抗生素功能化金磁纳米探针的制备及其过氧化物模拟酶性能研究

王鸿, 刘旭挺, 黄园, 袁冠银, 胡云云, 宋尔群*

西南大学药学院, 发光与实时分析教育部重点实验室, 重庆 400715

*通讯作者, E-mail: eqsong@swu.edu.cn

收稿日期: 2018-07-03; 接受日期: 2018-09-11; 网络版发表日期: 2019-01-07

摘要 以抗生素替考拉宁(Teicoplanin, Teico)作为还原剂和稳定剂, 还原吸附在羧基化四氧化三铁纳米粒子(Fe_3O_4)表面的氯金酸根离子(AuCl_4^-), 常温(25°C)下制备得到抗生素功能化金磁纳米探针(Teico-Au- Fe_3O_4)。通过紫外-可见光谱法、透射电子显微镜、能量色散光谱法、动态光散射等方法对所得抗生素功能化金磁纳米探针的形貌、结构、光学性质等进行表征, 并研究了其生物活性及过氧化物模拟酶催化性能。结果表明, 该探针对于金黄色葡萄球菌(*Staphylococcus aureus*, *S.aureus*)有明显的抑菌活性, 同时该探针具有过氧化物模拟酶催化活性, 对酶底物3,3',5,5'-四甲基联苯胺(tetramethylbenzidine, TMB)的米氏常数 K_m 为0.879 mM; 基于其生物活性及过氧化物模拟酶催化活性可初步应用于检测*S.aureus*。

关键词 抗生素, 金, 磁, 纳米探针, 过氧化物模拟酶

1 引言

金磁纳米材料一般由 Fe_3O_4 、 $\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$ 等磁性纳米粒子与金纳米材料组成, 其结构分类可分为核壳型、哑铃型、多组分混合型等^[1-3], 既具有磁性纳米粒子的超顺磁性、模拟酶活性等性质^[4], 又具有金纳米材料的特性如大比表面积、良好的生物相容性、易于偶联等^[5]。可广泛应用于化学催化^[6]、免疫检测^[7,8]及药物靶向治疗^[9]等领域。尽管金磁纳米材料在化学催化领域的应用已经被广泛研究^[6], 但其在生物催化领域的研究较少。据已有报道^[10,11], Fe_3O_4 和AuNPs均是纳米酶(类似天然酶催化活性的无机纳米材料, 能模拟生物酶活性中心的金属离子, 具有模拟氧化酶、过氧化物

酶、超氧化物歧化酶等性能), 具有过氧化物模拟酶活性, 能催化3,3',5,5'-四甲基联苯胺(tetramethylbenzidine, TMB)、Amplex UltraRed (AR)和鲁米诺等底物应用于比色、荧光和化学发光分析中^[12-14], 相比较于生物酶, 纳米酶具有易制备、易调控、耐酸碱、热稳定性好等优点, 因此需要研究稳定、低成本的纳米酶来替代生物酶。表面修饰不同化合物配体的 Fe_3O_4 和AuNPs纳米酶可提高其催化活性, Tian等^[15]将平面插层铜(II)复合分子修饰的 Fe_3O_4 纳米酶应用于协同催化检测micro-RNA, Wu等^[16]将2,6-二氨基嘌呤-AuNPs的过氧化物酶用于比色法检测尿液中的血红蛋白和红细胞。因此研究金磁复合纳米材料的模拟酶性能具有重要意义。

目前金磁纳米材料制备方法主要包括微乳液法、

引用格式: Wang H, Liu X, Huang Y, Yuan G, Hu Y, Song E. Preparation of antibiotic functionalized gold-magnetic nanoprobes and the study of their mimic peroxidase properties. *Sci Sin Chim*, 2019, 49: 391-398, doi: 10.1360/N032018-00157

组装法和晶种生长法等. Lin等^[17]用微乳液法两步还原制备得到金磁纳米材料. 组装法合成金磁纳米材料是指巯基化/氨基化的磁性纳米粒子与金纳米粒子通过Au-S、Au-N等化学键形成复合纳米材料. Li等^[18]将 $\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3/\text{SiO}_2$ 表面进行巯基化, 制备得到 $\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3/\text{SiO}_2/\text{Au}$. Wu等^[19]和Lou等^[20]通过氨基与AuNPs的共价作用力制备得到金磁纳米材料. 晶种生长法是指三价金离子在磁纳米粒子表面被还原沉积, 成核增长从而生成金磁纳米材料. Yan等^[4]通过晶种生长法制备得到单分散的金磁纳米材料. 金磁纳米材料制备方法中微乳液法制备简单, 但该方法得到的金磁纳米材料的表面有大量表面活性剂分子会影响其进一步表面功能化. 组装法合成步骤较为繁琐, 相对微乳液法及组装法, 晶种生长法合成更简单可控.

