

Intercalación de cloxacilina sódica en hidrotalcita y su evaluación como bactericida de *Escherichia coli*

Santana Cruz Alejandra¹, Flores Moreno Jorge Luis¹, Soto Portas María Lídice¹
Lima Muñoz Enrique², Guerra González Roberto³

¹Universidad Autónoma Metropolitana-Azcapotzalco, Departamento de Ciencias Básicas
Avenida San Pablo No. 180. Colonia Reynosa Tamaulipas, México, D.F. CP 02200.

²Universidad Nacional Autónoma de México, Instituto de Investigaciones en Materiales
Circuito exterior s/n, Cd. Universitaria, Del. Coyoacán, México, D.F., CP 04510.

³Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo, Facultad de Ingeniería Química
Avenida Francisco J. Múgica s/n Ciudad Universitaria, Morelia, Michoacán, México, CP 58030.

sca@correo.azc.uam.mx

Fecha de aceptación: 8 de Agosto de 2015

Fecha de publicación: 23 de Septiembre de 2015

RESUMEN

En este trabajo se prepararon distintos materiales híbridos orgánico/inorgánicos y se evaluó su desempeño como bactericida de *Escherichia coli*. El material híbrido consistió en la asociación de un hidróxido doble laminar inorgánico, o compuesto tipo hidrotalcita ZnAl-NO₃, con aniones de una molécula orgánica con actividad antibacterial (cloxacilina sódica). El material híbrido fue sintetizado por intercambio iónico estudiando el efecto de las variables: tiempo, temperatura y medio de intercambio. La caracterización de los materiales se llevó a cabo por difracción de rayos-X y espectroscopia de FTIR. Se observó que la matriz inorgánica de partida ZnAl no mostró actividad antibacterial alguna; sin embargo, el material híbrido se comportó como bactericida de *E. coli*.

Palabras clave: hidrotalcita, ZnAl, cloxacilina sódica, *Escherichia coli*

ABSTRACT

In this work hybrid organic/inorganic materials were prepared and evaluated as bactericid for *Escherichia coli*. The hybrid materials consisted in the association of an inorganic layered double hydroxide or hydrotalcite-like compound (ZnAl-NO₃), with organic molecules with antibacterial activity (cloxacillin sodium). The hybrid material was synthesizer by ion exchange. The variables were: time, temperature and exchange medium. The materials was characterized by X-ray diffraction and FTIR spectroscopy. The inorganic matrix ZnAl not showed antibacterial activity; however, the hybrid material was bactericidal *E. coli*.

Key words: hydrotalcite, ZnAl, cloxacillin sodium, *Escherichia coli*

INTRODUCCIÓN

En los últimos años la síntesis de nuevos materiales ha recibido una atención considerable; en particular los nanocompuestos (P.M. Ajayan, L.S. Schadler, 2004), los portadores de ADN, de péptidos y proteínas. En general se trata normalmente de productos bioactivos. Dentro de los nanocompuestos de interés pueden considerarse a los coloides, geles, copolímeros, medios porosos inorgánicos entre los que destacan los materiales laminares de la familia de las arcillas. De estos últimos existe en gran variedad y pueden ofrecer características fisicoquímicas bien definidas como el área superficial específica, la porosidad y, tanto el ordenamiento laminar, como el espacio interlaminar. Gracias a éste último, estos materiales tienen la capacidad de actuar como matrices inorgánicas receptoras de moléculas orgánicas de interés biológico y dar lugar a la formación de materiales híbridos interesantes, en ocasiones de orden nanométrico (Oh, Biswick, and Choy, 2009).

Dentro de la variedad de matrices inorgánicas biocompatibles podemos encontrar a los hidróxidos dobles laminares (HDL) comúnmente llamados materiales tipo hidrotalcita, que son materiales baratos, fáciles de sintetizar y poseen una textura nano-organizada. Éstos han sido estudiados principalmente en cuestiones biomédicas porque ofrecen una lenta y adecuada liberación de diversas moléculas o iones (U. Costantino et al. 2008; Xu et al. 2006).

