



Universitatea Babeş-Bolyai din Cluj-Napoca  
Centrul de Cercetare Științifică în Chimie Fizică  
Facultatea de Chimie și Inginerie Chimică

## REZUMATUL TEZEI DE DOCTORAT

# BIOMATERIALE AVANSATE BAZATE PE HIDROXIAPATITĂ MULTISUBSTITUITĂ CU APLICAȚII MEDICALE

**Conducător științific:**

Prof. Univ. Dr. Maria Tomoaia-Cotișel

**Doctorand:**

Medic Dentist, Alexandra-Diana Florea (căs. Dobrotă)

Cluj-Napoca,

2023

## CUPRINS TEZĂ

<b>PREZENTAREA GENERALĂ A TEZEI DE DOCTORAT .....</b>	<b>7</b>
<b>INTRODUCERE: STADIUL ACTUAL AL CUNOAȘTERII ÎN MEDICINA DENTARĂ .....</b>	<b>13</b>
<b>1. Caracterizarea smalțului dentar .....</b>	<b>14</b>
<b>2. Formarea smalțului dentar (amelogeneza) .....</b>	<b>15</b>
<b>3. Demineralizarea smalțului dentar .....</b>	<b>16</b>
<b>4. Biomineralizarea smalțului dentar .....</b>	<b>18</b>
<b>5. Remineralizarea smalțului dentar .....</b>	<b>19</b>
<b>6. Biomateriale: hidroxiapatita biomimetică .....</b>	<b>21</b>
<b>7. Paste de dinți care conțin hidroxiapatită .....</b>	<b>23</b>
<b>8. Bibliografie .....</b>	<b>25</b>
<b>CAPITOLUL 1. TENDINȚE ACTUALE ÎN TEHNOLOGIILE DE ÎNGRIJIRE ORALĂ .....</b>	<b>33</b>
<b>Rezumat .....</b>	<b>33</b>
<b>1. Introducere .....</b>	<b>33</b>
<b>2. Materiale și metode de lucru .....</b>	<b>34</b>
<b>3. Rezultate și discuții .....</b>	<b>35</b>
3.1 Noi tehnologii aplicate în fabricarea periilor de dinți .....	35
<b>4. Nanotehnologii și aplicații în stomatologie .....</b>	<b>39</b>
4.1. Formulări avansate de produse de îngrijire orală .....	40
4.2. Tehnologia antimicrobiană .....	41
<b>5. Tratamente orale de re-mineralizare și desensibilizare .....</b>	<b>42</b>
<b>6. Tehnologii de albire a dinților .....</b>	<b>44</b>
<b>7. Perspective în tehnologiile de îngrijire orală .....</b>	<b>45</b>
<b>Concluzii .....</b>	<b>47</b>
<b>Bibliografie .....</b>	<b>48</b>
<b>CAPITOLUL 2. UTILIZAREA EXTRACTELOR DIN SPECII DE <i>BETULA</i> ÎN ÎNGRIJIREA ORALĂ TERAPEUTICĂ ȘI PREVENTIVĂ .....</b>	<b>55</b>
<b>Rezumat</b>	<b>55</b>

1. Introducere .....	56
2. Metaboliții secundari din genul <i>Betula</i> .....	57
3. Utilizarea compușilor activi ai genului <i>Betula</i> în managementul sănătății orale .....	59
4. Perspective de cercetare .....	66
5. Bibliografie .....	67
<b>CAPITOLUL 3. HIDROXIAPATITE MULTISUBSTITUITE: ELIBERAREA DE IONI IN APĂ SI LICHID CORPORAL SIMULAT (SBF).....</b>	<b>73</b>
Bibliografie .....	74
<b>CAPITOLUL 4. REMINERALIZAREA SMALȚULUI DENTAR CU NANOPARTICULE DE HIDROXIAPATITĂ: UN STUDIU <i>IN VITRO</i> .....</b>	<b>75</b>
Rezumat .....	75
1. Introducere .....	76
2. Rezultate și discuții .....	78
3. Concluzii .....	85
4. Direcții viitoare de cercetare.....	85
5. Secțiunea experimentală.....	86
5.1. Materiale .....	86
5.2. Prepararea pastelor de dinți.....	86
5.3. Protocolul pentru obținerea feliilor de smalț dentar.....	86
5.4. Date statistice .....	87
6. Bibliografie .....	88
<b>CAPITOLUL 5. MECANISME DE SINTETIZĂ A NANOPARTICULELOR DE FORSTERIT BAZATE PE ABORDĂRI TERMODINAMICE .....</b>	<b>91</b>
Rezumat .....	91
1. Introducere .....	91
2. Rezultate și discuții .....	93
2.1. Difractia cu raze X pe pulbere .....	98
2.2. Microscopia de forță atomică.....	99
3. Concluzii .....	101

<b>4. Secțiunea experimentală</b> .....	<b>102</b>
4.1. Sinteza forsteritului .....	102
4.2. Metode de analiză .....	102
<b>5. Bibliografie</b> .....	<b>103</b>
<b>CAPITOLUL 6. REMINERALIZAREA INDUSĂ DE PASTELE DE DINȚI CU HIDROXIAPATITĂ BIOMIMETICĂ ASUPRA SMALȚULUI UMAN</b> .....	<b>107</b>
<b>Rezumat</b> .....	<b>107</b>
<b>1. Introducere</b> .....	<b>107</b>
<b>2. Materiale si metode</b> .....	<b>110</b>
2.1. Materiale .....	110
2.2. Sinteza celor 4 HAP-uri utilizate în pastele de dinți .....	111
2.3. Pregătirea pastelor de dinți .....	111
2.4. Protocolul de studiu pentru obținerea feliilor de smalț .....	112
2.5. Tratatamentul smalțului cu pastă de dinți .....	113
<b>3. Metode</b> .....	<b>113</b>
<b>4. Rezultate</b> .....	<b>114</b>
<b>5. Discuții</b> .....	<b>123</b>
<b>6. Concluzii</b> .....	<b>126</b>
<b>7. Bibliografie</b> .....	<b>127</b>
<b>CAPITOLUL 7. ÎMBUNĂȚĂȚIREA REMINERALIZĂRII SMALȚULUI: PASTE DE DINȚI NOI CU HIDROXIAPATITĂ SUBSTITUITĂ PENTRU SĂNĂTATEA DENTARĂ</b> .....	<b>133</b>
<b>Rezumat</b> .....	<b>133</b>
<b>1. Introducere</b> .....	<b>133</b>
<b>2. Rezultate</b> .....	<b>135</b>
2.1. Distribuția dimensiunii particulelor de nanopulbere de HAP .....	135
2.2. Vâscozitatea pastelor de dinți experimentale .....	138
2.3. Procesul de remineralizare la scară nanometrică .....	139
<b>3. Discuții</b> .....	<b>148</b>

<b>4. Materiale și Metode .....</b>	<b>154</b>
4.1. Materiale .....	154
4.2. Sinteza hidroxiapatitei.....	154
4.3. Sinteza pastelor de dinți .....	155
4.4. Pregătirea probelor de smalț și protocolul de tratament.....	155
4.5. Metode de analiză .....	156
4.6. Analiza statistică .....	157
<b>5. Concluzii .....</b>	<b>157</b>
<b>6. Bibliografie .....</b>	<b>159</b>
<b>CAPITOLUL 8. PROGRESSE ÎN FORMULAREA PASTELOR DE DINȚI FUNCȚIONALE: NANO-HIDROXIAPATITA ȘI EXTRACTUL DE MESTEACĂN.....</b>	<b>167</b>
<b>Rezumat: .....</b>	<b>167</b>
<b>1. Introducere .....</b>	<b>168</b>
<b>2. Materiale și Metode .....</b>	<b>172</b>
2.1. Sinteza nHAP .....	172
2.2. Proiectarea și dezvoltarea pastelor de dinți.....	173
2.3. Pregătirea pastelor de dinți.....	175
2.4. Protocol pentru obținerea feliilor de smalț.....	175
2.5. Tratatamentul smalțului cu pastă de dinți .....	176
2.6. Investigații AFM .....	176
2.7. Evaluarea activității antibacteriene .....	177
2.8. Analiza statistică .....	177
<b>3. Rezultate .....</b>	<b>178</b>
3.1. Microstructura probelor testate .....	178
3.2. Evaluarea activității antibacteriene .....	181
<b>4. Discuții .....</b>	<b>187</b>
<b>5. Concluzii .....</b>	<b>190</b>

<b>6. Bibliografie .....</b>	<b>191</b>
<b>CAPITOLUL 9. NANOCOMPOZIT PE BAZĂ DE HIDROXIAPATITĂ ȘI ARGINT CU ACTIVITATE ANTIBACTERIANĂ.....</b>	<b>197</b>
<b>Rezumat .....</b>	<b>197</b>
<b>1. Introducere .....</b>	<b>197</b>
<b>2. Rezultate și discuții .....</b>	<b>199</b>
2.1. Caracterizarea AgNPs .....	199
2.2. Caracterizarea compozitului HAP-4.5% Ag .....	199
2.3. Efectul antimicrobian .....	202
<b>3. Concluzii .....</b>	<b>202</b>
<b>4. Secțiunea experimentală.....</b>	<b>203</b>
4.1. Materiale și metode.....	203
4.2. Pregătirea probelor de HAP-Ag .....	203
4.3. Metode de caracterizare .....	204
4.4. Teste antibacteriene.....	205
<b>5. Bibliografie .....</b>	<b>206</b>
<b>CAPITOLUL 10. CONCLUZII GENERALE .....</b>	<b>209</b>
<b>CAPITOLUL 11. ACTIVITATEA DE CERCETARE ȘTIINȚIFICĂ .....</b>	<b>213</b>
<b>1. LISTĂ ARTICOLE PUBLICATE.....</b>	<b>213</b>
<b>2. LISTĂ PARTICIPARE CONFERINȚE ȘTIINȚIFICE.....</b>	<b>214</b>
<b>3. LISTĂ PROIECTE DE CERCETARE.....</b>	<b>217</b>
<b>MULȚUMIRI.....</b>	<b>219</b>

**CUVINTE CHEIE: nano-hidroxiapatită biomimetică, remineralizare, AFM, eliberare de ioni, hidroxiapatită multi-substituită, paste de dinți, forsterit, efect antibacterian**

## INTRODUCERE

Scopul acestei teze de doctorat este acela de a investiga proprietățile fizico-chimice și biologice ale unor biomateriale avansate cu aplicații medicale bazate pe hidroxiapatite pure și substituie, obținute în cadrul Centrului de Cercetare Științifică în Chimie Fizică, CECHIF, respectiv HAP-5%Zn, HAP-0,23%Mg-3,09%Zn-2%Si-10%Sr și HAP-2,5%Mg-2,9%Si-1,34%Zn). Conducător științific Profesor Universitar Dr. Maria Tomoaia-Cotisel: Fondatorul (2006) și Directorul (2006-prezent) Centrului CECHIF, din Universitatea Babeș-Bolyai, Cluj-Napoca.

Pentru realizarea scopului propus au fost abordate aspecte multiple conform unui design polifactorial complex a căror rezultate se regăsesc în articolele publicate sau în curs de publicare care vor fi prezentate în continuare.

Astfel, **Capitolele 1 și 2** fac o prezentare detaliată a unor aspecte teoretice legate de stadiul actual al cunoașterii în tehnologiile aplicate în îngrijirea orală și a conținutului în metaboliți secundari conținuți în genul *Betula* care au numeroase utilizări în produsele de îngrijire orală.

**Capitolul 3** prezintă aspecte privind hidroxiapatita pură (HAP) și trei hidroxiapatite multisubstituie, care contin Mg, Zn, Sr și Si, preparate printr-o metodă de precipitare și care au fost caracterizate prin tehnici diverse. Structura cristalină a hidroxiapatitei a fost confirmată atât prin analiza cu raze X (XRD), cât și prin spectroscopia FTIR. Structura chimică a fost verificată prin microscopie electronică (SEM-EDX). Detaliile legate de forma acestor materiale biocompatibile au fost evidențiate prin tehnici de imagistică, cum ar fi microscopia electronică de transmisie (TEM), microscopia electronică de scanare (SEM) și microscopia de forță atomică (AFM). Procesul de eliberare a elementelor în apă și într-un mediu simulat asemănător fluidului corporal (SBF) a fost monitorizat pe parcursul a 90 de zile, folosind spectrometria de emisie optică cu plasmă cuplată inductiv (ICP-OES).

**Capitolul 4** prezintă rezultatele unui experiment în cadrul căruia au fost dezvoltate două tipuri de paste de dinți, una cu nano-HAP și cealaltă cu hidroxiapatită multi-substituită (HAP-Mg-Zn-Si) de dimensiuni nano, care au fost utilizate pentru tratarea suprafeței demineralizate artificial a smalțului dentar. Morfologia și rugozitatea suprafeței tuturor eșantioanelor de smalț au fost studiate prin microscopie de forță atomică (AFM) înainte și după aplicarea tratamentului cu paste de dinți. Efectul pastelor de dinți a fost evidențiat prin diametrul mediu al nanoparticulelor ceramice depuse în stratul superficial neted de pe suprafața smalțului, având, la încheierea tratamentului de 10 zile, o rugozitate superficială redusă apropiată de cea a smalțului natural.

**Capitolul 5** prezintă rezultatele unor experimente realizate cu forsterit (FS, Mg<sub>2</sub>SiO<sub>4</sub>) care este un candidat promițător pentru aplicații ortopedice și dentare. Acest capitol studiază două metode de sinteză a forsteritului, și anume metoda sol-gel (FSsg) și de precipitare (FSpp), pe baza

unei abordări termodinamice. Gelul precursor și precipitatul au fost analizate prin analiză termogravimetrică (TG), analiză termogravimetrică diferențială (DTG) și calorimetrie diferențială cu scanare (DSC). Pulberile de FSsg și FSpp a fost caracterizate prin difracție de raze X (XRD) și microscopie de forță atomică (AFM). XRD relevă faptul că forsteritul sintetizat are o cristalinitate ridicată.

În **Capitolul 6** sunt prezentate rezultatele unor experimente în care au fost preparate patru paste de dinți noi pe bază de nano-hidroxiapatită biomimetică, cu o concentrație redusă (3,7%). Caracterizările prin difracție de raze X (XRD) și spectroscopie cu transformată Fourier în infraroșu (FTIR) au relevat dimensiuni ale cristalelor între 28 și 33 nm și o cristalinitate între 28 și 36%. Scopul acestui studiu a fost de a compara efectul acestor paste de dinți asupra remineralizării smalțului uman, care a fost demineralizat artificial prin imersie într-o soluție de acid fosforic. Experimentul s-a desfășurat timp de zece zile. Suprafețele smalțului dentar au fost analizate prin imagini AFM și a fost determinată rugozitatea suprafeței înainte și după tratament. Dimensiunea medie a particulelor de hidroxiapatită a fost între 30 și 40 nm. Rugozitatea suprafeței feliilor de smalț a fost investigată prin testul ANOVA one way și testul de comparație multiplă Bonferroni. Particulele nanométrice (cu o dimensiune medie de aproximativ 30 nm pentru HAP) au prezentat un potențial mare în procesul de remineralizare prin acoperirea regiunilor cu leziuni ale smalțului.

**Capitolul 7** prezintă rezultatele unui studiu în care au fost concepute 4 formule de pastă de dinți conținând 4 tipuri diferite de hidroxiapatită sintetică (1 hidroxiapatită pură și 3 tipuri de hidroxiapatită substituită, respectiv HAP-5%Zn, HAP-0,23%Mg-3,09%Zn-2%Si-10%Sr și HAP-2,5%Mg- 2,9%Si -1,34%Zn). Experimentul s-a desfășurat pe o perioadă de 30 de zile și probele au fost analizate la intervale de 10 zile. Cu ajutorul tehnicilor de microscopie de forță atomică (AFM), s-a efectuat o investigație complexă care combină aspectele morfo-structurale și calitatea suprafeței. Imaginile topografice, profilele tridimensionale și capacitatea nanoparticulelor de hidroxiapatită de a forma filme subțiri auto-asamblate dezvăluie proprietăți excelente de restaurare ale pastelor de dinți testate, cu normalizarea nanostructurii producându-se în doar 10 zile de tratament. La sfârșitul perioadei de tratament de 30 de zile, toate cele patru paste de dinți experimentale au dus la o remineralizare completă a smalțului artificial demineralizat. Acesta este un aspect cheie de luat în considerare pentru studiile viitoare. AFM s-a dovedit a fi o tehnică eficientă pentru investigarea procesului de remineralizare a smalțului uman, atât în ceea ce privește modificările morfologice și structurale, cât și măsurătorile rugozității suprafeței.

**Capitolul 8** prezintă un studiu care are ca scop dezvoltarea de formule de pastă de dinți cu efecte combinate de remineralizare și antibacteriene, folosind ca biomateriale nano-hidroxiapatita (nHAP) și extractul de mesteacăn. Au fost proiectate unsprezece tipuri de paste de dinți conținând diferite concentrații de extract de mesteacăn și nHAP pur și substituit (HAP-5%Zn, HAP-0,23%Mg-3,09%Zn-2%Si-10%Sr și HAP-2,5%Mg-2,9%Si-1,34%Zn). Pentru a evalua eficacitatea, au fost efectuate teste in vitro pe feliile de smalț demineralizat, analizând repararea suprafeței de smalț prin tehnici de microscopie de forță atomică (AFM). Activitatea antibacteriană a fost testată împotriva tulpinilor bacteriene de *Enterococcus faecalis*, *Escherichia coli*, *Porphyromonas gingivalis*, *Streptococcus mutans* și *Staphylococcus aureus*. Rezultatele au



evidențiat îmbunătățiri ale microstructurii smalțului datorate tratamentului cu pastă de dinți și eficacitatea antibacteriană variabilă a formulelor testate. Rezultate promițătoare au fost observate în cazul pastei de dinți P5, care conține HAP-5%Zn și 1,3% și extract de mesteacăn 1.3%, indicând proprietăți notabile de remineralizare și antibacteriene.

**Capitolul 9** prezintă un nanocompozit realizat din hidroxiapatită (HAP) și nanoparticule de argint (AgNPs), denumit HAP-4,5% AgNPs. HAP a fost pregătită folosind o tehnică de precipitare în mediu umed, iar AgNPs au fost obținute prin reducerea azotatului de argint cu glucoza într-un mediu bazic. HAP, AgNPs și nanocompozitul HAP-4,5% AgNPs au fost caracterizate prin difracție de raze X (XRD), microscopie electronică cu scanare (SEM) - spectroscopie cu raze X (EDS) și diferite metode imagistice: TEM și AFM. Efectul antibacterian al nanocompozitului HAP-4,5% AgNPs a fost testat folosind o tehnică de difuzie în agar nutritiv pe două specii patogene, una Gram-negativă (*Salmonella typhimurium*) și una Gram-pozitivă (*Bacillus cereus*), obținându-se rezultate promițătoare. Acest nanocompozit de hidroxiapatită-argint poate fi utilizat ca un potențial component antimicrobian pentru implanturile dentare și ortopedice, sau poate fi utilizat ca cement osos în procedurile clinice.

