

基于酶抑制原理的电化学生物传感器 在药物检测中的研究进展

尹淑怡, 王飞, 李曹龙*

(中国药科大学理学院化学系, 江苏南京 211198)

[摘要] 目前多种疾病的病理机制都与酶息息相关, 酶抑制剂类药物的开发也呈指数增长。构建复合酶电极的电化学生物传感器能够对酶抑制剂类药物进行简单、快速的分析检测。此类传感器根据电极材料的不同特性选择合适的单一或复合材料固定化酶, 制备生物识别受体元件, 用以检测待测物的酶抑制活性。按照与人体疾病和药物机制联系较为紧密的几类靶标酶为分类, 综述了近5年生物传感器在酶抑制剂类药物检测中的应用进展, 为后续筛选作为酶抑制剂的小分子先导化合物的进一步研究提供理论依据。

[关键词] 电化学; 生物传感器; 酶抑制剂; 药物检测

[中图分类号] O65

[文献标志码] A

[文章编号] 1001-5094 (2020) 11-0817-11

Recent Advances in Research on Electrochemical Biosensors based on Enzyme Inhibition for Drug Detection

YIN Shuyi, WANG Fei, LI Caolong

(Department of Chemistry, School of Science, China Pharmaceutical University, Nanjing 211198, China)

[Abstract] The pathogenesis of many diseases is closely related to enzymes, and the development of enzyme inhibitors is also increasing exponentially. The electrochemical biosensor constructed with composite enzyme electrode can analyze and detect enzyme inhibitor drugs effectively and efficiently. According to the various characteristics of the electrode materials, single or composite materials are selected for immobilizing the enzymes, and then a biorecognition receptor is formed to detect the enzyme inhibition activity of the analyte. In this review, we summarized the advances of the biosensors in the detection of enzyme inhibitor drugs in the past five years in terms of target enzymes that are closely related to human diseases and drug mechanisms, which provides a theoretical basis for further screening of small molecule lead compounds as enzyme inhibitors.

[Key words] electrochemical; biosensor; enzyme inhibitor; drug screening

酶作为具有高度特异性的蛋白质或 RNA, 可诱导生命体内多种反应发生, 包括分解反应、合成反应、代谢反应等, 也是生化反应的高效催化剂。酶的失活或变性阻碍了酶促反应的发生, 从而导致机体内物质的代谢失衡, 进而引发部分疾病。如异氰酸酯-2-硫酸酯酶作为硫酸皮肤素和硫酸乙酰肝素的溶酶体降解途径中的关键酶, 其结构改变会引起儿童疾病 Hunter 综合征^[1]; 半乳糖脑苷酶缺陷引起神经退行性疾病 Krabbe 病^[2]等。因此, 酶已经成为了近年来新药研发的重要靶标之一^[3-5]。此

外, 利用药物对酶的抑制作用来治疗肿瘤^[6]、阿尔茨海默病 (AD)^[7]、糖尿病^[8]、流感^[9]等疾病在临床中也备受关注。

在生物化学的分析手段中, 常通过固定化酶的方式对酶促反应速率、酶的动力学参数、酶对目标物的半数抑制浓度 (IC₅₀)、已知药物或待开发先导化合物对酶的抑制率等参数进行测定, 实现对上市药物的检测, 并筛选出在临床上等效或优于已上市药物的小分子化合物^[10-13]。作为体内检测前的分析步骤, 酶抑制剂的体外检测为药物的临床研究提供了一定的参考, 从而达到节约成本, 提高研发成功率的目的。

采用酶抑制原理在分子水平筛选候选药物的方法很多, 其中传统方法包括虚拟筛选法^[14]、紫外-可见分光光度法^[15]、荧光检测法^[16]、高效液相色谱法 (HPLC)^[17]。近年来处于科研前沿的筛选方法有

接受日期: 2020-05-20

项目资助: 国家重点研发计划 (No.2019YFC0312602)

*** 通讯作者:** 李曹龙, 教授;

研究方向: 功能材料与药物分析;

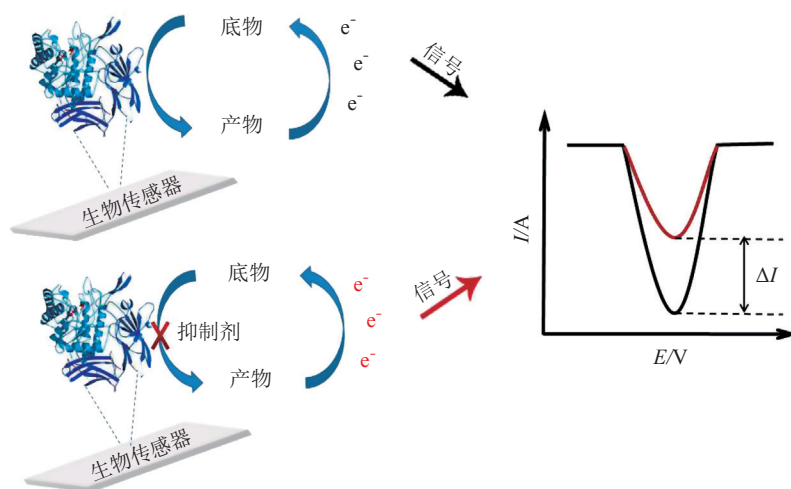
Tel: 025-86185163; **E-mail:** licl@cpu.edu.cn

质谱法^[18]、核磁共振波谱法(NMR)^[19]、生物传感法^[20]、毛细管电泳筛选法^[21]等。生物传感法中的电化学检测法是将酶固定于电极材料表面,在酶促反应的过程中构建氧化还原电子转移的平台,通过反应中复合酶电极对目标待测物的响应程度,建立起电信号变化与目标待测物浓度间的关系,实现对酶抑制剂类药物的精准测定。酶抑制型电化学传感器既有生物传感器小型化、高选择性的特点,又体现了电化学分析法快速、高灵敏度的优势,在药物设计、药物检测、分子筛选等方面都具有积极意义。本文将根据酶的分类,简要介绍细胞色素P450酶(CYP450)、酪氨酸酶(tyrosinase)、 α -葡萄糖苷

酶(α -Glu)、乙酰胆碱酯酶(AChE)等常用靶标酶的电化学生物传感器在材料选取以及目标物检测方面的应用,并对酶抑制型电化学生物传感器的发展趋势进行综述。

1 酶抑制型电化学生物传感器的构建

酶抑制型电化学生物传感器是一种以酶为载体,将目标物对酶的抑制程度与反应进程中的电信号变化相联系,从而对待测目标物进行分析检测的工具(检测机制如图1所示)。在该类传感器的构建过程中,电极材料的选择和酶的固定化效率是影响其性能的2个关键因素。