Los HDL se representan por la fórmula general $[M^{II}_{1-x}M^{III}_x(OH)_2(A^{n-})_{n/x}] \cdot mH_2O$, donde M^{II} y M^{III} son cationes divalentes y trivalentes respectivamente, A^{n-} es el anión que reside en la región interlaminar (F. Trifirb 1991). Su estructura cristalina deriva de la estructura laminar de la brucita, $Mg(OH)_2$, en la cual el catión Mg^{2+} se encuentra coordinado octaédricamente a seis grupos hidroxilo. Estos octaedros están dispuestos de tal manera que comparten sus aristas formando láminas bidimensionales. Cuando en la brucita los iones Mg^{2+} se sustituyen por iones trivalentes con radios iónicos similares, como el Al^{3+} , se origina una carga positiva en la lámina. Esta carga total positiva se compensa por aniones como CO_3^{2-} , NO_3^- , Cl^- , etc., los cuales se posicionan en la región interlaminar, en donde también se encuentran moléculas de agua de cristalización. Los aniones situados en la región interlaminar son móviles y pueden intercambiarse por otros de naturaleza distinta. Esta propiedad de los HDL se denomina intercambio iónico (Khan 2002; Leroux and Taviot-Guého 2005; Newman, S.P., Jones 1998), y puede ser aprovechada para introducir y hospedar aniones inorgánicos, orgánicos o biomoléculas. Los sólidos así intercambiados (intercalados) pueden aplicarse en campos muy diversos como la catálisis (Turco et al. 2004), el almacenamiento y liberación de fármacos (Ambrogi et al. 2003; Tamaro et al. 2007) y en la protección del medio ambiente (Inacio et al. 2001). Cabe señalar que estos materiales se volvieron interesantes para la administración y liberación controlada de fármacos a partir de que Choi y colaboradores lograran la intercalación de DNA en la región interlaminar de una hidrotalcita MgAl (Choy et al. 1999).

En la literatura existen distintos métodos mediante los cuales se puede llevar a cabo la intercalación de distintos aniones en la región interlaminar de un HDL. Estos métodos están basados en propiedades particulares inherentes a los HDL como es el efecto memoria, y el intercambio iónico. Sin embargo, en este trabajo solo se enfatizara en el intercambio iónico.

Esta propiedad de los HDL denomina intercambio iónico (Khan 2002; Leroux and Taviot-Guého 2005; Newman, S.P., Jones 1998), puede ser aprovechada para introducir y hospedar aniones inorgánicos, orgánicos o biomoléculas por ejemplo monofosfatos de nucleósidos y el ácido desoxirribonucleico (Choy et al. 1999), ADN (Desigaux et al. 2006). Los sólidos así intercambiados (intercalados) pueden aplicarse en campos muy diversos como la catálisis, el reformar del metanol (Turco et al. 2004), el almacenamiento y liberación de fármacos, como antiinflamatorio no esteroideo (Ambrogi et al. 2003), antibiótico como cloranfenicol (Tamaro et al. 2007) y en la protección del medio ambiente como eliminación del ácido 4-cloro-2-metilfenoxi acético (Inacio et al. 2001). Cabe señalar que estos materiales se volvieron interesantes para la administración y liberación controlada de fármacos a partir

de que Choi y colaboradores lograran la intercalación de DNA en la región interlaminar de una hidrotalcita MgAl(Choy et al. 1999). No existe aplicación alguna en cuanto a la preparación de materiales híbridos a base de HDL y moléculas antibacteriales con su respectiva evaluación, en particular con la inhibición de *Escherichia Coli* (*E. coli*). Sin embargo para estas bacterias, se ha estudiado la inhibición con nanopartículas de plata soportadas en zeolitas (Guerra et al, 2012). *E. coli* es una bacteria que se encuentra presentes en algunos medios nutritivos, principalmente provenientes de las aguas de riego. *E. coli* puede causar algunas enfermedades en los humanos entre las que destacan la diarrea y la disentería. Esta bacteria puede eliminarse por distintos antibacteriales cuyas eficiencias dependen de sus propiedades fisicoquímicas (Chopra 2007). En este trabajo se puso énfasis en la preparación del material híbrido y se eligieron algunos materiales para la evaluación antibacterial.

