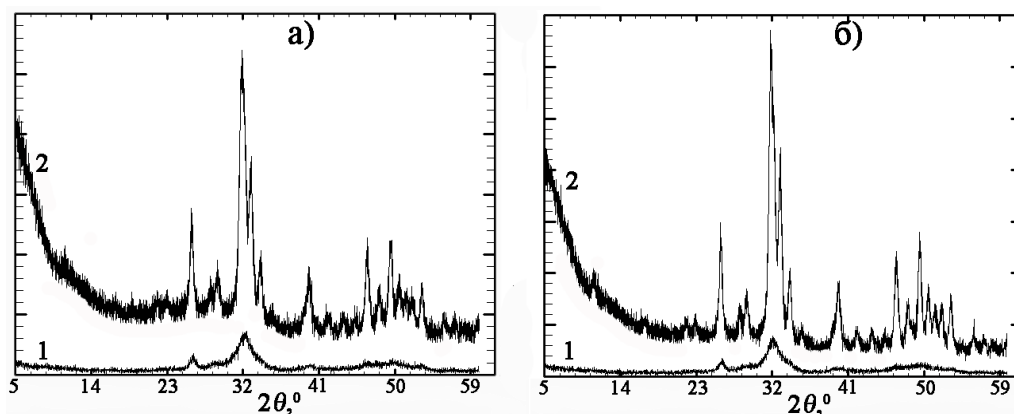


Рис. 1. Порошкові рентгенограми кальцій фосфатів, синтезованих у системах $M^+-Ca^{2+}-NO_3^- -CO_3^{2-}-PO_4^{3-}$ при $Ca/P=1,67$, $CO_3^{2-}/PO_4^{3-}=1,0$ та $M^+/P=3,0$, M^+ – Na (а) та К (б), висушених при $100^\circ C$ (крива 1) або нагрітих до $700^\circ C$ (крива 2)

Таблиця 1
Розраховані параметри елементарних комірок для карбонатомісних кальцій фосфатів одержаних у системі $M^+-Ca^{2+}-NO_3^- -CO_3^{2-}-PO_4^{3-}$

M ⁺ /P	Na		K	
	a, Å	c, Å	a, Å	c, Å
3,0	9,424(3)	6,888(2)	9,421(1)	6,890(2)
6,0	9,423(3)	6,889(2)	9,424(2)	6,889(1)

синтезованих з розчинів, що містили різні кількості катіонів натрію, не виявив впливу співвідношення компонентів у вихідному розчині на розміри частинок, висушених при тем-

пературі $100^\circ C$ (рис. 3). Однак встановлено вплив складу розчину на стійкість наночасточок до агрегації при їх нагріванні до $700^\circ C$. Так, для наночасточок, синтезованих з розчинів, що містили значну кількість лужного металу (мольне співвідношення $M^+/PO_4^{3-}=6,0$), відмічено вищу стійкість до агрегації зі збереженням розмірів у межах значень 25–40 нм (рис. 2).

ІЧ-спектри синтезованих зразків демонструють характеристичні моди фосфатних груп в апатитовій структурі у частотних діапазонах $560-600\text{ см}^{-1}$ (ν_4) та $1000-1100\text{ см}^{-1}$ (ν_1 та ν_3). Широкі смуги в діапазоні $3200-3600\text{ см}^{-1}$ відповідають коливанням адсорбованої води. Коливальні моди