I : 电流强度; E : 输出电压; ΔI : 电流差值

图1 电化学生物传感器检测酶抑制剂类药物的原理示意图

Figure 1 Mechanism of electrochemical biosensor for detecting enzyme inhibitor drugs

目前应用于酶生物传感器的材料大多属于金属类或碳材料类。酶作为大分子蛋白质,固定于电极表面会出现阻抗升高、酶活降低等不利于电信号测定的问题,为了改善这一现状,放大终端信号,传统电极材料大多选用导电性良好的贵金属(金或铂)^[22]。例如,Cui等^[23]制备出具有均匀尺寸的金纳米线阵列材料,一方面解决了葡萄糖氧化酶(GOD)复合电极导电性差的问题,另一方面该金属材料的高电活性使酶传感器对葡萄糖的检测限大大降低。除金属材料外,碳材料因其良好的生物相容性、对待测物氧化还原反应的催化活性、化学性质稳定等优点,也在酶生物传感器的设计中备受青

睐^[24]。Peng等^[25]在传感器的制备中引入石墨烯量子点(GQD)作为新型的酶催化反应平台。除了具备碳材料的一般特性外,GQD还具有边缘效应,其羧基与电极上的甲基转移酶进行键合反应,从而牢固地附着于电极表面,提升传感器的灵敏性。Aliakbarinodehi等^[26]采用导电性更优于石墨的多壁碳纳米管(MWCNT),该材料具有更大的比表面积,能够吸附更多的酶细胞色素P450 3A4(CYP3A4),不仅能实现电子的快速传输,还能增强酶与电极之间的电信号。在近年来的文献报道中,金属材料与碳材料的复合逐渐成为生物传感器电极设计中的热点方向。Uzak等^[27]采用还原氧化石墨烯(rGO)、

多孔锌-金属有机骨架 (Zn-MOF) 和导电铂纳米颗粒 3 种材料制备酶生物传感器, 不仅通过金属铂提高了电子迁移率, 还通过 Zn-MOF 提高传感器的乙酰胆碱酯酶负载能力, 同时 rGO 增大了固定酶的表面积和孔隙率。在随后的研究中, Dong 等^[28] 提出制备 MOF 衍生材料的方法, 在保留 MOF 原有优点的基础上, 进一步增加了酶 GOD 固定量, 提高了电子传递速率。此外, 还有其他新兴材料也被用于提升酶传感器性能。Tan 等^[29] 以纸作为辅助材料, 将酶 GOD 预存储于其中, 再与丝网印刷电极 (SPE) 一同用于便携式电化学生物传感器的开发, 构建了低成本、高灵敏度、可重复生产的一次性电极检测平台。

固定化酶技术是生物传感器构建中的关键部分, 它以靶标酶作为生物传感元件, 将其固定于不同的电极材料中, 实现对酶底物、酶产物或抑制剂的特异性检测。在酶的固定化操作中, 一方面需要保证酶的内在结构、酶活力、生物活性等不发生改变, 另一方面需要保证靶标酶与电极材料结合紧密, 以防止其在使用过程中被解吸附, 进而影响传感器的

稳定性以及使用寿命。根据传感器应用的不同需要, 酶的固定化方法也略有不同。传统的方法有吸附^[30]、包埋^[31]、交联^[32]、共价结合^[33]、亲和法^[34], 目前也有文献报道将上述个别方法结合起来, 用以改善酶活性中心与电极表面的电荷转移速率^[35]。此外, 纳米粒子和磁性颗粒的引入也在一定程度上提高了酶的固定化效率。

2 基于酶抑制原理的临床药物检测以及先导化合物筛选

在目前已有的研究报道中, 通常是将酶作为识别元件固定在电极表面, 根据材料的不同特性设计出酶固定化效率较为理想的电极, 再将生化反应过程中的化学信号转变为电信号, 一方面通过电化学方法实现对已上市药物的低检测限精确检测, 另一方面将上述信号变化与待筛选活性小分子在酶电极上产生的信号进行比对, 完成具有潜在药理活性先导化合物的快速高效筛选。根据检测过程中靶标酶种类的不同, 我们将现有的生物传感器进行汇总并分类 (见图 2)。

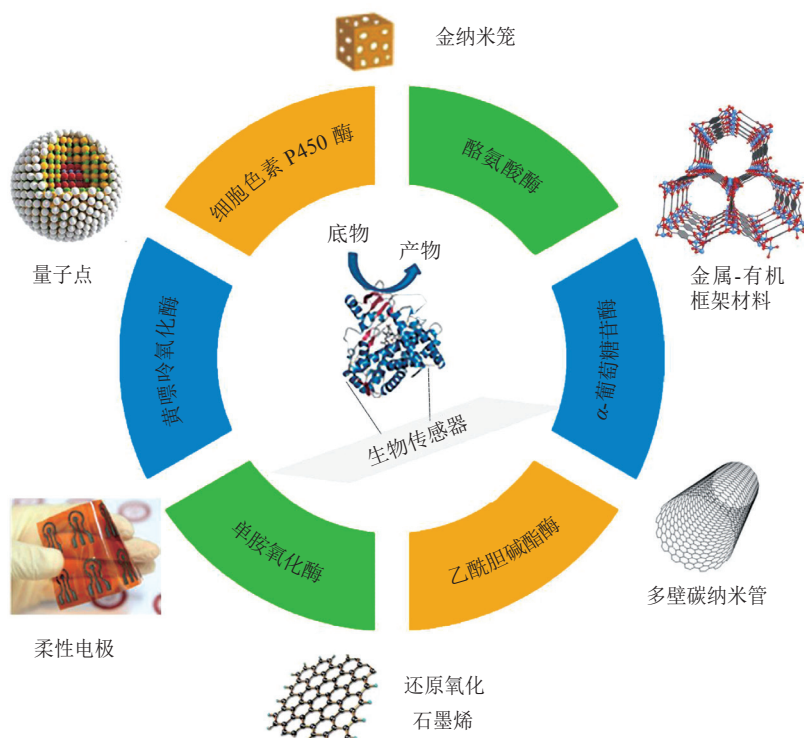


图 2 基于酶抑制原理的电化学生物传感器的分类

Figure 2 Classification of electrochemical biosensors based on the principle of enzyme inhibition