替考拉宁(Teicoplanin, Teico)是一种糖肽类抗生素, 其糖肽类结构能特异性地与革兰氏阳性菌(G^+)细胞壁上的N-乙酰胞壁酸五肽末端的D-丙氨酰-D-丙氨酸(D-Ala-D-Ala)部分以氢键结合^[21], 同时其糖苷结构具有还原性. 本文基于晶种生长原理, 在水相中以替考拉宁为还原剂还原吸附在 Fe_3O_4 磁性纳米粒子表面的三价金离子, 常温下简单方便地制得抗生素功能化金磁纳米探针(Teico-Au- Fe_3O_4 , 图1), 并研究了其过氧化物模拟酶性能. 研究表明Teico-Au- Fe_3O_4 探针对金黄色葡萄球菌(*Staphylococcus aureus*, *S.aureus*)有明显的抑菌活性, 同时Teico-Au- Fe_3O_4 具有良好的过氧化物模拟酶催化活性. 因此基于Teico-Au- Fe_3O_4 生物活性及过氧化物模拟酶催化活性可实现对*S.aureus*的检测.

2 实验部分

2.1 试剂与仪器

二巯基丁二酸四氧化三铁(DMSA- Fe_3O_4)购自南

京东纳生物科技有限公司(中国), 替考拉宁(Teicoplanin)购自上海阿达玛斯试剂有限公司(中国), 氯金酸($\text{HAuCl}_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$)购自国药集团化学试剂有限公司(中国), 3,3',5,5'-四甲基联苯胺(TMB)购自北京索莱宝科技有限公司(中国), 双氧水(H_2O_2)购自成都科龙化工试剂厂(中国), 其他试剂都为分析纯级别, 辣根过氧化物酶(horseradish peroxidase, HRP)购自北京索莱宝科技有限公司(中国), 金黄色葡萄球菌(*S.aureus*) ATCC 29213购自中国典型培养物保藏中心(中国), 实验用水为18.2 m Ω 超纯水(Millipore公司).

UV-2450紫外分光光度计(日本Shimadzu公司), LIBRA 200 PE透射电子显微镜(德国Carl Zeiss), Nano ZS ZEN3600动态光散射(英国Malvern仪器有限公司), JSM-7800F场发射扫描电镜(日本JEOL公司), Thermo escalab 250Xi X射线光电子能谱仪(美国Thermo Fisher Scientific公司), IR Prestige-21傅里叶红外光谱仪(日本Shimadzu公司).

2.2 实验方法

2.2.1 Teico-Au- Fe_3O_4 复合纳米探针的制备

取 HAuCl_4 (30.8 mg)加入到圆底烧瓶中, 加入超纯水(10 mL), 然后加入DMSA- Fe_3O_4 (4.8 mg), 室温下搅拌10 min, 然后加入Teicoplanin (56.4 mg), 室温下搅拌15 min, 调节pH至8, 搅拌24 h, 制备得到Teico-Au- Fe_3O_4 .

2.2.2 Teicoplanin-AuNPs纳米探针的制备

取 HAuCl_4 (8.76 mg) 加入至圆底烧瓶, 再加入Teicoplanin (10 mg), 然后一级水加至5 mL, 用NaOH调节pH至12, 于25℃下搅拌2 h, 制备得到Teicoplanin-AuNPs (Teico-Au)^[22].

图1 Teico-Au- Fe_3O_4 的合成示意图(网络版彩图)

Figure 1 The synthesis of Teico-Au- Fe_3O_4 (color online).