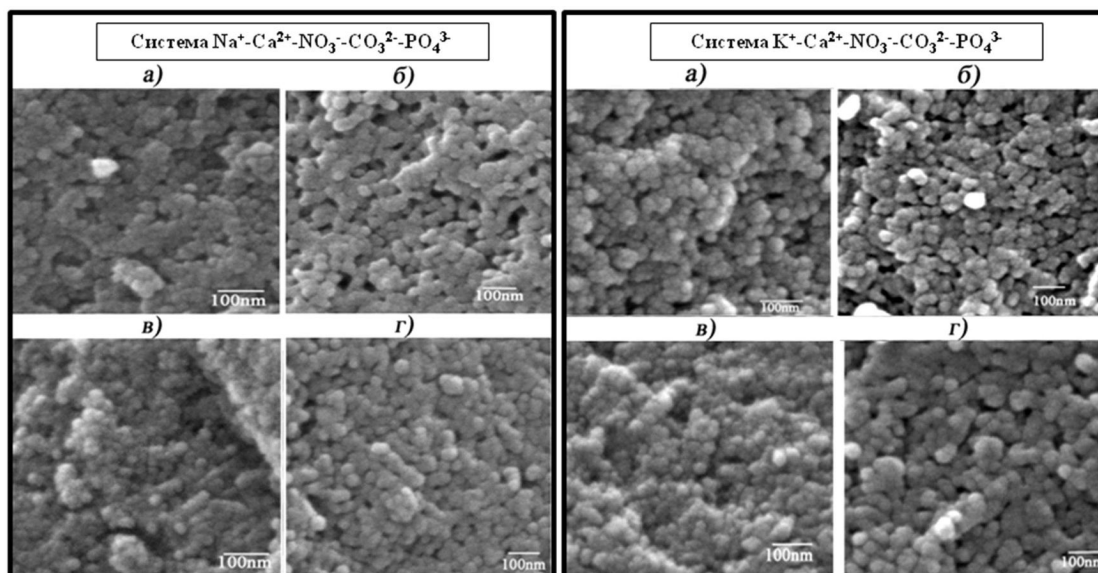


Рис. 2. Мікрофотографії наночасточок кальцій фосфатів, синтезованих у системах $M^+-Ca^{2+}-NO_3^- -CO_3^{2-}-PO_4^{3-}$ (M^+ – Na чи К) при $Ca/P=1,67$, $CO_3^{2-}/PO_4^{3-}=1,0$ та $M^+/P=3,0$ (а, б) та 6,0 (в, г), висушених при $100^\circ C$ (а, в) або нагрітих до $700^\circ C$ (б, г)

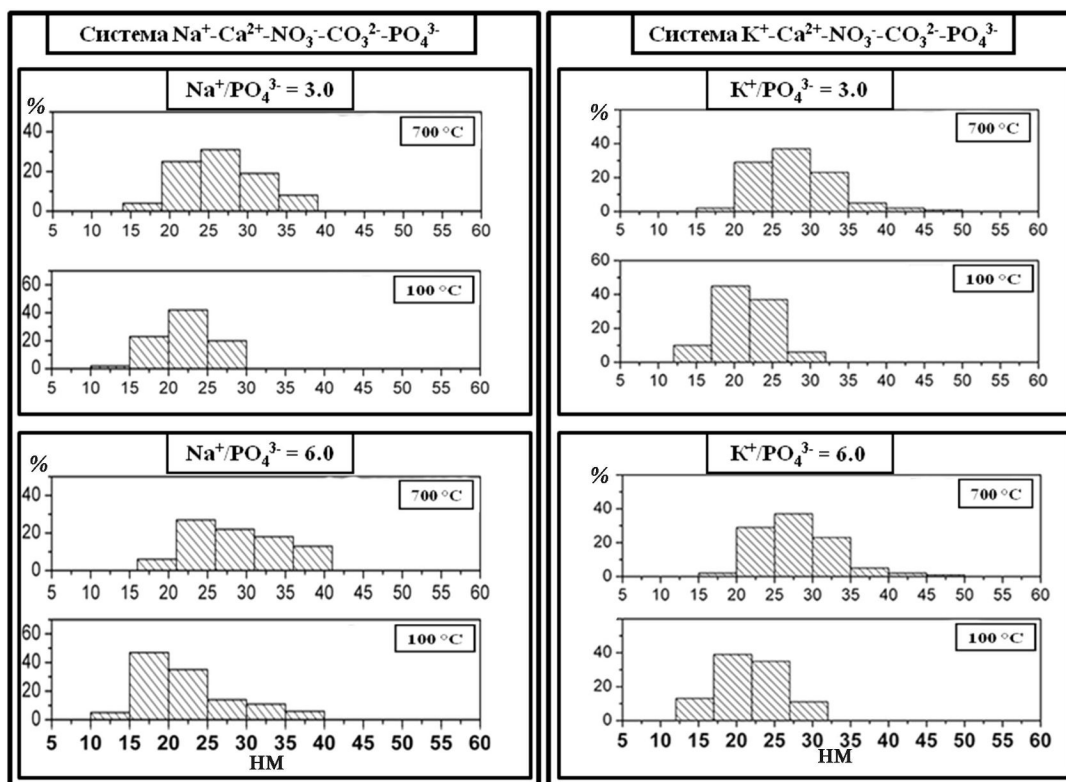


Рис. 3. Статистичний розподіл частинок по розмірах за даними СЕМ для наночасточок кальцій фосфатів, синтезованих у системах $M^+-Ca^{2+}-NO_3^--CO_3^{2-}-PO_4^{3-}$ (M' – Na або K)

