



专论与综述

纳米酶的抗菌作用及其机制研究进展

张欣^{Δ1} 莫巧弥^{Δ1} 邵文惠¹ 吕嘉顺³ 胡欣¹ 李军² 张艳梅^{*1} 权春善^{*1}

1 大连民族大学生命科学学院 辽宁 大连 116600

2 中国科学院大连化学物理研究所 催化基础国家重点实验室 辽宁 大连 116023

3 复旦大学生命科学学院 上海 200433

摘要: 抗生素类药物的发现和使用给人类提供了抗击细菌感染的强大武器。但是, 抗生素长期使用导致的细菌耐药问题限制了其在临床上的应用。开发新型的基于纳米酶(Nano-Enzyme)的新型抗菌剂为解决上述问题提供了新思路。将纳米酶可以归为两大类: 一类是酶和纳米材料的复合材料; 另一类是纳米材料本身具有类酶活性。因为银(Ag)纳米粒子是历史最悠久且研究最广泛的纳米抗菌剂, 而且其抗菌机制多样化, 因此将 Ag 纳米粒子的抗菌机制和最新进展单独论述。纳米抗菌剂可以组合多种抗菌机制协同抗菌, 从而提高其抗菌性能。因此, 在这篇综述中系统介绍了 Ag 纳米粒子和上述 2 种类型纳米抗菌剂的最新研究进展和抗菌机制, 重点介绍了纳米材料的物理性质对抗菌活性和生物安全性的影响。最后, 该综述还强调了该领域目前面临的问题和挑战, 并对该领域的发展前景进行了展望。

关键词: 耐药性细菌, 银, 纳米酶, 过氧化物酶, 氧化酶, 活性氧自由基

Antibacterial applications of nano-enzymes

ZHANG Xin^{Δ1} MO Qiaomi^{Δ1} SHAO Wenhui¹ LÜ Jiashun³ HU Xin¹ LI Jun²ZHANG Yanmei^{*1} QUAN Chunshan^{*1}

1 College of Life Science, Dalian Minzu University, Dalian, Liaoning 116600, China

2 State Key Laboratory of Catalysis, Dalian Institute of Chemical Physics, Chinese Academy of Sciences, Dalian, Liaoning 116023, China

3 School of Life Sciences, Fudan University, Shanghai 200433, China

Abstract: The discovery and use of antibiotics provide us a powerful weapon against bacterial infection.

Foundation items: National Natural Science Foundation of China (22072012); Open Project of Key Laboratory of Biotechnology and Bioresources Utilization of Ministry of Education in Dalian Minzu University (KF2020005); 2020 College Student Innovation and Entrepreneurship Plan (202012026013, 202012026325)

^ΔThese authors equally contributed to this work

***Corresponding authors:** Tel: 86-411-87532759

E-mail: ZHANG Yanmei: ymzhang@dlnu.edu.cn; QUAN Chunshan: mikyeken@dlnu.edu.cn

Received: 09-09-2020; **Accepted:** 19-01-2021; **Published online:** 07-06-2021

基金项目: 国家自然科学基金(22072012); 大连民族大学生物技术与资源利用教育部重点实验室开放课题(KF2020005); 2020 年度大学生创新创业计划(202012026013, 202012026325)

^Δ对本文贡献相同

***通信作者:** Tel: 0411-87532759

E-mail: 张艳梅: ymzhang@dlnu.edu.cn; 权春善: mikyeken@dlnu.edu.cn

收稿日期: 2020-09-09; **接受日期:** 2021-01-19; **网络首发日期:** 2021-06-07

However, the long-term use of antibiotics leads to bacterial resistance and limits their clinical applications. Fortunately, the rapid development of nanotechnology provides new ways to solve the problem. In this review, nano-enzymes were classified into two types: one is “the composites of enzyme and nanomaterial”, another is “the nanomaterials possessing enzyme-mimic activities-named as nanozymes”. To the best of our knowledge, Ag nanoparticles have been widely studied as nano-antibacterial agents and their antibacterial mechanisms are diverse. Therefore, the antibacterial mechanism and the latest progress of Ag nanoparticles as nano antibacterial agents are discussed. Compared to natural enzymes, the nanozyme-based antibacterial agent can integrate more than one strategy to yield synergistic effects and thus increase their bacterial killing efficacies. Therefore, in this review, we focus on recent progress in the design and mechanism of nanozyme-based antibacterial agents including the Ag nanoparticles, composites of enzymes and nanomaterials and nanoparticles possess enzyme mimic activities (nanozymes). Finally, the current challenges and an outlook for the development of more effective and safer antibacterial nano-enzymes are also included.

Keywords: drug resistant bacteria, Ag, nano-enzymes, peroxidase, oxidase, reactive oxygen species

目前, 抗生素滥用导致的细菌耐药(Antibiotic-Resistant Bacteria)严重威胁全球民众的健康和生命。全球每年约有 100 万人死于耐药性细菌造成的感染, 并且以每年 32% 的速度增长^[1]。传统的抗生素部分来自天然产物, 部分是化学合成的。通过破坏细胞内的代谢过程, 抗生物可以选择性抑制大部分微生物细胞的生长和繁殖^[2]。但是, 由于抗生素的滥用, 细菌耐药已经成为普遍问题。如果不开发新型高效抗菌药物, 到 2050 年, 死亡人数将增长到 1 000 万, 而且会对全球经济造成沉重的负担^[3]。近年来抗生素药物滥用现象尤为严重, 常导致耐药菌乃至“超级细菌”的产生。“超级细菌”的出现, 大大影响了细菌感染的临床治疗效果。此外, 生物被膜感染相关疾病的临床治疗通常也是面临的难题之一^[4]。鉴于病原菌耐药性的加剧所带来的健康威胁, 国内外研究学者致力于发现和开发新的药物靶点和抗菌方式, 如抗病原细菌毒力因子的抑制剂、干预微生物菌群制剂、高特异性的抗体或噬菌体等^[5]。近年来, 我们课题组针对金黄色葡萄球菌等耐药性病原细菌, 对其细胞间信息交流机制、细菌群体感应机制等方面进行了深入研究, 并针对重要细胞信号转导通路为药物靶点构建药物筛选模型, 为开发新型抗菌化合物提供理论基础^[6-13]。

与此同时, 科学家们通过利用多学科交叉技术

来解决细菌耐药问题, 特别是基于纳米技术的纳米抗菌剂具有很好的应用前景^[14-21]。与传统抗生素相比, 纳米材料具有更高的膜通透性, 还可以作为外排泵的抑制剂, 而且容易实现多重抗菌功能协同抗菌, 因此被发现不易诱发细菌耐药性^[19-20]。为了控制和治理细菌感染, 人们在体内外研究了多种不同类型的纳米抗菌材料, 包括银(Ag)纳米粒子^[15]、负载酶和抗生素的纳米复合材料^[22]、纳米酶^[19]等。Ag 作为最古老的抗菌金属, Ag 纳米粒子的功能是通过与细胞膜造成物理损伤产生活性氧自由基, 并在释放 Ag 离子后导致关键成分功能障碍。为了得到稳定的 Ag 纳米粒子抗菌剂, 我们设计合成了负载在金属有机骨架材料和空心二氧化铈纳米球上的 Ag 基纳米酶抗菌剂, 其对金黄色葡萄球菌和大肠杆菌表现出较好的抗菌活性^[18]。溶菌酶和脱氧核糖核酸酶 I (DNase-I) 也被报道具有较好的抗菌性能, 这类酶能够催化降解细胞膜和生物被膜的组成物质, 破坏细胞膜造成细胞内物质的溢出, 从而杀灭细菌^[22-23]。虽然这 2 种酶都能抗菌, 但在实际使用中结构不稳定, 容易失活, 将其与纳米材料特别是多孔材料结合是提高其抗菌性能的有效方法。具有氧化还原能力的纳米酶可以活化分子氧或过氧化氢产生高强度的氧自由基, 自由基可以破坏细菌细胞膜, 进入细菌细胞内后可降解 DNA, 破坏