2.2.3 Teico-Au-Fe₃O₄生物活性的考察

取*S.aureus* (10^3 cfu/mL)分别与Fe₃O₄ (1 mg/mL)、柠檬酸纳米金(sodium citrate gold nanoparticles, citrate-AuNPs) (1 mg/mL)、Teicoplanin (2 mg/mL)、Teico-Au-Fe₃O₄ (2 mg/mL)于37℃孵育2 h, 随后分别取100 μL上述反应液均匀涂布在固体琼脂培养基上, 于37℃培养箱中孵育12 h, 观察菌落数.

2.2.4 Teico-Au-Fe₃O₄的过氧化物模拟酶作用

取Teico-Au-Fe₃O₄ (0.2 mg/mL)先后加入H₂O₂ (0.45 M)、TMB (0.8 mM), 随后用BR缓冲液(pH=3)将反应体积添加至500 μL, 50℃下反应5 min, 冰浴10 min, 测量波长为652 nm处的紫外可见吸收.

2.2.5 *S.aureus*的检测

取系列Teico-Au-Fe₃O₄ (1 mg/mL)、Teico-Au (1 mg/mL)分别与不同浓度的*S.aureus* (10^7 、 8×10^6 、 6×10^6 、 4×10^6 、 2×10^6 、 1×10^6 cfu/mL) 37℃孵育2 h后进行离心处理(3500 r/min, 10 min), 弃上层清液后沉淀中加入H₂O₂ (0.45 M)、TMB (0.8 mM), 随后用BR缓冲液(pH=3)将反应体积添加至500 μL, 50℃下反应10 min, 冰浴10 min, 测量紫外可见吸收.

3 结果与讨论

3.1 Teico-Au-Fe₃O₄的合成条件优化

不同合成条件会影响Teico-Au-Fe₃O₄的产率, 因此需要对Teico-Au-Fe₃O₄的合成条件(合成温度、时间、pH、投料比)进行优化. 以Teico-Au-Fe₃O₄在520 nm处的吸光度 $A_{520\text{ nm}}$ 为指标对合成温度、时间、pH、投料比进行优化, 由图2(a)可知, 随着温度的升高, $A_{520\text{ nm}}$ 逐

渐下降, 25℃时 $A_{520\text{ nm}}$ 最大, 表明常温下更适合Teico-Au-Fe₃O₄的生长, 因此最佳反应温度为25℃. 如图2(b)所示, 随着时间的增加 $A_{520\text{ nm}}$ 逐渐增大, 24 h后 $A_{520\text{ nm}}$ 趋于不变, 选择最佳反应时间为24 h. 由图2(c)可知, 当pH为8时, $A_{520\text{ nm}}$ 最大, 因此选择最佳反应pH为8. 正交实验不仅可以大大减少实验次数, 也能保证实验结果的准确性^[23,24], 因此采用正交实验对投料质量比进行优化. 采用的正交表L₉ (3³), 三因素为HAuCl₄、Teicoplanin、Fe₃O₄用量, 每个因素选择三个水平, 具体的正交试验设计及结果见表S1, S2 (网络版补充材料), 由表S3正交试验结果可知HAuCl₄、Teicoplanin和Fe₃O₄的质量比为6.4:11.7:1是最佳投料比.

3.2 Teico-Au-Fe₃O₄的表征

3.2.1 Teico-Au-Fe₃O₄的形貌结构表征

分别用透射电子显微镜(transmission electron microscope, TEM)及能量色散光谱法(energy dispersive spectrum, EDS)对合成的Teico-Au-Fe₃O₄探针进行表征. 由TEM结果(图3(a))可知, 在衬度较低的纳米粒子周围生长了很多衬度较高的粒子, 由于Au元素具有较高的电子密度, 允许较少的电子发射^[4], 所以衬度较高的粒子为AuNPs, 而衬度较低的纳米粒子则为Fe₃O₄, Teico-Au-Fe₃O₄的平均粒径为 10.6 ± 2.17 nm, 其水合粒径(图S1, 网络版补充材料)比TEM粒径略大. 用能量色散光谱EDS分析Teico-Au-Fe₃O₄的元素组成, 由图3(b)可知所制备产物中含有C、N、O、Fe、Au、Cl等元素, 与所加入反应物成分相一致. Teico-Au-Fe₃O₄的吸收光谱图(图S2)在520 nm处存在纳米金的吸收峰, 进一步证实成功合成Teico-Au-Fe₃O₄.