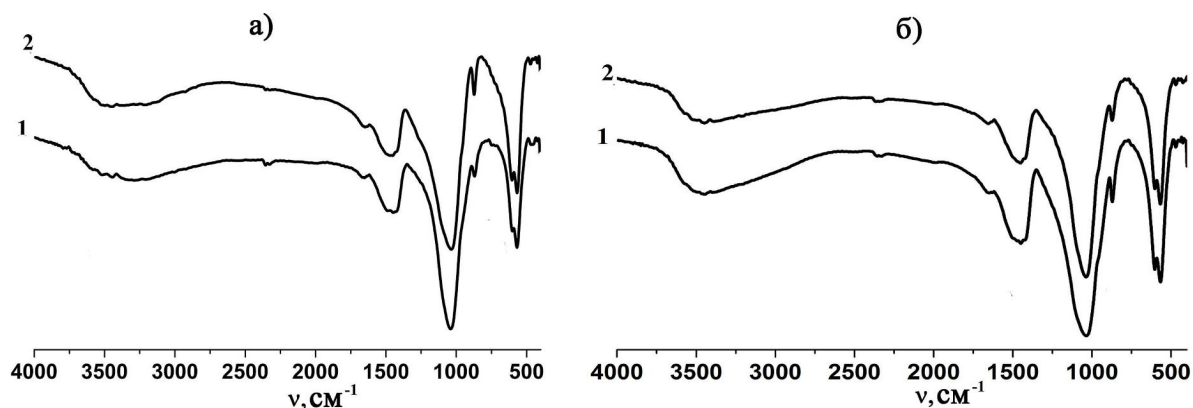


Рис. 4. ІЧ-спектри кальцій фосфатів, синтезованих у системі $M^+-Ca^{2+}-NO_3^--CO_3^{2-}-PO_4^{3-}$ (M' – Na (а) або K (б)) при $Ca/P=1,67$, $CO_3^{2-}/PO_4^{3-}=1,0$ та $M'/P=3,0$ (крива 1) та $6,0$ (крива 2)

карбонатних груп знаходяться на ділянках: $1500-1400\text{ см}^{-1}$ (ν_3) та $880-870\text{ см}^{-1}$ (ν_2), положення яких свідчить про реалізацію Б-типу заміщення в структурі кальцій фосфату апатитового типу. Відносна інтенсивність цих смуг для зразків, синтезованих у присутності катіонів калію, є вищою (рис. 4).

За даними елементного та CHN аналізу встановлено вміст кальцію і карбонату та вияв-

лено відсутність значної кількості катіонів лужних металів в складі синтезованих зразків (табл. 2). Одержані результати показали, що вміст карбонату у зразках, синтезованих у присутності катіонів калію, є вдвічі вищим у порівнянні зі зразками, синтезованими у натрієвмісних розчинах. В даному випадку прослідковується вплив катіонного складу вихідного розчину на ступінь аніонного заміщення в матриці кальцій фосфа-

Таблиця 2
**Результати елементного аналізу для зразків,
 синтезованих у розчинах системи
 $M^+ - Ca^{2+} - NO_3^- - CO_3^{2-} - PO_4^{3-}$**

Мольне співвідношення M ^I /P у вихідному розчині	Вміст, мас. %		
	Ca	M ^I	C
Система $Na^+ - Ca^{2+} - NO_3^- - CO_3^{2-} - PO_4^{3-}$			
3,0	39,50	<0,2	1,40
6,0	37,70	<0,2	1,33
Система $K^+ - Ca^{2+} - NO_3^- - CO_3^{2-} - PO_4^{3-}$			
3,0	39,80	<0,1	3,36
6,0	39,30	<0,1	3,16

ту в умовах співсаджень з водних розчинів.