2.1 细胞色素 P450 生物传感器

以血红素为活性中心的细胞色素 P450 在催化生物化学反应的过程中, 会将电子由还原型烟酰胺腺嘌呤二核苷酸磷酸 (NADPH) 经 CYP450 还原酶 (CPR) 传递至 CYP450 血红素, 参与人体内源性物质或药物等外源性物质的首过代谢^[36]。基于该原理的电化学生物传感器不需要氧化还原媒介体, 可以减少媒介体对传感器信号检测的干扰。据此, 研究者们设计出一系列包含 CYP450 催化的生物电子平台作为药物等外源性物质代谢的体外模型, 监测 CYP450 不同亚型的底物如奥美拉唑^[37]、萘普生^[38]、雄烯二酮^[39]、17 β -雌二醇^[40] 等的代谢。此后, 对于代谢酶 CYP450 抑制剂的研究也逐渐成为人们关注的热点, 包括抑制剂类药物的检测以及药物研发中先导化合物的筛选都可以借助 CYP450 酶活性^[41]。若该酶固定于电极上, 能够直接从电极接受电子, 而不依赖于作为电子供体和电子转移伴侣酶的 NADPH 和 CPR。CYP450 酶作为生物传感器的一部分, 有助于实现对药物的高灵敏度检测^[42]。表 1 总结了近 5 年 CYP450 的不同亚型以及相应的生物传感器在

酶抑制剂类药物检测中的应用。

Aliakbarinodehi 等^[43] 通过引入 MWCNT 构建相应的生物传感器, 证实了前列腺癌靶向药物阿比特龙对 CYP3A4 的抑制作用。在该传感器的构建中, 材料与酶相辅相成, 一方面, MWCNT 的 3D 多孔纳米结构能够提高材料有效表面积以吸附大量酶并维持酶催化活性; 另一方面, 酶的存在也防止了阿比特龙对 MWCNT 的材料污染。此外, 该传感器成功应用于人血清样本中阿比特龙的检测, 在多干扰物共存的情况下仍展现出 230 nmol·L⁻¹ 的优良检测限。Ajayi 等^[44] 将酶固定在以金电极为基底的聚(8-苯胺-1-萘磺酸) 上, 通过电流生物传感器检测了帕罗西汀对该酶的竞争性抑制作用。该传感器对药物的响应范围为 0.005~0.05 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$, 检测限低至 0.002 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$, 响应仅耗时 30 s, 除了这些良好的分析性能外, 传感器的重复性和稳定性也显著提高。上述几篇文献报道的酶传感器虽然材料组成不同, 但原理都是先进行酶活性检测, 再加入抑制剂类药物后得到药物分子对该酶的抑制率, 实现对药物分子的精确检测。

表 1 基于 CYP450 的生物传感器在酶抑制剂类药物检测中的应用

Table 1 Application of CYP450-based biosensor in the detection of enzyme inhibitor drugs

传感器	抑制剂 (药物)	检测方法	检测限	参考文献
cSPE/MWCNT/CYP3A4	阿比特龙	循环伏安法	230 nmol·L ⁻¹	[43]
Au/PANSA/CYP2D6	帕罗西汀	计时安培电流法	2 nmol·L ⁻¹	[44]
		方波伏安法		
		示差脉冲伏安法		
Au/Cyst/3-MPA-PdTeQD/CYP3A4	茚地那韦	循环伏安法	0.023×10 ⁻⁷ mg·L ⁻¹	[45]
Au/MPS/PAMAM G4.0-Au/CYP3A4	咖啡因	循环伏安法	-	[46]

cSPE: 商用丝网印刷电极; PANSA: 聚(8-苯胺-1-萘磺酸); Cyst: 巯基乙胺; 3-MPA: 3-巯基丙酸; PdTeQD: 碲化钡量子点; MPS: 3-巯基丙烷-1-磺酸盐; PAMAM G4.0: 第 4 代聚酰胺树枝状大分子

2.2 酪氨酸酶生物传感器

酪氨酸酶作为一种多功能含铜酶, 参与人体中的黑色素合成反应, 其中, 酚类和醌类会在酶的催化下产生电子转移^[47]。由于电流信号与酪氨酸酶活性成正比, 采用电化学分析方法对电信号进行检测, 酶抑制剂类物质的检测下限可达纳摩尔级别^[48]。此类生物传感器不仅可以检测临床药物, 在微生物、食品、环境、农药等分析领域也应用广泛^[49-53]。表 2 总结了近 5 年以醌类物质电信号变化为基础的生物传感器在酶抑制剂类药物检测中的应用。

El Harrad 等^[56] 采用酪氨酸酶修饰的纳米碳糊电极, 不仅能够成功检测白蛋白和胰蛋白酶活性, 还实现了对酪氨酸酶抑制剂亮抑酶肽的灵敏检测, 同时解决了醌类有色化合物无法进行光学检测的难题, 因此在临床诊断和蛋白酶抑制剂的筛选中得到广泛应用。Frangu 等^[58] 构建了用于检测对乙酰氨基酚的电流型生物传感器, 通过修饰酪氨酸酶和非功能化石墨烯, 使得传感器的检测电位可低至 0 V, 避免其他电化学活性物质在电极表面发生反应引起电信号变化, 从而提高传感器的选择性。该方法辅

助流动注射分析法 (FIA) 用于上市药品和血清样本的检测, 结果表明, 其检测性能可与 HPLC 媲美, 且具有更好的选择性、简便性和时效性。

表 2 基于酪氨酸酶的生物传感器在酶抑制剂类药物检测中的应用

Table 2 Application of tyrosinase-based biosensor in the detection of enzyme inhibitor drugs

传感器	抑制剂 (药物)	检测方法	检测限 / ($\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$)	线性范围 / ($\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$)	参考文献
SPE/IrOxNPs/MNPs/Tyr	甲硫咪唑	电流滴定法	0.006	0.1~10	[54]
SPE/ERGO/IrOxNPs/Tyr	卡托普利	电流滴定法	0.008	0.05~14	[55]
CNPE/Tyr	亮抑酶肽	计时安培电流法	0.25	0.25~5	[56]
Nafion-GO-Zr(WO ₄) ₂ /Glu-Tyr/POPD/CF	多巴胺	电流滴定法	-	0.01~0.57	[57]
SPCE/NFG/Tyr-GTA/Nafion	对乙酰氨基酚	电流滴定法	1.1	3.8~130	[58]
SPCE/AuNPs/Tyr	磺胺甲噁唑	电流滴定法	22.6	20~200	[59]

SPE: 丝网印刷电极; IrOxNPs: 氧化铱纳米粒子; MNPs: 磁性纳米颗粒; ERGO: 电化学还原氧化石墨烯; CNPE: 纳米碳糊电极; Nafion: 全氟磺酸; Zr(WO₄)₂: 钨酸锆; Glu: 葡萄糖苷酶; POPD: 聚邻苯二胺; CF: 碳素纤维; SPCE: 丝网印刷碳电极; NFG: 非功能化石墨烯; GTA: 戊二醛; AuNPs: 金纳米颗粒