为了验证Teico-Au-Fe₃O₄的合成机理(即氯金酸根离子首先吸附在羧基化四氧化三铁表面, 随后被抗生

图2 Teico-Au-Fe₃O₄合成温度(a)、时间(b)和pH (c)优化

Figure 2 Optimization of synthesis temperature (a), time (b), and pH (c) of Teico-Au-Fe₃O₄.

图3 Teico-Au-Fe₃O₄的TEM图(插图为size分布图)(a)和EDS能谱图(b)(网络版彩图)

Figure 3 TEM image (inset shows size distribution) (a) and EDS energy spectrum of Teico-Au-Fe₃O₄ (b) (color online).

素替考拉宁还原成零价金, 最终得到Teico-Au-Fe₃O₄). 以X射线光电子能谱(X-ray photoelectron spectroscopy, XPS)和红外光谱(infrared spectroscopy, IR)分别对其中间产物AuCl₄⁻@Fe₃O₄和Teicoplanin @AuCl₄⁻@Fe₃O₄进行表征.

图S3(a)为中间产物AuCl₄⁻@Fe₃O₄的XPS图谱, 图谱显示金元素在83.6 eV (Au 4f)结合能处有一个典型的峰, 铁元素在711.1 eV (Fe 2p)结合能处有一个典型的峰, 证明AuCl₄⁻首先吸附于羧基化Fe₃O₄表面. 图S3(b)为中间产物Teicoplanin@AuCl₄⁻@Fe₃O₄的IR图谱, Teicoplanin@AuCl₄⁻@Fe₃O₄在1654 cm⁻¹处存在与Teicoplanin分子一致的酰胺键吸收峰, 证明中间产物Teicoplanin作用于AuCl₄⁻@Fe₃O₄表面以还原金离子. 以上分析可初步证实Teico-Au-Fe₃O₄的合成过程是按示意图(图1)所示进行.

3.2.2 Teico-Au-Fe₃O₄的生物活性表征

为了考察合成的Teico-Au-Fe₃O₄探针是否仍具备替考拉宁的抗生素生物活性, 以*S.aureus*为模型菌将Teico-Au-Fe₃O₄探针与*S.aureus*孵育后采用琼脂平板菌落计数法考察其抑菌活性. 由图4可知, 与具有大量菌落数的对照组PBS (a)、Fe₃O₄ (b)、citrate-AuNPs (c)相比, 阳性对照组Teicoplanin (d)和实验组Teico-Au-Fe₃O₄ (e)中几乎无菌落, 结果表明Teico-Au-Fe₃O₄仍具备替考拉宁抗生素抑菌的生物活性.

图4 *S.aureus* (10³ cfu/mL)分别与PBS缓冲液(a)、Fe₃O₄ (1 mg/mL) (b)、Citrate-AuNPs (1 mg/mL) (c)、Teicoplanin (2 mg/mL) (d)和Teico-Au-Fe₃O₄ (2 mg/mL) (e) 37°C孵育2 h后在培养皿中培养过夜的数码图片(网络版彩图)

Figure 4 Digital image of *S. aureus* (10³ cfu/mL) treated with PBS solution (a), Fe₃O₄ (1 mg/mL) (b), Citrate-AuNPs (1 mg/mL) (c), Teicoplanin (2 mg/mL) (d) and Teico-Au-Fe₃O₄ (2 mg/mL) at 37°C Celsius (e) for 2 h and then cultured on individual Petri dishes overnight (color online).

3.2.3 Teico-Au-Fe₃O₄的过氧化物模拟酶催化活性表征

金磁纳米材料在生物催化领域的研究较少, 已有文献对Fe₃O₄与AuNPs的过氧化物模拟酶作用进行了研究^[10,11], 因此有必要对复合纳米材料Teico-Au-Fe₃O₄的过氧化物模拟酶作用进行考察, 由图5可知, Teico-Au-Fe₃O₄能模拟过氧化物酶, 催化H₂O₂氧化TMB使其

图5 空白组(a)、Teico-Au-Fe₃O₄(0.2 mg/mL) (b)、HRP (25 µg/mL) (c)的TMB-H₂O₂吸收光谱, 插图为显色反应照片(网络版彩图)

Figure 5 Absorption spectra of TMB-H₂O₂ without the catalyst (a), catalyzed by Teico-Au-Fe₃O₄(0.2 mg/mL) (b), HRP (25 µg/mL) (c). Inset is a digital image of color reaction (color online).