**Capitolul 10** descrie **Concluziile Generale** ale cercetării din Teza de Doctorat.

**Capitolul 11** prezintă realizările candidatei în munca de cercetare științifică inclusă în aceasta Teză de doctorat.

#### **Lucrări proprii**

1. Cadar, O., Balint, R., Tomoaia, G., **Florea, D.**, Petean, I., Mocanu, A., Horovitz, O. and Tomoaia-Cotisel, M. Behaviour of multisubstituted hydroxyapatites in water and simulated body fluid. Stud. Univ. Babeș-Bolyai, Chem., 62, 269-281, 2017. **I.F. 0.305**
2. **D. A. Florea**, C. Dobrota, R. Carpa, S. Riga, M. Tomoaia-Cotisel. Current status and trends in oral health care technologies. a perspective review. International Journal of Medical Dentistry, 26(1), 38-50, 2022. **I.F. 0.887**
3. A. Avram, **D. Florea**, F. Goga, M. Gorea, A. Mocanu, Gh. Tomoaia, I. Petean, A.-Z. Kun, O. Horovitz, M. Tomoaia-Cotisel. Mechanism in the synthesis of fosterite nanoparticles based on thermodynamic approach. Stud. Univ. Babeș-Bolyai, Chem, 68(2), 37-51. 2023. **I.F. 0.3**
4. **D.A. Florea**, A. Mocanu, L.C. Pop, Gh. Tomoaia, C.-T. Dobrota, C. Varhelyi Jr, M. Tomoaia-Cotisel. Remineralization of tooth enamel with hydroxyapatite nanoparticles: an in vitro study. Stud. Univ. Babeș-Bolyai, Chem., 68(2), 99-113, 2023 **I.F. 0.3**
5. A. Mocanu, **D. A. Florea**, Gh. Tomoaia, L.-C. Pop, A. Danistean, S. Rapuntean, O. Horovitz, M. Tomoaia-Cotisel. Nanocomposite based on hydroxyapatite and silver with antibacterial activity. Stud. Univ. Babeș-Bolyai, Chem. 68 (3), 7-18, 2023 in press **I.F. 0.3**
6. **A.-D. Florea**, L. C. Pop, H.-R.-C. Benea, Gh. Tomoaia, C.-P. Racz, A. Mocanu, C.-T. Dobrota, R. Balint, O. Soritau, M. Tomoaia-Cotisel. Remineralization induced by biomimetic hydroxyapatite toothpastes on human enamel. Biomimetics, Manuscript ID: 2590006, in press **I.F. 3.743 Q1**

## **;CAPITOLUL 1. TENDINȚE ACTUALE ÎN TEHNOLOGIILE DE ÎNGRIJIRE ORALĂ**

Conform studiului Global Burden of Disease din 2017, aproximativ 3,5 miliarde de oameni din întreaga lume sunt afectați de probleme dentare, dintre care cariile dentare netratate sunt cea mai frecventă problemă, Boala parodontala severa cauzata de o igiena orala deficitara, afectează la randul ei 10% din populatia lumii. Dovezile epidemiologice indică, de asemenea, o legătură între placa dentară și o serie de alte boli ale corpului uman. Microbiomul oral a fost implicat în boli autoimune și metabolice, cum ar fi obezitatea , diabetul zaharat și bolile cardiovasculare .Prin urmare, cercetarea și îmbunătățirea produselor de îngrijire orală pot ajuta la îmbunătățirea sănătății generale a pacienților.

Scopul acestui capitol este de a face o prezentare detaliată a stadiului actual privind tehnologiile existente în îngrijirea orală. Este propusă o analiză comparativă a beneficiilor și a aspectelor negative legate de tehnologiile alternative aplicate în îngrijirea orală. Numeroase tehnologii inovatoare au fost introduse în igiena orală, orientate către personalizarea rutinelor de periaj și furnizarea de feedback privind periajul. Sensorii inteligenți, aplicații pe smartphone conectate care îi ghidează pe utilizatori în tehnici adecvate de periaj, tehnologia secvențierii ADN utilizată pentru formularea de produse de îngrijire orală orientate către mecanisme specifice de acțiune, sunt doar câteva exemple privind tehnologiile noi aplicate în îngrijirea orală. Produsele sunt nano-modificate și sunt folosiți transportori către zone specifice unde sunt eliberate. În urma analizei efectuate s-a concluzionat faptul că există o serie de limitări ale tehnologiilor de îngrijire orală de ultimă generație, principalele probleme în acest domeniu fiind legate de insuficiența sau lipsa totală a dovezilor riguroase pentru multe dintre produsele nou dezvoltate, precum și de faptul că accesul la astfel de produse noi este prohibitiv din punct de vedere financiar pentru o mare majoritate a populației.

## CAPITOLUL 2. UTILIZAREA EXTRACTELOR DIN SPECII DE *BETULA* ÎN ÎNGRIJIREA ORALĂ TERAPEUTICĂ ȘI PREVENTIVĂ

**Capitolul 2** face o prezentare detaliată a genului *Betula* remarcat prin marea varietate de metaboliți secundari cu multiple aplicații medicale. Extractele vegetale sunt utilizate în practica stomatologică datorită activității lor benefice și a efectelor secundare minime. Cercetările fitochimice, farmacologice și toxicologice asupra extractelor din specii de *Betula* au demonstrat potențialul lor terapeutic. Plantele conțin sute de molecule potențial utile. Infuziile, decocturile și izolatele de mesteacăn sunt utilizate tradițional în stomatologie și otorinolaringologie în tratamentul gingivitei, glositei, parodontitei, protecției țesuturilor dentare dure și stomatitei. Xilitolul extras din hemiceluloza din arborii de mesteacăn este utilizat ca înlocuitor de zahăr în produse farmaceutice, alimente și produse de igienă orală, cum ar fi pastele de dinți, guma de mestecat, siropurile și produsele de cofetărie. Xilitolul contribuie la reducerea riscului de carii dentare prin mai multe mecanisme. Acestea includ creșterea fluxului salivar și a pH-ului, reducerea xerostomiei (uscăciunea gurii), a inflamației gingivale și a eroziunii dentare. De asemenea, xilitolul ajută la prevenirea dezvoltării cariilor și promovează remineralizarea în cazul dentiției primare, poate contribui la inversarea procesului de avansare a cariilor incipiente.

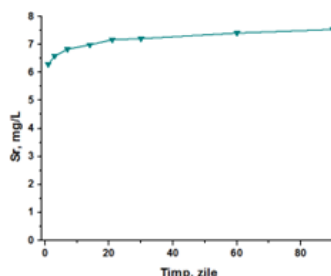
Betulina, un alcool triterpenic pentaciclic izolat din seva de mesteacăn, a fost inclusă în nanocapsule încorporate în pastă de dinți. *Streptococcus mutans* este considerat principala cauză a cariilor dentare. Studiile au arătat că betulina are o activitate semnificativă împotriva biofilmului format de *Streptococcus mutans*. În funcție de doză, betulina poate inhiba formarea biofilmului cu până la 93% și aderența bacteriilor la suprafețele de sticlă cu până la 71%. Mecanismele biochimice și fiziologice, precum și toxicitatea preclinică detaliată, biodisponibilitatea, farmacocinetica și farmacodinamica diferitelor molecule biologic active sunt încă în curs de investigare. Pe lângă aplicațiile lor în stomatologie, compușii izolați din speciile de *Betula* au demonstrat activități antiartritice, anticanceroase, antidiabetice, antiinflamatorii, antimicrobiene, antioxidante, antivirale, gastroprotectoare, hepatoprotectoare și imunomodulatoare. Este necesară în continuare o abordare integrată, holistică pentru a stabili întregul potențial al genului *Betula*.

### CAPITOLUL 3. HIDROXIAPATITE MULTISUBSTITUITE: ELIBERAREA DE IONI IN APA SI LICHID CORPORAL SIMULAT (SBF)

Pentru ca biomaterialele bazate pe hidroxiapatită sintetică (HAP) să poată fi utilizate pentru a înlocui țesutul osos, este necesară crearea de hidroxiapatite HAPs cu structuri care se aseamănă cu faza minerală a osului natural [1].

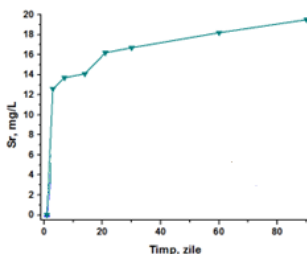
Acest experiment a presupus pregătirea unei hidroxiapatite pure (HAP), a unei hidroxiapatite complexe triplu substituită cu Mg, Zn și Si (HAPc) și a două variante de hidroxiapatită complexă tetrasubstituită cu Mg, Zn, Si și Sr. Formulele teoretice au fost calculate pe baza presupunerii că  $Mg^{2+}$ ,  $Zn^{2+}$  și  $Sr^{2+}$  înlocuiesc parțial ionii  $Ca^{2+}$  în structura rețelei de hidroxiapatită. În același timp, ionii de silicat  $SiO_4^{4-}$  înlocuiesc ionii de fosfat  $PO_4^{3-}$  în compoziția chimică. Pentru a menține neutralitatea electrică structurală a rețelei, această substituție necesită o ajustare adecvată a numărului de ioni  $OH^-$ . Această schimbare se realizează în conformitate cu formula generală:  $Ca_{10-x-y-z}Mg_xZn_ySr_z(PO_4)_{6-u}(SiO_4)_u(OH)_{2-u}$ .

Caracterizarea structurală prin XRD și morfologică prin AFM au confirmat structura HAP, care a fost prezentă ca fază unică în fiecare probă. S-a determinat gradul de cristalinitate al hidroxiapatitelor obținute precum și dimensiunea medie a nanoparticulelor constituente.



**Figura 1.** Eliberarea ionilor de Sr în mediul apos de la o zi până la 90 zile

**Figura 1** indică o creștere graduală a eliberării de strontiu în timp. Studii au demonstrat, de asemenea, că solubilitatea hidroxiapatitelor substituie cu strontiu crește în mod continuu pe măsură ce conținutul de strontiu în compoziție este în creștere [11].



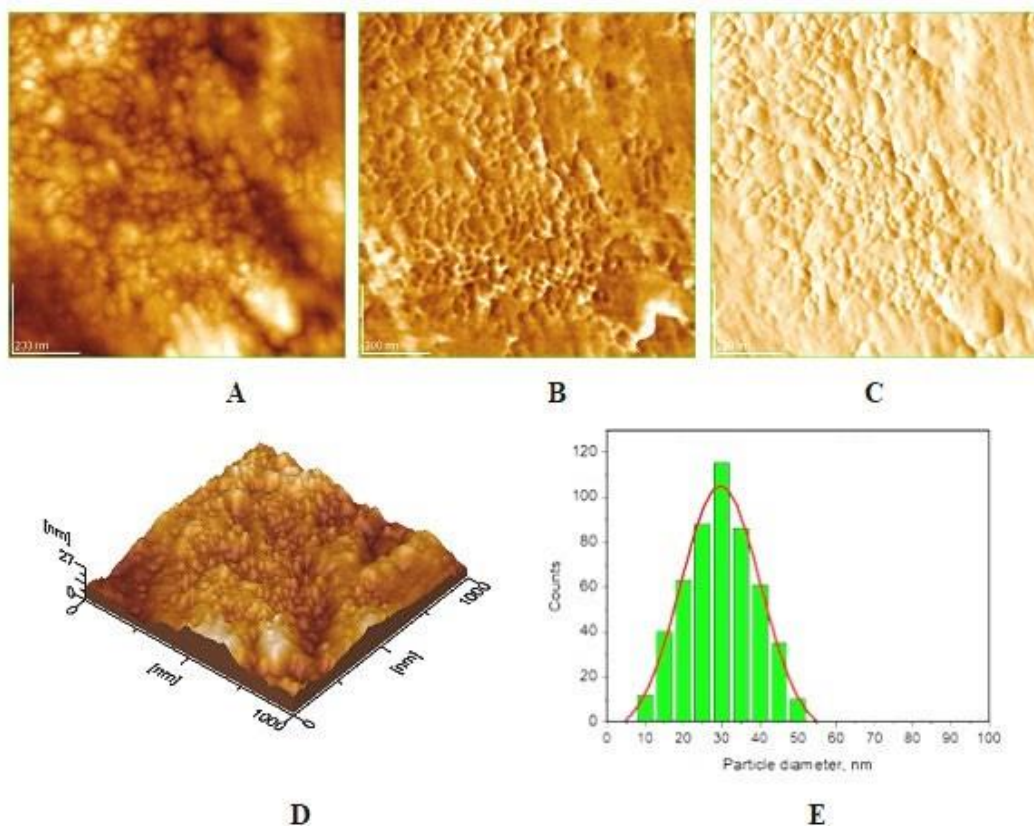
**Figura 2.** Nivelul ionilor de Sr din lichidul corporal simulat (SBF) de la o zi la 90 de zile

În lichidul corporal simulat (SBF), eliberarea de stronțiu (Sr) este mai mare decât în apă. Există o eliberare mai mare a ionilor de stronțiu din hidroxiapatite în SBF.

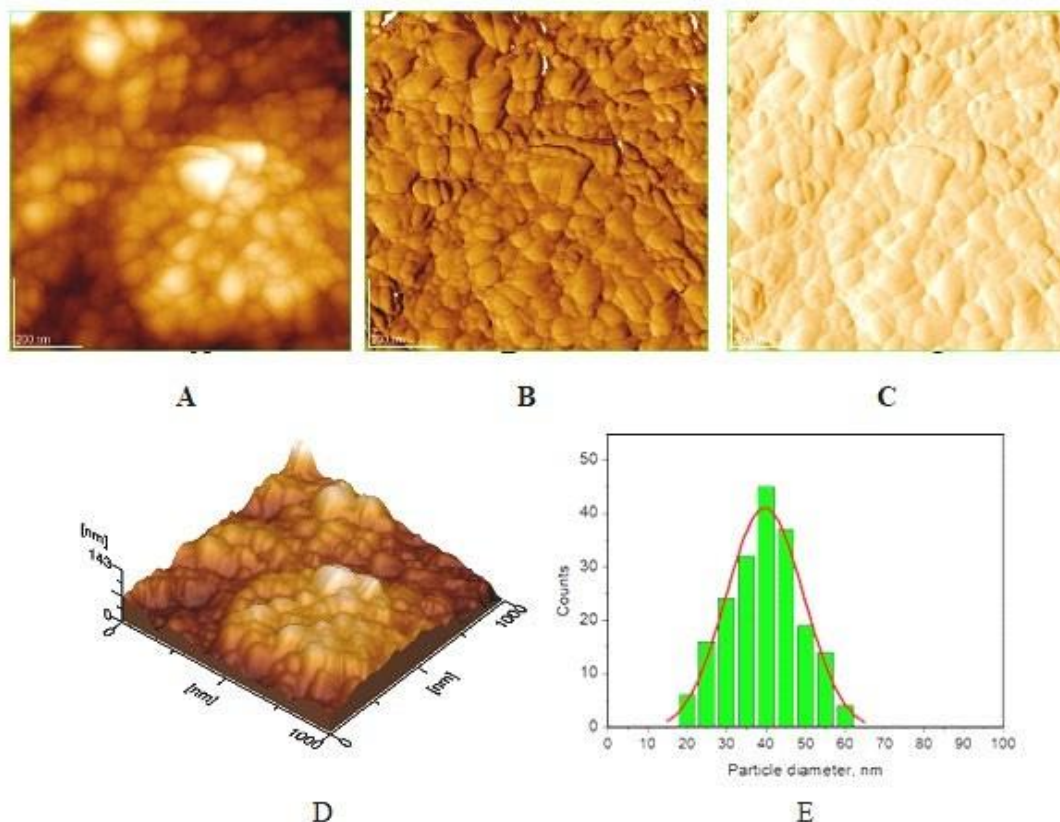
Concluzia acestui experiment a fost că o concentrație mai mare de stronțiu în structura HAP a afectat eliberarea acestuia în apă și în lichidul corporal simulat (SBF). Hidroxiapatitele multisubstituite conțin elemente fiziologie valoroase și au o eliberare îndelungată. Acest lucru sugerează că aceste biomateriale pot avea aplicații biomedicale promițătoare.

## CAPITOLUL 4. REMINERALIZAREA SMALȚULUI DENTAR CU NANOPARTICULE DE HIDROXIAPATITĂ: UN STUDIU *IN VITRO*

Au fost preparate două paste de dinți, una cu nano-HAP, denumită P1, și cealaltă cu nano-HAP multi-substituită cu Mg, Zn și Si (ms-HAP, HAP-Mg-Zn-Si), denumită P2. Conținutul de particule ceramice în fiecare pastă de dinți a fost de 4,0%, iar dimensiunea medie a hidroxiapatitelor nano (nano-HAP-uri) a fost cuprinsă între 30 și 40 nm. Morfologia și rugozitatea suprafeței eșantioanelor de smalț au fost studiate prin microscopie de forță atomică (AFM) înainte și după aplicarea tratamentului cu pastele de dinți. Efectul pastelor de dinți a fost evidențiat prin diametrul mediu al nanoparticulelor ceramice depuse în stratul superficial neted de pe suprafața smalțului la încheierea tratamentului de 10 zile.



**Figura 3.** Imagini AFM ale smalțului remineralizat tratat timp de 10 zile cu pasta de dinți P1: imaginea de topografie 2D (A), imaginea de fază (B), imaginea de amplitudine (C) și imaginea de topografie 3D (D), pentru o zonă scanată de  $1 \mu\text{m} \times 1 \mu\text{m}$ , și histograma (E) pe imaginea (A): distribuție gaussiană (linie continuă) a diametrului nanoparticulelor de HAP pe suprafața smalțului remineralizat (A); diametrul mediu este de  $30 \pm 4 \text{ nm}$ .



**Figura 4.** Imagini AFM ale smalțului remineralizat tratat timp de 10 zile cu pasta de dinți P2: imagine de topografie 2D (A), imagine de fază (B), imagine de amplitudine (C) și imagine de topografie 3D (D), pentru zona scanată de  $1\ \mu\text{m} \times 1\ \mu\text{m}$ , și histograma (E) pe imaginea (A): distribuție gaussiană (linie întreagă) a diametrului nanoparticulelor de HAP de pe suprafața smalțului remineralizat (A); diametrul mediu este de  $40 \pm 2\ \text{nm}$ .