2.3 α -葡萄糖苷酶生物传感器

α -葡萄糖苷酶在人体中催化底物释放葡萄糖, 是保持人体餐后血糖在正常范围内的重要因素, 同时也是 2 型糖尿病病理机制中的重要一环^[60]。开发 α -Glu 抑制剂类药物, 减缓糖尿病患者餐后利用碳水化合物产生葡萄糖的速度, 降低患者血糖浓度, 是目前主要的临床治疗策略^[61]。在电化学检测中, 通常是以药物对 α -Glu 的抑制率为评价指标, 间接检测药物在体内减缓葡萄糖产生的效果^[62]。将其他化合物对该酶的抑制率与现有药物的抑制率进行对比, 可以筛选出对 α -Glu 有较强抑制作用的化合物, 为新药的发现提供指导帮助^[8,12,63]。

Mohiuddin 等^[64] 构建了用于评价药用植物的活性成分抗糖尿病潜力的生物传感器。该实验通过葡萄糖苷酶催化底物对硝基苯基- α -D-吡喃葡萄糖苷 (PNPG) 产生对硝基苯酚 (*p*-NP), 并用电化学循环伏安法记录产物 *p*-NP 的电信号。加入药用植物活性成分前后的 *p*-NP 的还原峰电信号差异用于评估其抗糖尿病潜力, 有助于从药用植物中寻找筛选具有抗糖尿病活性的天然活性组分。Li 等^[65] 引入具有特定氨基酸序列的适配体与 α -Glu 进行反应, 其产物对氨基苯酚可引起明显的电流变化, 不仅可以应用于酶活性的检测, 还可以进行抑制剂的筛选。值得一提的是, 该传感器还具有可再生的特点, 通过水洗即可重复使用。

2.4 乙酰胆碱酯酶生物传感器

乙酰胆碱酯酶是一种从不同有机物中分离得到

的酶, 作为降解神经递质乙酰胆碱 (ACh) 的主要酶被引入 AD 的治疗策略中。目前较为被大众接受的 AD 病理机制即为“胆碱能学说”^[66], 该学说认为老年性痴呆症患者脑内的神经递质 ACh 的缺失是导致 AD 的关键因素, 因此, 通过 AChE 抑制剂来抑制 ACh 的水解, 从而改善由胆碱能神经元受损而引起的 AD 相关症状, 也成为设计新型的电化学生物传感器和筛选相关药物的有力依据。

硫代胆碱是硫代乙酰胆碱在 AChE 催化下所得产物, 其浓度大小与其所测得的氧化电流高低成正比^[67]。在酶抑制剂类药物存在的情况下, 硫代胆碱的氧化电流也会产生相应的变化, 由此而产生的电信号被酶传感器所捕获, 可作为 AChE 抑制剂类药物的通用检测原理。目前基于该原理而开发的上市药物有他克林、多奈哌齐、卡巴拉汀、加兰他敏、石杉碱甲等, 与之相关的高灵敏快速检测型生物传感器也被相继开发 (见表 3)。

Shamagsumova 等^[68] 在玻碳电极上用电流滴定的方法电解沉积了树枝状银纳米晶体, 并与电极上所涂布的低聚交酯组成复合材料构建生物传感器。该研究引入低聚交酯片段测定多奈哌齐、小檗碱、石杉碱甲这 3 种抗胆碱酯酶药物, 可以降低银电极对传感器的响应干扰, 使传感器在低工作电势 (0.05 V) 下具有更灵敏的信号响应。除此之外, 传感器还能够对上述 3 种药物在尿样中的残留进行逐一分析。Ivanov 等^[69] 从 AChE 的固定策略出发, 实现了对酶生物传感器的性能优化。在该研究中, 聚电解质

复合物被引入用以提高 AChE 的固定化效率。与一般的共价连接固定化酶策略相比, 该方法在检测抗 AD 药物 (多奈哌齐和小檗碱) 方面具有更高的灵敏度和更低的检测限。此后, 该课题组又针对聚电解质进行了优化, 将 DNA 作为聚阴离子引入到聚电解质复合物的组装中, 使得传感器表面涂层更加稳定, 进一步提高了药物测定的灵敏度^[70]。Alvau 等^[73]引入 AChE 和胆碱氧化酶 (ChOx) 构建酶传感器, 用以量化检测抗肿瘤药伊立替康, 利用双酶

反应的产物过氧化氢来达到快速检测目的, 为肿瘤患者的临床药物实时监测提供了全新的可靠途径。此外, AChE 生物传感器还可用于神经毒素的快速检测。Hu 等^[74]采用纳米多孔金膜和还原氧化石墨烯-二氧化锡纳米颗粒 (RGO-SnO₂) 纳米复合材料对酶进行高效固定, 避免了荧光检测中繁琐而费力的标记过程。此项研究中的生物传感器仅在 30 min 富集时间后即可灵敏检测神经毒素法西林, 检测限低至 8 pmol·L⁻¹, 为毒素的筛选工作提供了一定的指导帮助。

表 3 基于乙酰胆碱酯酶的生物传感器在酶抑制剂类药物检测中的应用

Table 3 Application of acetylcholinesterase-based biosensor in the detection of enzyme inhibitor drugs

传感器	抑制剂 (药物)	检测方法	检测限 / (nmol·L ⁻¹)	参考文献
GCE/Poly lactide-AgNP/AChE	多奈哌齐	电流滴定法	0.05	[68]
	小檗碱		0.05	
	石杉碱甲		0.001	
Pt/Co phthalocyanin/CB/AChE	多奈哌齐	电流滴定法	0.46	[69]
	小檗碱		70	
GCE/CoCP/CB/AChE	石杉碱甲	循环伏安法	0.9	[70]
	加兰他敏	计时安培电流法	70	
SPE/MPs/AChE	加兰他敏	方波伏安法	1 500	[71]
dot shaped carbon/MPs/AChE	他克林	方波伏安法	8 100	[72]

GCE: 玻碳电极; AgNP: 银纳米粒子; CB: 炭黑; CoCP: 酞菁钴; MPs: 磁性粒子

2.5 基于其他酶的生物传感器

在对黄嘌呤氧化酶 (XOD) 有抑制活性的药物的检测中, El Harrad 等^[75]建立了用电流型生物传感器筛选药用植物中具有 XOD 抑制活性组分的方法。该研究采用普鲁士蓝 (PB) 修饰电极, 通过 Nafion 将 XOD 固定在 SPE 上, 排除了其他易氧化物质对分析检测过程的干扰。实验结果一方面比较了已上市药物别嘌呤醇和各类药用植物提取液的抑制率, 成功筛选出几个抑制活性大于别嘌呤醇的天然活性成分; 另一方面对比分光光度检测法和电化学检测法的检测性能, 发现后者具有更高的灵敏度。

单胺氧化酶 (MAO) 抑制剂同样可以通过构建酶传感器的手段达到低浓度检测的目的。Aigner 等^[76]采用苯乙胺作为底物, 通过渗析膜将人单胺氧化酶 B (hMAO B) 固定在 SPE 上, 实现了对临床药物司来吉兰的快速测定, 并采用实际样品验证传感器性能, 为后续酶抑制剂类药物的筛选提供参考。Ishida 等^[77]建立了新型的 MAO 生物传感器测量多巴胺 (DA) 的体内含量, 不仅可以高选择性地检