活性蛋白质结构^[19]。而且,具有高活性的氧自由基可以降解生物被膜中的多糖化合物、蛋白质分子和脂类化合物,从而高效杀灭细菌并清除生物被膜^[4]。相对于普通抗生素,纳米抗菌剂更具优势。首先,不仅可以通过优化纳米材料的粒径大小、表面性质、结构与组成等方法提高其抗菌性能,而且可以组装复合抗菌剂,利用不同抗菌组分的协同效应提高抗菌活性;特别是可以将能够特异识别病原体的小分子如抗体、多肽、适配体(Aptamer)、核酸探针等组装到纳米材料上,实现靶向胞内运输或者靶向杀菌;将材料的磁性、光热、荧光等特性引入纳米抗菌剂,还可实现细菌的分离、检测和杀灭一体化^[19]。如图 1 所示,在这篇综述中,重点论述上述 3 种类型纳米抗菌剂的抗菌机制和最新研究进展。最后,还讨论了纳米抗菌剂在实际抗菌应用中面临的挑战和未来的发展前景。

1 纳米抗菌剂的种类和抗菌机制

1.1 银作为抗菌剂

几个世纪以来,金属银被用作抗菌剂。然而,随着抗生素的出现,银制剂慢慢淡出了人们的视

野。近年来,由于抗生素的滥用导致了“超级细菌”的出现,致使临床上大量抗生素的失效,银再次吸引了科学家的关注。而且,科学家们发现银离子不仅能有效抑制各种耐药菌,还能增强抗生素的抑菌谱^[24-26]。Ag 纳米粒子的抗菌机制主要是由于 Ag 离子的溶解和释放(图 2),Ag 离子进入目标细菌后,可以与 DNA、蛋白质等核心细胞成分结合,在细胞内扰乱细胞代谢过程;而且,还可以诱导细胞内产生活性氧自由基(Reactive Oxygen Species, ROS),ROS 可以降解 DNA、破坏活性蛋白质结构、分解多糖物质和脂类分子,破坏细菌的细胞膜和细胞内的正常代谢过程,最终杀死和分解细菌^[24-30]。在生物被膜感染过程中,Ag 离子可以与 EPS 基质成分(如胺、硫醇、或羧酸盐)相互作用,防止其渗透^[4]。由于 Ag 在抗菌方面的优秀表现,人们对 Ag 抗菌机制的研究从未停止。近期研究发现,小粒径的 Ag 纳米粒子也可以进入细胞内发挥抗菌作用,如以色列的耶路撒冷希伯来大学的一个科学家团队提出了 Ag 抗菌的另一个机制——让细菌变“僵尸”^[28]。当细菌接触了 Ag 离子溶液后,不仅它们本身被杀死,而且还会变成“僵尸”,继续屠杀它们的同类。研究人员用电子显微镜拍摄这些“细菌僵尸”,发现了这些“细菌僵尸”的体内存储了很多 Ag 纳米粒子,这表明死细菌像海绵一样,在死亡过程中把 Ag 纳米粒子吸入体内;这些储存在死菌中的 Ag 粒子可以渗出到环境中,从而杀死周围其他活细菌并制造更多“细菌僵尸”,如此循环^[28]。这个新发现解释了为什么 Ag 是长效杀菌剂,也为设计研制免受有害细菌污染的医疗产品提供了帮助。

虽然人们知道 Ag 可以有效抗菌,但目前对于银离子和银纳米粒子在细菌中的具体结合靶点蛋白以及作用机制尚不清楚。鉴于此,Liao 等利用等电点聚焦液相色谱-凝胶电泳柱-电感耦合等离子体质谱联用技术(LC-GE-ICP-MS)鉴定出了金黄色葡萄球菌中银离子作用的重要药物靶点,他们发

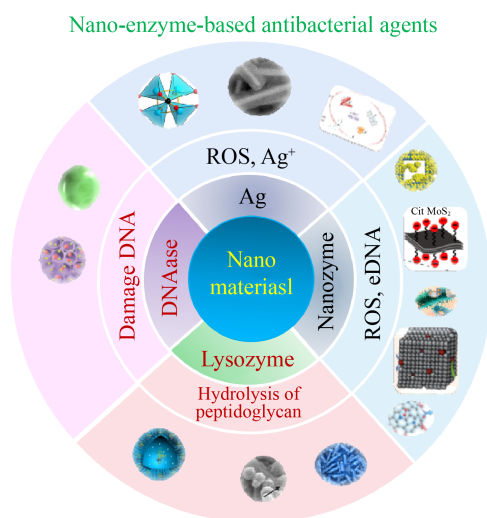


图 1 基于纳米酶的纳米抗菌剂的种类、抗菌机制和协同抗菌策略示意图

Figure 1 Schematic diagram of the types, antibacterial mechanism and synergistic antibacterial strategies of nano-enzyme-based nano-antibacterial agents