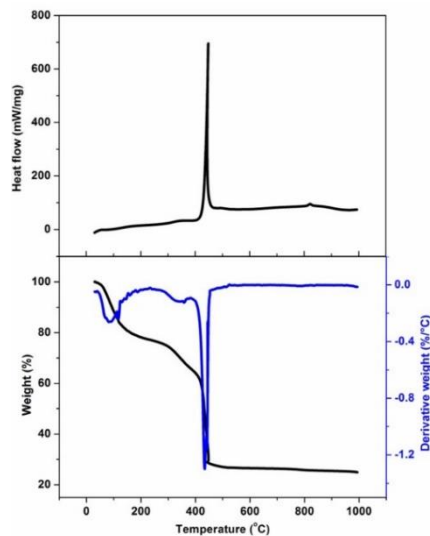
STUDIA UBB CHEMIA, LXVIII, 2, 2023 (99-113)

Un alt obiectiv al acestui studiu a fost de a optimiza abordarea AFM în modul tapping pentru a caracteriza ultrastructura smalțului, prin imagini AFM, cum ar fi topografiile 2D și 3D, precum și imagini de fază și amplitudine.

Acest studiu comparativ in vitro a demonstrat că ambele paste de dinți pot promova repararea suprafeței smalțului prin remineralizare și formarea unui strat protector de hidroxiapatită pe suprafața smalțului tratat. Pasta de dinți P2 s-a dovedit a fi cea mai bună dintre cele două, conducând la modificări morfologice stabile ale suprafeței smalțului dentar. În cele zece zile de tratament, leziunile demineralizate ale smalțului au fost remineralizate în totalitate, după cum arată investigațiile AFM, privind morfologia structurală și rugozitatea suprafeței. Nanoparticulele ceramice sintetice s-au aranjat în mod regulat în cadrul unui strat protector neted de pe suprafața smalțului, după tratament, asigurând o rugozitate a suprafeței redusă, apropiată de cea a smalțului natural, oferind astfel dovezi suplimentare ale eficacității pastei de dinți.

## CAPITOLUL 5. MECANISME DE SINTETIZĂ A NANOPARTICULELOR DE FORSTERIT BAZATE PE ABORDĂRI TERMODINAMICE

În acest studiu, au fost investigate diferite metode de preparare a pulberii de forsterit pentru aplicații medicale, pe baza abordării termodinamice, și s-a constatat că metoda sol-gel și co-precipitarea sunt proceduri potrivite în acest scop.

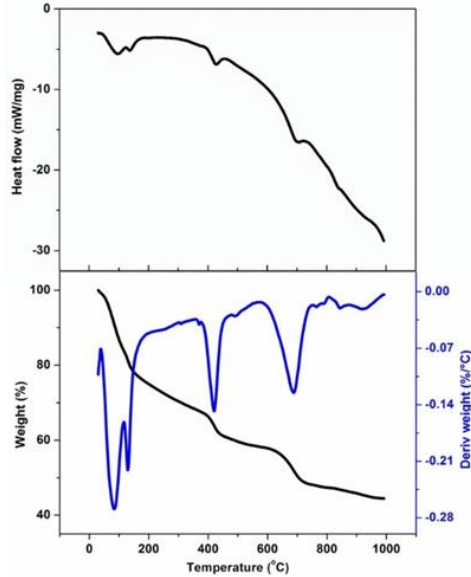


**Figura 1.** Curbele DSC (sus) și TG/DTG (jos) pentru gelul uscat FSsg (exo ↑, endo ↓)

STUDIA UBB CHEMIA, LXVIII, 2, 2023 ( 37-51)

Curbele termice din Figura 1 arată procesele care au loc în timpul încălzirii gelului uscat obținut după hidroliză și condensare a precursorilor, urmată de uscarea suplimentară. Eliminarea resturilor de apă din gelul uscat este un proces endoterm până la aproximativ 230°C, însoțit de o pierdere de masă de aproximativ 22%. Cele două procese exoterme următoare, unul între 233°C și 381°C și al doilea între 381°C și 465°C, sunt legate de oxidarea componentelor organice.

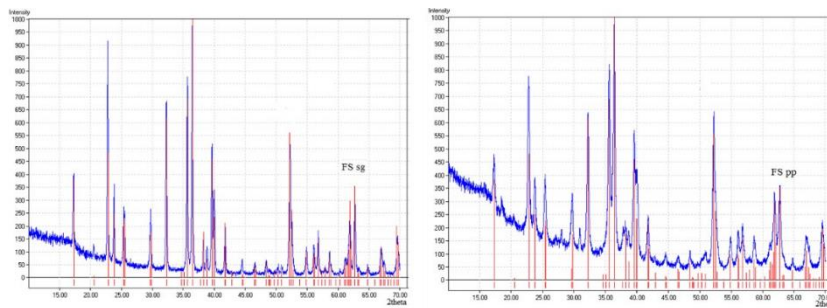




**Figura 2.** Curbele DSC (sus) și TG/DTG (jos) pentru precipitatul uscat FSpp (exo ↑, endo ↓)

Curbele termice specifice încălzirii precipitatului uscat sunt prezentate în Figura 2. Eliminarea resturilor de apă din precipitatul uscat este caracterizată de două procese endoterme care au loc până la 360°C. Pierderea de masă atribuită acestor procese este de aproximativ 16% pentru primul proces și 16,2% pentru al doilea. Dehidroxilarea grupărilor -SiOH și -MgOH poate fi atribuită următoarelor două procese endoterme, între 366°C și 582°C pentru -MgOH și la o temperatură mai mare, până la 800°C pentru -SiOH.

Forsteritul cristalizează în sistemul ortorombic (grupa spațială Pbnm), având următorii parametrii de celulă:  $a = 4,75 \text{ \AA}$ ,  $b = 10,20 \text{ \AA}$  și  $c = 5,98 \text{ \AA}$ . Spectrele XRD pentru ambele materiale de forsterit, FSsg și FSpp, sunt prezentate în Figura 3. Se remarcă faptul că pulberile obținute au o cristalinitate bine definită, mai ales în cazul FSsg.



**Figura 3.** Modelele de difracție cu raze X pentru FSsg (a) și FSpp (b)

Concluziile acestui studiu au fost că alegerea căii de sinteză prezintă importanță, deoarece poate influența caracteristicile pulberii finale - forma și dimensiunea nanoparticulelor, distribuția și tendința de aglomerare, ceea ce, la rândul lor, afectează omogenitatea microstructurală a unui material ceramic și limitează astfel aplicațiile potențiale.

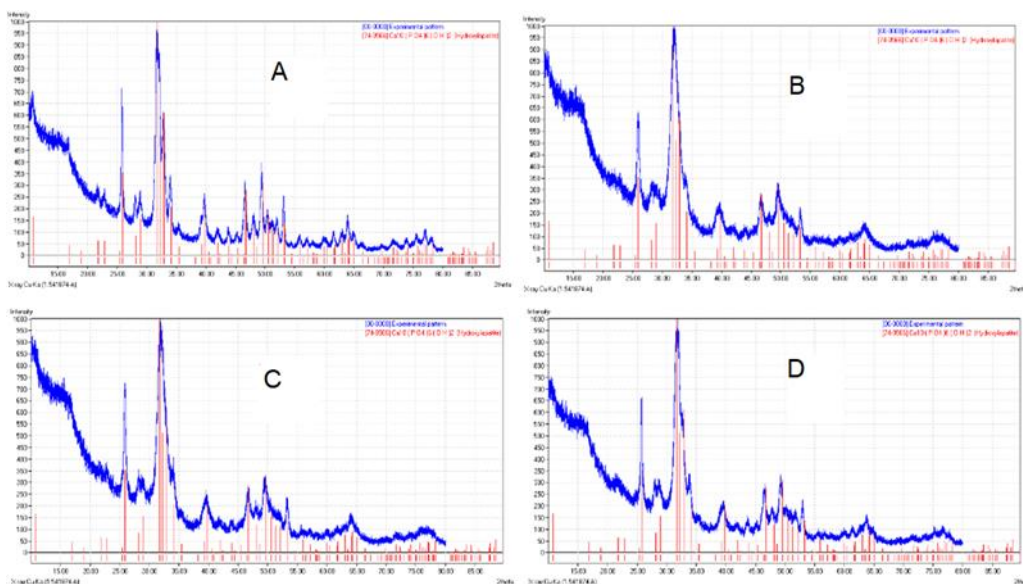
## CAPITOLUL 6. REMINERALIZAREA INDUSĂ DE PASTELE DE DINȚI CU HIDROXIAPATITĂ BIOMIMETICĂ ASUPRA SMALȚULUI UMAN

Au fost preparate patru paste de dinți noi pe bază de nano-hidroxiapatită biomimetică, pură și multisubstituită, așa cum se poate observa în tabelul următor.

**Tabel 1.** Cele patru nanomateriale inovatoare utilizate pentru prepararea celor patru paste de dinți

Simbol pastă de dinți	Tipul HAP-ului	Elemente de substituție (% din masă)	Formula chimică a HAP-ului
P1	HAP-Zn	Zn 5,00	$\text{Ca}_{9,22}\text{Zn}_{0,78}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$
P2	HAP	-	$\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$
P3	HAP-Mg-Zn-Sr-Si	Mg 0,23 Zn 3,09 Sr 10,00 Si 2,00	$\text{Ca}_{8,19}\text{Mg}_{0,10}\text{Zn}_{0,5}\text{Sr}_{1,21}(\text{PO}_4)_{5,25}(\text{SiO}_4)_{0,75}(\text{OH})_{1,25}$
P4	HAP-Mg-Zn-Si	Mg 2,50 Zn 1,34 Si 2,90	$\text{Ca}_{8,80}\text{Mg}_{1,00}\text{Zn}_{0,20}(\text{PO}_4)_{5,00}(\text{SiO}_4)_{1,00}(\text{OH})_{1,00}$

Spectrele XRD pentru cele patru HAP-uri utilizate sunt prezentate în Figura 1, împreună cu aspectul pentru HAP pur din PDF:74-0566 (linii verticale roșii).

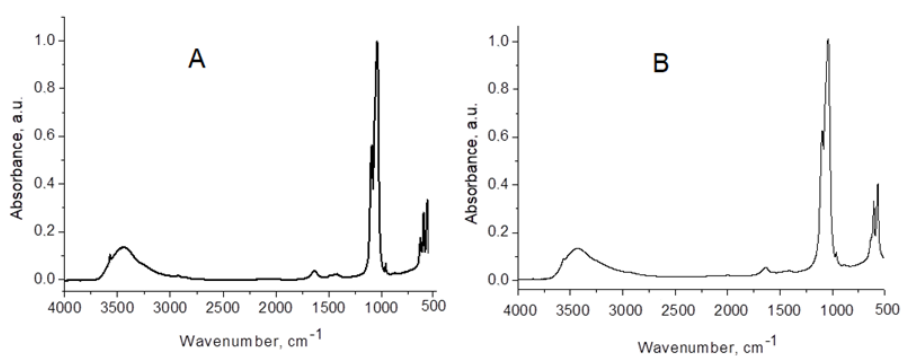


**Figura 1.** XRD pentru 4 HAPs: (A) hidroxiapatite, HAP,  $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ , (B)  $\text{Ca}_{9,22}\text{Zn}_{0,78}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$  (C) HAP-Mg-Zn-Si,  $\text{Ca}_{8,19}\text{Mg}_{0,10}\text{Zn}_{0,5}\text{Sr}_{1,21}(\text{PO}_4)_{5,25}(\text{SiO}_4)_{0,75}(\text{OH})_{1,25}$ , și (D) pentru HAP-Mg-Zn-Sr-Si,  $\text{Ca}_{8,19}\text{Mg}_{0,10}\text{Zn}_{0,5}\text{Sr}_{1,21}(\text{PO}_4)_{5,25}(\text{SiO}_4)_{0,75}(\text{OH})_{1,25}$  comparat cu PDF:74-0566

Parametrii calculați ai rețelei (valorile a și c) au relevat doar schimbări minore odată cu modificarea compozițională în cadrul structurii HAP. Diferențele mici de compoziție duc la o ușoară distorsiune a rețelei HAP și, astfel, la o scădere ușoară a cristalinității sale (Tabelul 2). S-a descoperit, de asemenea, că constantele rețelei a și c, au scăzut ușor odată cu substituția cu Zn în structura HAP.

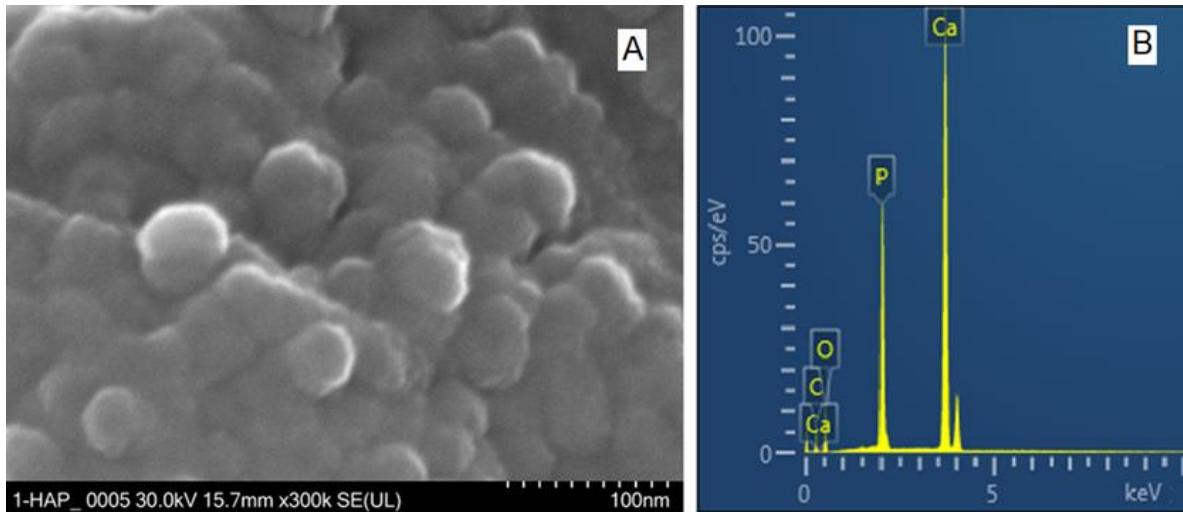
**Tabelul 2.** Estimări XRD ale dimensiunii cristalelor, gradului de cristalinitate și ai parametrilor rețelei pentru hidroxiapatită pură, HAP, și hidroxiapatitele substituie: HAP-Zn, HAP-Mg-Zn-Si și HAP-Mg-Zn-Sr-Si

Hidroxiapatite	HAP-Zn	HAP	HAP-Mg-Zn-Sr-Si	HAP-Mg-Zn-Si
Pasta de dinți	P1	P2	P3	P4
Dimensiunea cristalelor (nm), din datele XRD	30,3	33,1	28,2	30,6
Cristalinitate (%), din datele XRD	30,5	36,6	28,7	30,3
Parametrii rețelei:	0,9421	0,9426	0,9466	0,9445
a = b (nm)	0,6862	0,6881	0,6904	0,6883
c (nm)				
Diametru mediu al NP-urilor (nm), din investigația AFM*	40±5	30±3	37±4	38±5

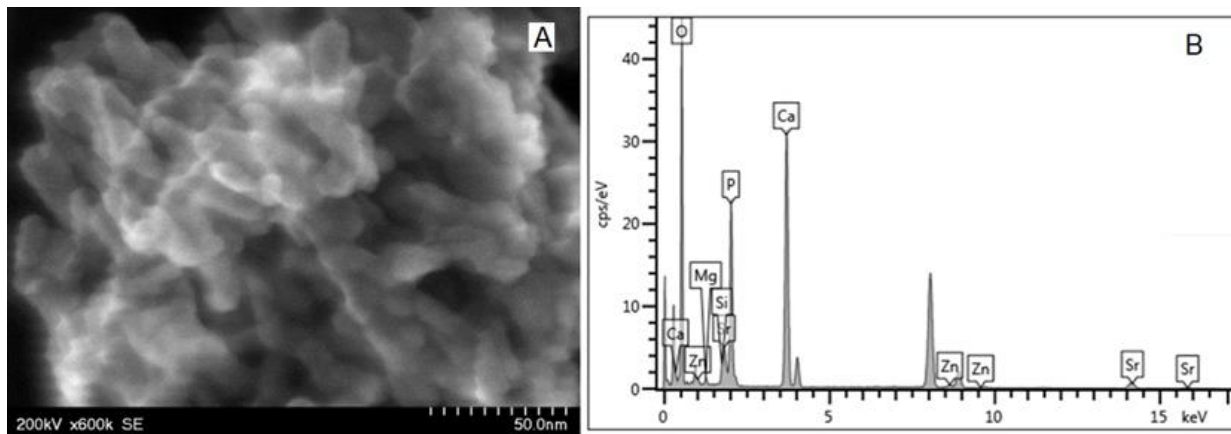


**Figura 2.** Spectrul FTIR al HAP liofilizat, (A), utilizat în pasta de dinți P2 și al HAP-Mg-Zn-Sr-Si, (B), utilizat în pasta de dinți P3. Absorbanța este normalizată la 1.