Аналіз одержаних даних та їх порівняння з раніше опублікованими [9,10] показав, що використання ортофосфатів лужних металів як джерела фосфату та катіона лужного металу з мольним співвідношенням M/P=3,0 дозволяє синтезувати модифіковані кальцій фосфати, що містять у своєму складі суттєво більшу кількість катіона натрію (2,03 мас. % Na [9]), а вміст калію є незначним (0,4 мас. % K [10]). Слід також зазначити, що вміст карбонату в досліджених зразках та в зразках, описаних у попередніх публікаціях, є майже однаковим: 1,73 мас. % у Na-вмісному зразку [9] та 3,39 мас. % у K-вмісному [10]. Ці результати демонструють, що катіонному заміщенню кальцію атомами лужних металів сприяє використання фосфатів лужних металів, як вихідних речовин.

Для синтезованих карбонатвмісних кальцій фосфатів, що містять різні кількості карбонату, оцінено активність *in vitro*. Для цього наважку синтезованого фосфату (0,2 г) витримували в фосфатному буферному розчині (20 мл) при рН 7,4 та температурі 37°C протягом 160 год, з періодичним контролем зміни рН. Буферний розчин містив хлориди натрію і калію, гідрофосфат натрію та дигідрофосфат калію, осмолярність та концентрації іонів в якому відповідали концентраціям в організмі людини.

Встановлено, що для зразку, синтезованого у присутності катіонів натрію (1,33 мас. % C), вже після 8 год відбувається збільшення рН від 7,4 до 7,5, тоді як для зразку, що містив 3,36 мас. % вуглецю (синтезованого у присутності катіонів калію), відмічено різке збільшення рН до 8,01. Підвищення рН протягом перших 8 год свідчить про часткове розчинення поверхні зразків і вказує на високу активність фосфату, що може бути зумовлена більшим вмістом карбонату. Контроль значення рН середовища че-

рез однакові проміжки часу виявив поступове його підвищення, яке через 160 годин збільшилося на 6% (для зразку, що містив 1,33 мас. % C) та 12% (для зразку, що містив 3,36 мас. % C). Одержані результати свідчать про перспективи використання синтезованих CO_3^{2-} -вмісних кальцій фосфатів в інженерії кісткової тканини, що мають схильність до поступового розчинення та суттєво не впливають на рН середовища.

Отже, використання фосфатів лужних металів дозволяє синтезувати кальцій фосфати з вищим вмістом катіонів лужних металів. При внесенні лужних металів у вихідний розчин у вигляді нітрату лужного металу не реалізується катіонне заміщення, однак відмічено вплив природи лужного металу на ступінь заміщення в аніонній підґратці та підвищення стійкості частинок до агрегації зі збереженням нанорозмірів при їх нагріванні до 700°C.

Висновки

Досліджено особливості формування модифікованих кальцій фосфатів в умовах співсаджень з водних розчинів системи $M^+ - Ca^{2+} - CO_3^{2-} - PO_4^{3-} - NO_3^-$ за значень мольних співвідношень $Ca^{2+}/PO_4^{3-}=1,67$, $CO_3^{2-}/PO_4^{3-}=1,0$, $M^+/PO_4^{3-}=3,0$ та 6,0 при температурі 25°C. Встановлено формування наночастинок (10–35 нм) кальцій фосфатів з реалізацією гетеровалентного заміщення в аніонній підґратці $PO_4^{3-} \rightarrow CO_3^{2-}$ (Б типу) апатитового типу. Показано, що внесення калію у вихідний розчин у формі нітрату сприяє аніонному заміщенню (до 3,4 мас. % C) без суттєвої модифікації катіонного складу. Дослідження активності синтезованих карбонат-вмісних кальцій фосфатів *in vitro* виявило збільшення швидкості їх розчинення при підвищенні ступеня модифікації аніонної підґратки без значного впливу на рН середовища. Отримані результати вказують на перспективи розробки на основі синтезованих карбонатвмісних кальцій фосфатів біоматеріалів з необхідною швидкістю резорбції, що є важливим в процесах в інженерії кісткової тканини.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Dorozhkin S.V. Functionalized calcium orthophosphates (CaPO₄) and their biomedical applications // J. Mater. Chem. B. – 2019. – Vol.7. – P.7471-7489.
2. Calcium phosphate cements for bone engineering and their biological properties / Xu H.H.K., Wang P., Wang L., Bao C., Chen Q., Weir M.D., Chow L.C., Zhao L., Zhou X., Reynolds M.A. // Bone Res. – 2017. – Vol.5. – Article No. 17056.