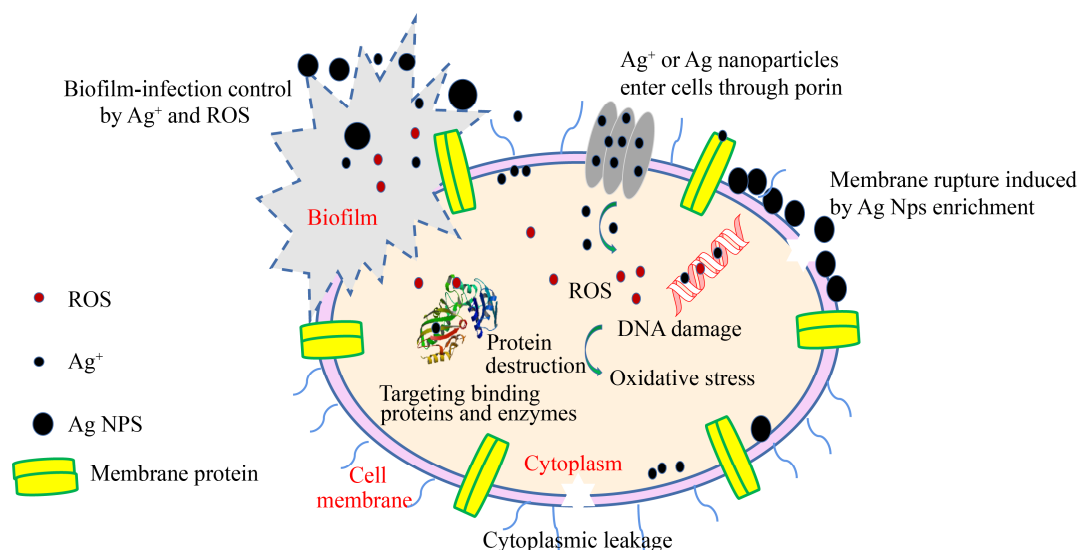


图2 Ag 纳米粒子的抗菌机制示意图

Figure 2 Schematic diagram of the antibacterial mechanism of Ag nanoparticles

现硫氧还原蛋白酶系统为银离子抑制金黄色葡萄球菌的重要作用靶点^[30]。硫氧还原蛋白酶系统为金黄色葡萄球菌抵抗氧化自由基损伤的重要防御武器。更为重要的是,相比于其他病原菌常常具有2套防御体系来清除氧化应激损伤,硫氧还原蛋白酶系统是金黄色葡萄球菌保护自身免受氧化自由基攻击的重要保护屏障^[30];他们采用分子生物学、化学生物学、金属蛋白质组学等多学科手段,表达并纯化了硫氧还原蛋白酶系统的2个关键性蛋白——硫氧还原蛋白和硫氧还原蛋白酶;他们发现银离子能快速不可逆地结合在硫氧还原蛋白和硫氧还原蛋白酶的关键活性自由巯基位点,并诱导了蛋白多聚体的形成^[30]。因此,银离子能通过同时抑制硫氧还原蛋白酶系统的关键酶和关键底物,从而双重抑制该系统的功能,进而彻底破坏金黄色葡萄球菌应对氧化自由基的防御体系,从而对金黄色葡萄球菌达到快速有效的杀灭作用^[30]。近期,Wang等^[31]借助凝胶电泳和电感耦合等离子体质谱的组合,在大肠杆菌中鉴定出6种银结合蛋白。研究发现,大多数鉴定的蛋白质与大肠杆菌的中心碳代谢有关;而且,上述蛋白质中的甘油醛-3-磷酸脱氢酶是大肠杆菌中 Ag^+ 的重要靶标;银离子通过在其

催化位点靶向Cys149来抑制甘油醛-3-磷酸脱氢酶是大肠杆菌(GAPDH)的酶功能^[31]。

如上所述,银纳米粒子干扰细胞正常代谢的机制主要有2个:(1)通过 Ag^+ 对靶向蛋白质和酶的损伤,干扰细胞内的新陈代谢,并造成对细胞膜结构的严重破坏;(2) Ag^+ 催化产生高活性的ROS,干扰细胞内的新陈代谢。虽然人们对上述抗菌机制仍有争议,但毫无疑问, Ag^+ 的释放是这些纳米材料毒性的主要原因之一。因此,在设计基于Ag的纳米抗菌剂时,增强其释放 Ag^+ 的功能是增强其抗菌能力的有力措施。基于此理念,Zhang等利用具有多级孔结构的ZIF-8作为载体,制备了单分散的银纳米粒子^[18]。研究结果显示,与相同剂量的纯H-ZIF-8相比,Ag NPs修饰的H-ZIF-8逐渐抑制了细菌的生长,并显示出显著增强的抗菌性能,因为Ag NPs可以氧化脂质膜并破坏细胞膜;而且使用相同剂量单独制备的Ag NPs对细菌均呈现出较低的抑菌效果,这可能是由于Ag NPs在液体中产生了团聚^[18]。总之,纳米复合材料显示出比单一的纯ZIF-8和Ag NPs高得多的抗菌效率,表明Ag NPs和ZIF-8复合材料可以持续释放微量的 Ag^+ 和 Zn^{2+} ,从而表现出协同抗菌性能^[18]。Cao等利用

Ag⁺修饰过的 MoS₂ 纳米片以及阳离子导电聚合物构建了高效且良性的抗菌药物, 相比于以前的抗菌药物, 这种抗菌药物不仅增强了对病原体的杀伤能力, 而且提高了其生物安全性^[32]。基于同样设计理念, Wu 等制备了 ZnO/Ag/rGO 三元复合光催化抗菌材料, 该复合材料不仅可以释放银离子抗菌, 而且还可以催化活化分子氧产生活性氧进行抗菌, 利用上述 2 种抗菌作用的协同效应实现了对大肠杆菌和金黄色葡萄球菌的高效抗菌作用^[33]。负载在还原氧化石墨烯(r-GO)上的银纳米粒子持续释放出微量的银离子, 银离子通过库仑引力牢固地吸附在带负电荷的细菌细胞膜上, 从而干扰细菌 DNA 合成, 进而使细菌丧失分裂繁殖能力; 而且, 与还原氧化石墨烯和银纳米粒子复合的氧化锌可以产生更多的·O₂⁻和·OH 等活性氧自由基, 具有氧化能力的自由基可分解细菌细胞膜使细菌破裂死亡; 银纳米粒子的表面等离子体共振效应不仅可以拓宽氧化锌半导体材料的光吸收范围, 而且可作为电子捕获阱捕获电子, 加速光生电子与空穴的分离, 有效抑制光生载流子的复合, 提高光催化效率^[33]。因此, 与其他银基抗菌材料相比, 该材料可以实现了 30 d 低浓度银离子持续释放, 并利用产生的活性氧和银离子稳定高效地进行抗菌。

1.2 天然酶@纳米材料作为纳米抗菌剂

1.2.1 溶菌酶

不溶性多糖是细菌细胞壁的重要组成部分, 溶菌酶可以催化细胞壁中不溶性多糖物质中的糖苷键断裂, 破坏细菌的细胞壁从而杀灭细菌。但在实际应用过程中, 溶菌酶结构不稳定阻碍了其在实际抗菌中的应用。利用各种纳米材料负载溶菌酶是提高溶菌酶抗菌性能的重要策略之一^[22]。在目前基于纳米颗粒的方案中, 溶菌酶通常被包裹在纳米粒子表面形成一个带正电荷的表面, 从而通过静电作用提高对细菌的粘附性。但是, 暴露在外表面的溶菌酶稳定性差、易变性, 不利于保持其长期抗菌活性。如何设计新型的纳米载体提高溶菌酶的抗菌活

性和持久性, 是一项富有挑战性的研究领域。介孔硅纳米粒子作为一种多孔材料, 由于其较大的比表面积和可调控的孔径, 成为负载天然酶的优良载体。Wang 等采用花状水滑石作为溶菌酶载体, 得到的固定化酶表现出良好的抗菌性能, 能够有效促进小鼠创面愈合; 这是因为表面粗糙的花状结构水滑石, 可以提高溶菌酶的载药率, 同时表面粗糙可以附着更多的细菌^[34]。同样, 澳大利亚昆士兰大学的研究人员用简单的方法制备了 SiO₂ 纳米“花粉”, 这些花粉的直径大约为 257 nm, 表面形貌与真实的花粉相似, 因此很容易粘附在细菌表面的纤毛上; 他们在花粉表面的小孔里装上溶菌酶, 当载有溶菌酶的花粉粘附在细菌表面后, 溶菌酶被缓慢地释放, 比利用光滑纳米硅球作为载体表现出更强的抗菌活性^[35]。这是因为这类材料粗糙的表面有利于材料吸附在细菌的表面, 提高溶菌酶的利用率; 利用这种花粉状的多孔材料作为载体, 不仅提高了溶菌酶的利用效率, 而且还延长了它的抑菌周期^[35]。

1.2.2 脱氧核糖核酸酶 I (DNase-I)