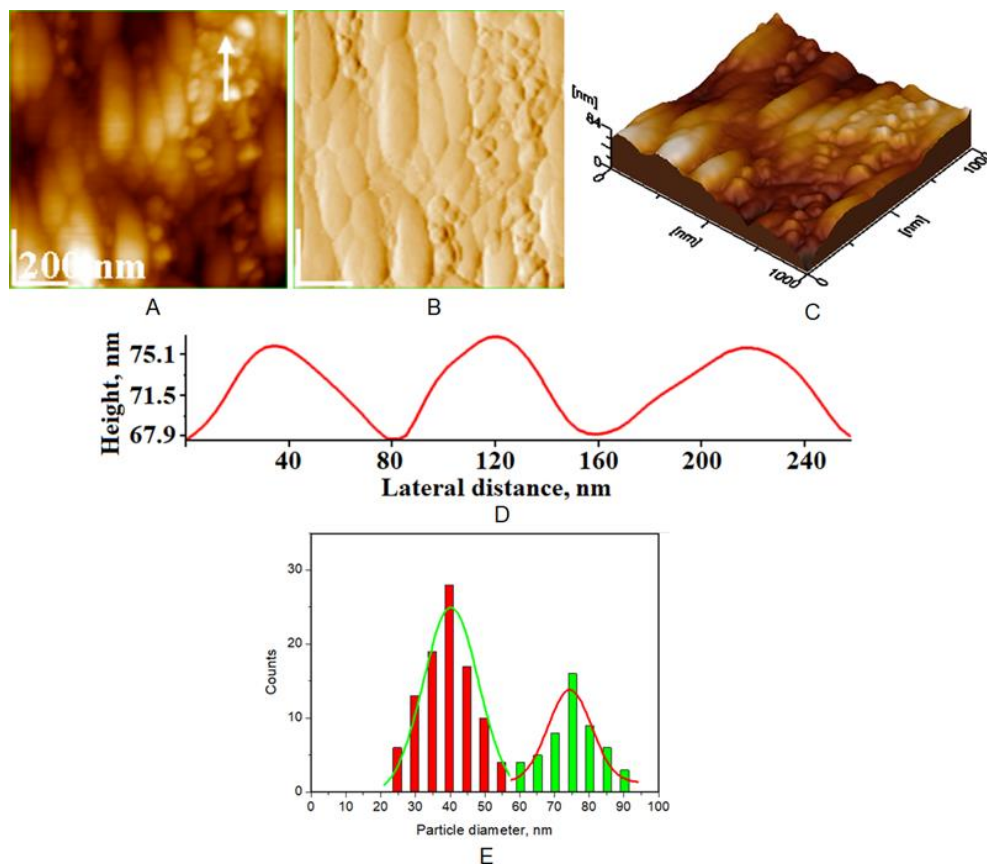
Pentru măsurarea SEM-EDX, mostrele de pulberi de HAP au fost depuse în straturi subțiri pe plăcuțe SEM. Imaginea FE-SEM (Figura 3A) indică particule individuale la o magnificație mare. Diametrul mediu al particulelor de HAP a fost de  $40,0 \pm 7,5$  nm.



**Figura 3.** Imagine FE-SEM (A) pentru HAP; scara barei este de 100 nm; spectrul EDX (B), arată împreună toate elementele din imaginea FE-SEM (A).



**Figura 5.** Imagine STEM (A) și spectrul EDX (B) pentru HAP-Mg-Zn-Sr-Si



**Figura 10.** Imagini AFM a două jumătăți de felii: o jumătate de felie a fost netratată (smalț natural ca martor) marcată cu o săgeată albă, iar cealaltă jumătate a fost smalț demineralizat prin tratament cu acid fosforic: (A) imagine topografică, (B) imagine a amplitudinii, (C) imagine 3D și (D) profil secțional pe săgeata albă din imaginea (A), reprezentând zona de smalț natural, (E) histogramă pe imaginea (A); diametru mediu al NP-urilor pe smalțul natural ( $42 \pm 5$  nm) și pe smalțul demineralizat ( $73 \pm 6$  nm). Zonă scanată de  $1 \mu\text{m} \times 1 \mu\text{m}$ .

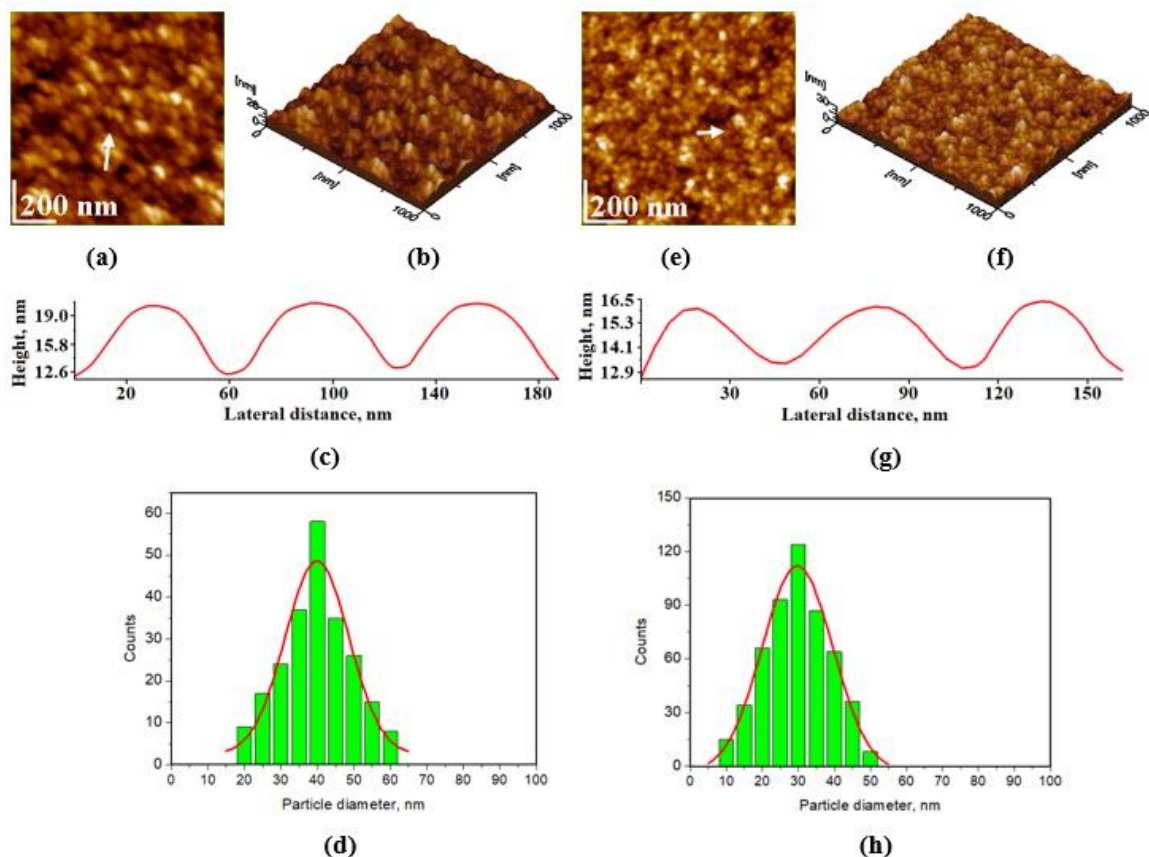
Concluziile acestui studiu au fost că pasta de dinți P3, cu hidroxiapatită tetrasubstituită (HAP-Mg-Zn-Sr-Si), a avut cel mai bun rezultat în ceea ce privește remineralizarea smalțului uman, comparativ cu celelalte paste de dinți (P1 și P4), având aproximativ aceeași eficiență de remineralizare ca pasta de dinți P2 după 10 zile de tratament. Particulele nanométrice (cu o dimensiune medie de aproximativ 30 nm pentru HAP) au prezentat un potențial mare în procesul de remineralizare prin acoperirea regiunilor cu leziuni ale smalțului. Toate rezultatele tratării smalțului uman timp de 10 zile cu fiecare dintre pastele de dinți P1-P4 ne conduc la ideea că aceste paste de dinți pot fi folosite cu succes pentru tratarea cariilor dentare incipiente și a smalțului demineralizat artificial.

## **CAPITOLUL 7. ÎMBUNĂTĂȚIREA REMINERALIZĂRII SMALȚULUI: PASTE DE DINȚI NOI CU HIDROXIAPATITĂ SUBSTITUITĂ PENTRU SĂNĂTATEA DENTARĂ**

În acest capitol s-a studiat efectul diferitelor formule de pastă de dinți, care conțin hidroxiapatită (cu substituții ale rețelei cu ioni benefici precum Sr, Zn, Si și Mg), asupra remineralizării smalțului tratat în prealabil cu acid. Scopul principal al acestui studiu este de a determina dacă adăugarea acestor ioni afectează procesul de remineralizare în comparație cu hidroxiapatita simplă. Tratamentul a fost aplicat timp de 30 de zile și caracterizarea probelor a fost făcută la fiecare 10 zile. Studii existente similare folosesc paste de dinți comerciale conținând hidroxiapatita cu zinc [68, 69]; hidroxiapatită cu carbonat de zinc [70, 71]; nano-carbonatul de hidroxiapatită substituit [72]; hidroxiapatită cu zinc-magneziu [73]; hidroxiapatita cu carbonat de magneziu-stronțiu [71, 74]. Cu toate acestea, nu există formule de pastă de dinți care să conțină hidroxiapatită cu combinațiile specifice de ioni utilizate de noi.

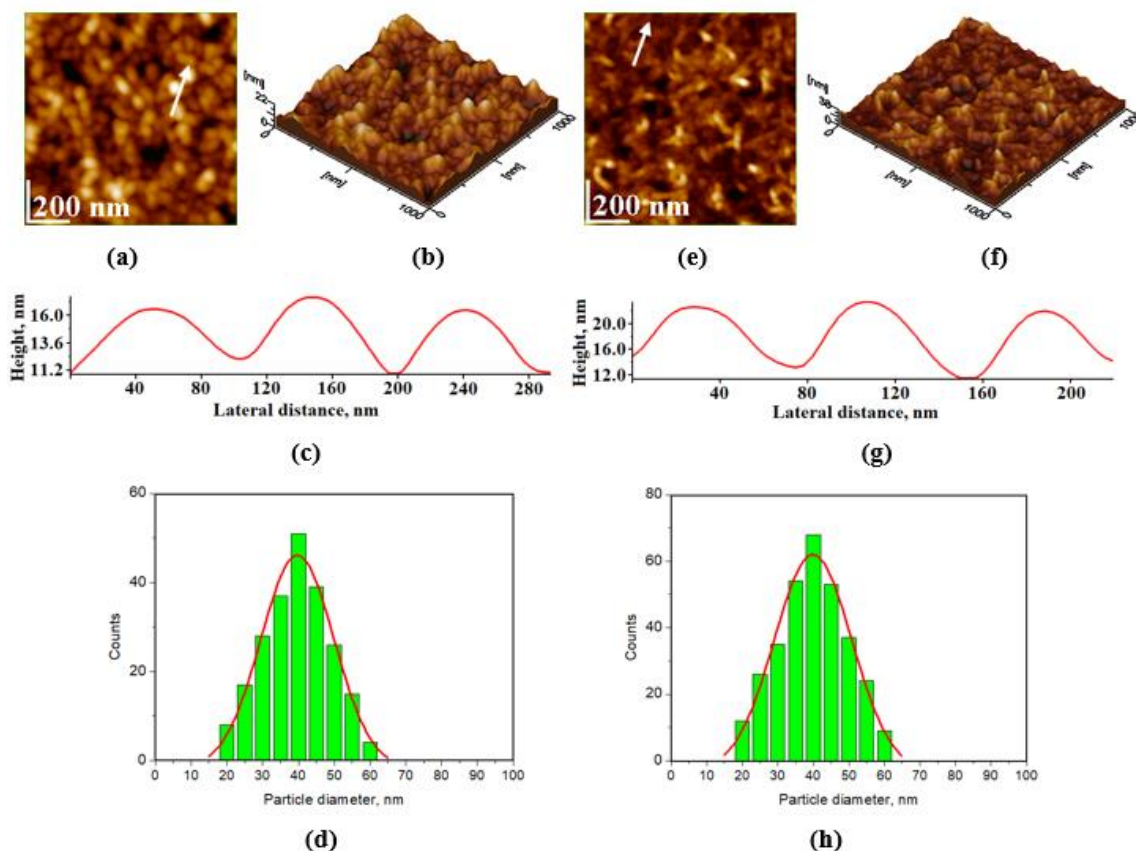
Cele 4 probe de nanoHAP sintetizate au fost caracterizate în ceea ce privește distribuția dimensiunii folosind Microscopia de Forță Atomică, înainte de incorporarea lor în compozițiile pastelor de dinți. Astfel, toate pulberile au fost transferate pe lame de sticlă prin adsorbție verticală din dispersii apoase.

Adsorbția nanoparticulelor de HAP dintr-o soluție apoasă pe un substrat solid demonstrează capacitatea lor de a forma filme subțiri auto-asamblate. Această proprietate de formare a filmului este esențială atunci când se ia în considerare stratul de protecție dorit format de anumite compoziții de pastă de dinți pe suprafața smalțului. Aici, HAP-5%Zn (P1) a demonstrat nanoparticule rotunde bine individualizate cu diametre de aproximativ 40 nm, poziționate într-un film bine structurat (Figura 1(a-d)), asigurând o suprafață uniformă, lipsită de aglomerări de particule. Rezultă o suprafață netedă cu rugozitate redusă. Figura 1(e-g) arată că hidroxiapatita simplă (HAP) utilizată în proba P2 are nanoparticule cu forme rotunde și diametre mai mici, de aproximativ 30 nm, care sunt foarte uniform adsorbite pe lamela de sticlă într-un film subțire neted și compact, fără a genera aglomerări de particule.



**Figura 1.** Imagini AFM ale nanoparticulelor de HAP utilizate în pastele de dinți: HAP-5%Zn (P1): (a) imagine topografică, (b) imagine tridimensională, (c) profil de-a lungul săgeții din imagine (a) și (d) histograma distribuției dimensiunii particulelor P1,  $RMS=4,0\pm 1.3$  nm; HAP simplu (P2): (e) imagine topografică, (f) imagine tridimensională, (g) profil de-a lungul săgeții din imagine (e) și (h) histograma distribuției dimensiunii particulelor P2,  $RMS=3.4\pm 1.2$  nm. Zonă scanată  $1\ \mu m \times 1\ \mu m$ .

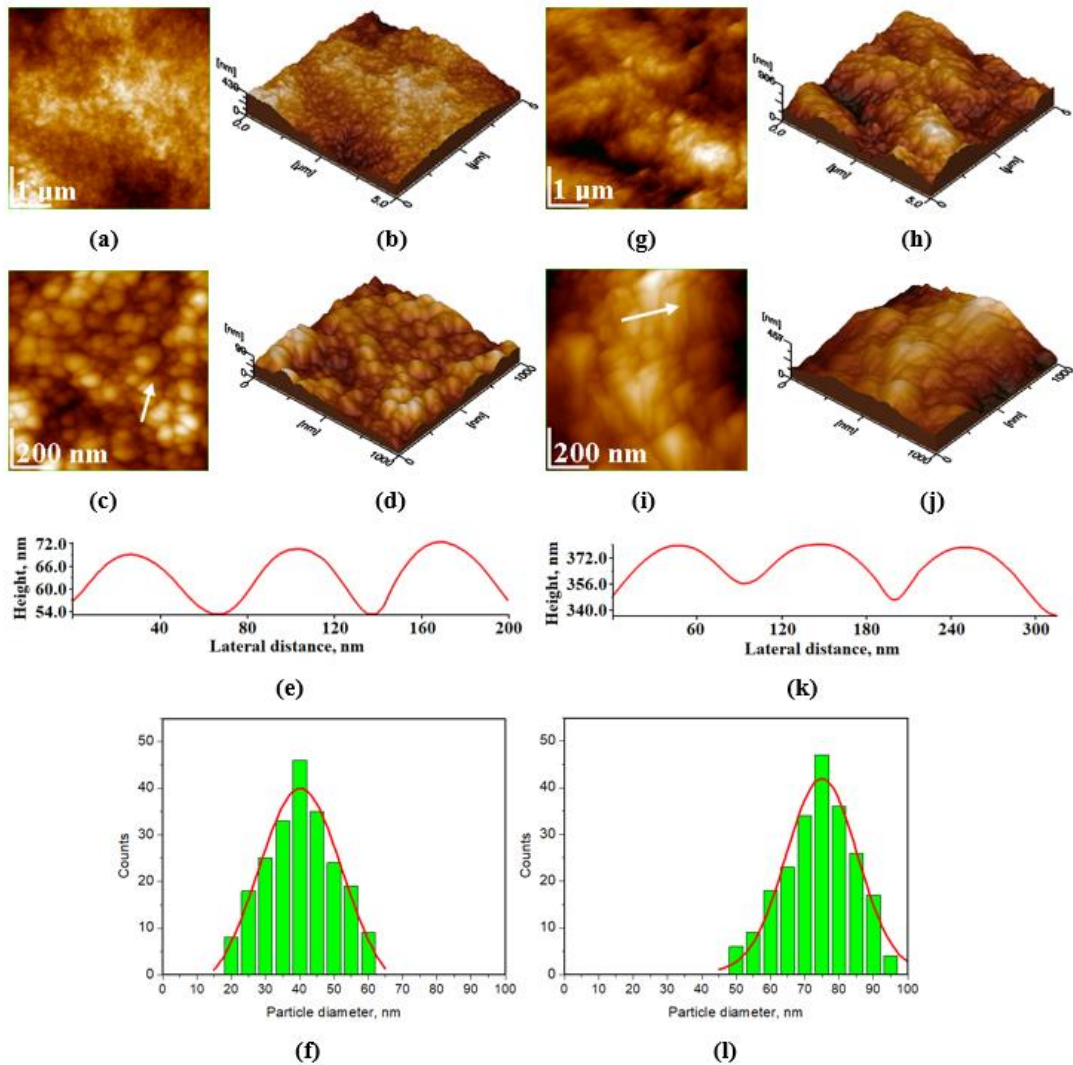
Figura 2(a-d) prezintă nanoparticule cu forme rotunde și diametre de aproximativ 40 nm în proba de HAP P3 (HAP-0.23%Mg-3.09%Zn-2%Si-10%Sr). Capacitatea lor de a fi adsorbite pe un substrat solid se materializează într-un film foarte compact și uniform. Acest fapt influențează rugozitatea filmului subțire, care este ușor mai mare decât în proba P2, dar totuși mai mică în comparație cu P1. Figura 2(e-h) arată un film subțire adsorbit relativ neregulat de hidroxiapatită complexă în proba P4 datorită prezenței unor nanoparticule mai mari de aproximativ 45 nm, care sunt punctele centrale ale unei rețele uniforme de nanoparticule de hidroxiapatită de aproximativ 40 nm. Acest factor crește ușor rugozitatea filmului subțire.



**Figura 2.** Imagini AFM ale nanoparticulelor de HAP utilizate în pastele de dinți: HAP-0.23%Mg-3.09%Zn-2%Si-10%Sr (P3): (a) imagine topografică, (b) imagine tridimensională, (c) profil de-a lungul săgeții din imagine (a) și (d) histograma distribuției dimensiunii particulelor P3,  $RMS=3.4 \pm 1.2$  nm; HAP-2.5%Mg-2.9%Si-1.34%Zn (P4): (e) imagine topografică, (f) imagine tridimensională, (g) profil de-a lungul săgeții din imagine (e) și (h) histograma distribuției dimensiunii particulelor P4,  $RMS=5.2 \pm 2.2$  nm. Zonă scanată  $1 \mu m \times 1 \mu m$ .

