



抗菌肽的结构分析、抗菌机制及改造应用的研究进展

杨晨远^{1#}, 于子川^{1#}, 秦迪², 高媛媛^{3*}

1 山东第二医科大学临床医学院, 山东 潍坊 261053

2 山东第二医科大学生命科学与技术学院, 山东 潍坊 261053

3 山东第二医科大学药学院, 山东 潍坊 261053

杨晨远, 于子川, 秦迪, 高媛媛. 抗菌肽的结构分析、抗菌机制及改造应用的研究进展[J]. 微生物学报, 2024, 64(7): 2242-2259.

YANG Chenyuan, YU Zichuan, QIN Di, GAO Yuanyuan. Research progress in structures, mechanisms, and modification of antimicrobial peptides[J]. Acta Microbiologica Sinica, 2024, 64(7): 2242-2259.

摘要: 细菌感染已成为威胁人类健康的重要公共卫生问题之一, 而抗生素的滥用又加快了细菌耐药性的进程。抗菌肽因其广谱抗菌活性、快速杀菌作用、低毒性和不易产生耐药性等特点受到了广泛关注。然而, 抗菌肽的天然结构也预示了其应用存在一些限制, 如易降解、不稳定、低渗透和高成本等。如何改良抗菌肽仍是需要解决的难题。本文从抗菌肽的来源和结构特征出发, 分析了与抗菌相关的空间结构及其所对应的抗菌机制, 总结了现有抗菌肽的改良策略, 为寻求新型改良方案奠定基础。希望为今后抗菌肽的改造与临床应用提供新的思路 and 方向。

关键词: 抗菌肽; 二级结构; 作用机制; 优化改造; 抗菌应用

资助项目: 山东省自然科学基金(ZR2022MH152)

This work was supported by the Natural Science Foundation of Shandong Province (ZR2022MH152).

[#]These authors contributed equally to this work.

*Corresponding author. E-mail: yyg20062006@126.com

Received: 2023-12-31; Accepted: 2024-04-23; Published online: 2024-04-26

Research progress in structures, mechanisms, and modification of antimicrobial peptides

YANG Chenyuan^{1#}, YU Zichuan^{1#}, QIN Di², GAO Yuanyuan^{3*}

1 School of Clinical Medicine, Shandong Second Medical University, Weifang 261053, Shandong, China

2 School of Life Science and Technology, Shandong Second Medical University, Weifang 261053, Shandong, China

3 School of Pharmacy, Shandong Second Medical University, Weifang 261053, Shandong, China

Abstract: Bacterial infection has become one of the major problems threatening public health, and the abuse of antibiotics has accelerated the development of bacterial resistance. Antimicrobial peptides have attracted extensive attention due to their broad-spectrum antibacterial activity, rapid bactericidal effect, low toxicity, and low risk of drug resistance. However, the natural structures of antimicrobial peptides indicate some limitations, such as easy degradation, instability, low permeability, and high costs, in their application. How to improve antimicrobial peptides is still a problem to be solved. From the sources and structural characteristics of antimicrobial peptides, we analyzed the spatial structures related to the antibacterial activity and corresponding antibacterial mechanisms. In addition, we summarize the existing improvement strategies of antimicrobial peptides to lay a foundation for seeking new improvement schemes. This review provides new ideas and directions for the modification and clinical application of antimicrobial peptides in the future.

Keywords: antimicrobial peptides; secondary structure; mechanism; modification; application for antibacterial purpose

抗生素是对抗细菌感染性疾病的强效武器。随着传统抗生素疗法的普及甚至滥用,耐药菌株的种类和数量飞速增长,细菌感染的死亡率也逐年上升^[1]。抗菌肽(antimicrobial peptides, AMPs)是广泛存在于生物体内的一种具有生物活性的小分子多肽,通常由 12–50 个氨基酸残基组成,无高度保守的序列,大多数是短的、两亲性的、高度阳离子的分子^[2]。它们是先天免疫系统的重要效应器,是抵御病原体感染的第一道防线^[3]。抗菌肽及其类似物(或衍生物)有着独特的抗菌机制和广谱抗菌效果^[4],因此受到越来越多的关注。目前普遍认为,抗菌肽是通过破坏细菌的完整性而起到直接杀菌作用,相比于传统抗生素,抗菌肽有着丰富的微

生物靶点,因此几乎不产生耐药性。某些抗菌肽还能杀灭部分病毒、真菌和癌细胞,同时对真核细胞具有细胞毒性低、热稳定性强、溶解度高和分子量低等优点^[5]。因此,抗菌肽有着良好的医学应用前景。

然而,抗菌肽的临床应用因其特殊的化学属性而受到限制:应用于人体的抗菌肽会在短时间内被蛋白酶降解;高电荷肽有着潜在的细胞毒性;肽的开发制造成本相对较高等^[5]。研究者通过化学修饰抗菌肽的分子结构,或利用高分子材料负载抗菌肽,以期优化功能。改良后的抗菌肽规避了部分缺点,但其抗菌活性也受到了一定影响^[6]。可见,抗菌肽的普及应用仍然任重而道远。

本文将从抗菌肽的天然来源与结构特征入手,通过分析多肽分子结构及其所对应的抗菌机制,以及在现有结构基础上如何修饰改良,为进一步改造抗菌肽、开发其临床应用潜力提供启示。这或将对治疗细菌感染、抑制耐药性进展产生重要意义。

1 天然抗菌肽的来源

1954年, Haberman 从蜂毒中发现蜂毒肽,这是第一种真正意义上的抗菌肽^[7]。据报道,截至目前,所有已研究的无脊椎动物的免疫系统中均含有抗菌肽,其中大多数抗菌肽实际上起源于真核生物^[8]。同时,抗菌肽数据库(DRAMP, <http://dramp.cpu-bioinform.org/>)已收录了高达6 107种常规抗菌肽(包含天然与合成抗菌肽),根据其来源可分为五大类:噬菌体抗菌肽、细菌源性抗菌肽、真菌源性抗菌肽、植物源性抗菌肽和动物源性抗菌肽(表 1)。

经过对以上信息的梳理,我们不难发现:抗菌肽在自然界中广泛存在,它们参与构成了几乎所有类型生物的非特异性免疫,而非特异性免疫又是大多数生物体的主要免疫方式。因此,抗菌肽在生物先天免疫系统中扮演着重要的角色。目前,对真核生物抗菌肽的研究最为深入。例如,与人类关系密切的 cathelicidins 抗菌肽,是在免疫细胞分泌颗粒中发现的阳离子抗菌肽,在被弹性蛋白酶和其他蛋白酶切割时得到激活;这种阳离子宿主防御肽可以通过直接杀灭细菌和调节宿主免疫反应来控制感染,并能抑制炎症加重以控制病情,在先天免疫系统中发挥了重要作用^[18]。

以上抗菌肽均是自然选择保留下来的天然抗菌肽,来源之繁杂、分布之广泛暗示了其强大的抗菌作用与不可或缺的免疫功能。通过剖析抗菌肽的结构特征对于深入了解其抗菌机制与拓宽其改造思路有着重要意义,在抗生素滥用、耐药菌遍布全球的今天尤为重要。

表 1 不同来源天然抗菌肽的分类

Table 1 Classification of natural antimicrobial peptides from different sources

Class	Peptide	Source	Reference
Bacteriophage AMPs	Lysins	Bacteriophages	[9]
	VAPGHs		
	Depolymerases		
Bacterial AMPs	Polymyxin	<i>Paenibacillus polymyxa</i>	[10]
	Colicin	<i>Escherichia coli</i>	[10]
Fungal AMPs	Alamethicin	<i>Trichoderma viride</i>	[11]
	Plectasin	<i>Pseudoplectania nigrella</i>	[11]
Plant derived AMPs	Defensins γ 1-P	<i>Triticum turgidum</i>	[12]
	α -hairpinins	<i>Alternanthera sessilis</i>	[13]
Animal derived AMPs	α -defensins	Mammals	
	β -defensins	Mammals	[14]
	θ -defensins	<i>Macaca mulatta</i>	
	Cathelicidins-AMPs		
	LL-37	Human	
	Magainins	<i>Xenopus laevis</i>	[15]
	Cecropins	Insects	
OH-CATH	<i>Ophiophagus hannah</i>	[16]	
BF	<i>Bungarus fasciatus</i>	[17]	