DNase-I 是一种能降解 EPS 细胞外 DNA 并分解生物膜基质的酶。DNase-I 对革兰氏阳性和革兰氏阴性细菌生物膜均有效, 并作为一种吸入性药物广泛用于囊性纤维化患者治疗与生物膜相关的呼吸道感染。然而, DNase-I 的蛋白质性质使其不稳定, 难以在生物膜内传递。为了解决这一问题, Baelo 等制备了环丙沙星(一种抗生素)包裹 PLGA 纳米颗粒, 并用 DNase-I 包被用于生物膜处理, 结果表明, 该复合物既能防止铜绿假单胞菌和金黄色葡萄球菌生物膜的形成, 又能去除 99.8% 以上已建立的生物被膜^[36]。然而, DNase-I 包被纳米颗粒具有负载能力低等缺点。而且, 用来包裹 DNase-I 的涂层 PLGA 纳米粒子不具有抗菌作用^[23], 因此仍需要与其他抗菌试剂结合提高其抗菌活性。Tasia 等^[23]设计了具有大锥形孔的新型银纳米粒子掺杂的介孔硅球, 用来装载 DNase-I 进行生物膜处理(图 3); 纳米硅球的孔道尺寸为 42 nm, 可以同

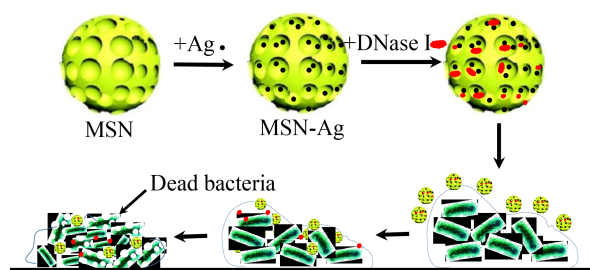


图3 载 DNase-I 酶的 MSN-Ag 的合成及生物膜的清除^[23]
Figure 3 Synthesis of MSN-Ag carrying DNase-I enzyme and removal of biofilm^[23]

时封装大量的 Ag 纳米粒子和 DNase-I。将该复合材料对革兰氏阴性菌(大肠杆菌 DH5)生物膜和革兰氏阳性菌(变形链球菌 cc25923)生物膜进行了生物膜清除能力的测定,并探讨了纳米制剂对大肠杆菌和变形链球菌生物膜的作用机制及对生物膜的分散效果。研究表明,由于 Ag 纳米粒子和 DNase-I 的协同作用,材料表现出优异的抗菌活性;材料首先释放负载的 DNase-I,降解 EPS 细胞外 DNA,促使细菌暴露,并促进 MSN-Ag 的渗透;然后,Ag NPs 主要通过释放银离子来对抗和杀死细菌,银离子使细菌酶失活并导致细菌死亡^[23]。

1.3 纳米酶为抗菌剂

虽然天然酶具有很高的底物选择性和生物催化性能,在温和条件下还具有极高的生物反应催化效率。然而,天然酶的低稳定性、高敏感性以及难回收的特点,阻碍了其在各个领域的实际应用。为了克服这些困难,使用纳米材料模拟天然酶的活性已经成为当前的一个研究热点。具有类似天然酶催化活性的纳米材料被定义为纳米酶(Nano-Enzymes)^[37-46]。ROS 在机体防御病原体侵袭中发挥着重要作用,纳米酶具有调控 ROS 的能力,产生的高强度自由基进入细菌内,可以切断核酸,使蛋白质失活,破坏细胞膜完整性;在生物膜基质中可以降解多种分子包括多糖、蛋白质、胞外 DNA 和脂类,从而杀灭多种耐药性细菌并清除生物膜^[4]。近 10 年来,纳米酶研究主要集中在模拟氧化还原酶和水解酶;具有氧化酶和过氧化物酶活

性的纳米酶,可以活化分子氧或过氧化氢,迅速产生大量的活性氧自由基,形成自由基风暴,实现快速高效杀菌^[19]。

1.3.1 碳基纳米酶

作为非金属纳米酶的重要组成部分之一,碳材料已经获得了研究人员的广泛关注^[47-50]。如 Wang 等^[50]利用绿色环保的方法合成了氧化碳纳米管,用于模拟天然的过氧化物酶;由于氧化碳纳米管在生理条件下能模拟过氧化物酶,催化双氧水产生羟基自由基,该团队结合氧化碳纳米管和极微量的双氧水,用于伤口细菌感染的治疗,避免了由于使用过量双氧水清除细菌而产生的一系列副作用^[50]。石墨烯量子点是一种零维的碳材料,具有良好的发光特性,在催化、药物运输、生物传感器方面有着广阔的前景。在光照下,石墨烯量子点同时具有抗氧化和助氧化的能力,其在抗癌和抗菌方面具有广阔的前景^[51]。最近, Sun 等利用石墨烯量子点(Graphene Quantum Dots, GQDs)的类过氧化物酶活性,成功构建了一个抗菌体系(图 4);在低浓度 H_2O_2 存在时, GQDs 可以将其催化生成高抗菌活性的 $\cdot OH$,从而有效提高杀菌效率。对比传统的抗菌试剂, GQDs 具有很好的生物安全性、抗菌效

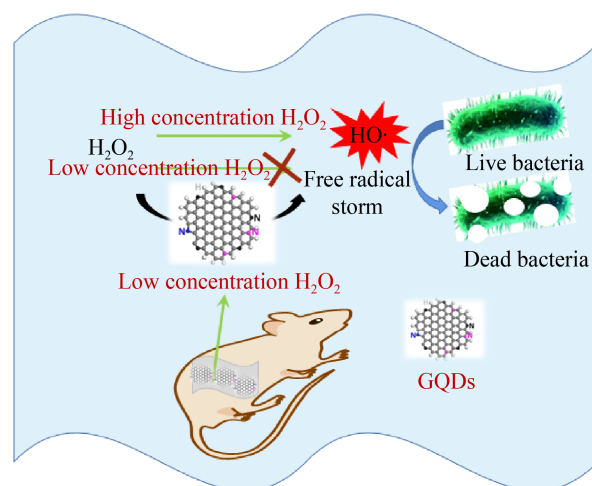


图4 GQDs 基创口贴活化低浓度 H_2O_2 的抗菌机制和伤口抗感染治疗的示意图^[52]

Figure 4 Diagram of wound disinfection in the presence of GQDs and lower concentrations of H_2O_2 ^[52]

果以及稳定性;为了探索 GQDs 潜在的生物医学应用,他们设计制备了 GQDs 创可贴,用于实际老鼠模型的伤口消毒,实验结果显示,即使在较低浓度 H_2O_2 存在时, GQDs 创可贴同样具有很好的杀菌效果,表明 GQDs 创可贴在伤口消毒方面具有很好的应用前景;随后, Sun 等合成了 $\text{g-C}_3\text{N}_4/\text{AuNPs}$ 杂化材料,这种纳米杂化材料具有增强的过氧化物酶活性,可以高效活化低浓度的过氧化氢产生自由基风暴,从而高效杀菌^[52]。进一步研究发现,这种材料不仅可以制备成创可贴用于有效治疗小鼠的伤口感染,还可以有效抑制金黄色葡萄球菌引起的小鼠肺部感染^[52-55]。石墨烯也是一类重要的碳基纳米酶^[56]。Zheng 等设计了一种氧化石墨烯与稀土氧化镧的新型纳米复合材料,并利用同步辐射技术、液相色谱-质谱及高分辨荧光显微镜等技术揭示了其细菌外多靶点侵袭 (Extracellular Multitarget Invasion, EMTI) 的独特杀菌机制^[57]。与细菌细胞膜接触后,通过脂质去磷酸化作用和脂质过氧化作用破坏细菌磷脂双分子层,与细胞壁接触后通过断裂肽聚糖破坏细菌细胞壁,造成细胞壁内外两侧渗透压失衡,从而高效杀灭细菌。与普通抗生素和 Ag 纳米粒子相比,其独特的抗菌机制使其对所有的耐药菌株均具有协同杀菌作用,而且不会导致细菌耐药,因此该石墨烯基新型纳米复合材料更有应用前景^[57]。