产物TMB氧化物(TMB_{ox})在652 nm处有最大吸收。此外, 由图S5可知, 相比于DMSA-Fe₃O₄和Teico-Au, Teico-Au-Fe₃O₄作为过氧化物模拟酶时, TMB_{ox}在652 nm处的吸光度值($A_{652 \text{ nm}}$)高于DMSA-Fe₃O₄和Teico-Au作为过氧化物模拟酶时的 $A_{652 \text{ nm}}$, 表明Teico-Au-Fe₃O₄拟过氧化物酶催化效果强于DMSA-Fe₃O₄和Teico-Au。

为了得到Teico-Au-Fe₃O₄的过氧化物模拟酶最佳催化条件, 以 $A_{652 \text{ nm}}$ 为指标, 对影响其催化活性的温度、pH、H₂O₂浓度等因素进行考察。由图6(a)可知, 探针在70℃时催化活性最佳, 但由于H₂O₂在50℃时开始分解, 故选择催化温度为50℃。由图6(b)可知, 最适pH为3。图6(c)显示, 当TMB浓度为0.8 mM时, H₂O₂最佳浓度为0.45 M。

图6 Teico-Au-Fe₃O₄过氧化物模拟酶催化温度(a)、pH (b)和H₂O₂浓度(c)的优化

Figure 6 Optimization of catalytic conditions for peroxidase such as temperature (a), pH (b), and H₂O₂ concentration (c) of Teico-Au-Fe₃O₄ to H₂O₂.

由实验结果可知, Teico-Au-Fe₃O₄催化反应动力学遵循Michaelis-Menten模型, 表观动力学参数计算公式: $\frac{1}{v} = \frac{K_m}{V_{\max}} \cdot \frac{1}{[S]} + \frac{1}{V_{\max}}$, 其中 v 是初速度, $V_{\max}$ 是最大反应速度, 米氏常数 K_m 为酶促反应达最大速度($V_{\max}$)的1/2时底物(substrate, S)的浓度, K_m 为酶的一个特征性物理量, K_m 越小表示酶对该底物的亲和力越高。由H₂O₂和TMB浓度的Lineweaver-Burk双倒数曲线(图7)得到Teico-Au-Fe₃O₄的最大反应速率($V_{\max}$)及米氏常数(K_m) (表1)。

3.3 Teico-Au-Fe₃O₄的过氧化物模拟酶作用检测*S. aureus*

替考拉宁(teicoplanin)的糖肽类结构能特异性地与革兰氏阳性菌(G⁺)细胞壁上的N-乙酰胞壁酸五肽末端的D-Ala-D-Ala部分以氢键结合^[21]。此外, 由3.2.3小节可知, Teico-Au-Fe₃O₄具有较好的过氧化物模拟酶活性, 因此可同时运用探针生物活性和催化活性检测*S. aureus* (图8)。图9(A)为Teico-Au-Fe₃O₄探针用于检测不同浓度*S. aureus*时, TMB_{ox}的吸收图谱, 其中a~f为Teico-Au-Fe₃O₄分别与10⁷、8×10⁶、6×10⁶、4×10⁶、2×10⁶、10⁶ cfu/mL *S. aureus*生成Teico-Au-Fe₃O₄@*S. aureus*复合物, 复合物催化氧化TMB生成的TMB_{ox}的吸收图谱, 同时由图9(B)可知, 用Teico-Au-Fe₃O₄探针

表1 Teico-Au-Fe₃O₄的最大反应速率($V_{\max}$)及米氏常数(K_m)
Table 1 Maximum reaction rate ($V_{\max}$) and Michaelis constant (K_m) of Teico-Au-Fe₃O₄

催化剂	酶底物	$V_{\max}$ (10 ⁻⁸ Ms ⁻¹)	K_m (mM)
Teico-Au-Fe ₃ O ₄	TMB	8.54	0.879
Teico-Au-Fe ₃ O ₄	H ₂ O ₂	156	1289

图 7 H_2O_2 (a)和TMB (b)浓度的Lineweaver-Burk双倒数曲线

Figure 7 The Lineweaver-Burk double reciprocal curves of concentrations for H_2O_2 (TMB concentration was 0.8 mM) (a) and TMB (H_2O_2 concentration was 0.8 mM) (b).