2 天然抗菌肽的结构特征

天然抗菌肽的长度在 10–100 个氨基酸残基之间, 大多数少于 50 个氨基酸^[2]。值得注意的是, 肽的长度对于其抗菌效力来说至关重要。Deslouches 等^[19]通过比对同种类、不同长度抗菌肽的二级结构含量和最小杀菌浓度发现, 形成抗菌螺旋(如 α -螺旋和 β -折叠)的趋势随着肽长度的减少而减少, 而且螺旋含量 >80% 时才可视作与抗菌活性有关联。这些数据表明, 由于肽链的缩短, 肽形成二级结构的倾向会降低, 增加肽链长度有利于抗菌螺旋的形成, 而抗菌螺旋含量的增加将直接提升抗菌肽的抗菌性能。

大多数天然抗菌肽的两端都含有亲水性和疏水性残基, 并且多为带有净正电荷的阳离子肽^[2]。这表明, 无论抗菌肽的结构差异有多大, 真核生物所产生的抗菌肽在发挥抗菌作用时, 都依赖于其两亲基团和正电荷的活性。此外,

有研究表明, 一些抗菌肽分子在水环境中没有二级结构, 但当暴露于细菌细胞膜后, 它们会形成特定的抗菌二级结构^[20]。根据这些二级结构的特点可将抗菌肽分成多个亚类, 如 α -螺旋结构、 β -折叠结构、混合结构、环肽和延伸结构等(图 1)。

2.1 α -螺旋

α -螺旋是天然抗菌肽中最常见的二级结构, 以 cecropins、pleurocidin 和 melittin 最具有代表性。天然抗菌肽中的 α -螺旋是右旋的, 其稳定性和连接方式主要依赖于氢键与范德华力; 相邻匝间距为 0.54 nm, 每个氢键的长度为 0.28 nm^[21]。Lei 等^[22]的研究表明, α -螺旋结构的形成高度依赖于肽与靶细胞膜的相互作用, 此时的构象变化将亲水与疏水残基分离到 N 端和 C 端, 于是 α -螺旋肽在结构上具有了两亲性。带正电的两亲性 α -螺旋和带负电的细菌膜磷脂分子通过静电作用结合, α -螺旋在膜中形成束, 疏水端与

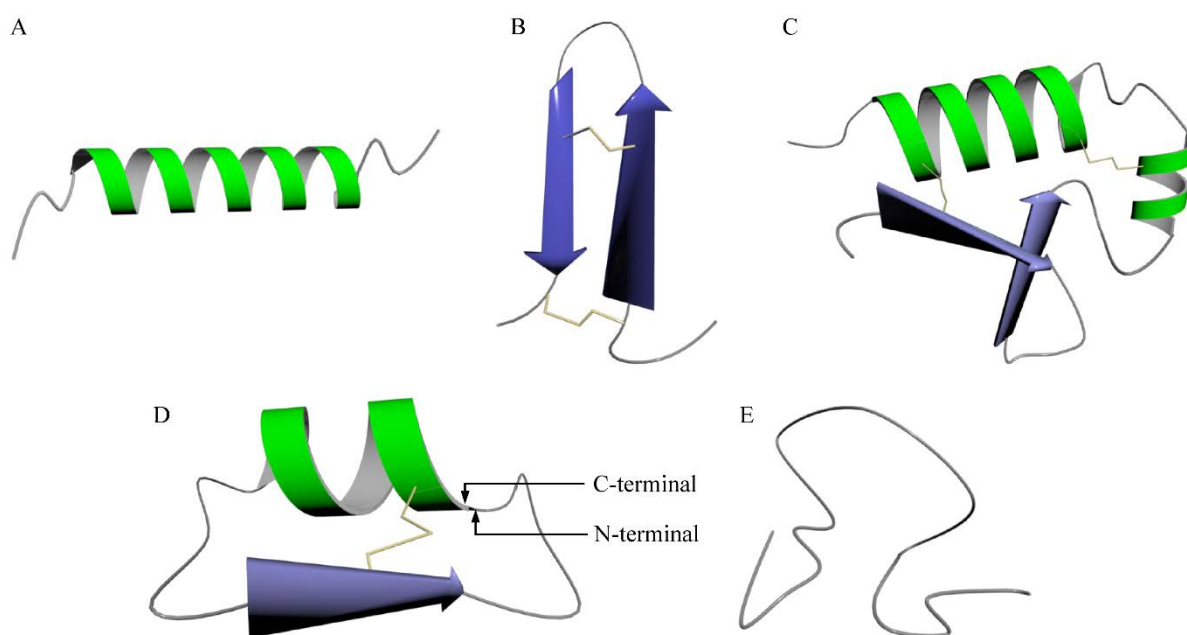


图 1 抗菌肽的二级结构

Figure 1 Secondary structures of AMPs. A: α -helix. B: β -sheet. C: $\alpha\beta$ mixed. D: Cyclic AMPs. E: Stretched structures.

膜相互作用，亲水端进入细菌胞内，形成跨膜孔隙，诱导细菌死亡。由此可见， α -螺旋含量增高，抗菌肽的杀菌作用也会相应增强。

2.2 β -折叠

另一类抗菌肽如 protegrin-1、tachypleisin、lactoferricin 和 θ -防御素等，含有 β -折叠结构，其中至少包含有 2 条 β 链，它们之间通过二硫键连接，形成 β -发夹状构象；根据 2 条 β 链是否平行以及二硫键的数量可以将 β -折叠结构进行再分类；其中，反平行结构更具有稳定性，包含有 2 条 β 链的保守区域又被称作 γ -核心区，是依赖二硫键稳定的紧凑结构，表现出较强的蛋白水解抗性；这种类型的抗菌肽抗菌活性通常归因于暴露在反平行 β -折叠上的阳离子残基和疏水侧链^[23]。这些研究表明，相比于 α -螺旋， β -折叠抗菌肽在确保了抗菌活性的同时，又具备了较强的抗生物降解能力。这一发现对未来抗菌肽类药物的研发提供了新的思路：通过增加 β -折叠的含量，有望延长药物作用时间，并进一步提高其生物利用度。

2.3 $\alpha\beta$ 混合结构

某些抗菌肽可以同时包含多个 α -螺旋和 β -折叠结构，这种构象在防御素中最为常见。比如来源于抗真菌植物的抗菌肽 Psd1 含有 $\beta\alpha\beta\beta$ 折叠，可以进入真菌细胞中干扰细胞周期；人类体内的 β -防御素 hBD1、hBD2 和 hBD3 含有 $\alpha\beta\beta\beta$ 构象^[12]。尽管目前对于此类抗菌肽的研究较少，但根据其分布和构象可以推测， $\alpha\beta$ -抗菌肽在参与非特异性免疫的同时，还兼具抗菌活性和抗降解能力。上述研究和推测为人工增加 α -螺旋和 β -折叠，以改良现有天然抗菌肽提供了理论支持。纵然目前尚未有研发成功的剂型，但理论层面表明，从二级结构入手的修饰方案有较强的可行性。

2.4 环肽

环肽类抗菌肽有着线性的 N 端，而 C 端凭

借二硫键形成环状结构。同样地，环肽的活性结构也是 α -螺旋和 β -折叠，环状构象则提供了紧凑的结构和折叠，对于其稳定性有着重要意义。Zohrab 等^[24]通过研究蛙皮细胞分泌的 brevinin 肽表明，这类环肽不能通过单体引起膜穿孔，但肽的多聚体可以作用于膜，并且可以通过激活溶酶体-线粒体死亡途径消灭细菌或肿瘤细胞。这些研究表明，环肽在抗菌和抗肿瘤方面有着巨大潜力。

2.5 非 $\alpha\beta$ 结构

非 $\alpha\beta$ 抗菌肽，也被称为延伸或弹性结构抗菌肽。此类抗菌肽一般为线性结构，其活性结构由肽和膜脂质之间的氢键或范德华力形成，不依赖于氨基酸残基之间的氢键；也正因如此，肽链难以形成空间二级结构；它们中的大多数来自组织蛋白酶家族，根据氨基酸种类不同，可分为富含色氨酸、脯氨酸和甘氨酸的肽^[12]。

值得注意的是，这类抗菌肽因不含 $\alpha\beta$ 结构而具备独特的抗菌机制。它们能够穿膜进入胞质，与细菌生长相关的分子结合并抑制其功能，最终导致细菌死亡。Seefeldt 等^[25]研究了富含脯氨酸的抗菌肽 Onc112，通过与核糖体出口通道的上部区域结合，有效地阻止氨酰基 tRNA 进入核糖体，从而阻断核糖体通道并破坏翻译启动复合物的稳定，最终抑制细菌的生长。这些研究为抗菌肽的应用提供了新的思路：延伸或弹性结构将是新型抗菌肽设计的良好基础模型，因为无论是抗菌肽还是其类似物，都具有靶向核糖体通道来抑制细菌增殖的潜力。然而，细胞毒性等问题值得注意与思考：此类抗菌肽是否会影响正常人体细胞结构的生理功能？是否具有细菌特异性？生物安全性问题不容忽视，应慎重权衡，这也是今后值得深入探究的话题。