METODOLOGÍA

Síntesis de los hidróxidos dobles laminares: los sólidos ZnAl-NO₃ fueron sintetizados por el método de urea (Inayat, Klumpp, and Schwieger 2011). Los cationes Zn²⁺ y Al³⁺ precipitan en forma de HDL gracias a la hidrólisis de urea a 90 °C a partir de una solución de nitratos de Zn y Al durante 10 h. Para evitar la intercalación del CO₃²⁻ que proviene de la hidrólisis de la urea se introduce un exceso de NH₄NO₃ que proporciona iones NO₃⁻ en la solución.

Para la intercalación por intercambio iónico, y de manera general, en un matraz de bola de 3 bocas se colocaron 2.8 mmol de la molécula biológicamente activa en 25 mL de H₂O desionizada y libre de CO₂. Finalmente el pH de la solución se ajustó a 9 con NaOH 0.1M. Posteriormente la solución se burbujeó durante 30 minutos con argón a fin de purgar el sistema de aire y mantener una atmosfera inerte. Finalmente, se adicionaron 0.55 g del hidróxido doble laminar en su forma ZnAl-NO₃. El burbujeo con argón se mantuvo durante 1 h para finalmente sellar el sistema y asegurar la presencia de una atmósfera inerte. El sistema se dejó en agitación durante 7 días a temperatura ambiente. Luego de este tiempo, el sólido se separa de la solución por centrifugación y se lava con H₂O desionizada libre de CO₂ y finalmente se seca a 50 °C durante 48 h en estufa.

A fin de optimizar el grado de intercalación de los aniones correspondientes en los HDL, surgió la necesidad de hacer variar algunos parámetros; por ejemplo, el tiempo de intercalación, la temperatura de intercambio, el medio de intercambio (solo agua, o etanol y etilenglicol (Gonzalo Abellán, Filippo Busolo 2012) y temperatura de secado. Los cambios realizados para los diferentes materiales híbridos se muestran en la siguiente tabla:

Caracterización fisicoquímica de los hidróxidos dobles laminares y materiales híbridos: Se realizó por difracción de rayos-X (XRD) en un difractor Philips XPERT PRO. Las muestras se analizaron en forma de polvo en un intervalo de 4-80 de 2θ. Los espectros de infrarrojo (FTIR) se obtuvieron en un espectrofotómetro NICOLET MAGNA IR 750, desde 4000-400 cm⁻¹; la metodología utilizada para registrar los espectro fue formar una pastilla mezclando la muestra con KBr en una relación de 1:100 p/p en una prensa.

Tabla 1. Materiales híbridos con distintas variaciones

Material híbrido ZnAl-NO ₃ Cloxacilina	Tiempo de intercalación(días)	Temperatura de intercambio (° C)	Medio de intercambio	Temperatura de secado (°C)
M1	7	25	H ₂ O	50
M2	7	25	Etanol-H ₂ O	50
M3	5	25	Etanol-H ₂ O Etilenglicol	50
M4	5	25	Etanol-H ₂ O Etilenglicol	25
M5	7	25	Etanol-H ₂ O Etilenglicol	50
M6	7	70	Etanol-H ₂ O Etilenglicol	25