1.3.2 金属基纳米酶

金属基纳米酶包括单金属的 Au、Ag、Pt、Pd 等纳米颗粒以及双金属或多金属以合金或核壳等结构复合的纳米晶体^[58]。他们具有类氧化酶或者类过氧化物酶活性,可以将 H_2O_2 转化为对细菌毒性更大的羟基自由基($\cdot\text{OH}$),从而提高双氧水的杀菌能力,降低外源性 H_2O_2 的使用量^[59-60]。基于此研究背景, Fang 等^[61]通过实验、量子力学与分子动力学计算发现,在弱酸性条件下贵金属钯纳米材料表现出良好的类氧化酶活性,并显示可晶面调控的抑菌活性,尤其是革兰氏阳性菌与革兰氏阴性菌表现出相反的晶面调控特性。通过构建细菌模型与

大规模分子模拟,团队进一步揭示了这一相反调控特性的分子机理;他们首次报道了晶面调控纳米材料的抗菌活性,并深入阐述了相关分子机制,为纳米酶的发展和新型抗菌材料的设计提供重要理论指导。Ge 等继续开展了通过调控 Pt 基纳米材料的结构来优化其催化活性和抗菌性能。他们以 Pd 立方纳米晶体为前体,通过种子生长法和化学刻蚀法,合成了具有中空结构的 Pt 纳米枝晶,由于表面原子比例的大幅增加,这种中空结构材料的过氧化物酶活性是前体材料活性的 55 倍,因此可以显著增强过氧化氢的抗菌性能,从而高效抑制伤口的感染并促进伤口愈合^[62-63]。Cai 等合成了不同比例的铂银合金 $\text{Pt}_x/\text{Ag}_{100-x}$ ($x=25、50、75$) 八面体纳米颗粒,研究发现,由于表面 Pt 原子的增加以及 Pt 和 Ag 的协同作用, $\text{Pt}_{50}/\text{Ag}_{50}$ 表现出增强的过氧化物酶活性;而且,以革兰氏阴性菌大肠杆菌和革兰氏阳性菌金黄色葡萄球菌为模型菌进行了抗菌性能研究,该合金材料都表现出优异的抗菌性能,抗菌效率都可以达到 90% 以上^[64]。Tao 等合成了具有双酶活性的 Au 纳米粒子和介孔 SiO_2 的复合材料,利用其类过氧化物酶和氧化酶活性,大大降低了抗菌中使用的外源性 H_2O_2 浓度,不仅提高了抗菌效果,而且提高了抗菌材料的生物安全性^[65]。

1.3.3 单原子纳米酶

纳米酶是一类具有类酶活性的纳米材料,具有催化活性高、稳定性强、成本低等优势,但是纳米材料复杂的结构和原子组成不利于确定生物催化的本征活性位点,对研究者理解其构效关系造成巨大挑战。现有一些工作表明单原子催化剂 (Single Atom Catalysts, SACs) 具有原子级分散的活性位点,与天然金属蛋白酶类似,因此单原子纳米酶的概念应运而生。与传统纳米酶相似,单原子纳米酶也具有类过氧化物酶、过氧化氢酶、超氧化物歧化酶和氧化酶的特性,而其单原子分散的活性位点成为联结纳米酶与天然酶之间的桥梁,为深入理解认识生物催化的机理和本质提供新的解决方案^[66]。

众所周知, Fe 卟啉是自然界中过氧化物酶的活性中心结构。研究表明, Zn 金属酶也可以参与天然的生物催化过程^[67]。因此, Xu 等^[68]设计合成了一种基于 ZIF-8 材料的活性中心为 Zn 卟啉结构的单原子纳米酶, 作者利用多项实验结果和理论计算结果, 充分证实了其关键活性中心是 Zn 卟啉结构中的单原子 Zn-N₄ 的不饱和结构; 反应机理为纳米酶催化过氧化氢分子均裂产生大量羟基自由基, 从而高效杀菌, 杀菌效率高达 99.85%。而且, 小鼠感染伤口的愈合实验结果表明, 该单原子纳米酶抗菌体系只需低浓度的 H₂O₂ 就可有效促进小鼠伤口的愈合^[68]。

1.3.4 金属氧化物和硫化物纳米酶

常见的金属氧化物和硫化物纳米酶, 主要包括 Fe₃O₄、CeO₂、V₂O₅、ZnO、CuO、Mn₃O₄、MoS₂ 等, 主要表现出氧化还原酶的类酶活性。通过改变纳米材料的尺寸、形状、组分和表面修饰等方法来调控纳米酶的催化活性。多个课题组报道了利用类酶活性用于其生物分析和抗菌研究^[10]。虽然过氧化氢具有一定的杀菌能力, 但是单独使用较低浓度的过氧化氢时, 杀菌效率很低。Zhang 等利用微量的氧化铁作为纳米酶催化剂, 只需要加入低浓度的 H₂O₂ (13.5 mg/L) 可以产生大量的活性氧自由基, 可以完全清除大肠杆菌^[69]。Cao 等报道了 MoS₂ 作为模型纳米酶, 同时对耐药性革兰氏阴性菌大肠杆菌和革兰氏阳性菌金黄色葡萄球菌在体外和体内均表现出良好的抗菌效果^[59]。Shan 等报道了一种表面粗糙的 Cu₂WS₄ 纳米晶具有类氧化酶和类过氧化物酶的催化性质, 能够产生多种 ROS, 从而具有优异的抗菌活性^[70]。

2 总结与展望

纳米技术在耐药性细菌的抗菌方面展示了巨大的应用潜力。特别是多孔纳米材料, 由于其较大的表面积、规整可调的孔径、表面可控、形貌可调等特点, 在作为抗菌药物载体方面展现出良好的前景; 研究比较多的是类氧化还原酶的纳米酶, 这类

模拟酶可以通过活化分子氧或者过氧化氢生成 ROS, 利用产生的超强自由基风暴杀灭多种耐药菌, 并清除生物膜。可以通过调控其尺寸、表面性质、结构和组成等物理性质提高其纳米酶活性、抗菌性和生物安全性, 有望在伤口抗感染治疗、龋齿防治和环境防污等方面广泛应用。但是, 纳米酶抗菌在疾病治疗中的应用研究刚刚起步, 其相关机理和实际应用需要进一步深入研究, 主要包括以下几个方面的问题:

2.1 酶抗菌谱有待完善

虽然大多数报道表明纳米酶具有广谱抗菌性能, 但是目前文献研究中主要以模型菌, 如大肠杆菌、金黄色葡萄球菌为主要抗菌模型, 对真正能够给人类生命造成威胁的耐药性细菌抗菌效果的研究还有待开展。

2.2 纳米酶的抗菌机制不清楚

抗生素的过度使用导致的耐药性问题是全球关注的难题, 相关抗菌机理及其耐药性机制的研究非常广泛而且深入。但是, 目前关于纳米酶的抗菌机制主要认为是模仿过氧化物酶或者氧化酶产生活性氧自由基进行抗菌或者模拟水解酶破坏细胞膜上的糖肽或者 DNA, 其机理还有待深入研究, 而且纳米酶是否能够引发新的耐药性需要进一步研究。