相比于传统抗生素，抗菌肽特殊的结构与构象是其天然优势，也决定了它们独特的抗菌

机制。通过了解其抗菌机制可以知道, 抗菌肽具有很低的耐药性, 这也是研发新型药物、替代抗生素治疗的潜力所在。

3 天然抗菌肽的抗菌机制

抗菌肽在体内和体外对革兰氏阴性(G^-)和革兰氏阳性菌(G^+)都具有广泛的抗菌活性。Sun等^[26]通过研究眼镜王蛇来源的 cathelicidins 抗菌肽 OH-CATH30, 证明其具有很强的抗菌和弱的溶血活性。前期研究测试了 584 个临床分离菌株, 85%对 OH-CATH30 及其类似物敏感。与抗生素相比, L-和 D-OH-CATH30 对革兰氏阳性菌均有较高的抗菌活性; OH-CATH30 及其类似物的综合疗效高于常规使用的 9 种抗生素^[27]。OH-CATH 以其较强的抗菌活性和较弱的溶血活性, 为我们提供了有价值的药物模板, 展示出抗菌肽强大的临床药用潜力。

通常情况下, 抗菌肽的作用机制是直接杀死病原体, 一些抗菌肽也可能通过调节宿主免

疫反应间接发挥抗感染作用^[28]。然而, 抗菌肽的种类繁杂性以及技术的局限性限制了机制的研究, 完整的作用机制及其活性机制尚不完全清楚。目前已被证实的有细胞壁靶向机制、膜靶向机制、细胞内靶向机制、双重或多种机制^[3]。与传统抗生素不同的是, 抗菌肽有特定的微生物靶点, 这得益于其丰富的二级活性结构。建立抗菌肽的结构-功能关系(表 2), 对于优化抗菌肽的抗菌性能、加速药物开发有着重要意义。

3.1 膜靶向机制

目前发现的大多抗菌肽在生理 pH 下净正电荷为+2~+9^[40], 而 G^+ 和 G^- 表面分别含有磷壁酸和脂多糖, 它们会使细菌膜表面携带负电荷; 随着两亲性阳离子肽与细菌膜静电吸附并聚集, 结合在膜上的抗菌肽的静电吸引力和穿透性增强, 肽的疏水端插入脂质双层, 进一步诱导产生膜裂解作用^[3]。同时由表 2 可知, 自然界最常见的 α -螺旋和 β -折叠结构抗菌肽也集

表 2 抗菌肽二级结构与作用机制

Table 2 Secondary structure and mechanism of action of antimicrobial peptides

Mechanism of action	Secondary structure	Peptide	Reference	
Mechanism of cell wall targeting	α - β AMPs	Plectasin	[11]	
	Cyclic AMPs	Gramicidin S	[29]	
	β -sheet AMPs	hBD3, HNP1	[7]	
	α - β AMPs	Eurocin	[30]	
	α - β AMPs	Copsin	[31]	
Mechanism of membrane targeting	Barrel-stave model	α -helical AMPs	Alamethicin	[32]
		β -sheet AMPs	Protegrin-1	[33]
	Toroidal-pore model	α -helical AMPs	Melittin	[34]
		α -helical AMPs	Magainin 2	[35]
	Carpet model	α -helical AMPs	Dermaseptin	[36]
		β -sheet AMPs	Thanatin	[37]
Intracellular targeting mechanism of action	Stretched structures	Onc112	[25]	
	Cyclic AMPs	Microcin J25, capistrain	[38]	
	β -sheet AMPs	HD5ox	[39]	
Dual or multiple mechanisms of action	α - β AMPs	PMAP23	[3]	

中于膜靶向机制。因此，膜靶向作用机制是抗菌肽的主要作用模式。Tornesello 等^[41]综述了最新研究的膜靶向模型，比如“沉筏模型”“聚合通道模型”“肽诱导的脂质分离模型”和“肽介导的非层状相形成机制”等。本文综述了认可度最高的两种跨膜孔隙模型“桶壁模型”和“环形孔隙模型”，以及非膜孔隙模型“地毯模型”或“洗涤剂模型”（图 2）。

3.1.1 跨膜孔隙模型

跨膜孔隙模型一般包括“桶壁模型”和“环形孔隙模型”。

“桶壁模型”首先有单体肽在细胞表面的积累，随后构象变化和聚集，在细菌膜内形成桶形多聚体^[41]。聚集作用使抗菌肽进入膜的疏水中心，并防止肽的亲水部分暴露于膜内的疏水

部分。然后，抗菌肽的疏水链与膜的酰基链接触，与双层的脂质核心对齐，并诱导细胞膜的弱化。而肽的亲水部分形成水性孔，随着聚集肽数量的增加，水性孔变宽^[42]，形成桶壁形状，从而诱导细菌细胞膜的破裂。代表性的抗菌肽有 alamethicin、pardaxin 和 protegrin-1^[3]。

“环形孔隙模型”是一个“两阶段”模型。这个模型中的抗菌肽在低浓度状态下保持无活性或低活性，而在高浓度时转变为高活性状态，并且由平行于磷脂双分子层的状态变为垂直状态。垂直插入脂质双分子层的肽链诱导膜磷脂分子向内弯曲形成孔隙，这样给细胞膜带来了不可逆的破坏：一方面影响了细菌细胞膜的稳定性，另一方面又允许抗菌肽进入细菌胞内，以影响其正常生理功能，如 DNA 复制和蛋白质

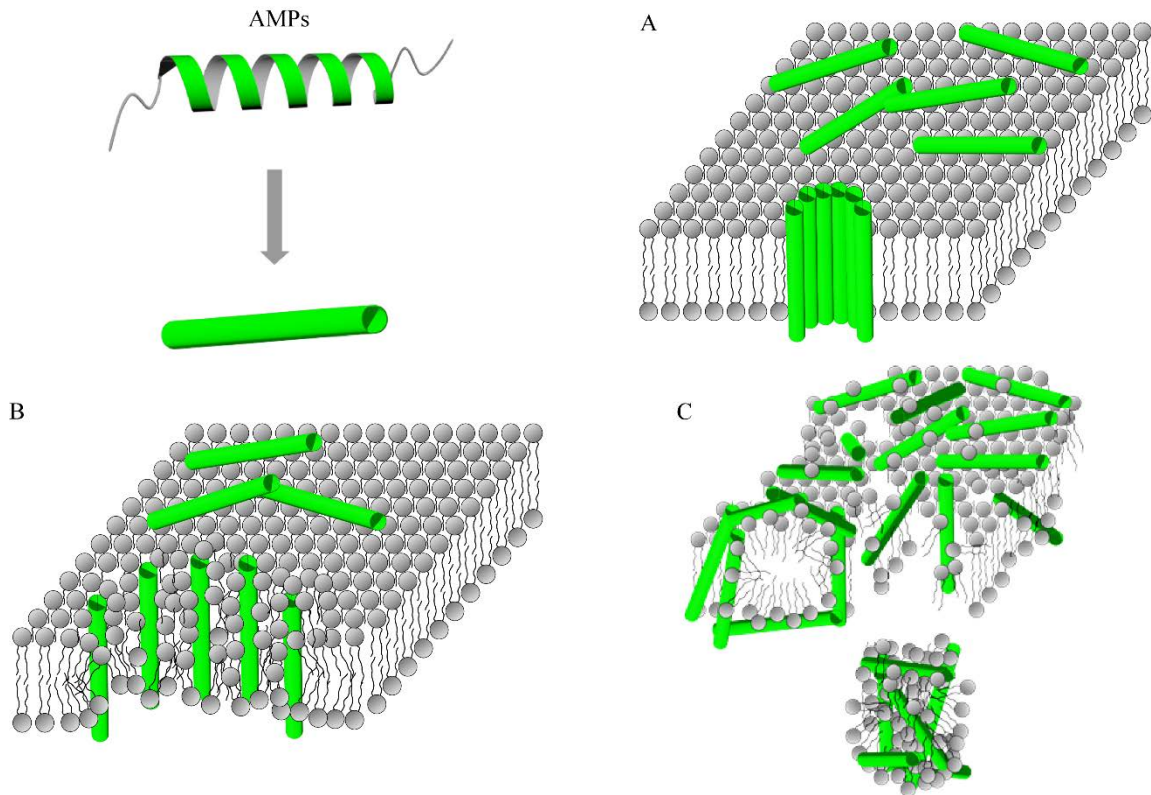


图 2 抗菌肽与细菌细胞膜的相互作用模型

Figure 2 Model of the interaction between antimicrobial peptides and bacterial cell membranes. A: Barrel-stave model. B: Toroidal-pore model. C: Carpet model.