Evaluación de la actividad antibacterial. El cultivo inicial de la cepa *E. coli* se realizó por incubación en caldo de tripticaseína durante 24 h. La velocidad de crecimiento bacteriano se determinó por conteo del número de colonias sobrevivientes en un agar conveniente. Se inocularon 18 mL de medio de tripticaseína fresco con el cultivo inicial y se estudiará el crecimiento 35 °C en agitación continua a 30 rpm y se agregaron diferentes cantidades de material híbrido conteniendo diferentes antibacteriales. Se contará el número de colonias en función del tiempo.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La síntesis de hidróxidos dobles laminares ZnAl-NO₃, fue obtenida por el método de urea, aunque no se muestre el espectro de RX, los resultados muestran lo siguiente: en $2\theta=9.86$ correspondiendo a las distancias interplanares d_{003} , igual a 8.96° y un parámetro de red $c = 26.88 \text{ \AA}$. La distancia corresponde efectivamente a nitratos en la región interlaminar (V. Costantino and Pinnavaia 1995; Miyata 1983).

El análisis de IR se pudo observar la banda de absorción que normalmente se asocia al modo de vibración de flexión de los grupos O-H en las moléculas de H₂O aparece a 1616 cm^{-1} para los sólidos de ZnAl-NO₃. La región del IR que se encuentra por debajo de 1000 cm^{-1} contiene bandas que se asignan a modos de vibración de los enlaces M-O y O-M-O que conforman la red. Finalmente, desde el punto de vista del IR, lo más importante en la caracterización de los modos de vibración de los aniones que residen en el espacio interlaminar la banda de correspondiente a la vibración de NO₃ correspondiente a la banda a 1384 cm^{-1} para ZnAl-NO₃. ν_3 del grupo NO₃⁻ (F. Trifirb 1991).

Después de obtener el hidróxido doble laminar correspondiente a ZnAl- NO₃⁻, se prosiguió a realizar las pruebas de intercalación por el método de intercambio iónico, basados en la metodología descrita anteriormente.

Las primeras dos intercalaciones muestran el estudio sobre el medio en el cual puede llevarse a cabo la intercalación, en la base propuesta el medio es solo agua (M1), y en la segunda el cambio se dio en un medio a base de etanol agua (M2), en proporciones iguales. En la figura 6, se puede observar el difractograma de ambas muestras; en la primera (A) es posible visualizar un espectro sin cambios respecto al ZnAl sintetizado, sin embargo en el segundo (B) existe un desplazamiento del plano d_{003} hacia la derecha, el cual manifiesta un incremento en la región interlaminar, que podría atribuirse a la

intercalación de cloxacilina sódica, sin embargo, la estructura muestra aun picos característicos de $ZnAl-NO_3$. Para reafirmar la intercalación en la figura 6, se muestra el espectro de infrarrojo de ambos materiales. En el primero (A) es posible ver solo la banda característica a los nitratos (1368) y en el segundo (B) existen más bandas, por mencionar solo algunas, se tiene en 1714 el estiramiento asimétrico grupo carbonilo ($\nu_{C=O}$) en la función carboxílica (-COOH), en 1640 el estiramiento asimétrico ($\nu_{C=O}$) del enlace C=O del anillo, y también es posible observar aun la banda de los nitratos, lo cual confirma la existencia de cloxacilina sódica, aunque no intercalada completamente.

Es importante centrarse en el estudio profundo del espectro de rayos X, en el cual se observó el primer indicio de intercalación, dado que el primer pico asignado al plano d_{003} es el que muestra el espacio interlaminar, de allí se puede determinar la altura que tiene y predecir qué posición tiene la molécula. Cabe mencionar que si el pico se encuentra a menores ángulos el espacio que hay entre cada lamina es mayor. Las reflexiones d_{006} y d_{009} son los armónicos.

El plano d_{003} para M1 y M2 se encuentran 11.56° y 6.80° (2θ) respectivamente, lo cual daría un espacio interlaminar de 7.64 y 12.99 Å, en la primera muestra se puede observar que el espacio interplanar es muy pequeño y correspondiente a nitratos, en la segunda el espacio es aún más grande el cual si corresponde al espacio que puede ocupar la cloxacilina.