3. *Bioactive* calcium phosphate materials and applications in bone regeneration / Jeong J., Kim J.H., Shim J.H., Hwang N.S., Heo C.Y. // *Biomater. Res.* – 2019. – Vol.23. – Article No. 4.

4. Lu J., Yu H., Chen C. Biological properties of calcium phosphate biomaterials for bone repair: a review // *RSC Adv.* – 2018. – Vol.8. – P.2015-2033.

5. *Controlled* release of tetracycline from biodegradable β -tricalcium phosphate composites / Luginbuehl V., Ruffieux K., Hess C., Reichardt D., Rechenberg B., Nuss K. // *J. Biomed. Mater. Res. B: Appl. Biomater.* – 2010. – Vol.92. – P.341-52.

6. Supova M. Substituted hydroxyapatites for biomedical applications: a review // *Ceram. Int.* – 2015. – Vol.41. – P.9203-9231.

7. *New* nanostructured apatite-type ($\text{Na}^+, \text{Zn}^{2+}, \text{CO}_3^{2-}$)-doped calcium phosphates: preparation, mechanical properties and antibacterial activity / Strutynska N., Livitska O., Prylutska S., Yumyna Y., Zelena P., Skivka L., Malysenko A., Vovchenko L., Strelchuk V., Prylutsky Y., Slobodyanik N., Ritter U. // *J. Mol. Struct.* – 2020. – Vol.1222. – Article No. 128932.

8. Shanmugam S., Gopal B. Copper substituted hydroxyapatite and fluorapatite: synthesis, characterization and antimicrobial properties // *Ceram. Int.* – 2014. – Vol.40. – P.15655-15662.

9. *Preparation*, characterization, and thermal transformation of poorly crystalline sodium- and carbonate-substituted calcium phosphate / Strutynska N., Zatoovsky I., Slobodyanik N., Malysenko A., Prylutsky Y., Prymak O., Vorona I., Ishchenko S., Baran N., Byeda A., Mischanchuk A. // *Eur. J. Inorg. Chem.* – 2015. – P.622-629.

10. *Synthesis*, characterization and EPR investigation of γ -induced defects of nanoparticles of ($\text{M}^I, \text{CO}_3^{2-}$)-containing apatites ($\text{M}^I - \text{Na}, \text{K}$) / Strutynska N., Slobodyanik N., Malysenko A., Zatoovsky I., Vorona I., Prylutsky Y., Prymak O., Baran N., Ishchenko S., Nosenko V. // *Solid State Phenom.* – 2015. – Vol.230. – P.133-139.

11. *Copper(II)*, zinc(II) and copper(II)/zinc(II)-containing carbonate-substituted hydroxyapatite: synthesis, characterization and thermal behaviour / Livitska O., Strutynska N., Zatoovsky I., Nikolenko I., Slobodyanik N., Prylutsky Y., Epple M., Prymak O., Byeda A. // *Mat.-Wiss. u. Werkstofftech.* – 2016. – Vol.47. – P.85-91.

Надійшла до редакції 31.12.2020

THE FEATURES OF ALIOVALENT SUBSTITUTION IN ANIONIC AND CATIONIC SUBLATTICES OF APATITE-RELATED CALCIUM PHOSPHATE

N.Yu. Strutynska*, M.S. Slobodyanik, Y.O. Titov, T.Yu. Sliva
Taras Shevchenko National University of Kyiv, Kyiv, Ukraine
* e-mail: Strutynska_N@bigmir.net

We investigated the features of complex substitution in anionic ($\text{PO}_4^{3-} \rightarrow \text{CO}_3^{2-}$) and cationic ($\text{Ca}^{2+} \rightarrow \text{M}^+$, $\text{M}^+ - \text{Na}, \text{K}$) sublattices of apatite-type calcium phosphate during wet precipitation. The nanoparticles (10–35 nm) of apatite-related