测 DA 的含量而不受其他单胺类物质的干扰, 还实现了体内 DA 水平变化的实时监测。

酶生物传感器不仅可以用来检测酶促反应过程中的电信号响应, 还可以通过反应之外的电信号响应进行酶活性评价。例如, Chowdhury 等^[78]建立了将亚甲蓝 (MB)-脂质体生物传感器用于实时监测鞘磷脂 (SM) 酶活性的方法。先将具有氧化还原性的 MB 包裹于 SM 脂质体中, 再用目标酶破坏脂质体, 使 MB 自由释放, 用电化学差分脉冲伏安法 (DPV) 检测 MB 的释放浓度, 间接检测鞘磷脂酶的活性, 且实现了信号的放大。此外, 该传感器还成功实现了人血清样本中鞘磷脂酶的检测。此方法的检测限为 7.2 mU·L⁻¹, 远低于市售的酶活性分析仪器, 其具有便捷、响应快速、高灵敏度的特点, 为酶活性和抑制剂的即时筛选提供了一定的可能。

3 结语与展望

本综述简要总结了近 5 年基于酶抑制原理的生物传感器用于电化学检测酶活性、临床药物以及部

分药用植物活性组分的研究工作, 阐明了固定化酶生物传感器在药物筛选、实际样本检测、天然活性小分子先导化合物的发现等领域的重要意义。酶在人体中能够参与多种生化反应, 同时维持机体内环境稳态。酶的活性变化也常常与疾病的机制相联系, 因此, 在生命分析领域, 部分酶活性的检测被用作相关疾病的临床诊断标准^[79-81]。而在药物分析领域, 还有许多酶被视为药物靶标, 如 CYP450、AChE、XOD、环氧合酶 (COX-2)^[82] 等。此外, 根据酶抑制原理筛选自然界药用植物活性成分或人工设计具有药理活性的分子, 进而开发相应药物来治疗疾病也是当前较为热门的研究方向。由此可见, 开发新型、高效、灵敏的酶抑制剂分析检测方法意义重大。由于酶具有专一性和多样性的特点, 一种酶只催化一种或一类底物, 不同疾病所对应的靶标酶也各有不同, 这使得基于酶抑制剂的分析检测方法趋于专属化。不同于滴定、色谱或质谱等传统方法, 电化学分析法具有快速、灵敏、易于原位检测等独特优势, 在与酶相关的分析检测方法中脱颖而出, 成为科研工作者们日趋关注的焦点。从检测的实用性来看, 采用酶传感器检测血样或尿样中的药物含量的技术日趋成熟, 但针对体内血药浓度的实时监测或表皮汗液监测等问题, 酶传感器的设计方向趋向于可穿戴式或皮下可植入式, 使之在日常生活中应用

更加广泛^[83-84]。从传感器的性能来看, 由于传感器中的酶固定量难以维持, 以及酶自身使用寿命有限, 设计能够重复利用的可再生酶传感器或是低成本、小型化、一次性的商用酶传感器将是解决上述问题较好的 2 个切入点^[85-86]。此外, 在无机纳米材料上修饰具有催化功能的化学基团, 结合功能纳米材料的优势和酶的催化功能, 构建出人工合成的纳米酶, 也是目前弥补天然酶分子理化性质不稳定的方法之一^[87]。

在过去的几年中, 有关酶传感器的理论研究、实验设计以及商业使用都取得了巨大的进步, 但是, 在维持电化学分析检测自身优势的前提下, 同时保证检测结果的精确性、稳定性、体内嵌入的安全性, 仍需要克服许多挑战。在未来, 基于酶抑制原理的药物检测存在更多发展方向。酶传感器的检测对象不仅局限于能够阻断酶促反应的药物, 部分电化学活性较差、难以直接电化学检测的药物分子也能够通过酶抑制原理进行识别检测。此外, 将天然药用植物的活性成分或人工合成化合物对酶的抑制率与相关药物所测得的抑制率进行比较, 可对具有药理活性的化合物进行大批量初步筛选, 加快新药研发的进程。目前, 仍有大量基于酶抑制原理检测药物或筛选化合物的方法有待开发, 跨学科多领域交融也将为现阶段的挑战提供更多的思路 and 选择。

【参考文献】

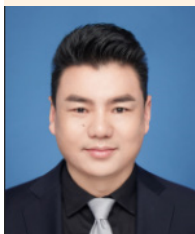
- [1] Demydchuk M, Hill C H, Zhou A, *et al.* Insights into Hunter syndrome from the structure of iduronate-2-sulfatase[J]. *Nat Commun*, 2017, 8(1): 15786. Doi: 10.1038/ncomms15786.
- [2] Deane J E, Graham S C, Kim N N, *et al.* Insights into Krabbe disease from structures of galactocerebrosidase[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2011, 108(37): 15169-15173.
- [3] Patrono C. Cardiovascular effects of cyclooxygenase-2 inhibitors: a mechanistic and clinical perspective[J]. *Br J Clin Pharmacol*, 2016, 82(4): 957-964.
- [4] Billiard J, Annan R, Ariazi J, *et al.* Abstract 5418: rapid LDH5 inhibition reverses malignant metabolic phenotype and impairs survival of hepatocellular carcinoma cells[J]. *Cancer Res*, 2013, 73(Suppl 8): 5418. Doi:10.1158/1538-7445.AM2013-5418.
- [5] Cometa M F, Fortuna S, Palazzino G, *et al.* New cholinesterase inhibiting bisbenzylisoquinoline alkaloids from *Abuta grandifolia*[J]. *Fitoterapia*, 2012, 83(3): 476-480.
- [6] Kageyama S, Li H, Taniguchi K, *et al.* Mechanisms of tumor growth inhibition by depletion of γ -glutamylcyclotransferase (GGCT): a novel molecular target for anticancer therapy[J]. *Int J Mol Sci*, 2018, 19(7): 2054. Doi: 10.3390/ijms19072054.
- [7] Naushad M, Durairajan S S K, Bera A K, *et al.* Natural compounds with Anti-BACE1 activity as promising therapeutic drugs for treating Alzheimer's disease[J]. *Planta Med*, 2019, 85(17): 1316-1325.
- [8] Liu J, Duan X, Wang M, *et al.* A label-free fluorescent sensor based on silicon quantum dots-MnO₂ nanosheets for the detection of