合成, 从而诱导细菌死亡^[41]。代表抗菌肽有 magainin 2、melittin 等^[3,41]。

3.1.2 非膜孔隙模型

“地毯模型”被认为是大多数抗菌肽的活性机制^[43]。这种模型描述了细菌膜外层被抗菌肽“地毯式”覆盖的情形, 即 α -螺旋的阳离子抗菌肽与膜外层带负电的磷脂相互作用。起初, 低浓度抗菌肽保持与细胞表面平行, 而不插入脂质双层, 但当肽浓度上升到一定程度时, 它们会自行旋转, 使磷脂重新定向和膜流动性增加, 破坏细胞膜并形成胶束, 诱导了细菌死亡^[44]。细胞膜向内流动破裂的方式类似于洗涤剂, 因此这种模型有时也被称为“洗涤剂模型”。这种模型的代表抗菌肽有 dermaseptin、thanatin、cecropin P1、LL-37 等^[42]。

3.2 细胞壁靶向机制

然而, 细菌膜破坏模型并不能完全解释抗菌肽介导的完整抗菌机制。具体来说, 该机制很难解释抗菌肽如何迅速穿透 G^+ 的多层肽聚糖。肽聚糖是 G^+ 细胞壁的主要成分, 其关键成分之一是脂质 II, 它对于细胞壁亚基在细菌质膜上的运输至关重要, 影响着细菌的完整性和存活度^[45]。Schneider 等^[11]通过体外遗传和生化实验发现, plectasin 不会对膜完整性造成任何破坏, 而是以脂质 II 为细胞靶点, 直接与脂质 II 结合来破坏细胞壁的合成, 以此提出了细胞壁靶向机制。除了 plectasin 外, 研究人员还发现了其他靶向脂质 II 的抗菌肽, 如 hBD3 和 HNP1, 长牡蛎中的 Cg-Defh1-2, 真菌中的 copsin 和 eurocin, 以及蛆中的 lucifensin^[46]。

3.3 细胞内靶向机制

近年来许多研究表明, 一些抗菌肽可以直接穿透细菌膜, 进入细菌内部干扰基本的生命活动, 包括 DNA 复制、转录、翻译、蛋白质合成、折叠和细胞分裂等^[47]。抗菌肽主要通过两种形

式入膜: 不依赖能量的质膜直接渗透(有形成瞬时孔隙、通过膜不稳定性直接易位两种途径)和能量依赖的内吞作用^[3]。抗菌肽进入并积累在细胞膜后, 可靶向细胞内大分子和生物过程发挥进一步的活性。其具有特异且多样的胞内靶点, 包括核酸靶向、蛋白质靶向、蛋白酶靶向等。细胞内靶向可有效阻止细菌耐药性的进展, 并有望携带其他药物实现靶向治疗^[48]。随着分子合成与材料递送技术的发展, 大量经过优化的抗菌肽有望成为新一代临床靶向药物。

4 抗菌肽的改造与递送策略

值得注意的是, 在抗菌肽生物实验的过程中, 不可抗地出现了部分细菌的耐药性: 它们根据环境刺激进行膜的修饰, 可以降低细菌膜和抗菌肽之间的亲和力^[49], 使抗菌肽在发挥作用之前便被降解。这意味着, 抗菌肽需要加以优化来改善应用困境。因此, 非膜靶向作用机制或许能成为抗菌肽耐药的突破口: 比如在分子结构层面增加环肽或延伸性结构的含量, 从而增加抗菌肽的作用靶点以避免单一膜靶向作用。这种人工抗菌肽改造方式是从分子层面入手, 通过化学修饰改良其结构与功能。此外, Liu 等^[50]构建了一种可形变的脂肽纳米药物递送系统, 通过长效滞留效应, 增强了对细菌细胞膜的破坏, 促进抗生素的渗透, 增强治疗效果。这为高分子材料负载抗菌肽的药物递送系统提供了良好的理论模型和思路。不论何种改造方式, 主要目标都应是选择性地释放肽分子, 以此提高药物治愈率并减弱毒副作用。

4.1 人工抗菌肽

纵使天然抗菌肽的前景广阔, 但其研发与应用仍受到来源、不稳定性、毒性和生物利用度的限制。针对这一问题, 许多研究者致力于开发同样由正电性和疏水基团组成的抗菌肽类

似物。设计、修饰、合成人工抗菌肽将会是未来的研究热点。随着近年来蛋白修饰酶的研究进展,人工抗菌肽展现出广阔的应用前景。Gao等^[6]对抗菌肽的修饰策略进行了详细的综述,其中包括有脂肪族修饰、与抗生素偶联、金属修饰、聚乙二醇化和糖基化。

每一种人工改性方式都有其优劣:如脂肪酸修饰能够延长抗菌肽的半衰期、降低生物降解度,但某些情况下却会削弱其抗菌活性^[6]。聚乙二醇化能改变多肽的构象,降低疏水性和蛋白水解性,从而增加多肽的稳定性^[51]。Shen等^[52]在小鼠伤口感染模型中证实,经过癸酸修饰 PMAP23RI 的 C 末端构建的抗菌肽(PMAP-23RI-Dee)在控制伤口感染方面的显著效果。其中,蛋白水解活性是备受关注的问题,简单的化学修饰和 D-氨基酸的利用是不足且昂贵的。作为替代方案,针对抗胰蛋白酶的天然氨基酸排列和抗凝乳蛋白酶水解肽结构的合成肽的开发,已被证实能够显著保持抗菌肽的体内抗菌效果^[53]。

以上研究表明,人工改造抗菌肽可以从根本上解决抗菌肽序列、结构等层面存在的天然缺陷。然而,分子结构的改造开发困难、造价高昂,至今并未有普及性成果,但也为改良抗菌肽、拓宽抗菌肽的临床应用途径提供了宝贵经验。因此,探索稳定和高效的材料配方以保持抗菌肽的稳定性、抗菌效力和生物安全性作为一种全新思路,在抗菌肽处理临床感染试验的设计中必不可少。

4.2 递送策略

抗菌肽在感染治疗的应用中面临着两大挑战:其一,抗菌肽的天然缺陷,如半衰期短、对环境因素敏感等,pH、蛋白质分解、水解、氧化和光解的变化,都可能影响其结构与抗菌效果;其二,抗菌肽的无序给药因其较低的靶向性,常常导致局部甚至全身的细胞毒性和高

溶血性,同时也降低了其作用效率。因此,抗菌肽的递送策略具有重要的研究价值,以期实现抗菌肽的靶向治疗,同时降低给药剂量和给药频率,最大限度地减少副作用并发挥抗菌作用。

4.2.1 递送途径

局部给药是目前抗菌肽应用最可行的方法,在作用部位提供较高的肽浓度,可系统地减少不良影响。例如,抗菌肽 peceleganan (PL-5)以喷雾剂形式用于治疗局部皮肤和伤口的细菌感染,特别是由顽固的耐药细菌引起的细菌感染。PL-5 喷雾剂经临床证实是一种安全有效的皮肤伤口感染治疗方法,也是第一种专门用于皮肤伤口感染的外用抗菌肽喷雾剂^[54]。在局部给药的基础上,将抗菌肽与生物相容的载体配制成药剂,可以潜在地增强肽的蛋白分解稳定性,减缓细菌耐药,同时提供对肽的保护,防止伤口感染期间 pH 变化导致抗菌肽失活。目前,研究者探索了各种药物递送系统(表 3),涵盖了无机载体(包括金、银和二氧化硅固体纳米颗粒)、有机载体(包括胶束、脂质体和水凝胶)以及特异性靶向递送。