calcium phosphates were prepared from the aqueous solutions of the system $\text{M}^+ - \text{Ca}^{2+} - \text{CO}_3^{2-} - \text{PO}_4^{3-} - \text{NO}_3^-$ at determined molar ratios $\text{Ca}^{2+}/\text{PO}_4^{3-} = 1.67$, $\text{CO}_3^{2-}/\text{PO}_4^{3-} = 1.0$ and $\text{M}^+/\text{PO}_4^{3-} = 3.0$ and 6.0 at the temperature of 25°C. The positions of characteristic vibrations of carbonate groups in the FTIR spectra of the prepared samples in the regions of 1500–1400 cm^{-1} and 880–870 cm^{-1} confirmed the realization of partial substitution of PO_4^{3-} by CO_3^{2-} (B-type) in apatite-type structure. Results of elemental analysis indicated that the presence of potassium cations in the initial solution promoted the anionic substitution in calcium phosphate structure. The study of the activity of the synthesized carbonate-containing calcium phosphates *in vitro* revealed their tendency to gradual dissolution without a significant effect on the pH of the medium, which indicates the prospects of the synthesized samples in bone engineering.

Keywords: apatite; carbonate; co-precipitation; FTIR spectroscopy; scanning electron microscopy.

REFERENCES

1. Dorozhkin SV. Functionalized calcium orthophosphates (CaPO_4) and their biomedical applications. *J Mater Chem B.* 2019; 7: 7471-7489. doi: 10.1039/C9TB01976F.

2. Xu H, Wang P, Wang L, Bao C, Chen Q, Weir MD, et al. Calcium phosphate cements for bone engineering and their biological properties. *Bone Res.* 2017; 5: 17056. doi: 10.1038/boneres.2017.56.

3. Jeong J, Kim JH, Shim JH, Hwang NS, Heo CY. Bioactive calcium phosphate materials and applications in bone regeneration. *Biomater Res.* 2019; 23: 4. doi: 10.1186/s40824-018-0149-3.

4. Lu J, Yu H, Chen C. Biological properties of calcium phosphate biomaterials for bone repair: a review. *RSC Adv.* 2018; 8: 2015-2033. doi: 10.1039/C7RA11278E.

5. Luginbuehl V, Ruffieux K, Hess C, Reichardt D, von Rechenberg B, Nuss K. Controlled release of tetracycline from biodegradable β -tricalcium phosphate composites. *J Biomed Mater Res B.* 2010; 92: 341-352. doi: 10.1002/jbm.b.31520.

6. Supova M. Substituted hydroxyapatites for biomedical applications: a review. *Ceram Int.* 2015; 41: 9203-9231. doi: 10.1016/j.ceramint.2015.03.316.

7. Strutynska N, Livitska O, Prylutska S, Yumyna Y, Zelena P, Skivka L, et al. New nanostructured apatite-type ($\text{Na}^+, \text{Zn}^{2+}, \text{CO}_3^{2-}$)-doped calcium phosphates: preparation, mechanical properties and antibacterial activity. *J Mol Struct.* 2020; 1222: 128932. doi: 10.1016/j.molstruc.2020.128932.

8. Shanmugam S, Gopal B. Copper substituted hydroxyapatite and fluorapatite: synthesis, characterization and antimicrobial properties. *Ceram Int.* 2014; 40: 15655-15662. doi: 10.1016/j.ceramint.2014.07.086.

9. Strutynska N, Zatoovsky I, Slobodyanik N, Malysenko A, Prylutsky Y, Prymak O, et al. Preparation, characterization, and thermal transformation of poorly crystalline sodium- and carbonate-substituted calcium phosphate. *Eur J Inorg Chem.* 2015; 622-629. doi: 10.1002/ejic.201402761.

10. Strutynska N, Slobodyanik N, Malysenko A, Zatoovsky I, Vorona I, Prylutsky Y, et al. Synthesis, characterization and EPR investigation of γ -induced defects of nanoparticles of (M^I, CO_3)-containing apatites ($\text{M}^I - \text{Na}, \text{K}$). *Solid State Phenom.* 2015; 230: 133-139. doi: 10.4028/www.scientific.net/ssp.230.133.

11. Livitska O, Strutynska N, Zatoovsky I, Nikolenko I, Slobodyanik N, Prylutsky Y, et al. Copper(II), zinc(II) and copper(II)/zinc(II)-containing carbonate-substituted hydroxyapatite: synthesis, characterization and thermal behavior. *Materialwiss Werkstofftech.* 2016; 47: 85-91. doi: 10.1002/mawe.201600460.