- α -glucosidase and its inhibitor[J]. *Analyst*, 2019, 144(24): 7398-7405.
- [9] Narayanan M M, Nair C B, Sanjeeva S K, *et al.* Design of multiligand inhibitors for the swine flu H₁N₁ neuraminidase binding site[J]. *Adv Appl Bioinform Chem*, 2013, 6: 47-53.
- [10] Jabbari S, Dabirmanesh B, Arab S S, *et al.* A novel enzyme based SPR-biosensor to detect bromocriptine as an ergoline derivative drug[J]. *Sens Actuators B Chem*, 2017, 240: 519-527.
- [11] Shen C, Li X, Rasooly A, *et al.* A single electrochemical biosensor for detecting the activity and inhibition of both protein kinase and alkaline phosphatase based on phosphate ions induced deposition of redox precipitates[J]. *Biosens Bioelectron*, 2016, 85: 220-225.
- [12] Liu D, Chen J, Shi Y. α -Glucosidase immobilization on chitosan-modified cellulose filter paper: preparation, property and application[J]. *Int J Biol Macromol*, 2019, 122: 298-305.
- [13] Havlik J, de la Huebra R G, Hejtmankova K, *et al.* Xanthine oxidase inhibitory properties of Czech medicinal plants[J]. *J Ethnopharmacol*, 2010, 132(2): 461-465.
- [14] Narayana Moorthy N S H, Ramos M J, Fernandes P A. Comparative structural analysis of α -glucosidase inhibitors on difference species: a computational study[J]. *Arch Pharm*, 2012, 345(4): 265-274.
- [15] Keskin Ş, Şirin Y, Çakır H E, *et al.* An investigation of *Humulus lupulus* L.: phenolic composition, antioxidant capacity and inhibition properties of clinically important enzymes[J]. *S Afr J Bot*, 2019, 120: 170-174.
- [16] Liu L, Xia N, Yu J. A graphene oxide-based fluorescent scheme for the determination of the activity of the β -site amyloid precursor protein (BACE1) and its inhibitors[J]. *Microchim Acta*, 2016, 183(1): 265-271.
- [17] Lahogue V, Réhel K, Taupin L, *et al.* A HPLC-UV method for the determination of angiotensin I-converting enzyme (ACE) inhibitory activity[J]. *Food Chem*, 2010, 118(3): 870-875.
- [18] Li D Q, Zhao J, Xie J, *et al.* A novel sample preparation and on-line HPLC-DAD-MS/MS-BCD analysis for rapid screening and characterization of specific enzyme inhibitors in herbal extracts: case study of α -glucosidase[J]. *J Pharm Biomed Anal*, 2014, 88: 130-135.
- [19] Da Cunha Xavier Soares S F, Vieira A A, Delfino R T, *et al.* NMR determination of *Electrophorus electricus* acetylcholinesterase inhibition and reactivation by neutral oximes[J]. *Bioorg Med Chem*, 2013, 21(18): 5923-5930.
- [20] Liu J, Duan X, Wang M, *et al.* A label-free fluorescent sensor based on silicon quantum dots-MnO₂ nanosheets for the detection of α -glucosidase and its inhibitor[J]. *Analyst*, 2019, 144(24): 7398-7405.
- [21] Wang X, Dou Z, Yuan Y, *et al.* On-line screening of matrix metalloproteinase inhibitors by capillary electrophoresis coupled to ESI mass spectrometry[J]. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci*, 2013, 930: 48-53.
- [22] Yoetz-Kopelman T, Porat-Ophir C, Shacham-Diamand Y, *et al.* Whole-cell amperometric biosensor for screening of cytochrome P450 inhibitors[J]. *Sens Actuators B Chem*, 2016, 223: 392-399.
- [23] Cui J, Adeloju S B, Wu Y. Integration of a highly ordered gold nanowires array with glucose oxidase for ultra-sensitive glucose detection[J]. *Anal Chim Acta*, 2014, 809: 134-140.
- [24] Kumar N, Rosy, Goyal R N. Gold-palladium nanoparticles aided electrochemically reduced graphene oxide sensor for the simultaneous estimation of lomefloxacin and amoxicillin[J]. *Sens Actuators B Chem*, 2017, 243: 658-668.
- [25] Peng X, Hu T, Bao T, *et al.* A label-free electrochemical biosensor for methyltransferase activity detection and inhibitor screening based on graphene quantum dot and enzyme-catalyzed reaction[J]. *J Electroanal Chem*, 2017, 799: 327-332.
- [26] Aliakbarinodehi N, De Micheli G, Carrara S. Enzymatic and nonenzymatic electrochemical interaction of abiraterone (antiprostata cancer drug) with multiwalled carbon nanotube bioelectrodes[J]. *Anal Chem*, 2016, 88(19): 9347-9350.
- [27] Uzak D, Atirođlu A, Atirođlu V, *et al.* Reduced graphene oxide/Pt nanoparticles/Zn-MOF-74 nanomaterial for a glucose biosensor construction[J]. *Electroanalysis*, 2020, 32: 510. Doi: 10.1002/elan.201900599.
- [28] Dong S, Peng L, Wei W, *et al.* Three MOF-templated carbon nanocomposites for potential platforms of enzyme immobilization with improved electrochemical performance[J]. *ACS Appl Mater Interfaces*, 2018, 10(17): 14665-14672.
- [29] Tan S N, Ge L, Tan H Y, *et al.* Paper-based enzyme immobilization for flow injection electrochemical biosensor integrated with reagent-loaded cartridge toward portable modular device[J]. *Anal Chem*,