目前,设计新型抗菌肽递送系统的其他流行方法还包括支架,即三维多孔固体生物材料,作为容纳生物活性化合物的基质。Håkansson 等^[71]将抗菌肽(如 DPK-060)支架形成有序的纳米晶体复合体,有助于细胞因子的生成,从而产生强大的免疫调节作用。近年来,静电纺丝技术已成为用于开发嵌入抗菌肽的纳米纤维的一种备受瞩目的方法,该技术能够将抗菌肽通过静电纺丝形成纳米纤维膜,其作为伤口敷料既可以阻隔外来细菌的入侵,又可以清除伤口内感染的细菌,如 OH-CATH30 已被证明可以通过静电纺丝增强疗效并实现肽的控释^[72]。这两项研究都使用最新的体内小鼠模型比较了抗菌肽载体的效果,其提高了抗菌和伤口愈合能力,比对照组具有更高的安全性。

表 3 抗菌肽药物递送系统

Table 3 Antimicrobial peptide drug delivery systems

Drug delivery system	Peptide	Application	Reference
Porous material			
Mesoporous silica	Bacillocin A	<i>Staphylococcus aureus</i>	[55]
Mesoporous titanium dioxide	Daptomycin	<i>S. aureus</i>	[56]
Surface attachment			
Polymeric micelle	KYE28	<i>E. coli</i>	[57]
Nanofibre	ϵ -PL	<i>S. aureus</i>	[58]
Liposome	DP7-C	Methicillin-resistant <i>Staphylococcus aureus</i> (MRSA)	[59]
Lipid nanoparticles	Polymyxin B	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	[60]
Lipid crystallization	LL-37	<i>E. coli</i>	[61]
Self-assembly			
Self-assembly of peptides	WMR PAs	<i>P. aeruginosa</i>	[62]
Microgel	PSI	<i>E. coli</i> and <i>S. aureus</i>	[63]
Covalent conjugate			
Inorganic nanoparticles	Odorranain-A-OA1	<i>E. coli</i>	[64]
Chitosan nanoparticles	Dhvar-5	<i>S. aureus</i>	[65]
Synthetic polymer	OM19r-8	<i>E. coli</i>	[66]
AMP-antibiotic conjugates	Melittin	MRSA	[67]
Photosensitizing drug	APPS	<i>E. coli</i>	[68]
Targeted delivery			
AMPs to target tumor cells	[D]-H ₆ L ₉	C26 tumor	[69]
Cry3Aa protein crystal	Dermaseptin S1	<i>Leishmania</i> spp.	[70]

在设计药物递送系统时, 主要目标是选择性地释放抗菌肽分子, 使它们能够在不影响健康细胞的情况下迅速积聚在靶点。与单一抗菌肽相比, 生物材料负载的肽可以实现缓释、提供有效的局部浓度、减少脱靶效应和毒性、提高抗菌肽的稳定性和活性, 并实现局部微环境的调节^[73]。因此, 生物材料递送与响应性药物释放可进一步提高抗菌肽药物的靶向性和生物利用度。

4.2.2 递送后响应性释放

值得注意的是, 暴露在细菌感染下的炎症反应将改变感染部位的微环境, 如 pH 值、活性氧(reactive oxygen species, ROS)水平、谷胱甘肽(glutathione, GSH)氧化还原比和特定酶的产生。这些微环境参数的变化为衡量感染严重程度

和制造响应性载体提供了新的参考, 是刺激递送系统实现抗菌肽药物释放的“触发器”。本文将简述抗菌治疗中使用的一些响应性载体及其构建方案。

pH 响应性载体对于靶向部位的低 pH 水平有一定的敏感性。Pranantyo 等^[74]研究发现, 半胱氨酸封端的抗菌肽与金纳米簇组装, 并进一步用阴离子柠檬酰基修饰表面, 得到带负电荷的表面。该络合物具有较高的稳定性, 在生理条件下具有较低的溶血和细胞毒性。在细菌感染部位的酸性 pH 环境下, 柠檬酰胺可以自动切割, 实现电荷从负电荷到正电荷的反转, 从而提供有效的细菌结合和杀菌效果, 展示了一种“智能”的 pH 响应配方设计。与之类似的是, Wang 等^[75]制备了一种核壳结构纳米凝胶作为药物载

体, 该纳米载体具有酸性感染微环境响应性, 可以实现控制性释放抗菌肽和益生元菊糖, 用于高选择性杀菌和动态促进有益细菌增殖。这种新的给药方法不同于传统的药物修饰和构象改造, 而是专注于保持抗菌肽生理活性的同时, 最大限度地规避其天然不稳定性和细胞毒性。

革兰氏阴性细菌的脂多糖是炎症诱导的氧化应激的主要因素, 清除 ROS 和下调相关途径可以减轻炎症影响; ROS 触发的药物递送系统具有类似于 pH 响应系统的设计原理, 利用化学键变化、改变的表面电位或改变的疏水特性来实现药物的释放或持续释放^[76]。Cheng 等^[77]制备出了 GelMA-DOPA 水凝胶并与抗菌肽结合, 使水凝胶伤口敷料具有抗菌和清除 ROS 的能力。Zhao 等^[78]利用聚乙烯醇(polyvinyl alcohol, PVA)交联一种具有 ROS 响应性的连接剂, 开发了一种清除 ROS 的水凝胶, 其可通过降低 ROS 水平, 上调创面周围 M2 表型巨噬细胞, 促进创面闭合。

GSH 可以与多种物质发生反应。例如二硫键对于 GSH 极其敏感, 这主要是通过巯基官能团诱导的二硫键裂解反应来实现的。因此 GSH 能够触发相应的自组装纳米颗粒分解, 促进药物释放^[79]。Pal 等^[80]利用这一原理设计了两种新的左氧氟沙星衍生物, 它们与 GSH 特异性反应产生的药物抑菌率超过 99%, 并且毒性低于原药左氧氟沙星。另外, Hu 等^[81]利用 GSH 敏感的 α -环糊精(α -cyclodextrin, α -CD)共轭了一氧化氮(NO), 当药物体系接触表达 GSH 的细菌生物膜时, 表现为 GSH 触发 NO 快速释放, 起到杀菌作用的同时辅助了后续 NO 与 ROS 的反应, 有利于提高生物膜的穿透效率。由此可见, GSH 响应策略实现了药物联合和多级响应, 具有可观的临床应用性。

抗菌肽的酶响应性释放受特定微生物种类

的酶活性影响, 比 pH 响应释放更精确。Zhang 等^[82]设计了脂肪酶敏感的聚合物纳米颗粒, 用于腹膜炎模型的抗炎作用。Lu 等^[83]合成了一个由 3 个组分组成的多结构域抗菌肽, 然后将抗菌肽吸附在金纳米颗粒上, 制备出一种酶响应性纳米复合材料, 该纳米复合材料可以被细菌细胞表达的明胶酶激活, 以启动纳米颗粒的原位聚集。Wang 等^[84]使用透明质酸表面修饰的银纳米颗粒有效地输送庆大霉素, 靶向杀灭金黄色葡萄球菌。

然而, 这些包含 pH 值、ROS、GSH 和酶反应的设计有一定局限性: 以 pH 响应为例, 最主要的挑战是电荷反转策略^[79], 这将直接影响该药物体系的疗效。此外, 药物递送策略还受到纳米材料的选择、有限的体外和动物模型以及缺乏有效性和毒理性的量化指标等限制, 难以完全解决当前的挑战。因此, 从病原体感染机制和多种疾病的靶向治疗策略中获得见解, 可能会揭示现有细菌治疗的优化方向。

5 抗菌肽的临床应用

抗菌肽被认为是目前替代抗生素的新希望之一。然而, 多肽药物临床应用的发展十分缓慢。这是由多重因素带来的限制, 例如抗菌肽的天然属性(昂贵、稳定性差、膜渗透性差、体内清除快)、缺乏对其作用机制的充分了解和缺乏先进的计算工具等^[85]。尽管抗菌肽的临床应用遇到了许多挑战, 但仍有少数抗菌药物成功获批用于抗菌治疗, 并且有许多新的临床研究被报道。本文将目前的临床应用分为单一肽治疗与联合治疗并分别进行综述。

5.1 单一肽治疗

目前较为先进的一种抗菌肽药物是 pexiganan, 它是一种从非洲爪蟾分离出的 magainin 肽的类似物, 目前由 Dipexium Pharmaceuticals Inc 进

行 III 期临床试验。他们的目标是确定局部应用含有 0.8% pexiganan 的乳膏对于糖尿病足相关伤口的临床优势和安全性, 并与治疗轻度感染糖尿病足的安慰剂乳膏进行比较^[86]。Mascio 等^[87]对 surotomycin (CB-183, 315)进行了 III 期临床试验, 目的是比较其与口服万古霉素在治疗艰难梭菌相关性腹泻(clostridium difficile-associated diarrhea, CDAD)中的有效性, 并且在 II 期临床试验中口服 surotomycin 表现出良好的患者耐受性。除此之外, 还有 LL-37、hCAP18、DPK 060、omiganan、Nal-P-113 等抗菌肽已进入不同阶段的临床试验^[88]。