Figura 3(a-d) prezintă microstructura fină a smalțului sănătos (PC - control pozitiv), care este caracterizată printr-o coeziune excelentă a materialului mineral atât în interiorul, cât și între prismele smalțului. Nanoparticulele sunt foarte bine sudate împreună, ducând la o topografie netedă a smalțului. În schimb, se pot observa schimbări distincte în morfologie cu ajutorul tratamentului cu acid ortofosforic. Smalțul demineralizat (NC - control negativ) prezintă o dezorganizare profundă a suprafeței după demineralizare, ceea ce se poate observa prin individualizarea puternică a zonelor adiacente între două prismele consecutive și prin eroziunea interioară a prismelor (Figura 3(g-k)). Acest lucru se reflectă în creșterea valorilor rugozității de la un RMS sănătos de 70,6 nm la un RMS de 258,3 nm. Histograma din Figura 3f (PC) și Figura 3l (NC) evidențiază o creștere semnificativă a dimensiunii HAP de la o medie de 40 nm pentru smalțul normal la aproximativ 60-80 nm, cu o medie de 75 nm pentru smalțul tratat cu acid.



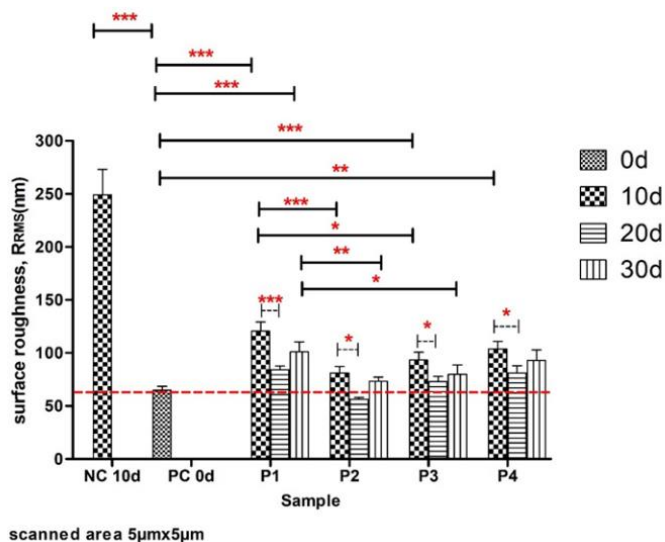


**Figura 3.** Imagini AFM ale smalțului sănătos, control pozitiv (PC): a-f, și smalțul demineralizat, control negativ (NC): g-l, unde a, g sunt imagini topografice 2D, aria scanată este 5 μm x 5 μm ; c, i sunt imagini topografice 2D, aria scanată 1 μm x 1 μm; b, h, d și j sunt imagini 3D corespunzătoare fiecărei imagini 2D; e and k sunt profilurile de-a lungul săgeților albe din imaginile c și i; f și l sunt histograme ale distribuției dimensiunii particulelor pentru fiecare probă, respectiv PC și NC.

În continuarea experimentului a fost testat efectul de remineralizare a celor 4 paste de dinți obținute pe felii de dinți care au fost în prealabil demineralizați artificial. Rezultatele au arătat că toate cele patru formule de pastă de dinți au avut caracteristici excelente de restaurare a smalțului. Interesant, după 10 zile de tratament, se produce o normalizare a nanostructurii smalțului uman artificial demineralizat, cu valori RMS aproape comparabile cu cele ale smalțului natural sănătos. O mai bună acoperire a suprafețelor smalțului poate fi observată prin prelungirea duratei tratamentului, urmată de o consolidare a nanoparticulelor de HAP produse pe suprafața smalțului.

La sfârșitul perioadei de tratament de 30 de zile, toate cele patru paste de dinți experimentale au dus la o remineralizare completă a smalțului artificial demineralizat. Acesta este un aspect cheie de luat în considerare pentru studiile viitoare.

Pentru analiza statistică s-a folosit GraphPad Prism 6 (GraphPad Software, Inc., La Jolla, CA, SUA) pentru Windows. Toate datele privind rugozitatea suprafeței  $R_{RMS}$ , sunt definite ca valoarea medie  $\pm$  SD a cel puțin trei experimente independente. Diferențele semnificative între grupurile de felii de smalț au fost identificate prin aplicarea analizei ANOVA one way, urmată de testul post hoc Bonferroni pentru comparații multiple, cu stabilirea semnificației pentru valori  $p < 0,05$ .



**Figura 6A.** Reprezentare grafică conform eşantioanelor de valori RMS obținute prin AFM (zonă de scanare  $5 \mu\text{m} \times 5 \mu\text{m}$ ) după 10, 20 și 30 de zile de tratament a suprafețelor demineralizate cu pastele de dinți testate P1, P2, P3 și P4. Analiza statistică a comparat datele obținute din eşantioanele tratate cu pastele de dinți P1, P2, P3 și P4 cu controlul pozitiv și, respectiv, controlul negativ, utilizând analiza ANOVA one way, urmată de testul post-hoc Bonferroni pentru comparații multiple. În grafice sunt ilustrate nivelurile de semnificație statistică în felul următor:  $p < 0.001$  \*\*\* (extrem de semnificativ),  $p$  între 0.001-0.01 \*\* (foarte semnificativ),  $p$  între 0.01-0.05 \* (semnificativ).

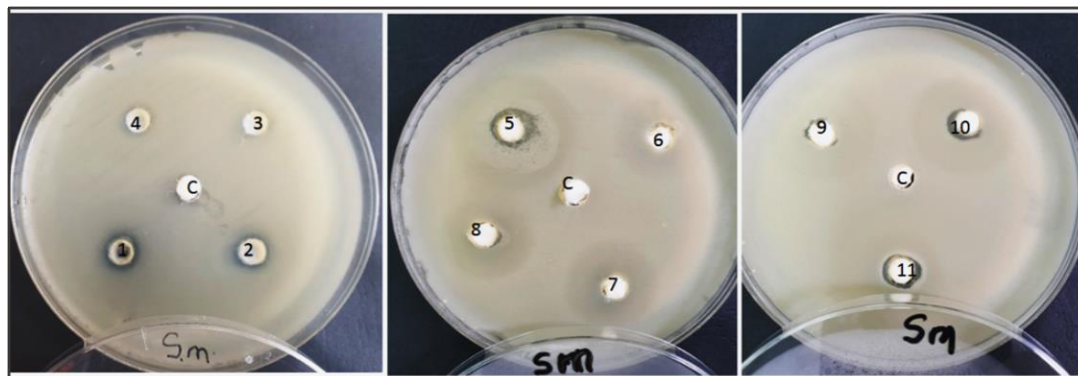
Factorii morfologici care, împreună cu rugozitatea suprafeței, pot descrie eficacitatea tratamentului de remineralizare a smalțului includ forma și dimensiunea nanoparticulelor de HAP care au remineralizat suprafața smalțului, regularitatea cu care sunt depuse pe suprafață și compactarea straturilor depuse. AFM s-a dovedit a fi o tehnică eficientă pentru investigarea procesului de remineralizare a smalțului uman, atât în ceea ce privește modificările morfologice și structurale, cât și măsurătorile rugozității suprafeței.

## CAPITOLUL 8. PROGRESE ÎN FORMULAREA PASTELOR DE DINȚI FUNCȚIONALE: NANO-HIDROXIAPATITA ȘI EXTRACTUL DE MESTEACĂN

Acest studiu își propune să dezvolte paste de dinți funcționale cu remineralizare combinată a smalțului și efecte antibacteriene folosind nano-hidroxiapatite (nHAP) și extract de mesteacăn. Au fost concepute unsprezece paste de dinți (notate P1-P11), care conțin concentrații diferite de extract de mesteacăn și concentrații constante de nHAP pur sau nHAP substituit.

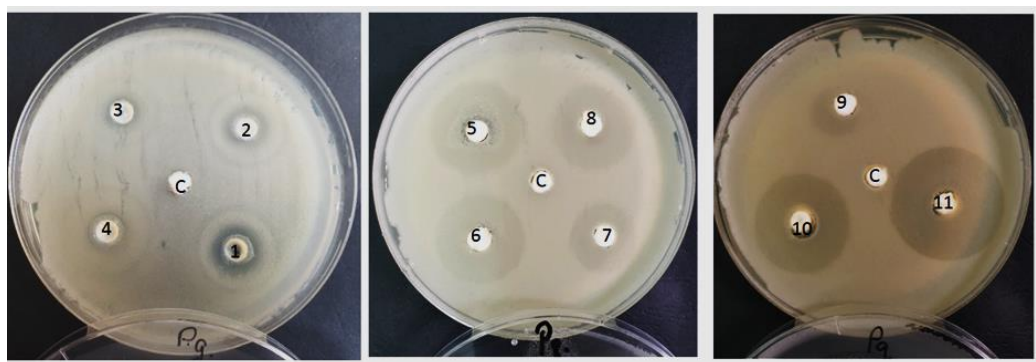
Evaluarea capacității de remineralizare a fost făcută prin studii AFM.

Activitatea antibacteriană a fost evaluată folosind testul de difuzie cu discuri în agar, o metodă pentru testarea standard a susceptibilității antimicrobiene care implică măsurarea diametrelor zonei de inhibiție. Au fost testate 5 tulpinii bacteriene.



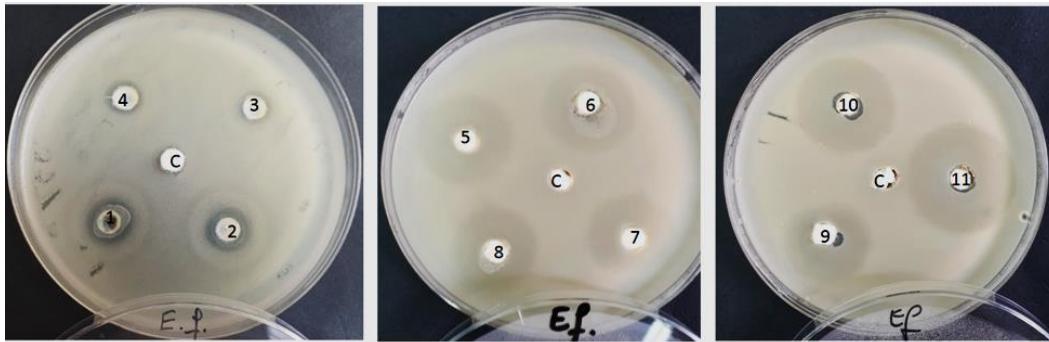
**Figura 5.** Zonele de inhibiție a *Streptococcus mutans* după perioada de incubație

Diametrul zonei de inhibiție în bacilul Gram-negativ *Porphyromonas gingivalis* a fost mai mare pentru eșantioanele 11, 10 și, respectiv, pentru eșantioanele 5 și 6 (Figura 6).



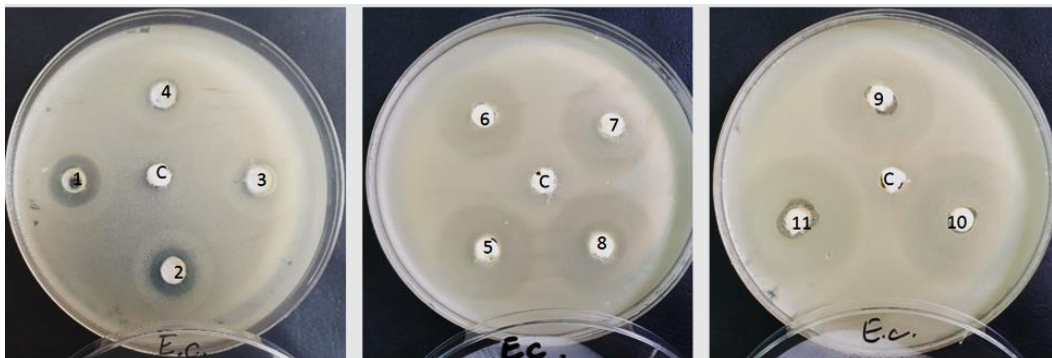
**Figura 6.** Zonele de inhibiție ale lui *Porphyromonas gingivalis* după perioada de incubație

Pentru toate eșantioanele analizate, s-a detectat o zonă clară în bacteriile comensale Gram- pozitive și anaerobe, *Enterococcus faecalis*. Diametrele de inhibiție au variat, cu cele mai mari fiind înregistrate în eșantioanele 11 și 10 (Figura 7).



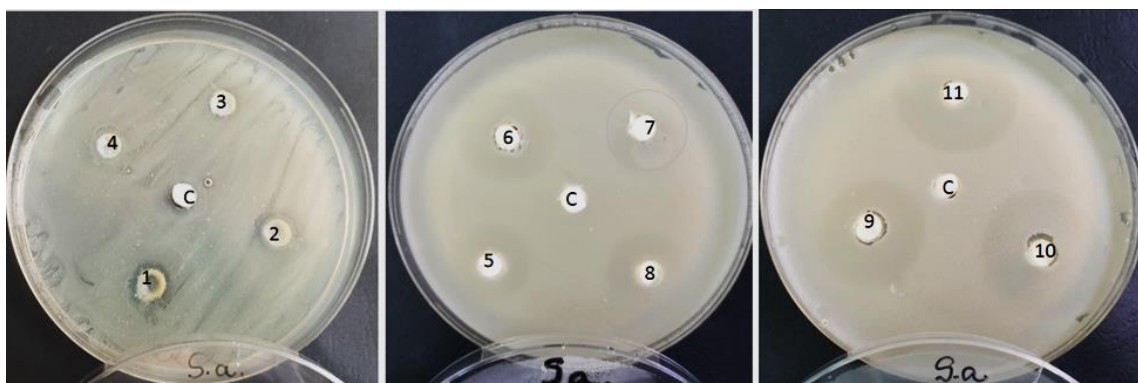
**Figura 7.** Zonele de inhibiție ale lui *Enterococcus faecalis* după perioada de incubație

În cazul tulpinii anaerobe Gram-negativă de *Escherichia coli*, s-au observat, de asemenea, zone de inhibiție pentru toate eșantioanele testate. Pentru această tulpină, cel mai mare diametru de inhibiție a fost obținut pentru eșantioanele 11 și 10. Celelalte eșantioane au înregistrat zone de inhibiție mai mici (Figura 8).



**Figura 8.** Zonele de inhibiție pentru *Escherichia coli* după perioada de incubație

Existența sensibilității în cazul bacteriilor Gram- pozitive *Staphylococcus aureus* poate fi observată în cazul variantelor P10, P11, P9 și P7. Nu s-a observat o regiune distinctă în jurul tăieturii în cazul variantelor experimentale P2-P4. (Figura 9).

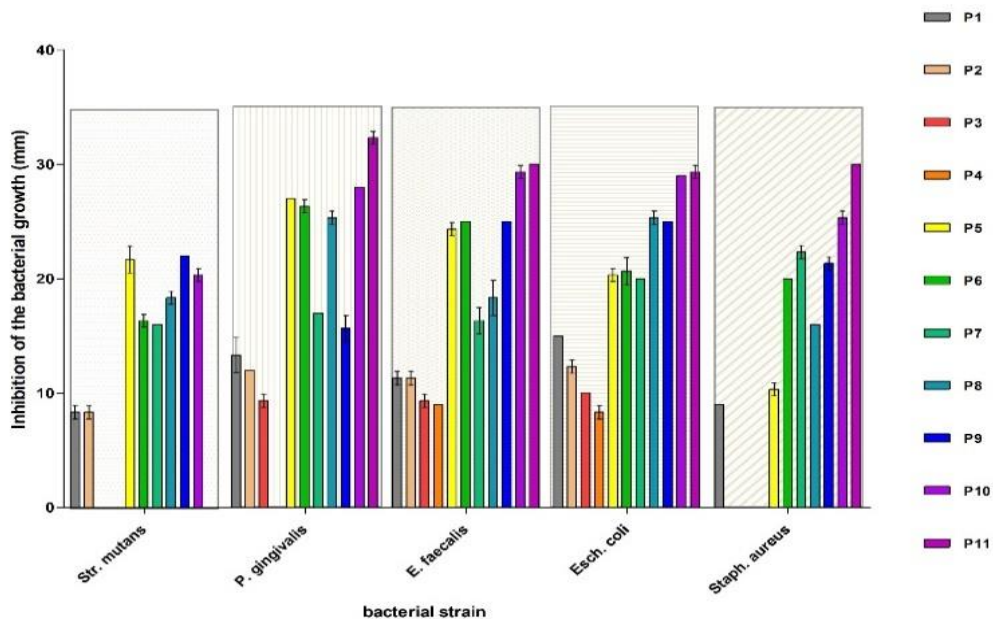


**Figura 9.** Zonele de inhibiție ale *Staphylococcus aureus* după perioada de incubație.

**Tabel 3.** Inhibiția creșterii bacteriene indusă de pastele de dinți

Eșantion	Diametrul zonei de inhibiție (mm)				
	Streptococcus mutans ATCC 25175	Porphyromonas gingivalis ATCC 33277	Enterococcus faecalis ATCC 29212	Escherichia coli ATCC 25922	Staphylococcus aureus ATCC 25923
P1	8,3±0,6	13,3±1,5	11,3±0,6	15,0±0	9,0±0
P2	8,3±1,2	12,0±0	11,3±1,2	12,3±1,2	-
P3	- *	9,3±0,6	9,3±0,6	10,0±0	-
P4	-	-	9,0±0	8,3±0,57	-
P5	21,6±1,2	27,0±0	24,3±0,6	20,3±0,57	10,3±0,57
P6	16,3±0,6	26,6±1,2	25,0±0	20,3±1,15	20,0±0
P7	16,0±0	17,0±0	15,3±1,2	20,0±0	22,3±1,2
P8	18,3±1,5	25,3±0,6	18,3±1,5	25,3±1,2	16,0±0
P9	22,0±0	15,3±1,2	25,0±0	25,0±0	21,3±0,57
P10	20,3±0,57	28,0±0	29,3±0,6	29,0±0	25,3±1,52
P11	-	32,3±0,6	30,0±0	29,3±0,57	30,0±0

\* (-) lipsa zonei de inhibiție



**Figura 10.** Inhibarea tulpinilor bacteriene sub acțiunea tratamentului cu pastele de dinți

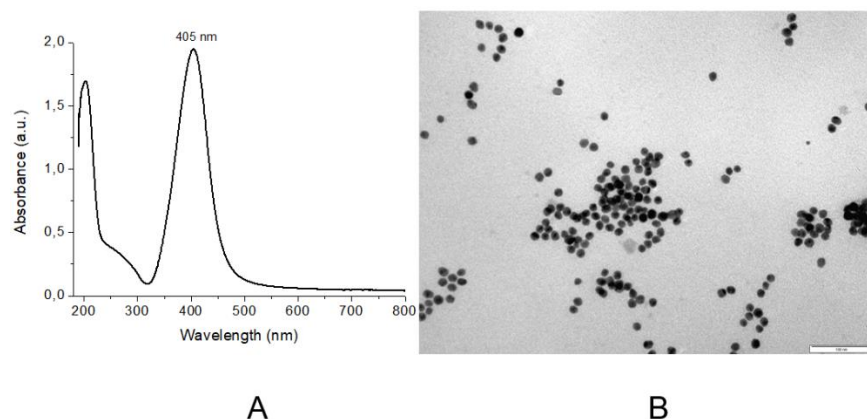
Analiza statistică a rugozității relevă schimbări semnificative între variantele experimentale, demonstrând că tratamentele cu pastă de dinți sunt eficiente în remineralizarea smalțului. Ordinea de clasificare a eficacității în acest proces este: PC = P2 = P3 > P4 > P1, reflectând capacitatea nanoparticulelor de HAP de dimensiuni mici de a penetra porii smalțului și de a repara deteriorările microstructurale. Ioni substituți eliberați de structura modificată a HAP contribuie, de asemenea, la restaurarea smalțului, crescându-i rezistența.