- 2012, 84(22): 10071-10076.
- [30] Chu X, Duan D, Shen G, *et al.* Amperometric glucose biosensor based on electrodeposition of platinum nanoparticles onto covalently immobilized carbon nanotube electrode[J]. *Talanta*, 2007, 71(5): 2040-2047.
- [31] Valdés-Ramírez G, Fournier D, Ramírez-Silva M T, *et al.* Sensitive amperometric biosensor for dichlorovos quantification: application to detection of residues on apple skin[J]. *Talanta*, 2008, 74(4): 741-746.
- [32] Yonemori Y, Takahashi E, Ren H, *et al.* Biosensor system for continuous glucose monitoring in fish[J]. *Anal Chim Acta*, 2009, 633(1): 90-96.
- [33] Wang P, Liu M, Kan J. Amperometric phenol biosensor based on polyaniline[J]. *Sens Actuators B Chem*, 2009, 140(2): 577-584.
- [34] Barhoumi H, Maaref A, Cosnier S, *et al.* Urease immobilization on biotinylated polypyrrole coated ChemFEC devices for urea biosensor development[J]. *Irbm*, 2008, 29(2): 192-201.
- [35] Schneider E, Clark D S. Cytochrome P450 (CYP) enzymes and the development of CYP biosensors[J]. *Biosens Bioelectron*, 2013, 39(1): 1-13.
- [36] Shumyantseva V V, Kuzikov A V, Masamrekh R A, *et al.* From electrochemistry to enzyme kinetics of cytochrome P450[J]. *Biosens Bioelectron*, 2018, 121: 192-204.
- [37] Tian J, Wang J, Li Y, *et al.* Electrochemically driven omeprazole metabolism via cytochrome P450 assembled on the nanocomposites of ceria nanoparticles and graphene[J]. *J Electrochem Soc*, 2017, 164(7): H470-H476.
- [38] Baj-Rossi C, Rezzonico Jost T, Cavallini A, *et al.* Continuous monitoring of naproxen by a cytochrome P450-based electrochemical sensor[J]. *Biosens Bioelectron*, 2014, 53: 283-287.
- [39] Kuzikov A V, Masamrekh R A, Khatri Y, *et al.* Scrutiny of electrochemically-driven electrocatalysis of C-19 steroid 1 α -hydroxylase (CYP260A1) from *Sorangium cellulosum* So ce56[J]. *Anal Biochem*, 2016, 513: 28-35.
- [40] Ndagili P M, Jijana A M, Baker P G L, *et al.* 3-Mercaptopropionic acid capped ZnSe quantum dot-cytochrome P450 3A4 enzyme biotransducer for 17 β -estradiol[J]. *J Electroanal Chem*, 2011, 653(1): 67-74.
- [41] Xu X, Wei W, Huang M, *et al.* Electrochemically driven drug metabolism via cytochrome P450 2C9 isozyme microsomes with cytochrome P450 reductase and indium tin oxide nanoparticle composites[J]. *Chem Commun*, 2012, 48(63): 7802-7804.
- [42] Bistolas N, Wollenberger U, Jung C, *et al.* Cytochrome P450 biosensors-a review[J]. *Biosens Bioelectron*, 2005, 20(12): 2408-2423.
- [43] Aliakbarinodehi N, De Micheli G, Carrara S. Highly sensitive enzymatic MWCNTs-based biosensors for detection of abiraterone in human serum[J]. *J Bionosci*, 2018, 8(2): 675-679.
- [44] Ajayi R F, Nxusani E, Douman S F, *et al.* An amperometric cytochrome P450-2D6 biosensor system for the detection of the selective serotonin reuptake inhibitors (SSRIs) paroxetine and fluvoxamine[J]. *J Nano Res*, 2016, 44: 208-228.
- [45] Feleni U, Sidwaba U, Makelane H, *et al.* Core-shell palladium telluride quantum dot-hemithiolate cytochrome based biosensor for detecting indinavir drug[J]. *J Nanosci Nanotechnol*, 2019, 19(12): 7974-7981.
- [46] Müller M, Agarwal N, Kim J. A cytochrome P450 3A4 biosensor based on generation 4.0 PAMAM dendrimers for the detection of caffeine[J]. *Biosensors*, 2016, 18, 6(3): 44. Doi: 10.3390/bios6030044.
- [47] Mahendra Kumar C, Sathisha U V, Dharmesh S, *et al.* Interaction of sesamol (3,4-methylenedioxyphenol) with tyrosinase and its effect on melanin synthesis[J]. *Biochimie*, 2011, 93(3): 562-569.
- [48] Kurbanoglu S, Erkmen C, Uslu B. Frontiers in electrochemical enzyme based biosensors for food and drug analysis[J]. *TrAC Trends Anal Chem*, 2020: 115809. Doi: 10.1016/j.trac.2020.115809.
- [49] Cheng Y, Liu Y, Huang J, *et al.* Amperometric tyrosinase biosensor based on Fe₃O₄ nanoparticles-coated carbon nanotubes nanocomposite for rapid detection of coliforms[J]. *Electrochim Acta*, 2009, 54(9): 2588-2594.
- [50] Tortolini C, Bollella P, Antiochia R, *et al.* Inhibition-based biosensor for atrazine detection[J]. *Sens Actuators B Chem*, 2016, 224: 552-558.
- [51] Sok V, Fragoso A. Amperometric biosensor for glyphosate based on the inhibition of tyrosinase conjugated to carbon nano-onions in a chitosan matrix on a screen-printed electrode[J]. *Microchim Acta*, 2019, 186 (8): 569. Doi: 10.1007/s00604-019-3672-6.
- [52] Adamski J, Nowak P, Kochana J. Simple sensor for the