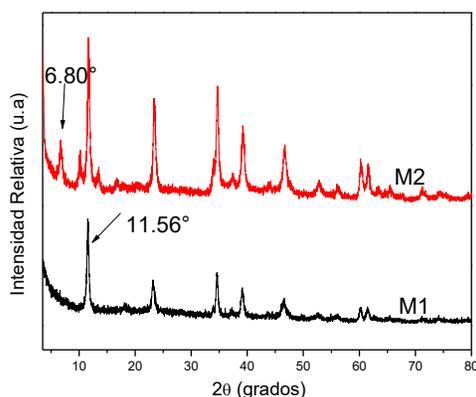


Figura 6. Patrón de DRX ZnAl-Clox, con medio de disolución M1) H_2O M2) Etanol- H_2O

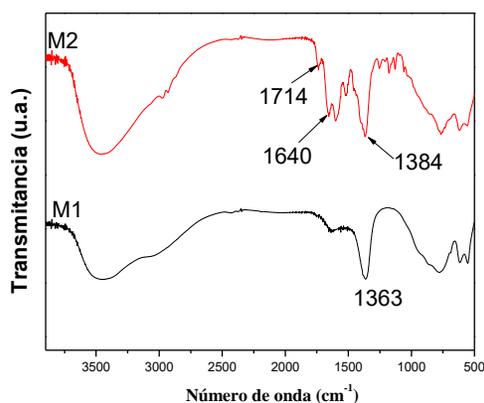


Figura 7. Espectros de infrarrojo ZnAl-Clox, con medio de disolución M1) H_2O M2) Etanol- H_2O

Partiendo del resultado anterior en el cual se observa que el medio de dilución es importantes, se prosigue a realizar materiales con otro medio de dilución, ya reportado anteriormente (Gonzalo Abellán,

Filippo Busolo 2012), el etilenglicol puede ayudar significativamente puesto que la función de este compuesto es abrir la laminas para dejar entrar moléculas de gran tamaño en la región interlaminar, sin tener algún efecto secundario en su aplicación.

El material M3 y M4, contemplan el medio de dilución, ambas con mezcla etanol-agua y etilenglicol, por otro lado muestran variación en la temperatura de secado, la primera mantiene las condiciones generales antes mencionadas, y la segunda disminuyen la temperatura de secado a 25 °C (temperatura ambiente). Ambas con un tiempo de intercalación menor al establecido, 5 días.

Observando la figura 8, se puede asumir la diferencia de temperatura entre el secado a temperatura ambiente y el establecido inicialmente de 50°C, no genera gran importante, aunque el plano d_{003} aparece a diferente 2θ , la variación es menos de un grado, sin embargo, si se tuviera que explicar tal comportamiento asumiríamos que a mayor temperatura de secado la distancia interplanar es mayor que a menor temperatura, y esto podría explicarse con el hecho de que el tiempo que llevara obtener el material ya seco, será mayor a menor temperatura, esto podría generar una afectación con el tiempo de exposición al medio, cuando aún está húmedo. Por otro lado se tendría que valorar el tiempo de secado de un material y otro, y ver si el esperar más tiempo para secar es proporcional a mejores resultados en la aplicación. Dado lo anterior, se decidió seguir con la metodología planteada en cuanto a temperatura de secado.

Teniendo en cuenta los resultados anteriores, se prosiguió, a variar la temperatura a la cual se lleva el intercambio iónico. El material M6 fue preparado con las condiciones iniciales de concentración, las variables fueron: el medio de dilución en etanol-agua etilenglicol, 7 días de intercalación y temperatura de 70 °C.