În ceea ce privește acțiunea antimicrobiană, experimentele dezvăluie cum diferite tulpini bacteriene reacționează la compozițiile diferite ale pastelor de dinți. Chiar și pastele de dinți care conțin doar nHAP au activitate antibacteriană, care este îmbunătățită prin adăugarea de zinc ca element de substituție în nHAP. Comparând diferitele grupuri de variante de pastă de dinți se remarcă variații semnificative în inhibiția creșterii bacteriene, atribuite prezenței de metaboliți secundari în extractul de mesteacăn. Dintre speciile bacteriene examinate, *Enterococcus faecalis* ATCC 29212 și *Escherichia coli* ATCC 25922 au avut cea mai mare sensibilitate, urmate aproape de *Porphyromonas gingivalis* ATCC 33277. *Streptococcus mutans* a fost clasificat în centrul speciilor bacteriene testate. Dintre speciile examinate, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 a avut cea mai mică inhibiție a creșterii sub tratamentul aplicat.

Atunci când se iau în considerare atât eficacitatea de remineralizare, cât și cea antibacteriană, pasta de dinți P5 iese în evidență ca o opțiune convingătoare datorită activității sale moderate antibacteriene și potențialului său bun de remineralizare.

## CAPITOLUL 9. NANOCOMPOZIT PE BAZĂ DE HIDROXIAPATITĂ ȘI ARGINT CU ACTIVITATE ANTIBACTERIANĂ

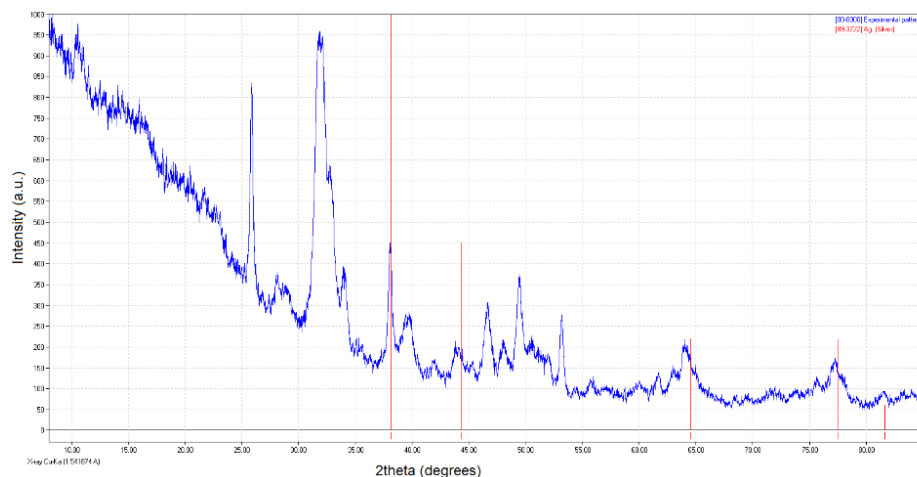
Această lucrare prezintă un nanocompozit realizat din hidroxiapatită (HAP) și nanoparticule de argint (AgNPs), denumit HAP-4,5% AgNPs. HAP a fost pregătită folosind o tehnică de precipitare în mediu umed, iar AgNPs au fost obținute prin reducerea azotatului de argint cu glucoza într-un mediu bazic. HAP, AgNPs și nanocompozitul HAP-4,5% AgNPs au fost caracterizate prin difracție de raze X (XRD), microscopie electronică cu scanare (SEM) - spectroscopie cu raze X (EDS) și diferite metode imagistice: TEM și AFM.



**Figura. 1.** Spectru UV-Vis pentru dispersia apoasă de AgNPs (A) și imagine TEM pentru AgNPs (B); bara de scară este de 100 nm. Diametrul mediu al AgNPs este de aproximativ 13 nm. Valoarea potențialului zeta pentru AgNPs este negativă, -39 mV, asigurând o stabilitate electrostatică ridicată a dispersiei AgNPs.

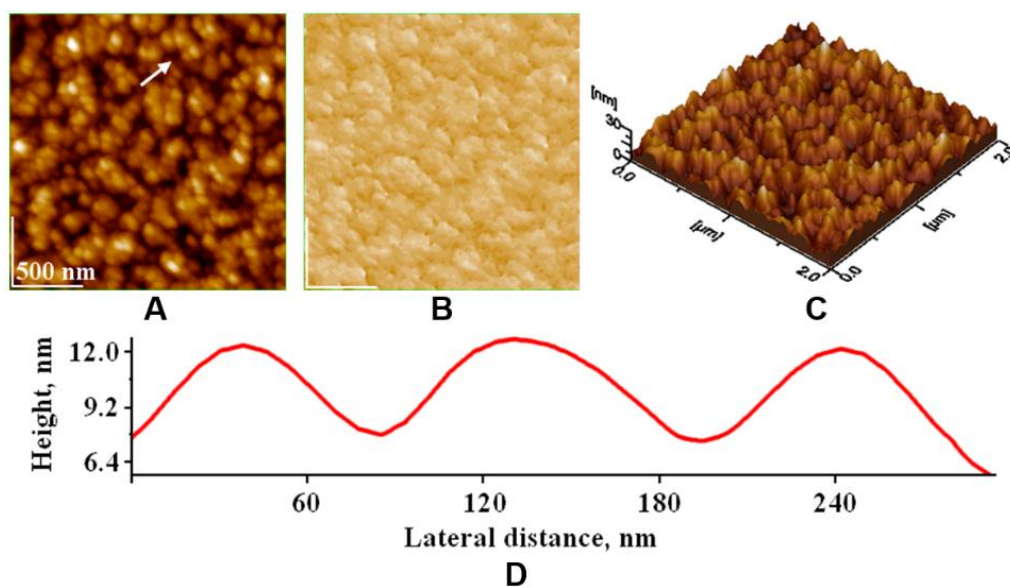
Spectrul UV-Vis al dispersiei conținând AgNPs prezintă banda specifică de absorbție SPR a Ag, cu un maxim la 405 nm (Fig. 1A). Spectrul nu s-a schimbat în decurs de 1 an, evidențiind astfel stabilitatea ridicată a dispersiei AgNPs.

Prezența argintului cristalin este evidențiată în Figura 2 pentru HAP-4.5% Ag, unde apar liniile pentru argint din PDF 89-3722. Poziția lor este în concordanță cu cea găsită pentru particulele de nanoargint [56] pentru planurile (111), (200), (220), (311) și (222) ale Ag, corespunzând maximelor la valorile unghiului  $2\theta$  de 38,32, 44,50, 64,61, 77,54 și 81,68°, respectiv. În Figura 2, difracția cea mai intensă a argintului (planul (111)) în HAP-4.5% Ag apare distinct, în timp ce celelalte linii de difracție ale Ag sunt parțial suprapuse pe maximele de difracție ale HAP.



**Figura. 2.** Modelul XRD pentru HAP-4.5% Ag comparat cu PDF 89-3722 pentru Ag (liniile roșii verticale)

Imaginile AFM pentru nanocompozitul HAP-4.5% Ag, pe eșantion obținut prin adsorbție pe placă de sticlă, sunt prezentate în Figura 4. După cum arată imaginile AFM (A, B și C) și din profilul secțiunii transversale (D), dimensiunea medie a particulelor este de  $54 \text{ nm} \pm 8 \text{ nm}$  în acest nanocompozit.



**Figura 4.** Imagini AFM ale nanocompozitului HAP-4.5 wt% AgNPs adsorbit pe o placă de sticlă: A) imagine topografică, B) imagine a amplitudinii, C) imagine 3D și D) profil pe săgeata albă din imaginea (A). Zonă scanată  $2 \mu\text{m} \times 2 \mu\text{m}$ . Înălțimea maximă 30 nm, rugozitatea suprafeței evaluată ca medie pătratică a rădăcinii,  $R_{\text{rms}} = 4.8 \text{ nm}$ . Diametrul mediu al particulelor este determinat din mai multe profiluri (cel puțin 10) ca fiind de  $54 \text{ nm} \pm 8 \text{ nm}$ .



În concluzie, s-a dezvoltat eficient o tehnică simplă pentru sintetizarea nanocompozitului HAP-AgNPs cu un conținut de argint de 4,5%. Utilizând XRD, SEM-EDS, TEM și AFM, s-au verificat caracteristicile morfologice și compoziționale ale nanocompozitului pregătit. Imaginile TEM, SEM și AFM au arătat dimensiunea și forma particulelor de HAP, cu și fără AgNPs, iar măsurătorile XRD și EDS au confirmat prezența argintului.

Atât tulpinile Gram-negative cât și cele Gram-pozitive au fost distruse de HAP-4,5% AgNPs care a fost investigat. Aceste constatări implică faptul că compozitul nostru ar putea fi considerat un material antibacterian și că ar putea fi utilizat în stomatologie și în implanturi ortopedice.

## CAPITOLUL 10. CONCLUZII GENERALE

1, Activitatea de cercetare s-a bazat pe numeroase tehnici de lucru cum ar fi: difracția de raze X (XRD), spectroscopia FTIR, microscopie electronică cu scanare (SEM) - spectroscopie cu raze X (EDS). Structura chimică a fost verificată prin microscopie electronică cu dispersie de energie a razelor X (SEM-EDX). Detaliile legate de forma acestor materiale biocompatibile au fost evidențiate prin tehnici de imagistică, cum ar fi microscopia electronică de transmisie (TEM), microscopia electronică de baleiaj (SEM) și microscopia de forță atomică (AFM). Procesul de eliberare a elementelor în apă a fost urmărit folosind spectrometria de emisie optică cu plasmă cuplată inductiv (ICP-OES). Activitatea antibacteriană a fost evaluată folosind testul de difuzie cu discuri în agar, o metodă standardizată a susceptibilității antimicrobiene care implică măsurarea diametrelor zonei de inhibiție

2. Pe baza informațiilor de ultimă oră privind tehnologiile inovative aplicate în domeniul biomedical se poate concluziona faptul că produsele de îngrijire orală necesită în continuare studii aprofundate care să le mărească eficiența. Cercetarea din spatele acestor noi produse se concentrează mai mult pe eficacitate decât pe eficiența reală, lipsind comparațiile adecvate și fiind rar confirmată prin studii clinice controlate. Deși există o varietate mare de metode de cercetare, surse de date și instrumente analitice disponibile, s-au realizat doar câteva analize comparative între produse diferite, iar multe dintre rezultate sunt controversate. Principalele probleme în acest domeniu sunt legate de insuficiența sau lipsa totală a dovezilor riguroase pentru multe dintre produsele nou dezvoltate, precum și de faptul că accesul la astfel de produse noi este prohibitiv din punct de vedere financiar pentru o mare majoritate a populației.

3. În experimentele efectuate privind eliberarea componentelor în soluții apoase în structura hidroxiapatitei (HAP), au fost introduse elemente de substituție, cu efecte biologice semnificative, potrivit cercetărilor fizico-chimice realizate. O concentrație mai mare de stronțiu în structura HAP a afectat eliberarea acestuia atât în apă, cât și în lichidul corporal simulat (SBF). S-a observat, de asemenea, o tendință de formare a unei hidroxiapatite biomimetice noi în SBF.

4. În experimentul privind producerea pastelor de dinți care conțin hidroxiapatită sintetică stoichiometrică, s-a constatat faptul că HAP multi-substituită, este cea mai eficientă în compoziția pastei de dinți, conducând la modificări morfologice stabile ale suprafeței smalțului dentar. În cele zece zile de tratament, leziunile demineralizate ale smalțului au fost remineralizate în totalitate, după cum arată investigațiile AFM. Aceste paste de dinți pot fi utilizate ca agenți potențiali pentru remineralizarea suprafeței smalțului. Nanoparticulele ceramice sintetice s-au aranjat în mod regulat în cadrul unui strat protector neted de pe suprafața smalțului, asigurând o rugozitate a suprafeței redusă, apropiată de cea a smalțului natural, oferind astfel dovezi suplimentare ale eficacității pastei de dinți.

5. În experimentul privind sinteza de forsterit se poate concluziona faptul că alegerea căii de sinteză poate influența caracteristicile pulberii finale - forma și dimensiunea nanoparticulelor,

distribuția și tendința de aglomerare, ceea ce, la rândul lor, afectează omogenitatea microstructurală a unui material ceramic și limitează astfel aplicațiile potențiale. Forsteritul a fost sintetizat cu succes prin metoda sol-gel (FSsg) și prin metoda precipitării (FSpp), conducând la nanoparticule mai mici (30 nm) prin metoda precipitării în comparație cu nanoparticulele (40 nm) obținute prin metoda sol-gel.

6. În experimentul de obținere și de testare a pastelor de dinți biomimetice cu o concentrație redusă (3,7%) de hidroxiapatită a fost pus în evidență faptul că pasta de dinți P3, cu hidroxiapatită tetrasubstituită (HAP-Mg-Zn-Sr-Si), a avut cel mai bun rezultat în ceea ce privește remineralizarea smalțului uman, comparativ cu celelalte paste de dinți (P1 și P4), având aproximativ aceeași eficiență de remineralizare ca pasta de dinți P2 după 10 zile de tratament. Particulele nanométrice (cu o dimensiune medie de aproximativ 30 nm pentru HAP) au prezentat un potențial mare în procesul de remineralizare prin acoperirea regiunilor cu leziuni ale smalțului. Toate rezultatele tratării smalțului uman timp de 10 zile cu fiecare dintre pastele de dinți P1-P4 ne conduc la ideea că aceste paste de dinți pot fi folosite cu succes pentru tratarea cariilor dentare incipiente și a smalțului demineralizat artificial.

7. Într-o etapă ulterioară a cercetării efectul de remineralizare a fost testat într-un interval de 30 de zile remarcându-se faptul că după 10 zile de tratament, se produce o normalizare a nanostructurii smalțului uman artificial demineralizat, cu valori RMS aproape comparabile cu cele ale smalțului natural sănătos. O mai bună acoperire a suprafețelor smalțului poate fi observată prin prelungirea duratei tratamentului, urmată de o consolidare a nanoparticulelor de HAP produse pe suprafața smalțului. Rezultatele au arătat că toate cele patru formule de pastă de dinți au avut caracteristici excelente de restaurare a smalțului. Interesant. La sfârșitul perioadei de tratament de 30 de zile, toate cele patru paste de dinți experimentale au dus la o remineralizare completă a smalțului artificial demineralizat. Factorii morfologici care, împreună cu rugozitatea suprafeței, pot descrie eficacitatea tratamentului de remineralizare a smalțului includ forma și dimensiunea nanoparticulelor de HAP care au remineralizat suprafața smalțului, regularitatea cu care sunt depuse pe suprafață și compactarea straturilor depuse.

8. AFM s-a dovedit a fi o tehnică eficientă pentru investigarea procesului de remineralizare a smalțului uman, atât în ceea ce privește modificările morfologice și structurale, cât și măsurătorile rugozității suprafeței.

9. Morfologia suprafeței eșantioanelor studiate arată dispersia omogenă a nanoparticulelor globulare de HAP pe suprafețele de smalț, cu dimensiuni diferite pentru diferite tratamente. Analiza statistică a rugozității relevă schimbări semnificative între variantele experimentale, demonstrând că tratamentele cu pastă de dinți sunt eficiente în remineralizarea smalțului. Ordinea de clasificare a eficacității în acest proces este:  $PC = P2 = P3 > P4 > P1$ , reflectând capacitatea nanoparticulelor de HAP de dimensiuni mici de a penetra porii smalțului și de a repara deteriorările microstructurale. Ionii substituiți eliberați de structura modificată a HAP contribuie, de asemenea, la restaurarea smalțului, crescându-i rezistența.

10. În ceea ce privește acțiunea antimicrobiană, experimentele dezvăluie cum diferite tulpini bacteriene reacționează la compozițiile diferite ale pastelor de dinți. Se remarcă variații

semnificative în inhibiția creșterii bacteriene, atribuite prezenței de metaboliți secundari în extractul de mesteacăn. Dintre speciile bacteriene examinate, *Enterococcus faecalis* ATCC 29212 și *Escherichia coli* ATCC 25922 au avut cea mai mare sensibilitate, urmate aproape de *Porphyromonas gingivalis* ATCC 33277. *Streptococcus mutans* a fost clasificat în centrul speciilor bacteriene testate. Dintre speciile examinate, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 a avut cea mai mică inhibiție a creșterii sub tratamentul aplicat.

11.A fost selectată varianta de compoziție de pastă de dinți optimă pentru realizarea concomitentă a acțiunii de remineralizare și antibacteriană, care conține HAP substituit cu zinc și extract de mesteacăn 1.3%.

12. În etapa finală s-a dezvoltat eficient o tehnică simplă pentru sintetiza nanocompozitului HAP-AgNPs cu un conținut de argint de 4,5% care are efect antibacterian demonstrat împotriva tulpinilor de *Bacillus cereus* și *Salmonella typhimurium*. Aceste constatări implică faptul că compozitul nostru ar putea fi considerat un material antibacterian și că ar putea fi utilizat în stomatologie și în implanturi ortopedice.