图 8 Teico-Au- Fe_3O_4 探针检测*S.aureus*的示意图(网络版彩图)

Figure 8 Schematic illustration of Teico-Au- Fe_3O_4 for the detection of *S.aureus* (color online).

图 9 Teico-Au- Fe_3O_4 @*S.aureus*的TMB- H_2O_2 溶液的吸收图谱(*S.aureus*的浓度分别为a~f: 10^7 、 8×10^6 、 6×10^6 、 4×10^6 、 2×10^6 、 10^6 cfu/mL) (A), $A_{652\text{nm}}$ 对*S.aureus*的标准曲线(B) (网络版彩图)

Figure 9 Absorption spectra of TMB- H_2O_2 solution after treated with Teico-Au- Fe_3O_4 @*S.aureus* (concentrations of *S.aureus* from a to f: 10^7 , 8×10^6 , 6×10^6 , 4×10^6 , 2×10^6 , 10^6 cfu/mL) (A), the calibration curve of absorbance at 652 nm for the concentrations of *S.aureus* (B) (color online).

检测*S.aureus*时, 在 $1 \times 10^6 \sim 1 \times 10^7$ cfu/mL范围, $A_{652\text{ nm}}$ 与*S.aureus*的数量呈良好的线性关系($A=0.0365N+0.0377$, $R^2=0.9937$), LOD为 3.9×10^5 cfu/mL (LOD= $3S/K$, S 为10

次空白样品的标准偏差, K 为标准曲线的斜率). 与Teico-Au (图S6)相比, Teico-Au- Fe_3O_4 探针用于检测*S.aureus*时拥有更高的灵敏度.

4 结论

本文基于晶种生长原理, 以抗生素替考拉宁功能分子为还原剂, 简单方便地合成了具有生物识别性能的Teico-Au-Fe₃O₄纳米探针, 拓展了功能化金磁复合纳米材料的合成策略. 研究表明Teico-Au-Fe₃O₄具有

过氧化物模拟酶性能, 其催化动力学符合典型米氏动力学. 初步研究了基于其模拟酶催化性能在细菌检测方面的应用潜能. 本工作仅研究了Teico-Au-Fe₃O₄纳米探针在催化领域中的应用, 在光学成像、核磁共振成像方面的研究有待进一步开展.

补充材料

本文的补充材料见网络版<http://chemcn.scichina.com>. 补充材料为作者提供的原始数据, 作者对其学术质量和内容负责.