然而已有研究表明, 细菌对抗菌肽的耐药性已从实验室和自然界进化出来, 并且对单一肽抗性的进化趋势尤为明显^[89]。因此, 突破单一药物治疗并寻求抑制耐药进化的方案刻不容缓。

5.2 联合治疗

抗生素的联合治疗过去已有诸多先例, 例如结核病的治疗需要长期使用抗生素“鸡尾酒”疗法^[90]。这也为抗菌肽的临床应用拓宽了思路。与大多数抗生素相比, 抗菌肽有着许多不同的作用靶点。因此, 抗菌肽之间或抗菌肽与常规抗生素的协同组合具有很大的治疗潜力。

抗菌肽之间的协同作用是一种自然现象, 具有很强的普遍性和应用价值。Shtreimer Kandiyote 等^[91]证明了 PGLa 和 magainin-2 联合应用对于铜绿假单胞菌的生物膜生长有很强的抑制作用, 这对于延长医疗器械的使用寿命有着重要意义。Lüders 等^[92]协同了真核生物抗菌肽 pleurocidin 和原核生物抗菌肽 pediocin PA-1、sakacin P、curvacin A 后发现, 联合用药对大肠杆菌的抑制能力比单独使用 pleurocidin 提高了近 4 倍。由此可见, 联合用药通过利用抗菌肽之间的高度协同性与多样化的作用机制, 显著

提高了抗菌肽的活性。

抗菌肽与抗生素联合用药已有明显的抗菌效应。例如, 抗菌肽 DP7 与阿奇霉素或万古霉素的结合已被证明可以根除一些耐药的金黄色葡萄球菌、铜绿假单胞菌和大肠杆菌^[93]。与之类似的有 LL-37 衍生物 KR-12-a5 及其类似物与氯霉素、环丙沙星和苯唑西林的协同作用对多重耐药铜绿假单胞菌有很高的疗效^[94]。除此之外, Dai 等^[95]为降低单一使用多黏菌素引起的肾毒性和神经毒性, 创新地构建了多黏菌素-姜黄素联合体系, 这是抗菌肽与非主流类抗菌药物联合应用的大胆尝试。协同抑制细菌生长的同时, 通过抑制氧化应激等多种途径减弱了多黏菌素的副作用。

由此可见, 抗菌肽与美国食品药品监督管理局(Food and Drug Administration, FDA)批准的药物、天然产物联合治疗是克服各种不良反应和细菌耐药性的新兴策略。尽管存在很多挑战, 但目前的研究结果依然乐观, 抗菌肽的联合用药是一个颇具前景的临床新方向。这将加速抗菌肽相关药物的研发, 为今后面对感染性疾病创造新的治疗选择。

6 展望

截至目前, 抗生素在临床感染性疾病的治疗中仍有着不可或缺的作用, 但超级细菌、抗生素耐药性等问题日益严重, 正逐渐对抗生素的临床价值构成挑战。本文重点讲解的抗菌肽已被认为是一种潜在的替代抗生素的候选药物: 与传统抗生素相比, 抗菌肽在与细菌相互作用时形成的特殊结构与其独特且多样化的作用机制, 表现出不俗的抗细菌耐药性与临床药用潜力。

提高抗菌活性是实现抗菌肽临床应用的关键

键所在。就基于抗菌肽二级结构开发高抗菌活性药物的可能性而言， α -螺旋、 β -折叠等结构具有重要的功能特征，后期研发可以通过增加 α 或 β 构象片段来完善不同抗菌肽的生物学功能，弥补它们在临床应用上的缺陷，如低抗菌活性、易降解等，为其投入临床使用带来新的希望。

然而，抗菌肽耐药性问题已有先例，其细胞毒性也不容忽视。因此，精准的靶向治疗成为了新的突破口，目前的思路有两种：一方面通过化学修饰改变抗菌肽的本质结构，从而改变其作用靶点、获得抗降解能力等，但研究难度极大，并且抗菌活性也随之受到影响；另一方面采用高分子细菌响应性材料递送的方式，可以协助实现抗菌肽的靶向、渗透、缓释和抗降解等效能，但药物释放率以及材料对于人体的毒副作用等问题，也值得再三权衡。正因如此，未来的研究要努力实现新型靶向思路，这将极大地促进抗菌肽应用的进步。

综上所述，优化抗菌肽应用的途径有两条：增强抗菌活性与抗菌肽的靶向治疗。然而，两者此消彼长，难以实现同时提升。此外，抗菌肽制剂研制成本高昂、运输条件苛刻。诸如此类的问题限制了抗菌肽剂型的临床应用，但抗菌肽与其他抗菌药物的联合治疗又为其临床应用创造了新的希望。寻找新型联合方案、提高抗菌肽抗菌活性与作用时间、减弱细胞毒性，将是下一阶段思考与研究的重点所在。

由此可见，抗菌肽的普及应用任重而道远。充分了解抗菌肽的作用机制、体内过程和降解机制，对于改良抗菌肽类药物有着事半功倍的效果，这便需要多学科交叉合作研究。实现抗菌肽类药物的抗菌活性、分子稳定性与细胞毒性的相互协调，开发低成本、低毒性、高渗透性、高细菌响应性的靶向抗菌分子和抗菌材料等，仍需更加深入地研究与探索。

参考文献

- [1] LEVY SB, MARSHALL B. Antibacterial resistance worldwide: causes, challenges and responses[J]. *Nature Medicine*, 2004, 10: S122-S129.
- [2] SAVINI F, LOFFREDO MR, TROIANO C, BOBONE S, MALANOVIC N, EICHMANN TO, CAPRIO L, CANALE VC, PARK Y, MANGONI ML, STELLA L. Binding of an antimicrobial peptide to bacterial cells: interaction with different species, strains and cellular components[J]. *Biochimica et Biophysica Acta Biomembranes*, 2020, 1862(8): 183291.
- [3] LUO Y, SONG YZ. Mechanism of antimicrobial peptides: antimicrobial, anti-inflammatory and antibiofilm activities[J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2021, 22(21): 11401.
- [4] ZHAO F, LAN XQ, DU Y, CHEN PY, ZHAO J, ZHAO F, LEE WH, ZHANG Y. King cobra peptide OH-CATH30 as a potential candidate drug through clinic drug-resistant isolates[J]. *Zoological Research*, 2018, 39(2): 87-96.
- [5] JENSSEN H, HAMILL P, HANCOCK REW. Peptide antimicrobial agents[J]. *Clinical Microbiology Reviews*, 2006, 19(3): 491-511.
- [6] GAO YD, FANG HT, FANG L, LIU DW, LIU JS, SU MH, FANG Z, REN WZ, JIAO HP. The modification and design of antimicrobial peptide[J]. *Current Pharmaceutical Design*, 2018, 24(8): 904-910.
- [7] GAO XH, DING JQ, LIAO CB, XU JL, LIU XX, LU WY. Defensins: the natural peptide antibiotic[J]. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 2021, 179: 114008.
- [8] HANCOCK REW, BROWN KL, MOOKHERJEE N. Host defence peptides from invertebrates: emerging antimicrobial strategies[J]. *Immunobiology*, 2006, 211(4): 315-322.
- [9] RODRÍGUEZ-RUBIO L, MARTÍNEZ B, DONOVAN DM, RODRÍGUEZ A, GARCÍA P. Bacteriophage virion-associated peptidoglycan hydrolases: potential new enzybiotics[J]. *Critical Reviews in Microbiology*, 2013, 39(4): 427-434.
- [10] FATHIZADEH H, SAFFARI M, ESMAEILI D, MONIRI R, SALIMIAN M. Evaluation of antibacterial activity of enterocin A-colicin E1 fusion peptide[J]. *Iranian Journal of Basic Medical Sciences*, 2020, 23(11): 1471-1479.
- [11] SCHNEIDER T, KRUSE T, WIMMER R, WIEDEMANN I, SASS V, PAG U, JANSEN A, NIELSEN AK, MYGIND PH, RAVENTÓS DS, NEVE