2.3 纳米酶杀菌是否具有特异性

抗生素可以抑制特定细菌内蛋白质或酶的活性, 因此传统抗生素杀菌具有特定的抗菌谱。但是, 目前认为纳米酶的 ROS 抗菌机制主要是破坏细胞膜和细胞内的生物大分子, 抗菌机制比较复杂, 选择性较差。

2.4 纳米酶的生物安全性

众多的实验室研究结果证实, 纳米酶可以高效杀菌, 但是这方面的研究还停留在实验室阶段, 主要以小鼠皮肤表面的伤口抗感染治疗为主, 用于体内感染治疗的报道较少。如果要进行体内疾病的治疗, 纳米酶在体内环境下的杀菌效率和生物安全性

需要进行评估。

2.5 未来发展方向

纳米酶抗菌是一个有前景但又充满挑战的纳米生物交叉领域。未来可以通过多种抗菌机制协同抗菌,如提高细菌粘附能力,保证抗菌剂的持续释放,如利用光热催化反应、酶促级联反应、纳米催化和金属离子协同抗菌等协同抗菌策略,提高抗菌能力和选择性,并降低生物毒性。而且,在未来的研究中,我们可以结合关于药物靶点筛选的研究工作,在纳米材料上组装抗体和适配体等靶向分子,实现病原菌的富集、检测和杀灭一体化。纳米技术的迅速发展以及与生物技术的交叉融合,必将推动纳米抗菌剂的快速发展。在不久的将来,纳米抗菌剂很可能会成为传统抗菌剂的替代物之一,在耐药性细菌感染疾病中的临床治疗中占据重要地位,从而在保护人类的健康生活和促进经济发展中发挥重要作用。

REFERENCES

- [1] World Health Organization, Moja L. Antibacterial agents in clinical development: an analysis of the antibacterial clinical development pipeline, including tuberculosis[J]. World Health Organization, 2017
- [2] Fang Y. Construction and antibacterial properties of POM-based nanocomposite system[D]. Kaifeng: Master's Thesis of Henan University, 2019 (in Chinese)
方颜. 多酸基纳米复合材料的构建及抗菌性能研究[D]. 开封: 河南大学硕士学位论文, 2019
- [3] Busscher HJ, Van Der Mei HC, Subbiahdoss G, Jutte PC, Van Den Dungen JJAM, Zaat SAJ, Schultz MJ, Grainger DW. Biomaterial-associated infection: locating the finish line in the race for the surface[J]. Science Translational Medicine, 2012, 4(153): 153rv10
- [4] Liu Y, Shi LQ, Su LZ, Van Der Mei HC, Jutte PC, Ren YJ, Busscher HJ. Nanotechnology-based antimicrobials and delivery systems for biofilm-infection control[J]. Chemical Society Reviews, 2019, 48(2): 428-446
- [5] Theuretzbacher U, Piddock LJV. Non-traditional antibacterial therapeutic options and challenges[J]. Cell Host & Microbe, 2019, 26(1): 61-72
- [6] Chen JL, Liu W, Wang LL, Shang F, Chen YY, Lan J, Gao P, Ha NC, Quan CS, Nam KH, et al. Crystal structure of *Aeromonas hydrophila* cytoplasmic 5'-methylthioadenosine/S-adenosylhomocysteine nucleosidase[J]. Biochemistry, 2019, 58(29): 3136-3143
- [7] Zhao J, Li XY, Hou XY, Quan CS, Chen M. Widespread existence of quorum sensing inhibitors in marine bacteria: potential drugs to combat pathogens with novel strategies[J]. Marine Drugs, 2019, 17(5): 275
- [8] Zhang LY, Quan CS, Zhang XN, Xiong W, Fan SD. Proteoliposome-based model for screening inhibitors targeting histidine kinase AgrC[J]. Chemical Biology & Drug Design, 2019, 93(5): 712-723
- [9] Chen JL, Shang F, Wang LL, Zou LH, Bu TT, Jin LM, Dong YS, Ha NC, Quan CS, Nam KH, et al. Structural and biochemical analysis of the citrate-responsive mechanism of the regulatory domain of catabolite control protein E from *Staphylococcus aureus*[J]. Biochemistry, 2018, 57(42): 6054-6060
- [10] Quan CS, Zhang XN, Jin LM, Zhang LY, Zhao J, Fan SD. Construction and evaluation of AgrA/C two component signal transduction model of *Staphylococcus aureus*[J]. Microbiology China, 2018, 45(4): 856-865 (in Chinese)
权春善, 张旭宁, 金黎明, 张丽影, 赵晶, 范圣第. 金黄色葡萄球菌 AgrA/C 双组分信号转导模型的构建与功能评价[J]. 微生物学通报, 2018, 45(4): 856-865
- [11] Zhao J, Quan CS, Jin LM, Chen M. Production, detection and application perspectives of quorum sensing autoinducer-2 in bacteria[J]. Journal of Biotechnology, 2018, 268: 53-60
- [12] Sun L, Mao JS, Zhao Y, Quan CS, Zhong ML, Fan SD. Coarse-grained molecular dynamics simulation of interactions between cyclic lipopeptide Bacillomycin D and cell membranes[J]. Molecular Simulation, 2018, 44(5): 364-376
- [13] Xiong W, Quan CS, Zhang XN, Wang LN, Liu BQ, Jin LM, Fan SD. Quantitative analysis of protein orientation in membrane environments by kinase activity[J]. Journal of Bioscience and Bioengineering, 2016, 121(2): 242-246
- [14] Wang Y, Yang YN, Shi YR, Song H, Yu CZ. Antibiotic-free antibacterial strategies enabled by nanomaterials: progress and perspectives[J]. Advanced Materials: Deerfield Beach, Fla, 2020, 32(18): e1904106
- [15] Durán N, Durán M, De Jesus MB, Seabra AB, Fávaro WJ, Nakazato G. Silver nanoparticles: a new view on mechanistic aspects on antimicrobial activity[J]. Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine, 2016, 12(3): 789-799
- [16] Sánchez-López E, Gomes D, Esteruelas G, Bonilla L, Lopez-Machado AL, Galindo R, Cano A, Espina M, Ettcheto M, Camins A, et al. Metal-based nanoparticles as antimicrobial agents: an overview[J]. Nanomaterials, 2020, 10(2): 292
- [17] Shen MF, Forghani F, Kong XQ, Liu DH, Ye XQ, Chen SG, Ding T. Antibacterial applications of metal-organic frameworks and their composites[J]. Comprehensive