## CAPITOLUL 11. ACTIVITATEA DE CERCETARE ȘTIINȚIFICĂ

### Listă articole publicate

S-a publicat 6 articole ISI în reviste științifice de profil, 4 lucrări BDI, un capitol de carte cu Factor de impact cumulativ: 5.835

Total citări 12, h-index 2; Google Scholar:

<https://scholar.google.com/citations?user=cx7f380AAAAJ&hl=en&oi=ao>

#### Lista articole publicate ISI

1. Cadar, O., Balint, R., Tomoaia, G., **Florea, D.**, Petean, I., Mocanu, A., Horovitz, O. and Tomoaia-Cotisel, M. Behaviour of multisubstituted hydroxyapatites in water and simulated body fluid. Stud. Univ. Babes-Bolyai, Chem., 62, 269-281, 2017. **I.F. 0.305**
2. **D. A. Florea**, C. Dobrota, R. Carpa, S. Riga, M. Tomoaia-Cotisel. Current status and trends in oral health care technologies. a perspective review. International Journal of Medical Dentistry, 26(1), 38-50, 2022. **I.F. 0.887**
3. A. Avram, **D. Florea**, F. Goga, M. Gorea, A. Mocanu, Gh. Tomoaia, I. Petean, A.-Z. Kun, O. Horovitz, M. Tomoaia-Cotisel. Mechanism in the synthesis of fosterite nanoparticles based on thermodynamic approach. Stud. Univ. Babes-Bolyai, Chem, 68(2), 37-51. 2023. **I.F. 0.3**
4. **D.A. Florea**, A. Mocanu, L.C. Pop, Gh. Tomoaia, C.-T. Dobrota, C. Varhelyi Jr, M. Tomoaia-Cotisel. Remineralization of tooth enamel with hydroxyapatite nanoparticles: an in vitro study. Stud. Univ. Babes-Bolyai, Chem., 68(2), 99-113, 2023 **I.F. 0.3**
5. A. Mocanu, **D. A. Florea**, Gh. Tomoaia, L.-C. Pop, A. Danistean, S. Rapuntean, O. Horovitz, M. Tomoaia-Cotisel. Nanocomposite based on hydroxyapatite and silver with antibacterial activity. Stud. Univ. Babes-Bolyai, Chem., 68(2), 7-18, 2023, in press **I.F. 0.3**
6. **A.-D. Florea**, L. C. Pop, H.-R.-C. Benea, Gh. Tomoaia, C.-P. Racz, A. Mocanu, C.-T. Dobrota, R. Balint, O. Soritau, M. Tomoaia-Cotisel. Remineralization induced by biomimetic hydroxyapatite toothpastes on human enamel. Biomimetics, Manuscript ID:2590006, in press **I.F. 3.743 Q1**

#### Listă articole publicate BDI:

7. A. Avram, A. Mocanu, Gh. Tomoaia, C.L. Rosoiu, C.T. Dobrota, D.A. **Florea, M.** Tomoaia-Cotisel, “Unveiling the Complexity of Red Blood Cells: Insights into Structure, Properties and Functions”, Academy of Romanian Scientists Annals Series on Biological Sciences, 12(1), 129-154, 2023. <https://doi.org/10.56082/annalsarscibio.2023.1.129>

8. G.-A. Paltinean, **D. A. Florea**, Gh. Tomoaia, S. Riga, S. Rosoiu, A. Mocanu, M. Tomoaia-Cotisel, ‘Perspectives of oral dental care’, Academy of Romanian Scientists Annals Series on Biological Sciences, 11(2), 140-159, 2022.

9. R. Balint, G. A. Paltinean, **D. A. Florea**, Gh. Tomoaia, A. Mocanu, M. Tomoaia-Cotisel. ‘Biomimetic and antibacterial composite for orthopedic implants’, Academy of Romanian Scientists Annals Series on Biological Sciences, 11(1), 120-145, 2022. <https://doi.org/10.56082/annalsarscibio.2022.1.120>

## CAPITOL DE CARTE

**10. D. A. Florea**, M. Tomoaia-Cotisel and C. T. Dobrota, ‘‘Use of Betula species extracts in therapeutic and preventive oral health care’’, Chapter 5, in Betula: Ecology and uses, Ed. Carl T. Bertelsen, Nova Science Publishers, Inc., New York, USA, pp. 137-162 (2020) ISBN: 978-1-53617-802-9.

## Listă de comunicări la simpozioane

Diseminarea rezultatelor științifice din Teza de Doctorat s-a realizat în 11 *prezentări orale* la conferințele naționale de la Academia Oamenilor de Știință din România [1-11],

**1. D.A. Florea**, C.T. Dobrota, R. Carpa, A. Mocanu, M. Tomoaia-Cotisel, RO: ‘‘ Tendințe în tehnologiile de îngrijire orală’’ / ENG: ‘‘ Trends in oral care technologies’’, Prezentare Orala, Academia Oamenilor de Stiinta din Romania, Conferința Științifică de Toamnă ‘‘Tradiții și progrese în știința românească’’, 18-19 noiembrie 2021, secțiunea Biologie, on-line platforma Zoom, Volum de rezumate, pag. 58 (2021)

**2. D.A. Florea**, C.T. Dobrota, S. Riga, G. Tomoaia, A. Mocanu, M. Tomoaia-Cotisel, RO: ‘‘ Nanomateriale avansate: tehnologie inovatoare utilizată în cercetarea stomatologică’’ / ENG: ‘‘ Advanced Nanomaterials: Innovative Technology Used in Dentistry Research’’, Prezentare Orala, Academia Oamenilor de Stiinta din Romania, Conferința Științifică de Toamnă ‘‘Tradiții și progrese în știința românească’’, 18-19 noiembrie 2021, secțiunea Medicina, on-line platforma Zoom, Volum de rezumate, pag. 77-78 (2021)

**3. C.T. Dobrota**, **D.A. Florea**, R. Carpa, Gh. Tomoaia, A. Mocanu, M. Tomoaia-Cotisel, ‘‘Therapeutic Formulations containing plant secondary metabolites used to increase the efficiency of antibiotics’’, Virtual International Scientific Conference on ‘‘Applications of Chemistry in Nanosciences and Biomaterials Engineering’’ NanoBioMat 2022 – Summer Edition, 22-24 June 2022. Oral presentation on Session II, Natural Bioactive Compounds, on line platforma TEAMS (2022).

**4. D.A. Florea**, C.T. Dobrota, Gh. Tomoaia, A. Mocanu, A. Avram, C.-P. Racz, L.Z. Racz, S. Riga, M. Tomoaia-Cotisel, RO: “Perspective in degradarea smalțului dentar prin microscopie cu forță atomică” / ENG: “Insights into Tooth Enamel Degradation through Atomic Force Microscopy”, Prezentare Orala, Academia Oamenilor de Stiinta din Romania, Conferința Științifică Națională de Primăvară „ Transformarea digitală în științe”, 19-20 mai 2023, secțiunea Biologie, on-line platforma Zoom, Volum de rezumate, pag. 92-93 (2023).

**5. D.A Florea**, C.T. Dobrota, Gh. Tomoaia, A. Avram, A. Mocanu, A. Mocanu, O. Horovitz, T. Mocan, M. Tomoaia-Cotisel, RO: “Explorarea AFM a legăturilor interfaciale a prismelor de hidroxiapatită și a unităților proteice pe smalțul dentar uman ” / ENG: “The Interfacial Bonding of Hidroxyapatite Prisms and Protein Units on Human

**6. D.A Florea**, C.T. Dobrota, Gh. Tomoaia, A. Avram, A. Mocanu, A. Mocanu, O. Horovitz, T. Mocan, M. Tomoaia-Cotisel, RO Teeth Enamel, Explored by AFM”, Prezentare Orala, Academia Oamenilor de Stiinta din Romania, Conferința Științifică Națională de Primăvară „ Transformarea digitală în științe”, 19-20 mai 2023, secțiunea Biologie, on-line platforma Zoom, Volum de rezumate, pag. 107-108 (2023).

**7. D.A. Florea**, Gh. Tomoaia, C.T. Dobrota, A. Mocanu, A. Avram, O. Horovitz, O. Soritau, M. Tomoaia-Cotisel, RO: “Remineralizarea smalțului dentar uman cu paste de dinți care conțin hidroxiapatite și agenți antimicrobieni naturali ” / ENG: “Remineralization of Human Teeth Enamel with Toothpastes Comprising Hydroxyapatites and Antimicrobial Natural Agents”, Prezentare Orala, Academia Oamenilor de Stiinta din Romania, Conferința Științifică Națională de Primăvară „ Transformarea digitală în științe”, 19-20 mai 2023, secțiunea Biologie, on-line platforma Zoom, Volum de rezumate, pag. 108-109(2023).

**8. D.A. Florea**, Gh. Tomoaia, C.T. Dobrota, L.C. Pop, A. Mocanu, O. Horovitz, T. Mocan, A. Avram, M. Tomoaia-Cotisel, RO: “Restaurări ceramice pentru smalțul dentar uman” / ENG: “Ceramic Restoration for Human Teeth Enamel”, Prezentare Orala, Academia Oamenilor de Stiinta din Romania, Conferința Științifică Națională de Primăvară „ Transformarea digitală în științe”, 19-20 mai 2023, secțiunea Biologie, on-line.

**9. D.A. Florea**, C.T. Dobrota, A. Avram, Gh. Tomoaia, H.-R.-C. Benea, C.L. Rosoiu, A. Mocanu, M. Tomoaia-Cotisel, RO: “Efectul nanohidroxiapatitelor asupra remineralizării in vitro a leziunilor smaltului uman”, ENG: “The effect of nano-hydroxyapatites on in vitro remineralization of human teeth enamel lesions”, Prezentare Orala, Academia Oamenilor de Stiinta din Romania, Conferința Științifică Națională de Toamnă “Știința pentru o societate sănătoasă”, 21-23 septembrie 2023, secțiunea Biologie, on-line, platforma Zoom

**10. D.A. Florea**, C.T. Dobrota, C.L. Rosoiu, Gh. Tomoaia, A. Avram, A. Mocanu, M. Tomoaia-Cotisel, RO: “Proprietățile antibacteriene ale formulărilor de paste de dinți cu un conținut de

hidroxiapatită și extract de mesteacăn”, ENG: “The antibacterial properties of toothpaste formulations comprising hydroxyapatite and birch extract”, Prezentare Orala, Academia Oamenilor de Stiinta din Romania, Conferința Științifică Națională de Toamnă “Știința pentru o societate sănătoasă”, 21-23 septembrie 2023, secțiunea Biologie, on-line, platforma Zoom.

**11. D.A. Florea**, Gh. Tomoaia, S. Riga, H.-R.-C. Benea, A. Avram, C.T. Dobrota, T. Mocan, A. Mocanu, M. Tomoaia-Cotisel, RO: “Eficiența diferitelor paste de dinți pe bază pe hidroxiapatite biomimetice în remineralizarea smalțului uman”, ENG: “Human enamel remineralization efficiency of various toothpastes based on biomimetic hydroxyapatites”, Prezentare Orala, Academia Oamenilor de Stiinta din Romania, Conferința Științifică Națională de Toamnă “Știința pentru o societate sănătoasă”, 21-23 septembrie 2023, secțiunea Științe Medicale, on-line, platforma Zoom.

### **Lista proiecte de cercetare științifică**

Doctoranda **Florea Alexandra-Diana** a participat la 1 **proiect de cercetare științifică** realizat în Centrul de Cercetare Științifică în Chimie Fizică, condus de Director, Prof. Univ. Dr. Maria Tomoaia-Cotisel, Facultatea de Chimie și Inginerie Chimică; din cadrul Universității Babeș-Bolyai din Cluj-Napoca: **Contract PN2 Perteneriat 241/2017** Dezvoltare de nanomaterials inovative bazate pe nanotehnologie avansată cu aplicații în profilaxia dentară și a bolilor paradontale, **InovaMat** Coordonator: Universitatea Babeș-Bolyai, Director: Conf. Dr. Aurora Mocanu.

### **Membru în Centrul de Cercetare Științifică în Chimie Fizică**

Doctoranda **Florea Alexandra-Diana** este membru în Centrul de Cercetare Științifică în Chimie Fizică, CECHIF, din 2016, și a beneficiat de echipamentele strategice și facilitățile din laboratoarele CECHIF precum și de ajutorul de înalt profesionalism al Dnei Prof. Maria Tomoaia-Cotisel, conducător de doctorat.

Prof. Univ. Dr. M. Tomoaia-Cotișel este Fondatorul (2006) și Directorul (2006-prezent) Centrului de Cercetare Științifică în Chimie Fizică, CECHIF-STAR-UBB, Facultatea de Chimie și Inginerie Chimică din cadrul Universității Babeș-Bolyai din Cluj-Napoca.



## Bibliografie selectivă

1. Habelitz S, Bai Y. Mechanisms of Enamel Mineralization Guided by Amelogenin Nanoribbons. *Journal of Dental Research*. 2021;100(13):1434-1443. doi:[10.1177/00220345211012925](https://doi.org/10.1177/00220345211012925)
2. Hu JC-C, Hu Y, Lu Y, Smith CE, Lertlam R, Wright JT, et al. Enamelin Is Critical for Ameloblast Integrity and Enamel Ultrastructure Formation. *PLoS ONE*, 2014, 9(3): e89303. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0089303>
3. Vaissier Welborn V. Enamel synthesis explained. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2020 Sep 8;117(36):21847-21848.
4. Li, P. C. Oh, H. Kim, M. Chen-Glasser, G. Park, A. Jetybayeva, J. Yeom, H. Kim, J. Ryu, S. Hong, Nanoscale effects of beverages on enamel surface of human teeth: An atomic force microscopy study, *Journal of the Mechanical Behavior of Biomedical Materials*, 2020, 110, 103930 (2020). <https://doi.org/10.1016/j.jmbbm..103930>
5. Swietlica, E. Tomaszewska, S. Muszynski, T. Skrzypek, W. Grudzinski, W.I. Gruszecki, D. SwKaminski, M. Hulas-Stasiak, M. Arczewska, Surface and structural studies of age-related changes in dental enamel: an animal model, *Materials*, 2022,15, 3993. <https://doi.org/10.3390/ma15113993>
6. Lechien, J. R. *et al.* Reflux and dental disorders in the pediatric population: A systematic review. *Int. J. Pediatr. Otorhinolaryngol.* **136**, 110166. <https://doi.org/10.1016/j.ijporl.2020.110166> (2020).
7. Tinanoff, N. Dental caries. In *Pediatric Dentistry* (eds Nowak, A. J. *et al.*) 169–179 (Elsevier, 2019). <https://doi.org/10.1016/B978-0-323-60826-8.00012-2>
8. Lombardini, M. Ceci, M.,Colombo, M., Bianchi, S.,and Poggio,C., “Preventive effect of different toothpastes on enamel erosion: AFM and SEM studies,” *Scanning*, vol. 36, no. 4, pp. 401–410, 2014.
9. West, N. Seong, J. Hellin, N. Eynon, H. Barker, M., He, T.,“A clinical study to measure anti-erosion properties of a stabilized stannous fluoride dentifrice relative to a sodium fluoride/triclosan dentifrice,” *International Journal of Dental Hygiene*, 2017,vol. 15, no. 2, pp. 113–119.
10. Kassebaum, N.J., Smith, A.G.E. Bernabé, T.D. Fleming, A.E. Reynolds, T. Vos, C.J.L. Murray, W. Marcenes, G.Y. Abyu, U. Alsharif, H. Asayesh, H. Benzian, L. Dandona, R. Dandona, A. Kasaeian, Y.S. Khader, Y.H. Khang, Y. Kokubo, G.A. Kotsakis, R. Lalloo, A. Misganaw, P. Montero, M. Nourzadeh, C. Pinho, M. Qorbani, M.J.R. Blancas, M. Sawhney, C. Steiner, J. Traebert, S. Tyrovolas, K.N. Ukwaja, S.E. Vollset, N. Yonemoto, Global, regional, and national prevalence, incidence, and disability-adjusted life years for oral conditions for 195 countries, 1990-2015: a systematic analysis for the global burden of diseases, injuries, and risk factors, *J. Dent. Res.* 96 2017, 380–387, <https://doi.org/10.1177/0022034517693566>.
11. Florea, D.A., Dobrotă C.T., Carpa, R., Riga, S., Tomoaia-Cotișel, M., 2022, Current status and trends in oral health care technologies. A perspective review. *International Journal of Medical Dentistry*, 26 (1), 38-50.
12. Bijle MNA, Ekambaram M, Lo EC, Yiu CKY. The combined enamel remineralization potential of arginine and fluoride toothpaste. *J Dent*. 2018 Sep;76:75-82.
13. Ionescu, A. C., Cazzaniga, G., Ottobelli, M., Garcia-Godoy, F. & Brambilla, E. Substituted Nano-Hydroxyapatite toothpastes reduce biofilm formation on enamel and resin-based composite surfaces. *J. Funct. Biomater.* **11**(2), 36. <https://doi.org/10.3390/jfb11020036> (2020).
14. Paltinean G.A., Florea D.A., Tomoaia, G., Riga, S.,Rosoiu, S., Mocanu A., Tomoaia-Cotisel, M., Perspectives of oral dental care, *Academy of Romanian Scientists Annals - Series on Biological Sciences*, Vol. 11, No.2, 2022, pp. 140-159.
15. Florea, D. A., Mocanu,A.; Pop, L.C.; Tomoaia,G.; Dobrota, C.T.; Varhely Jr., Cs.; Tomoaia-Cotisel, M., Remineralization of tooth enamel with hydroxyapatite nanoparticles: an in vitro study. *Studia Universitatis Babeș-Bolyai, Chemia* . 2023, Vol. 68 Issue 2, p99-113.
16. Oltean-Dan, D.; Dogaru, G.B.; Tomoaia-Cotisel, M.; Apostu, D.; Mester, A.; Benea, H.R.C.; Paiusan, M.G.; Jianu, E.M.; Mocanu, A.; Balint, R.; Popa, C.O.; Berce, C.; BodiZs, G.I.;Toader, A.M.; Tomoaia, Gh. Enhancement of bone consolidation using high-frequency pulsed electromagnetic short-waves and titanium implants coated with biomimetic composite embedded into PLA matrix: in vivo evaluation. *Int. J. Nanomed.* 2019, 14, 5799—5816. <https://doi.org/10.2147/IJN.S205880>
17. Oltean-Dan, D.; Dogaru,G.-B.; Jianu, E.-M.; Riga, S.; Tomoaia-Cotisel, M.; Mocanu, A.; Barbu-Tudoran, L.; Tomoaia, Gh. Biomimetic composite coatings for activation of titanium implant surfaces: methodological approach and in vivo enhanced osseointegration. *Micromachines* 2021, 12(11), 1325. <https://www.mdpi.com/2072-666X/12/11/1325#>
18. Hemagaran G. Remineralisation of the tooth structure—the future of dentistry. *Int J PharmTech Res* 2014;6(2):487–493.
19. Naveena Preethi P, Nagarathana C, et al. Remineralising agent—then and now—an update. *Remineralising agent—then and now—an update. Dentistry* 2014;4(9):1–5.