- S, RAVN B, BONVIN AMJJ, de MARIA L, ANDERSEN AS, GAMMELGAARD LK, SAHL HG, KRISTENSEN HH. Plectasin, a fungal defensin, targets the bacterial cell wall precursor lipid II[J]. *Science*, 2010, 328(5982): 1168-1172.
- [12] BIN HAFEEZ A, JIANG XK, BERGEN PJ, ZHU Y. Antimicrobial peptides: an update on classifications and databases[J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2021, 22(21): 11691.
- [13] TAM JP, WANG SJ, WONG KH, TAN WL. Antimicrobial peptides from plants[J]. *Pharmaceuticals*, 2015, 8(4): 711-757.
- [14] DINI I, de BIASI MG, MANCUSI A. An overview of the potentialities of antimicrobial peptides derived from natural sources[J]. *Antibiotics*, 2022, 11(11): 1483.
- [15] van HARTEN RM, van WOUDEBERGH E, van DIJK A, HAAGSMAN HP. Cathelicidins: immunomodulatory antimicrobials[J]. *Vaccines*, 2018, 6(3): 63.
- [16] ZHANG Y, ZHAO H, YU GY, LIU XD, SHEN JH, LEE WH, ZHANG Y. Structure-function relationship of king cobra cathelicidin[J]. *Peptides*, 2010, 31(8): 1488-1493.
- [17] WANG YP, HONG J, LIU XH, YANG HL, LIU R, WU J, WANG AL, LIN DH, LAI R. Snake cathelicidin from *Bungarus fasciatus* is a potent peptide antibiotics[J]. *PLoS One*, 2008, 3(9): e3217.
- [18] SHINNAR AE, BUTLER KL, PARK HJ. Cathelicidin family of antimicrobial peptides: proteolytic processing and protease resistance[J]. *Bioorganic Chemistry*, 2003, 31(6): 425-436.
- [19] DESLOUCHES B, PHADKE SM, LAZAREVIC V, CASCIO M, ISLAM K, MONTELARO RC, MIETZNER TA. *De novo* generation of cationic antimicrobial peptides: influence of length and tryptophan substitution on antimicrobial activity[J]. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 2005, 49(1): 316-322.
- [20] FRY DE. Antimicrobial peptides[J]. *Surgical Infections*, 2018, 19(8): 804-811.
- [21] LEIGH T, FERNANDEZ-TRILLO P. Helical polymers for biological and medical applications[J]. *Nature Reviews Chemistry*, 2020, 4: 291-310.
- [22] LEI J, SUN LC, HUANG SY, ZHU CH, LI P, HE J, MACKEY V, COY DH, HE QY. The antimicrobial peptides and their potential clinical applications[J]. *American Journal of Translational Research*, 2019, 11(7): 3919-3931.
- [23] PANTELEEV PV, BOLOSOV IA, BALANDIN SV, OVCHINNIKOVA TV. Structure and biological functions of β -hairpin antimicrobial peptides[J]. *Acta Naturae*, 2015, 7(1): 37-47.
- [24] ZOHRAB F, ASKARIAN S, JALILI A, KAZEMI OSKUEE R. Biological properties, current applications and potential therapeutic applications of brevinin peptide superfamily[J]. *International Journal of Peptide Research and Therapeutics*, 2019, 25(1): 39-48.
- [25] SEEFELDT AC, NGUYEN F, ANTUNES S, PÉRÉBASKINE N, GRAF M, ARENZ S, INAMPUDI KK, DOUAT C, GUICHARD G, WILSON DN, INNIS CA. The proline-rich antimicrobial peptide Onc112 inhibits translation by blocking and destabilizing the initiation complex[J]. *Nature Structural & Molecular Biology*, 2015, 22: 470-475.
- [26] SUN TY, ZHAN B, ZHANG WF, QIN D, XIA GX, ZHANG HJ, PENG MY, LI SG, ZHANG Y, GAO YY, LEE WH. Carboxymethyl chitosan nanoparticles loaded with bioactive peptide OH-CATH30 benefit nonscar wound healing[J]. *International Journal of Nanomedicine*, 2018, 13: 5771-5786.
- [27] LI SG, LEE WH, ZHANG Y. Efficacy of OH-CATH30 and its analogs against drug-resistant bacteria *in vitro* and in mouse models[J]. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 2012, 56(6): 3309-3317.
- [28] HANCOCK REW, NIJNIK A, PHILPOTT DJ. Modulating immunity as a therapy for bacterial infections[J]. *Nature Reviews Microbiology*, 2012, 10: 243-254.
- [29] WENZEL M, CHIRIAC AI, OTTO A, ZWEYTICK D, MAY C, SCHUMACHER C, GUST R, ALBADA HB, PENKOVA M, KRÄMER U, ERDMANN R, METZLER-NOLTE N, STRAUS SK, BREMER E, BECHER D, BRÖTZ-OESTERHELT H, SAHL HG, BANDOW JE. Small cationic antimicrobial peptides delocalize peripheral membrane proteins[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2014, 111(14): E1409-E1418.
- [30] OEEMIG JS, LYNGGAARD C, KNUDSEN DH, HANSEN FT, NØRGAARD KD, SCHNEIDER T, VAD BS, SANDVANG DH, NIELSEN LA, NEVE S, KRISTENSEN HH, SAHL HG, OTZEN DE, WIMMER R. Eurocin, a new fungal defensin: structure, lipid binding, and its mode of action[J]. *The Journal of Biological Chemistry*, 2012, 287(50): 42361-42372.
- [31] ESSIG A, HOFMANN D, MÜNCH D, GAYATHRI S,

- KÜNZLER M, KALLIO PT, SAHL HG, WIDER G, SCHNEIDER T, AEBI M. Copsin, a novel peptide-based fungal antibiotic interfering with the peptidoglycan synthesis[J]. *The Journal of Biological Chemistry*, 2014, 289(50): 34953-34964.
- [32] MATHEW MK, BALARAM P. Alamethicin and related membrane channel forming polypeptides[J]. *Molecular and Cellular Biochemistry*, 1983, 50(1): 47-64.
- [33] BOLINTINEANU DS, VIVCHARUK V, KAZNESSIS YN. Multiscale models of the antimicrobial peptide protegrin-1 on Gram-negative bacteria membranes[J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2012, 13(9): 11000-11011.
- [34] MEMARIANI H, MEMARIANI M, MORAVVEJ H, SHAHIDI-DADRAS M. Melittin: a venom-derived peptide with promising anti-viral properties[J]. *European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases*, 2020, 39(1): 5-17.
- [35] SAIDUMOHAMED BE, BABURAJ AP, JOHNY TK, SHEELA UB, SREERANGANATHAN M, BHAT SG. A magainin-2 like bacteriocin BpS114 with anticancer action from fish gut *Bacillus safensis* SDG14[J]. *Analytical Biochemistry*, 2021, 627: 114261.
- [36] SHAI Y. Mechanism of the binding, insertion and destabilization of phospholipid bilayer membranes by alpha-helical antimicrobial and cell non-selective membrane-lytic peptides[J]. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1999, 1462(1/2): 55-70.
- [37] SINHA S, ZHENG LZ, MU YG, NG WJ, BHATTACHARJYA S. Structure and interactions of a host defense antimicrobial peptide thanatin in lipopolysaccharide micelles reveal mechanism of bacterial cell agglutination[J]. *Scientific Reports*, 2017, 7(1): 17795.
- [38] BRAFFMAN NR, PISCOTTA FJ, HAUVER J, CAMPBELL EA, LINK AJ, DARST SA. Structural mechanism of transcription inhibition by lasso peptides microcin J25 and capistrain[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2019, 116(4): 1273-1278.
- [39] CHILEVERU HR, LIM SA, CHAIRATANA P, WOMMACK AJ, CHIANG IL, NOLAN EM. Visualizing attack of *Escherichia coli* by the antimicrobial peptide human defensin 5[J]. *Biochemistry*, 2015, 54(9): 1767-1777.
- [40] MOOKHERJEE N, ANDERSON MA, HAAGSMAN HP, DAVIDSON DJ. Antimicrobial host defence peptides: functions and clinical potential[J]. *Nature Reviews Drug Discovery*, 2020, 19: 311-332.
- [41] TORNESELLO AL, BORRELLI A, BUONAGURO L, BUONAGURO FM, TORNESELLO ML. Antimicrobial peptides as anticancer agents: functional properties and biological activities[J]. *Molecules*, 2020, 25(12): 2850.
- [42] PIOTROWSKA U, SOBCZAK M, OLEDZKA E. Current state of a dual behaviour of antimicrobial peptides-therapeutic agents and promising delivery vectors[J]. *Chemical Biology & Drug Design*, 2017, 90(6): 1079-1093.
- [43] GANZ T. Defensins: antimicrobial peptides of innate immunity[J]. *Nature Reviews Immunology*, 2003, 3: 710-720.
- [44] BORRELLI A, TORNESELLO AL, TORNESELLO ML, BUONAGURO FM. Cell penetrating peptides as molecular carriers for anti-cancer agents[J]. *Molecules*, 2018, 23(2): 295.
- [45] CLARKE AJ. Peptidoglycan: another brick in the wall[J]. *Nature Chemical Biology*, 2017, 13(7): 695-696.
- [46] FU J, ZONG X, JIN ML, MIN JX, WANG FD, WANG YZ. Mechanisms and regulation of defensins in host defense[J]. *Signal Transduction and Targeted Therapy*, 2023, 8: 300.
- [47] CHEN N, JIANG C. Antimicrobial peptides: structure, mechanism, and modification[J]. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 2023, 255: 115377.
- [48] LE CF, FANG CM, SEKARAN SD. Intracellular targeting mechanisms by antimicrobial peptides[J]. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 2017, 61(4): e02340-16.
- [49] MARIA-NETO S, de ALMEIDA KC, MACEDO MLR, FRANCO OL. Understanding bacterial resistance to antimicrobial peptides: from the surface to deep inside[J]. *Biochimica et Biophysica Acta*, 2015, 1848(11 Pt B): 3078-3088.
- [50] LIU J, ZHANG X, ZOU PF, YAO JH, LIU LL, CAI Y, SUN TY, GAO YY, LI LL. Peptide-based nano-antibiotic transformers with antibiotic adjuvant effect for multidrug resistant bacterial pneumonia therapy[J]. *Nano Today*, 2022, 44: 101505.
- [51] MANTEGHI R, PALLAGI E, OLAJOS G, CSÓKA I. Pegylation and formulation strategy of anti-microbial peptide (AMP) according to the quality by design approach[J]. *European Journal of Pharmaceutical Sciences: Official Journal of the European Federation for Pharmaceutical Sciences*, 2020, 144: 105197.