- Reviews in Food Science and Food Safety, 2020, 19(4): 1397-1419
- [18] Zhang YM, Zhang X, Song J, Jin LM, Wang XT, Quan CS. Ag/H-ZIF-8 nanocomposite as an effective antibacterial agent against pathogenic bacteria[J]. Nanomaterials, 2019, 9(11): E1579
- [19] Tang Y, Qiu ZY, Xu ZB, Gao LZ. Antibacterial mechanism and applications of nanozymes[J]. Progress in Biochemistry and Biophysics, 2018, 45(2): 118-128 (in Chinese)
唐燕, 仇智月, 许卓斌, 高利增. 纳米酶的抗菌机理与应用[J]. 生物化学与生物物理进展, 2018, 45(2): 118-128
- [20] Huh AJ, Kwon YJ. "Nanoantibiotics": a new paradigm for treating infectious diseases using nanomaterials in the antibiotics resistant era[J]. Journal of Controlled Release, 2011, 156(2): 128-145
- [21] Hajipour MJ, Fromm KM, Akbar Ashkarran A, Jimenez De Aberasturi D, De Larramendi IR, Rojo T, Serpooshan V, Parak WJ, Mahmoudi M. Antibacterial properties of nanoparticles[J]. Trends in Biotechnology, 2012, 30(10): 499-511
- [22] Wu TT, Wu CH, Fu SL, Wang LP, Yuan CH, Chen SG, Hu YQ. Integration of lysozyme into chitosan nanoparticles for improving antibacterial activity[J]. Carbohydrate Polymers, 2017, 155: 192-200
- [23] Tasia W, Lei C, Cao YX, Ye QS, He Y, Xu C. Enhanced eradication of bacterial biofilms with DNase I-loaded silver-doped mesoporous silica nanoparticles[J]. Nanoscale, 2020, 12(4): 2328-2332
- [24] Vedarethinam V, Huang L, Xu W, Zhang R, Gurav DD, Sun XM, Yang J, Chen RP, Qian K. Detection and inhibition of bacteria on a dual-functional silver platform[J]. Small, 2019, 15(3): e1803051
- [25] Slavin YN, Asnis J, Häfeli UO, Bach H. Metal nanoparticles: understanding the mechanisms behind antibacterial activity[J]. Journal of Nanobiotechnology, 2017, 15(1): 65
- [26] Rizzello L, Pompa PP. Nanosilver-based antibacterial drugs and devices: mechanisms, methodological drawbacks, and guidelines[J]. Chemical Society Reviews, 2014, 43(5): 1501-1518
- [27] Dunnill C, Patton T, Brennan J, Barrett J, Dryden M, Cooke J, Leaper D, Georgopoulos NT. Reactive oxygen species (ROS) and wound healing: the functional role of ROS and emerging ROS-modulating technologies for augmentation of the healing process[J]. International Wound Journal, 2017, 14(1): 89-96
- [28] Wakshlak RacheliBK, Pedahzur R, Avnir D. Antibacterial activity of silver-killed bacteria: the "zombies" effect[J]. Scientific Reports, 2015, 5: 9555
- [29] Tian X, Jiang XM, Welch C, Croley TR, Wong TY, Chen C, Fan SH, Chong Y, Li RB, Ge CC, et al. Bactericidal effects of silver nanoparticles on lactobacilli and the underlying mechanism[J]. ACS Applied Materials & Interfaces, 2018, 10(10): 8443-8450
- [30] Liao XW, Yang F, Li HY, So PK, Yao ZP, Xia W, Sun HZ. Targeting the thioredoxin reductase-thioredoxin system from *Staphylococcus aureus* by silver ions[J]. Inorganic Chemistry, 2017, 56(24): 14823-14830
- [31] Wang HB, Wang MJ, Yang XM, Xu XH, Hao Q, Yan AX, Hu ML, Lobinski R, Li HY, Sun HZ. Antimicrobial silver targets glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase in glycolysis of *E. coli*[J]. Chemical Science, 2019, 10(30): 7193-7199
- [32] Cao FF, Ju EG, Zhang Y, Wang ZZ, Liu CQ, Li W, Huang YY, Dong K, Ren JS, Qu XG. An efficient and benign antimicrobial depot based on silver-infused MoS₂[J]. ACS Nano, 2017, 11(5): 4651-4659
- [33] Wu YY, Zhang LL, Zhou YZ, Zhang LL, Li Y, Liu QQ, Hu J, Yang J. Light-induced ZnO/Ag/rGO bactericidal photocatalyst with synergistic effect of sustained release of silver ions and enhanced reactive oxygen species[J]. Chinese Journal of Catalysis, 2019, 40(5): 691-702
- [34] Wang Z, Yu H, Ma K, Chen YZ, Zhang XQ, Wang TX, Li SB, Zhu XQ, Wang XF. Flower-like surface of three-metal-component layered double hydroxide composites for improved antibacterial activity of lysozyme[J]. Bioconjugate Chemistry, 2018, 29(6): 2090-2099
- [35] Song H, Ahmad Nor Y, Yu MH, Yang YN, Zhang J, Zhang HW, Xu C, Mitter N, Yu CZ. Silica nanopollens enhance adhesion for long-term bacterial inhibition[J]. Journal of the American Chemical Society, 2016, 138(20): 6455-6462
- [36] Baelo A, Levato R, Julián E, Crespo A, Astola J, Gavalda J, Engel E, Mateos-Timoneda MA, Torrents E. Disassembling bacterial extracellular matrix with DNase-coated nanoparticles to enhance antibiotic delivery in biofilm infections[J]. Journal of Controlled Release, 2015, 209: 150-158
- [37] Gao LZ, Zhuang J, Nie L, Zhang JB, Zhang Y, Gu N, Wang TH, Feng J, Yang DL, Perrett S, et al. Intrinsic peroxidase-like activity of ferromagnetic nanoparticles[J]. Nature Nanotechnology, 2007, 2(9): 577-583
- [38] Yan XY. Nanozyme: a new type of artificial enzyme[J]. Progress in Biochemistry and Biophysics, 2018, 45(2): 101-104 (in Chinese)
阎锡蕴. 纳米酶: 新一代人工模拟酶[J]. 生物化学与生物物理进展, 2018, 45(2): 101-104
- [39] Wu J, Wang XY, Wang Q, Lou ZP, Li SR, Zhu YY, Qin L, Wei H. Nanomaterials with enzyme-like characteristics (nanozymes): next-generation artificial enzymes (II)[J]. Chemical Society Reviews, 2019, 48(4): 1004-1076
- [40] Huang YY, Ren JS, Qu XG. Nanozymes: classification,