- determination of phenol and its derivatives in water based on enzyme tyrosinase[J]. *Electrochim Acta*, 2010, 55(7): 2363-2367.
- [53] Draghi P F, Fernandes J C B. Label-free potentiometric biosensor based on solid-contact for determination of total phenols in honey and propolis[J]. *Talanta*, 2017, 164: 413-417.
- [54] Kurbanoglu S, Mayorga-Martinez C C, Medina-Sánchez M, *et al.* Antithyroid drug detection using an enzyme cascade blocking in a nanoparticle-based lab-on-a-chip system[J]. *Biosens Bioelectron*, 2015, 67: 670-676.
- [55] Kurbanoglu S, Rivas L, Ozkan S A, *et al.* Electrochemically reduced graphene and iridium oxide nanoparticles for inhibition-based angiotensin-converting enzyme inhibitor detection[J]. *Biosens Bioelectron*, 2017, 88: 122-129.
- [56] El Harrad L, Amine A. Chronoamperometric biosensor for protease activity assay and inhibitor screening[J]. *Electroanalysis*, 2017, 29(10): 2395-2400.
- [57] Khan A, Khan A A P, Asiri A M, *et al.* Facial synthesis, characterization of graphene oxide-zirconium tungstate (GO-Zr(WO₄)₂) nanocomposite and its application as modified microsensor for dopamine[J]. *J Alloy Compd*, 2017, 723: 811-819.
- [58] Frangu A, Pravcová K, Šilarová P, *et al.* Flow injection tyrosinase biosensor for direct determination of acetaminophen in human urine[J]. *Anal Bioanal Chem*, 2019, 411(11): 2415-2424.
- [59] Del Tomo-de Román L, Asunción Alonso-Lomillo M, Domínguez-Renedo O, *et al.* Tyrosinase based biosensor for the electrochemical determination of sulfamethoxazole[J]. *Sens Actuators B Chem*, 2016, 227: 48-53.
- [60] Shi M, Cen Y, Xu G, *et al.* Ratiometric fluorescence monitoring of α -glucosidase activity based on oxidase-like property of MnO₂ nanosheet and its application for inhibitor screening[J]. *Anal Chim Acta*, 2019, 1077: 225-231.
- [61] Liu Y, Li H, Lu L, *et al.* A ratiometric electrochemical sensor with integrated probe for the assay of α -glucosidase activity and screening of its inhibitors[J]. *J Electrochem Soc*, 2019, 166(2): B133-B140.
- [62] Zhong Y, Yu L, He Q, *et al.* Bifunctional hybrid enzyme-catalytic metal organic framework reactors for α -glucosidase inhibitor screening[J]. *ACS Appl Mater Interfaces*, 2019, 11(36): 32769-32777.
- [63] Zhang J, Liu Y, Wang X, *et al.* Electrochemical assay of α -glucosidase activity and the inhibitor screening in cell medium[J]. *Biosens Bioelectron*, 2015, 74: 666-672.
- [64] Mohiuddin M, Arbain D, Islam A K M S, *et al.* Alpha-glucosidase enzyme biosensor for the electrochemical measurement of antidiabetic potential of medicinal plants[J]. *Nanoscale Res Lett*, 2016, 11(1): 95. Doi: 10.1186/s11671-016-1292-1.
- [65] Li J, He G, Wang B, *et al.* Fabrication of reusable electrochemical biosensor and its application for the assay of α -glucosidase activity[J]. *Anal Chim Acta*, 2018, 1026: 140-146.
- [66] Babic T. The cholinergic hypothesis of Alzheimer's disease: a review of progress[J]. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*, 1999, 67(4): 558. Doi: 10.1136/jnnp.67.4.558.
- [67] Pohanka M. Biosensors containing acetylcholinesterase and butyrylcholinesterase as recognition tools for detection of various compounds[J]. *Chem Pap*, 2015, 69: 4-16.
- [68] Shamagsumova R V, Efimova O Y, Gorbachuk V V, *et al.* Electrochemical acetylcholinesterase biosensor based on polylactide-nanosilver composite for the determination of anti-dementia drugs[J]. *Anal Lett*, 2019, 52(10): 1558-1578.
- [69] Ivanov A, Davletshina R, Sharafieva I, *et al.* Electrochemical biosensor based on polyelectrolyte complexes for the determination of reversible inhibitors of acetylcholinesterase[J]. *Talanta*, 2019, 194: 723-730.
- [70] Davletshina R, Ivanov A, Evtugyn G. Acetylcholinesterase sensor based on polyelectrolyte complexes with DNA inclusion for the determination of reversible inhibitors[J]. *Electroanalysis*, 2020, 32: 308-316.
- [71] Kostelnik A, Kopel P, Cegan A, *et al.* Construction of an acetylcholinesterase sensor based on synthesized paramagnetic nanoparticles, a simple tool for neurotoxic compounds assay[J]. *Sensors (Basel)*, 2017, 17(4): 676. Doi: 10.3390/s17040676.
- [72] Kostelnik A. Electrochemical determination of activity of acetylcholinesterase immobilized on magnetic particles[J]. *Int J Electrochem Sci*, 2016: 4840-4849.
- [73] Alvau M D, Tartaggia S, Meneghello A, *et al.* Enzyme-based electrochemical biosensor for therapeutic drug monitoring of anticancer drug irinotecan[J]. *Anal Chem*, 2018, 90(10): 6012-6019.
- [74] Hu X, Dinu C Z. Nanoporous gold electrode for ultrasensitive

- detection of neurotoxin fasciculin[J]. *Anal Chim Acta*, 2019, 1085: 91-97.
- [75] El Harrad L, Amine A. Amperometric biosensor based on prussian blue and nafion modified screen-printed electrode for screening of potential xanthine oxidase inhibitors from medicinal plants[J]. *Enzyme Microb Technol*, 2016, 85: 57-63.
- [76] Aigner M, Preissegger P, Kalcher K, *et al.* Biosensor for the characterisation of hMAO B inhibitors and the quantification of selegiline[J]. *Talanta*, 2017, 174: 696-702.
- [77] Ishida A, Imamura A, Ueda Y, *et al.* A novel biosensor with high signal-to-noise ratio for real-time measurement of dopamine levels *in vivo*[J]. *J Neurosci Res*, 2018, 96(5): 817-827.
- [78] Chowdhury A D, Park E Y. Methylene blue-encapsulated liposomal biosensor for electrochemical detection of sphingomyelinase enzyme[J]. *Sens Actuators B Chem*, 2019, 301: 127-153.
- [79] Nsabimana A, Lan Y, Du F, *et al.* Alkaline phosphatase-based electrochemical sensors for health applications[J]. *Anal Methods*, 2019, 11(15): 1996-2006.
- [80] Hu Q, Wang Q, Jiang C, *et al.* Electrochemically mediated polymerization for highly sensitive detection of protein kinase activity[J]. *Biosens Bioelectron*, 2018, 110: 52-57.
- [81] Cui L, Li Y, Lu M, *et al.* An ultrasensitive electrochemical biosensor for polynucleotide kinase assay based on gold nanoparticle-mediated lambda exonuclease cleavage-induced signal amplification[J]. *Biosens Bioelectron*, 2018, 99: 1-7.
- [82] Campanella L, Di Persio G, Pintore M, *et al.* Determination of nonsteroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs) in milk and fresh cheese based on the inhibition of cyclooxygenase[J]. *Food Technol Biotechnol*, 2009, 47(2): 172-177.
- [83] Lucisano J Y, Routh T L, Lin J T, *et al.* Glucose monitoring in individuals with diabetes using a long-term implanted sensor/telemetry system and model[J]. *IEEE Trans Biomed Eng*, 2017, 64(9): 1982-1993.
- [84] Lamas-Ardisana P J, Martinez-Paredes G, Anorga L, *et al.* Glucose biosensor based on disposable electrochemical paper-based transducers fully fabricated by screen-printing[J]. *Biosens Bioelectron*, 2018, 109: 8-12.
- [85] Bilgi M, Sahin E M, Ayranci E. Sensor and biosensor application of a new redox mediator: rosmarinic acid modified screen-printed carbon electrode for electrochemical determination of NADH and ethanol[J]. *J Electroanal Chem*, 2018, 813: 67-74.
- [86] He L, Yang Y, Kim J, *et al.* Multi-layered enzyme coating on highly conductive magnetic biochar nanoparticles for bisphenol A sensing in water[J]. *Chem Eng J*, 2020, 384: 123276. Doi: 10.1016/j.cej.2019.123276.
- [87] Weerathunge P, Pooja D, Singh M, *et al.* Transferrin-conjugated quasi-cubic SPIONs for cellular receptor profiling and detection of brain cancer[J]. *Sens Actuators B Chem*, 2019, 297: 126737. <https://doi.org/10.1016/j.snb.2019.126737>.



【专家介绍】李曹龙：工学博士，中国药科大学药物分析学教授，博士研究生导师，理学院副院长。主持国家及省部级纵向项目 10 多项，横向项目 4 项，包括国家自然科学基金、西藏藏医药区域协同创新基金、西藏藏医药局科技计划项目、西藏自治区重大专项“包虫病防控及肝包虫病综合治疗”子课题，江苏省重点研发计划（现代农业）子项目等。主要研究方向：多功能纳米材料可控制备和药物分析。近 5 年以第一作者或者通讯作者发表 SCI 论文 30 多篇，申请专利数 5 项，单篇 SCI 论文他引近 150 次，被 ESI 评为高被引用论文。