20. Feldens, C.A., Ardenghi, T.,A.I. Dos Santos Dullius, F. Vargas-Ferreira, P.A.G. Hernandez, P.F. Kramer, Clarifying the impact of untreated and treated dental caries on oral health-related quality of life among adolescents, *Caries Res.* 50 (2016) 414–421, <https://doi.org/10.1159/000447095>.
21. BaniHani, A., Deery, C.,J. Toumba, T. Munyombwe, M. Duggal, The impact of dental caries and its treatment by conventional or biological approaches on the oral health-related quality of life of children and carers, *Int. J. Paediatr. Dent.* 28 (2018) 266–276, <https://doi.org/10.1111/ipd.12350>
22. Arifa, M.K.,R. Ephraim, T. Rajamani, Recent advances in dental hard tissue remineralization: a review of literature, *International Journal of Clinical Pediatric Dentistry*, 12(2), 139-144 (2019). <https://doi.org/10.5005%2Fjfp-journals-10005-1603>
23. Dogan, S., Fong, H., Yucesoy, D.T., Cousin, T., Gresswell, C., Dag, S., Huang, G.,and Sarikaya M., Biomimetic Tooth Repair: Amelogenin-Derived Peptide Enables in Vitro Remineralization of Human Enamel, *ACS Biomaterials Science & Engineering* 2018 4 (5), 1788-1796, DOI: 10.1021/acsbomaterials.7b00959
24. Balint, R., Paltinean G.A., Florea D.A., Tomoaia, G., Mocanu A., Tomoaia-Cotisel, M., Biomimetic and antibacterial composite for orthopedic implants. *Academy of Romanian Scientists Annals - Series on Biological Sciences*, Vol. 11, No.1, (2022) pp. 120-145 Online ISSN 2285 – 4177.
25. Avram, A., Florea, D.A., Goga, D., Goream F.,Mocanu A., Tomoaia, G., Petean, I., Kun, A., Horovitz, O., Tomoaia-Cotișel, M., Mechanisms in the synthesis of forsterite nanoparticles based on thermodynamic approach. *Studia Universitatis Babeș-Bolyai, Chemia* . 2023, Vol. 68 Issue 2, p37-51.
26. Tomoaia, Gh.; Mocanu, A.; Vida-Simiti, I.; Jumate, N.; Bobos, L.-D.; Soritau, O.; Tomoaia-Cotisel, M. Silicon effect on the composition and structure of nanocalcium phosphates. In vitro biocompatibility to human osteoblasts. *Mater. Sci. Eng. C* 2014, 37, 37–47. <https://doi.org/10.1016/j.msec.2013.12.027>
27. Garbo, C.; Sindilaru, M.; Carlea, A.; Tomoaia, G.; Almasan, V.; Petean, I.; Mocanu, I.; Horovitz, O.; Tomoaia-Cotisel, M. Synthesis and structural characterization of novel porous zinc substituted nanohydroxyapatite powders. *Part. Sci. Technol.* 2017, 35(1), 29-37. <https://doi.org/10.1080/02726351.2015.1121180>.
28. Mocanu, A.; Pasca, R.D.; Tomoaia, Gh.; Garbo, C.; Frangopol, P.T.; Horovitz, O.; Tomoaia-Cotisel, M. New procedure to synthesize silver nanoparticles and their interaction with local anesthetics. *Int. J. Nanomed.* **2013**, 8, 3867-3874. <https://doi.org/10.2147/ijn.s51063>
29. Li X. The remineralisation of enamel: a review of the literature. *J Dent* 2014;42:S12–S20. DOI: 10.1016/S0300-5712(14)50003-6.
30. Zalite, V., Locs, J., 2016. Characterization and Preparation of Calcium Phosphate Model Toothpaste for Tooth Enamel Remineralization. *KEM* 721, 213–218. <https://doi.org/10.4028/www.scientific.net/kem.721.213>
31. Amin M, Mehta R, et al. Evaluation of the efficacy of commercially available nano-hydroxyapatite paste as a desensitising agent. *Adv Oral Biol* 2015;5(1):34–38.
32. Amaechi BT, Mathews SM, et al. Effect of theobromine containing tooth paste on dentin tubule occlusion *in situ* . *Clin Oral Invest* 2015;19(1):109–116. DOI: 10.1007/s00784-014-1226-1.
33. de Carvalho FG, Vieira BR, Santos RLD, Carlo HL, Lopes PQ, de Lima BASG. In Vitro Effects of Nano-hydroxyapatite Paste on Initial Enamel Carious Lesions. *Pediatr Dent.* 2014 Jun 15;36(3):85-89. PMID: 28978373.
34. Shaffiey R., Shaffiey, S.,“Surface enamel remineralization by biomimetic nano hydroxyapatite crystals and fluoride ions effects,” *Journal of Ceramic Processing Research*, 2016vol. 17, no. 2, pp. 109–112,.
35. Lombardini, M. Ceci, M. Colombo, S. Bianchi, and C. Poggio, “Preventive effect of different oothpastes on enamel erosion: AFM and SEM studies,” *Scanning*, 2014.vol. 36, no. 4, pp. 401–410,
36. Fabritius-Vilpoux, J. Enax, M. Herbig, D. Raabe, and H. O. Fabritius, “Quantitative Affinity Parameters of Synthetic Hydroxyapatite and Enamel Surfaces In Vitro,” *Bioinspired, Biomimetic and Nanobiomaterials*, 2019.vol. 8, no. 2, pp. 141–153.
37. Nobre CMG, Pütz N, Hannig M. Adhesion of Hydroxyapatite Nanoparticles to Dental Materials under Oral Conditions. *Scanning*. 2020 May 5;2020:6065739.
38. Enax J., Epple, M.,“Synthetic hydroxyapatite as a biomimetic oral care agent,” *Oral Health & Preventive Dentistry*, vol. 16, no. 1, pp. 7–19, 2018.
39. Elkassas D., Arafa, A. The innovative applications of therapeutic nanostructures in dentistry,” *Nanomedicine*, 2017, vol. 13, no. 4, pp. 1543–1562.
40. Epple, M.,“Review of potential health risks associated with nanoscopic calcium phosphate,” *Acta Biomaterialia*, vol. 77, pp. 1–14, 2018.
41. Hannig, C., Basche, T. Burghardt, A. Al-Ahmad, and M. Hannig, “Influence of a mouthwash containing hydroxyapatite microclusters on bacterial adherence in situ,” *Clinical Oral Investigations*, vol. 17, no. 3, pp. 805–814, 2013.

42. Haghgoo R, Rezvani MB, Salehi Zeinabadi M, Comparison of nano-hydroxyapatite and sodium fluoride mouthrinse for remineralization of incipient carious lesions *J Dent (Tehran)* 2014 11(4):406-10.
43. Pepla, E.; Besharat, L.K.; Palaia, G.; Tenore, G.; Migliau, G. Nano-hydroxyapatite and its applications in preventive, restorative and regenerative dentistry: A review of literature. *Ann. Stomatol.* 2014, 5, 108–114.
44. Eliaz N., Metoki, “Calcium phosphate bioceramics: a review of their history, structure, properties, Coating Technologies and Biomedical Applications,” *Materials*, vol. 10, no. 4, p. 334, 2017.
45. Anand, S.; Rejula, F.; Sam, J.V.G.; Christaline, R.; Nair, M.G.; Dinakaran, S. Comparative evaluation of effect of nanohydroxyapatite and 8% arginine containing toothpastes in managing dentin hypersensitivity: Double blind randomized clinical trial. *Acta Med. (Hradec Kral.)* 2017, 60, 114–119.
46. Juntavee, A.; Juntavee, N.; Hirunmoon, P. Remineralization potential of nanohydroxyapatite toothpaste compared with tricalcium phosphate and fluoride toothpaste on artificial carious lesions. *Int J. Dent.* 2021, 2021, 5588832.
47. Vano, M.; Derchi, G.; Barone, A.; Pinna, R.; Usai, P.; Covani, U. Reducing dentine hypersensitivity with nano-hydroxyapatite toothpaste: A double-blind randomized controlled trial. *Clin. Oral Investig.* 2018, 22, 313–320.
48. Verma, P.; Muthuswamy Pandian, S. Bionic effects of nano hydroxyapatite dentifrice on demineralised surface of enamel post orthodontic debonding: In-vivo split mouth study. *Prog. Orthod.* 2021, 22, 39.
49. Kasemkhun, P.; Rirattanapong, P. The efficacy of non-fluoridated toothpastes on artificial enamel caries in primary teeth: An in vitro study. *J. Int Soc. Prev. Community Dent.* 2021, 11, 397–401
50. Grewal, N.; Sharma, N.; Kaur, N. Surface remineralization potential of nano-hydroxyapatite, sodium monofluorophosphate, and amine fluoride containing dentifrices on primary and permanent enamel surfaces: An in vitro study. *J. Indian Soc. Pedod. Prev. Dent.* 2018, 36, 158–166.
51. Geeta, R.D.; Vallabhaneni, S.; Fatima, K. Comparative evaluation of remineralization potential of nanohydroxyapatite crystals, bioactive glass, casein phosphopeptide-amorphous calcium phosphate, and fluoride on initial enamel lesion (scanning electron microscope analysis)—An in vitro study. *J. Conserv. Dent.* 2020, 23, 275–279.
52. Joshi, C.; Gohil, U.; Parekh, V.; Joshi, S. Comparative evaluation of the remineralizing potential of commercially available agents on artificially demineralized human enamel: An in vitro study. *Contemp. Clin. Dent.* 2019, 10, 605–613.
53. Manchery, N.; John, J.; Nagappan, N.; Subbiah, G.K.; Premnath, P. Remineralization potential of dentifrice containing nanohydroxyapatite on artificial carious lesions of enamel: A comparative in vitro study. *Dent. Res. J. (Isfahan)* 2019, 16, 310–317.
54. Badiee, M.; Jafari, N.; Fatemi, S.; Ameli, N.; Kasraei, S.; Ebadifar, A. Comparison of the effects of toothpastes containing nanohydroxyapatite and fluoride on white spot lesions in orthodontic patients: A randomized clinical trial. *Dent. Res. J. (Isfahan)* 2020, 17, 354–359.
55. Degli Esposti, L., Ionescu, A. C., Brambilla, E., Tampieri, A. & Iafisco, M. Characterization of a toothpaste containing bioactive hydroxyapatites and in vitro evaluation of its efficacy to remineralize enamel and to occlude dentinal tubules. *Materials* 13(13), 928. <https://doi.org/10.3390/ma13132928> (2020).
56. Garbo, C.; Locs, J.; D'Este, M.; Demazeau, G.; Mocanu, A.; Roman, C.; Horovitz, O.; Tomoaia-Cotisel, M. Advanced Mg, Zn, Sr, Si Multi-Substituted hydroxyapatites for bone regeneration. *Int J Nanomedicine.* 2020, 15, 1037-1058. <https://doi.org/10.2147/ijn.s226630>.
57. Mocanu, A.; Balint, R.; Garbo, C.; Timis, L.; Petean, I.; Horovitz, O.; Tomoaia-Cotisel, M. Low crystallinity nanohydroxyapatite prepared at room temperature. *Stud. Univ. Babeş-Bolyai Chem.* 2017. 62(2), 95-103. <http://dx.doi.org/10.24193/subbchem.2017.2.07>.
58. Mocanu, A.; Cadar, O.; Frangopol, P.T.; Petean, I.; Tomoaia, Gh.; Paltinean, G.A.; Racz, C.P.; Horovitz, O.; Tomoaia-Cotisel, M. Ion release from hydroxyapatite and substituted hydroxyapatites in different immersion liquids: in vitro experiments and theoretical modelling study. *R. Soc. Open Sci.* 2021, 8, 201785. <https://doi.org/10.1098/rsos.201785>.
59. P. li, C. Oh, H. Kim, M. Chen-Glasser, G. Park, A. Jetybayeva, J. Yeom, H. Kim, J. Ryu, S. Hong, Nanoscale effects of beverages on enamel surface of human teeth: An atomic force microscopy study, *Journal of the Mechanical Behavior of Biomedical Materials*, 110, 103930 (2020). <https://doi.org/10.1016/j.jmbbm.2020.103930>
60. Leal, A.M.C.; Beserra Dos Santos, M.V.; da Silva Filho, E.C.; Menezes de Carvalho, A.L.; Tabchoury, C.P.M.; Vale, G.C. Development of an experimental dentifrice with hydroxyapatite nanoparticles and high fluoride concentration to manage root dentin demineralization. *Int. J. Nanomed.* 2020, 15, 7469–7479.
61. Hammad, S.M.; El-Wassefy, N.A.; Alsayed, M.A. Evaluation of color changes of white spot lesions treated with three different treatment approaches: An in-vitro study. *Dent. Press J. Orthod.* 2020, 25, 26–27.
62. Ajami, S.; Pakshir, H.R.; Babanouri, N. Impact of nanohydroxyapatite on enamel surface roughness and color change after orthodontic debonding. *Prog. Orthod.* 2016, 17, 11

63. Porojan, L.; Toma, F.R.; Vasiliu, R.D.; Topală, F.-I.; Porojan, S.D.; Matichescu, A. Optical properties and color stability of dental PEEK Related to artificial ageing and staining. *Polymers* 2021, 13, 4102. <https://doi.org/10.3390/polym13234102>
64. Jagtap, A.M., Kaulage S.R., Shivam S. Kanse, Vishal D. Shelke, Akshata S. Gavade, Ganesh B. Vambhurkar, Rohit R. Todkar, Vidya N. Dange. Preparation and Evaluation of Toothpaste. *Asian J. Pharm. Ana.* 2018; 8(4): 191-194. doi: 10.5958/2231-5675.2018.00035.2
65. Aye Aye Mar, Chaw Su Mon Mon Oo, Study on the Formulation and Characterization of Herbal Toothpaste Mandalay University Research Journal, Vol. 8, 1-10, 2017
66. Muntean, A., Sava, S., Delean, A.G., Mihailescu, A.M., Dumitreascu, L.S. Moldovan, M., Festila, D.G., Toothpaste Composition effect on enamel chromatic and morphological characteristics: in vitro analysis, *Materials*, 12, 2610 (2019). <https://doi.org/10.3390/ma12162610>
67. Epple, M.; Meyer, F.; Enax, J. A critical review of modern concepts for teeth whitening. *Dent. J.* 2019, 7, 79.
68. Limeback, H.; Enax, J.; Meyer, F. Biomimetic hydroxyapatite and caries prevention: A systematic review and meta-analysis. *Can. J. Dent. Hyg.* 2021, 55, 148–159.
69. O’Hagan-Wong, K.; Enax, J.; Meyer, F.; Ganss, B. The use of hydroxyapatite toothpaste to prevent dental caries. *Odontology* 2022, 110, 223–230.
70. Hu, M.L.; Zheng, G.; Lin, H.; Yang, M.; Zhang, Y.D.; Han, J.M. Network meta-analysis on the effect of desensitizing toothpastes on dentine hypersensitivity. *J. Dent.* 2019, 88, 103170.
71. Limeback, H.; Enax, J.; Meyer, F. Clinical evidence of hydroxyapatite in oral care products for reducing dentin hypersensitivity: An updated systematic review and meta-analysis. *Biomimetics* 2023, 8, 23.
72. Chen, L.; Al-Bayatee, S.; Khurshid, Z.; Shavandi, A.; Brunton, P.; Ratnayake, J. Hydroxyapatite in Oral Care Products- A Review. *Materials* 2021, 14, 4865.
73. Sarembe, S.; Enax, J.; Morawietz, M.; Kiesow, A.; Meyer, F. In vitro whitening effect of a hydroxyapatite-based oral care gel. *Eur. J. Dent.* 2020, 14, 335–341.
74. Amaechi, B.T.; Lemke, K.C.; Saha, S.; Luong, M.N.; Gelfond, J. Clinical efficacy of nanohydroxyapatite-containing toothpaste at relieving dentin hypersensitivity: An 8 weeks randomized control trial. *BDJ Open* 2021,
75. van der Weijden, F.N., van Loveren, C., Slot, D.E., Gvan der Weijden G.A. Preventive dentistry 4. Prevention and treatment of dentine hypersensitivity *Nederlands Tijdschrift Voor Tandheelkunde*, 124 (3) (2017), pp. 133-139, 10.5177/ntvt.2017.03.17107
76. Vlasova, N., V. Samusenko, V., Novikova, I., Nikolenko, D., Nikolashvili, N., Gor, I. Danilina, A., Clinical efficacy of hydroxyapatite toothpaste containing Polyol Germanium Complex (PGC) with threonine in the treatment of dentine hypersensitivity, *Saudi Dental Jopurnal*, 34, 310-314 (2022). <https://doi.org/10.1016/j.sdentj.2022.03.001>
77. van der Weijden, F.N., van Loveren, C., Slot D.E., G.A. van der Weijden G.A Preventive dentistry 3. Prevalence, aetiology and diagnosis of dentine (hyper) sensitivity, *Nederlands Tijdschrift Voor Tndheelkunde*, 124 (2) (2017), pp. 85-90
78. González-Cabezas, C. & Fernández, C. E. Recent advances in remineralization therapies for caries lesions. *Adv. Dent. Res.* 29(1), 55–59. <https://doi.org/10.1177/0022034517740124> (2018).
79. Liu, Y. C. *et al.* In vitro bioactivity and antibacterial activity of strontium-, magnesium-, and zinc-multidoped hydroxyapatite porous coatings applied via atmospheric plasma spraying. *ACS Appl. Bio. Mater.* 4(3), 2523–2533. <https://doi.org/10.1021/acsabm.0c01535> (2021).
80. Ionescu, A. C., Cazzaniga, G., Ottobelli, M., Garcia-Godoy, F. & Brambilla, E. Substituted Nano-Hydroxyapatite toothpastes reduce biofilm formation on enamel and resin-based composite surfaces. *J. Funct. Biomater.* 11(2), 36. <https://doi.org/10.3390/jfb11020036> (2020).
81. Ding, H., Pan, H., Xu, X. & Tang, R. Toward a detailed understanding of magnesium ions on hydroxyapatite crystallization inhibition. *Cryst. Growth Des.* 14, 763–769. <https://doi.org/10.1021/cg401619s> (2014).
82. Yoshihara, K. *et al.* Three-dimensional observation and analysis of remineralization in dentinal caries lesions. *Sci. Rep.* 10, 4387. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-61111-1> (2020).