- catalytic mechanisms, activity regulation, and applications[J]. *Chemical Reviews*, 2019, 119(6): 4357-4412
- [41] Liang MM, Yan XY. Nanozymes: from new concepts, mechanisms, and standards to applications[J]. *Accounts of Chemical Research*, 2019, 52(8): 2190-2200
- [42] Wang H, Wan KW, Shi XH. Recent advances in nanozyme research[J]. *Advanced Materials: Deerfield Beach, Fla*, 2019, 31(45): e1805368
- [43] Zhang RF, Fan KL, Yan XY. Nanozymes: created by learning from nature[J]. *Science China Life Sciences*, 2020, 63(8): 1183-1200
- [44] Li ZX, Feng KZ, Zhang W, Ma M, Gu N, Zhang Y. Catalytic mechanism and application of nanozymes[J]. *Chinese Science Bulletin*, 2018, 63(21): 2128-2139 (in Chinese)
李卓轩, 封开政, 张薇, 马明, 顾宁, 张宇. 纳米酶的催化机制及应用[J]. *科学通报*, 2018, 63(21): 2128-2139
- [45] Zhang YM, Song J, Pan QL, Zhang X, Shao WH, Zhang X, Quan CS, Li J. An Au@NH₂-MIL-125(Ti)-based multifunctional platform for colorimetric detections of biomolecules and Hg²⁺[J]. *Journal of Materials Chemistry B*, 2020, 8(1): 114-124
- [46] Zhang YM, Song J, Shao WH, Li J. Au@NH₂-MIL-125(Ti) heterostructure as light-responsive oxidase-like mimic for colorimetric sensing of cysteine[J]. *Microporous and Mesoporous Materials*, 2021, 310: 110642
- [47] Sun HJ, Zhou Y, Ren JS, Qu XG. Carbon nanozymes: enzymatic properties, catalytic mechanism, and applications[J]. *Angewandte Chemie: International Ed in English*, 2018, 57(30): 9224-9237
- [48] Xin Q, Shah H, Nawaz A, Xie WJ, Akram MZ, Batool A, Tian LQ, Jan SU, Boddula R, Guo BD, et al. Antibacterial carbon-based nanomaterials[J]. *Advanced Materials: Deerfield Beach, Fla*, 2019, 31(45): e1804838
- [49] Ding LJ, Wang H, Liu D, Zeng XA, Mao YQ. Bacteria capture and inactivation with functionalized multi-walled carbon nanotubes (MWCNTs)[J]. *Journal of Nanoscience and Nanotechnology*, 2020, 20(4): 2055-2062
- [50] Wang H, Li PH, Yu DQ, Zhang Y, Wang ZZ, Liu CQ, Qiu H, Liu Z, Ren JS, Qu XG. Unraveling the enzymatic activity of oxygenated carbon nanotubes and their application in the treatment of bacterial infections[J]. *Nano Letters*, 2018, 18(6): 3344-3351
- [51] Lv Y, Ma MR, Huang YC, Xia YS. Carbon dot nanozymes: how to be close to natural enzymes[J]. *Chemistry: Weinheim an Der Bergstrasse, Germany*, 2019, 25(4): 954-960
- [52] Sun HJ, Gao N, Dong K, Ren JS, Qu XG. Graphene quantum dots-band-aids used for wound disinfection[J]. *ACS Nano*, 2014, 8(6): 6202-6210
- [53] Wang ZZ, Dong K, Liu Z, Zhang Y, Chen ZW, Sun HJ, Ren JS, Qu XG. Activation of biologically relevant levels of reactive oxygen species by Au/g-C₃N₄ hybrid nanozyme for bacteria killing and wound disinfection[J]. *Biomaterials*, 2017, 113: 145-157
- [54] Huang YY, Lin YH, Pu F, Ren JS, Qu XG. The current progress of nanozymes in disease treatments[J]. *Progress in Biochemistry and Biophysics*, 2018, 45(2): 256-267 (in Chinese)
黄燕燕, 林友辉, 蒲芳, 任劲松, 曲晓刚. 纳米酶在疾病治疗中的最新进展[J]. *生物化学与生物物理进展*, 2018, 45(2): 256-267
- [55] Deng G. Application of Fe-based nanoparticles in nanoenzyme and nuclear magnetic resonance imaging[D]. Shanghai: Master's Thesis of Shanghai Normal University, 2019 (in Chinese)
邓广. 铁基纳米粒子在纳米酶及核磁共振成像中的应用[D]. 上海: 上海师范大学硕士学位论文, 2019
- [56] Song YJ, Qu KG, Zhao C, Ren JS, Qu XG. Graphene oxide: intrinsic peroxidase catalytic activity and its application to glucose detection[J]. *Advanced Materials*, 2010, 22(19): 2206-2210
- [57] Zheng HZ, Ji ZX, Roy KR, Gao M, Pan YX, Cai XM, Wang LM, Li W, Chang CH, Kaweeteerawat C, et al. Engineered graphene oxide nanocomposite capable of preventing the evolution of antimicrobial resistance[J]. *ACS Nano*, 2019, 13(10): 11488-11499
- [58] Fang G. The study on facet-dependent activities of nanozymes and their biological applications[D]. Suzhou: Doctoral Dissertation of Soochow University, 2018 (in Chinese)
方舸. 晶面调控纳米酶活性及其生物应用研究[D]. 苏州: 苏州大学博士学位论文, 2018
- [59] Cao FF, Zhang L, Wang H, You YW, Wang Y, Gao N, Ren JS, Qu XG. Defect-rich adhesive nanozymes as efficient antibiotics for enhanced bacterial inhibition[J]. *Angewandte Chemie*, 2019, 58(45): 16236-16242
- [60] Wang LL, Hu C, Shao LQ. The antimicrobial activity of nanoparticles: present situation and prospects for the future[J]. *International Journal of Nanomedicine*, 2017, 12: 1227-1249
- [61] Fang G, Li WF, Shen XM, Perez-Aguilar JM, Chong Y, Gao XF, Chai ZF, Chen CY, Ge CC, Zhou RH. Differential Pd-nanocrystal facets demonstrate distinct antibacterial activity against Gram-positive and Gram-negative bacteria[J]. *Nature Communications*, 2018, 9: 129
- [62] Wu RF. Study on enzymatic activity of Pt hollow nanodendrites and its application for wound disinfection[D]. Suzhou: Master's Thesis of Soochow University, 2018 (in Chinese)

- 吴仁飞. 铂中空纳米枝晶的类酶活性探索及其在伤口感染中的应用研究[D]. 苏州: 苏州大学硕士学位论文, 2018
- [63] Ge CC, Wu RF, Chong Y, Fang G, Jiang XM, Pan Y, Chen CY, Yin JJ. Synthesis of Pt hollow nanodendrites with enhanced peroxidase-like activity against bacterial infections: implication for wound healing[J]. *Advanced Functional Materials*, 2018, 28(28): 1801484
- [64] Cai SF, Jia XH, Han QS, Yan XY, Yang R, Wang C. Porous Pt/Ag nanoparticles with excellent multifunctional enzyme mimic activities and antibacterial effects[J]. *Nano Research*, 2017, 10(6): 2056-2069
- [65] Tao Y, Ju EG, Ren JS, Qu XG. Bifunctionalized mesoporous silica-supported gold nanoparticles: intrinsic oxidase and peroxidase catalytic activities for antibacterial applications[J]. *Advanced Materials: Deerfield Beach, Fla*, 2015, 27(6): 1097-1104
- [66] Jiao L, Yan HY, Wu Y, Gu WL, Zhu CZ, Du D, Lin YH. When nanozymes meet single-atom catalysis[J]. *Angewandte Chemie: International Ed in English*, 2020, 59(7): 2565-2576
- [67] Bhyrappa P, Sarangi UK, Varghese B. Mixed β -pyrrole substituted meso-tetraphenylporphyrins and their metal complexes: synthesis, structures and electrochemical redox properties[J]. *Inorganica Chimica Acta*, 2015, 426: 171-182
- [68] Xu BL, Wang H, Wang WW, Gao LZ, Li SS, Pan XT, Wang HY, Yang HL, Meng XQ, Wu QW, et al. A single-atom nanozyme for wound disinfection applications[J]. *Angewandte Chemie International Edition*, 2019, 58(15): 4911-4916
- [69] Zhang D, Zhao YX, Gao YJ, Gao FP, Fan YS, Li XJ, Duan ZY, Wang H. Anti-bacterial and *in vivo* tumor treatment by reactive oxygen species generated by magnetic nanoparticles[J]. *Journal of Materials Chemistry B*, 2013, 1(38): 5100-5107
- [70] Shan JY, Li X, Yang KL, Xiu WJ, Wen QR, Zhang YQ, Yuwen LH, Weng LX, Teng ZG, Wang LH. Efficient bacteria killing by Cu_2WS_4 nanocrystals with enzyme-like properties and bacteria-binding ability[J]. *ACS Nano*, 2019, 13(12): 13797-13808