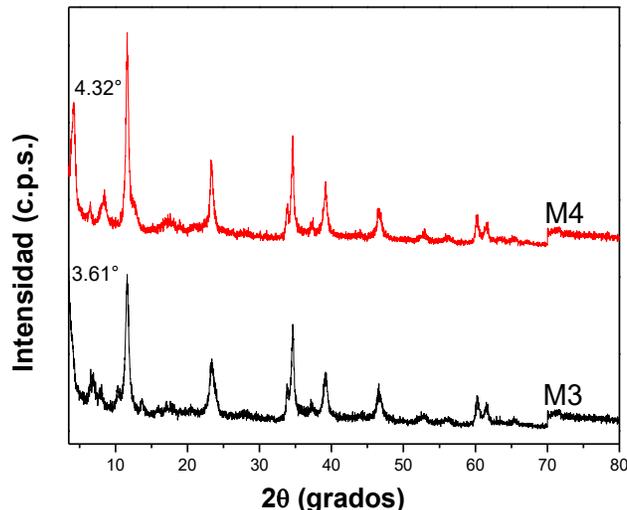


Figura 8. Patrón de DRX ZnAl-Clox, variando la temperatura de secado. M3) 50 °C y M4) 25 °C

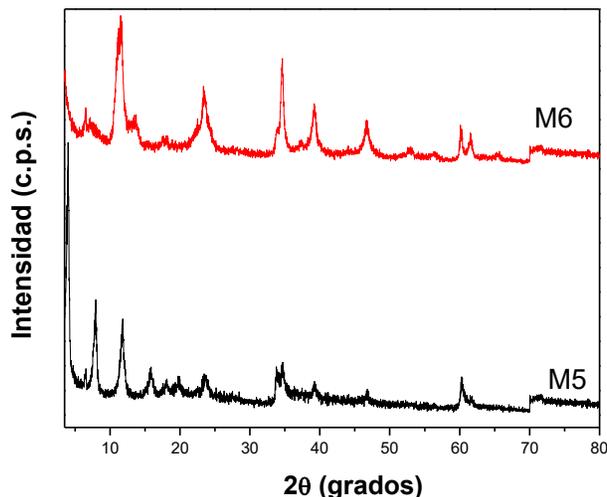


Figura 9. Patrón de DRX ZnAl-Clox, variando la temperatura de intercambio. M5) 25 °C y M6) 70 °C. En la Figura 9, es importante observar que la temperatura a la cual se lleva la intercalación si es importante, obsérvese que a 70 °C la intercalación que se obtiene no es muy buena aunque hay intercalación, la estructura muestra solo un poco de intercalación, aun aparece el pico correspondiente a los nitratos; sin embargo la intercalación a temperatura ambiente muestra una intercalación completa, se encuentran los 3 primeros picos correspondientes a los armónicos, el espacio interlamilar es de 22.13 y 13.78 Å.

Para la evaluación antibacterial, se analizaron sólo dos materiales, uno que mostrara poco o nula intercalación M1, y el material que muestra una total intercalación M5; esto con el fin de observar y confirmar la actividad bactericida frente a *E. coli*.

En la tabla 2, se muestran los valores de la concentración mínima inhibitoria (CMI) y de la concentración mínima bactericida (CMB) de los dos materiales híbridos y de referencia, contra cepas de *E. coli*, utilizando el método de diluciones y siembra en agar, respectivamente. Con fines de reproducibilidad las determinaciones se hicieron por triplicado para cada material. Los valores reportados son el promedio de las CMI y CMB, en caldo y agar Mueller Hinton (MH) respectivamente. La turbidez en los tubos inoculados, permitió determinar la CMI después de las 24 horas de exposición de las bacterias frente al material híbrido. La cuantificación de colonias bacterianas que crecieron en placas con agar MH, se realizó después de 2, 4, 8, 18 y 24 horas de incubación a 37 °C.

Tabla 2. CMI y CMB determinadas para los materiales híbridos y de referencia sobre cepas de *E. coli*

Material	E. coli	
	CMI (mg/mL)	CMB (mg/mL)
ZnAl-NO ₃	----	----
M5	5.5	6.5
M1	----	----

Según los resultados el material de referencia ZnAl-NO₃ no presentan ninguna actividad biológica contra *E. coli* pues tanto la CMI como la CMB son nulas. Así también para el material que tiene poca o nula intercalación (M1) no hay ninguna actividad. Por lo tanto, si los materiales híbridos presentan actividad antibacteriana contra esta cepa, se puede afirmar que ésta se debe atribuir al material híbrido

como tal, y si tampoco presenta el material considerado con poca intercalación, se puede afirmar que la intercalación de la cloxacilina si es importante en el segundo material.