参考文献

- 1 Yang D, Ma J, Zhang Q, Li N, Yang J, Raju PA, Peng M, Luo Y, Hui W, Chen C, Cui Y. *Anal Chem*, 2013, 85: 6688–6695
- 2 Yu H, Chen M, Rice PM, Wang SX, White RL, Sun S. *Nano Lett*, 2005, 5: 379–382
- 3 Zhang H, Zhong X, Xu JJ, Chen HY. *Langmuir*, 2008, 24: 13748–13752
- 4 Gao L, Fan K, Yan X. *Theranostics*, 2017, 7: 3207–3227
- 5 Jans H, Huo Q. *Chem Soc Rev*, 2012, 41: 2849–2866
- 6 Wu Y, Zhang T, Zheng Z, Ding X, Peng Y. *Mater Res Bull*, 2010, 45: 513–517
- 7 Gu W, Deng X, Gu X, Jia X, Lou B, Zhang X, Li J, Wang E. *Anal Chem*, 2015, 87: 1876–1881
- 8 Garcia I, Gallo J, Genicio N, Padro D, Penades S. *Bioconjugate Chem*, 2011, 22: 264–273
- 9 Li WP, Liao PY, Su CH, Yeh CS. *J Am Chem Soc*, 2014, 136: 10062–10075
- 10 Gao L, Zhuang J, Nie L, Zhang J, Zhang Y, Gu N, Wang T, Feng J, Yang D, Perrett S, Yan X. *Nat Nanotech*, 2007, 2: 577–583
- 11 Jv Y, Li B, Cao R. *Chem Commun*, 2010, 46: 8017–8019
- 12 Wang S, Deng W, Yang L, Tan Y, Xie Q, Yao S. *ACS Appl Mater Interfaces*, 2017, 9: 24440–24445
- 13 Peltomaa R, Benito-Peña E, Barderas R, Sauer U, González Andrade M, Moreno-Bondi MC. *Anal Chem*, 2017, 89: 6216–6223
- 14 Yang X, Guo Y, Wang A. *Anal Chim Acta*, 2010, 666: 91–96
- 15 Tian L, Qi J, Oderinde O, Yao C, Song W, Wang Y. *Biosens Bioelectron*, 2018, 110: 110–117
- 16 Wu Y, Chen Y, Li Y, Huang J, Yu H, Wang Z. *Sens Actuat B-Chem*, 2018, 270: 443–451
- 17 Lin J, Zhou W, Kumbhar A, Wiemann J, Fang J, Carpenter EE, O'Connor CJ. *J Solid State Chem*, 2001, 159: 26–31
- 18 Li ZX, Peng ML, Jin YY, Wang XF, Cui YL, Chen C. *Chin Sci Bull*, 2011, 56: 2911–2915
- 19 Wu W, He Q, Chen H, Tang J, Nie L. *Nanotechnology*, 2007, 18: 145609
- 20 Lou L, Yu K, Zhang Z, Huang R, Zhu J, Wang Y, Zhu Z. *Nano Res*, 2012, 5: 272–282
- 21 Lee JG, Sagui C, Roland C. *J Am Chem Soc*, 2004, 126: 8384–8385
- 22 Song E, Yu M, Song Y. Chinese Patent, 201610488526.8, 2016-06-28 (in Chinese) [宋尔群, 余梦群, 宋杨. 替考拉宁功能化纳米金的制备方法及其产品和应用. 中国专利, 201610488526.8, 2016-06-28]
- 23 Shariati S, Khabazipour M, Safa F. *J Porous Mater*, 2016, 24: 129–139
- 24 Yu M, Wang H, Fu F, Li L, Li J, Li G, Song Y, Swihart MT, Song E. *Anal Chem*, 2017, 89: 4085–4090

Preparation of antibiotic functionalized gold-magnetic nanoprobe and the study of their mimic peroxidase properties

Hong Wang, Xuting Liu, Yuan Huang, Guanyin Yuan, Yunyun Hu, Erqun Song*

Key Laboratory of Luminescence and Real-Time Analysis, Ministry of Education; College of Pharmaceutical Sciences, Southwest University, Chongqing 400715, China

*Corresponding author (email: eqsong@swu.edu.cn)

Abstract: Antibiotic functionalized gold-magnetic nanoprobe (Teico-Au-Fe₃O₄) were prepared under room temperature (25°C) by using antibiotic teicoplanin (Teico) as reducing agent and stabilizer to reduce chloroauric acid which is adsorbed on carboxylated ferrihydrous oxide. The morphologies, structure and optical properties of the obtained Teico-Au-Fe₃O₄ nanoprobe were characterized by ultraviolet-visible spectroscopy, transmission electron microscope, energy dispersive spectrum, and dynamic light scattering etc. Then, their biological activity and mimic peroxidase catalytic activity were studied. It could be found that the Teico-Au-Fe₃O₄ nanoprobe showed obvious antibacterial activity against *Staphylococcus aureus* (*S.aureus*) and mimic peroxidase catalytic activity with Michaelis constant (K_m) of 0.879 mM for the enzyme substrate 3,3',5,5'-tetramethylbenzidine (TMB). And moreover, based on its biological activity and mimic peroxidase activity. The Teico-Au-Fe₃O₄ nanoprobe showed some preliminary application for the detection of *S.aureus*.

Keywords: antibiotic, gold, magnetic, nanoprobe, mimic peroxidase

doi: [10.1360/N032018-00157](https://doi.org/10.1360/N032018-00157)