La valoración del efecto bactericida de los materiales se realizó al medir la viabilidad celular a los 0, 5, 30, 60, 90 y 120 minutos después de la exposición e incubación de las bacterias con los distintos materiales (Tabla 3). La pauta de administración de los materiales bactericidas está en función de la CMB promedio determinada para cada bacteria las pruebas se realizaron por triplicado en placas con agar McConkey. Los resultados corresponden a la media de los tres experimentos, en promedio.

Los resultados obtenidos muestran que el material inicial ZnAl-NO₃, y el M1 no muestran inhibición sobre la cepa de *E. coli*, el porcentaje aumenta conforme pasa el tiempo, sin embargo en el material M5 el porcentaje de inhibición desciende hasta un 85 %. Es importante mencionar que a 2 horas se presentó una inhibición total de 15%, siendo un buen parámetro debido a la dificultad de lograr inhibir a la bacteria de *E. coli*.

Tabla 3. Porcentaje de colonias de *E. coli* que se inhibieron frente a los materiales a base de HDL ZnAl

Tiempo (min)	ZnAl-NO ₃	M1	M5
0	100	100	100
5	106	104	104
15	111	109	101
30	116	113	95
60	120	118	93
90	124	121	92
120	129	126	85

CONCLUSIONES

Se sintetizaron hidróxidos dobles laminares ZnAl, con NO₃⁻ y a partir de ellos se logró preparar una serie de materiales híbridos asociando introduciendo aniones de la cloxacilina sódica en la región interlaminares por el método de intercambio.

Los parámetros y condiciones de síntesis de los materiales híbridos juegan un papel importante en la obtención de éstos; así, para lograr materiales híbridos con alto grado de intercalación se tiene que utilizar un exceso del anión a intercalar, con respecto a la cantidad estequiométrica, y se prefiere llevar a cabo el proceso a temperatura ambiente.

Se obtuvieron sólidos poco cristalinos, solo un material muestra gran cristalinidad y es por efecto del medio de intercambio etanol-agua y etilenglicol.

Los HDL de partida, tomados como materiales de referencia, no presentaron actividad antibacteriana alguna frente a *E. coli*, pero sí desaceleran la proliferación bacteriana es decir que presentó un efecto bacteriostático del 15%.

El material híbrido que tenía alto grado de intercambio se evaluó, y se comportó como agente antibacteriano contra cepas de *E. coli*: específicamente como agente bactericida.

REFERENCIAS

- Ambrogio, Valeria, Giuseppe Fardella, Giuliano Grandolini, Morena Nocchetti, and Luana Perioli. (2003). "Effect of Hydrotalcite-like Compounds on the Aqueous Solubility of Some Poorly Water-Soluble Drugs." *Journal of pharmaceutical sciences* 92(7): 1407–18.
- Chopra, Ian. (2007). "The Increasing Use of Silver-Based Products as Antimicrobial Agents: a Useful Development or a Cause for Concern?" *The Journal of antimicrobial chemotherapy* 59(4): 587–90.
- Choy, Jin-Ho, Seo-Young Kwak, Jong-Sang Park, Yong-Joo Jeong, and Josik Portier. (1999). "Intercalative Nanohybrids of Nucleoside Monophosphates and DNA in Layered Metal Hydroxide." *Journal of the American Chemical Society* 121(6): 1399–1400.
- Costantino, Umberto, Valeria Ambrogio, Morena Nocchetti, and Luana Perioli. (2008). "Hydrotalcite-like Compounds: Versatile Layered Hosts of Molecular Anions with Biological Activity." *Microporous and Mesoporous Materials* 107(1-2): 149–60.
- Costantino, VRL, and TJ Pinnavaia. (1995). "Basic Properties of Mg_{2+} $1-xAl_{3+}$ X Layered Double Hydroxides Intercalated by Carbonate, Hydroxide, Chloride, and Sulfate Anions." *Inorganic Chemistry* 34: 883–92.
- Desigaux, Léa, Malha Ben Belkacem, Peggy Richard, Joël Cellier, Philippe Léone, Laurent Cario, Fabrice Leroux, Christine Taviot-Guého, and Bruno Pitard. (2006). "Self-Assembly and Characterization of Layered Double hydroxide/DNA Hybrids." *Nano letters* 6(2): 199–204.
- F. Trifirb, A. Vaccari PF. Cavani. (1991). "Hydrotalcite-Type Anionic Clays: Preparation, Properties and Applications." *Catalysis Today* 11: 173–301.
- Gonzalo Abellán, Filippo Busolo, Eugenio Coronado. (2012). "Hybrid Magnetic Multilayers by Intercalation of Cu(II) Phthalocyanine in LDH Hosts." *The Journal of Physical Chemistry* 116(li): 15756–64.
- Guerra, Roberto, Enrique Lima, Margarita Viniegra, Ariel Guzmán, and Víctor Lara. (2012). "Growth of Escherichia Coli and Salmonella Typhi Inhibited by Fractal Silver Nanoparticles Supported on Zeolites." *Microporous and Mesoporous Materials* 147(1): 267–73.
- Inacio, J, C Taviot-Guého, C Forano, and J.P Besse. (2001). "Adsorption of MCPA Pesticide by MgAl-Layered Double Hydroxides." *Applied Clay Science* 18(5-6): 255–64.
- Inayat, Alexandra, Michael Klumpp, and Wilhelm Schwieger. (2011). "The Urea Method for the Direct Synthesis of ZnAl Layered Double Hydroxides with Nitrate as the Interlayer Anion." *Applied Clay Science* 51(4): 452–59.
- Khan, Aamir I. Dermot O'Hare. (2002). "Intercalation Chemistry of Layered Double Hydroxides: Recent Developments and Applications." *Journal of Materials Chemistry* 12(11): 3191–98.
- Leroux, Fabrice, and Christine Taviot-Guého. (2005). "Fine Tuning between Organic and Inorganic Host Structure: New Trends in Layered Double Hydroxide Hybrid Assemblies." *Journal of Materials Chemistry* 15(35-36)
- Miyata, Shigeo. (1983). "Anion-Exchange Properties of Hydrotalcite-Like Compounds." *Clays and Clay Minerals* 31(4): 305–11.
- Newman, S.P., Jones, W. (1998). "Synthesis, Characterization and Applications of Layered Double Hydroxides Containing Organic Guests." *New Journal of Chemistry* 22(2): 105–15.
- Oh, Jae-Min, Timothy T. Biswick, and Jin-Ho Choy. (2009). "Layered Nanomaterials for Green Materials." *Journal of Materials Chemistry* 19(17): 2553.

P.M. Ajayan, L.S. Schadler, P.V. Braun. (2004). P. V. Braun. SciTech Book News. Nanocomposite Science and Technology. ed. C2003 Weinheim : Wiley-VCH.

Tammaro, L, U Costantino, a Bolognese, G Sammartino, G Marenzi, a Calignano, S Tetè, F Mastrangelo, L Califano, and V Vittoria. (2007). "Nanohybrids for Controlled Antibiotic Release in Topical Applications." International journal of antimicrobial agents 29(4): 417–23.

Turco, M, G Bagnasco, U Costantino, F Marmottini, and T Montanari. (2004). "Production of Hydrogen from Oxidative Steam Reforming of Methanol I. Preparation and Characterization of Cu / ZnO / Al₂O₃ Catalysts from a Hydrotalcite-like LDH Precursor." 228: 43–55.

Xu, Zhi Ping, Qing Hua Zeng, Gao Qing Lu, and Ai Bing Yu. (2006). "Inorganic Nanoparticles as Carriers for Efficient Cellular Delivery." Chemical Engineering Science 61(3): 1027–40.