- [52] SHEN TF, CHEN LL, LIU YQ, SHI SB, LIU ZX, CAI KR, LIAO CS, WANG C. Decanoic acid modification enhances the antibacterial activity of PMAP-23RI-Dec[J]. *European Journal of Pharmaceutical Sciences: Official Journal of the European Federation for Pharmaceutical Sciences*, 2021, 157: 105609.
- [53] WANG JJ, SONG J, YANG ZY, HE SQ, YANG Y, FENG XJ, DOU XJ, SHAN AS. Antimicrobial peptides with high proteolytic resistance for combating Gram-negative bacteria[J]. *Journal of Medicinal Chemistry*, 2019, 62(5): 2286-2304.
- [54] WEI YT, WU J, CHEN YX, FAN KW, YU XM, LI XJ, ZHAO YH, LI Y, LV GZ, SONG GD, RONG XZ, LIN C, WANG HT, CHEN XD, ZHANG PH, HAN CM, ZU HX, LIU WJ, ZHANG Y, LIU C, et al. Efficacy and safety of PL-5 (peceleganan) spray for wound infections: a phase IIb randomized clinical trial[J]. *Annals of Surgery*, 2023, 277(1): 43-49.
- [55] DURACK E, MALLEEN S, O'CONNOR PM, REA MC, ROSS RP, HILL C, HUDSON S. Protecting bactofencin A to enable its antimicrobial activity using mesoporous matrices[J]. *International Journal of Pharmaceutics*, 2019, 558: 9-17.
- [56] ATEFYEKTA S, ERCAN B, KARLSSON J, TAYLOR E, CHUNG S, WEBSTER TJ, ANDERSSON M. Antimicrobial performance of mesoporous titania thin films: role of pore size, hydrophobicity, and antibiotic release[J]. *International Journal of Nanomedicine*, 2016, 11: 977-990.
- [57] RIGO S, HÜRLIMANN D, MAROT L, MALMSTEN M, MEIER W, PALIVAN CG. Decorating nanostructured surfaces with antimicrobial peptides to efficiently fight bacteria[J]. *ACS Applied Bio Materials*, 2020, 3(3): 1533-1543.
- [58] AMARIEI G, KOKOL V, VIVOD V, BOLTES K, LETÓN P, ROSAL R. Biocompatible antimicrobial electrospun nanofibers functionalized with ϵ -poly-L-lysine[J]. *International Journal of Pharmaceutics*, 2018, 553(1/2): 141-148.
- [59] LIU XW, LI Z, WANG XD, CHEN YJ, WU FB, MEN K, XU T, LUO Y, YANG L. Novel antimicrobial peptide-modified azithromycin-loaded liposomes against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*[J]. *International Journal of Nanomedicine*, 2016, 11: 6781-6794.
- [60] ROCHA ED, FERREIRA MRS, dos SANTOS NETO E, BARBOSA EJ, LÖBENBERG R, LOURENÇO FR, BOU-CHACRA N. Enhanced *in vitro* antimicrobial activity of polymyxin B-coated nanostructured lipid carrier containing dexamethasone acetate[J]. *Journal of Pharmaceutical Innovation*, 2021, 16(1): 125-135.
- [61] BOGE L, BROWNING KL, NORDSTRÖM R, CAMPANA M, DAMGAARD LSE, SETH CAOUS J, HELLSING M, RINGSTAD L, ANDERSSON M. Peptide-loaded cubosomes functioning as an antimicrobial unit against *Escherichia coli*[J]. *ACS Applied Materials & Interfaces*, 2019, 11(24): 21314-21322.
- [62] LOMBARDI L, SHI YJ, FALANGA A, GALDIERO E, de ALTERIIS E, FRANCI G, CHOURPA I, AZEVEDO HS, GALDIERO S. Enhancing the potency of antimicrobial peptides through molecular engineering and self-assembly[J]. *Biomacromolecules*, 2019, 20(3): 1362-1374.
- [63] HUANG L, ZHU ZY, WU DW, GAN WD, ZHU SS, LI WQ, TIAN JH, LI LH, ZHOU CR, LU L. Antibacterial poly (ethylene glycol) diacrylate/chitosan hydrogels enhance mechanical adhesiveness and promote skin regeneration[J]. *Carbohydrate Polymers*, 2019, 225: 115110.
- [64] PAL I, BRAHMKHATRI VP, BERA S, BHATTACHARYYA D, QUIRISHI Y, BHUNIA A, ATREYA HS. Enhanced stability and activity of an antimicrobial peptide in conjugation with silver nanoparticle[J]. *Journal of Colloid and Interface Science*, 2016, 483: 385-393.
- [65] PETRIN THC, FADEL V, MARTINS DB, DIAS SA, CRUZ A, SERGIO LM, ARCISIO-MIRANDA M, CASTANHO MARB, DOS SANTOS CABRERA MP. Synthesis and characterization of peptide-chitosan conjugates (PepChis) with lipid bilayer affinity and antibacterial activity[J]. *Biomacromolecules*, 2019, 20(7): 2743-2753.
- [66] CUI Q, XU QJ, LIU L, GUAN LL, JIANG XY, INAM M, KONG LC, MA HX. Preparation, characterization and pharmacokinetic study of N-terminal PEGylated D-form antimicrobial peptide OM19r-8[J]. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 2021, 110(3): 1111-1119.
- [67] JELINKOVA P, SPLICHAL Z, JIMENEZ AMJ, HADDAD Y, MAZUMDAR A, SUR VP, MILOSAVLJEVIC V, KOPEL P, BUCHTELOVA H, GURAN R, ZITKA O, RICHTERA L, HEGEROVA D, HEGER Z, MOULICK A, ADAM V. Novel vancomycin-peptide conjugate as potent antibacterial agent against vancomycin-resistant *Staphylococcus*

- aureus*[J]. *Infection and Drug Resistance*, 2018, 11: 1807-1817.
- [68] LEI XL, QIU L, LAN M, DU XC, ZHOU SW, CUI PF, ZHENG RH, JIANG PJ, WANG JH, XIA J. Antibacterial photodynamic peptides for staphylococcal skin infection[J]. *Biomaterials Science*, 2020, 8(23): 6695-6702.
- [69] ZHANG QY, TANG J, RAN R, LIU YY, ZHANG ZR, GAO HL, HE Q. Development of an anti-microbial peptide-mediated liposomal delivery system: a novel approach towards pH-responsive anti-microbial peptides[J]. *Drug Delivery*, 2016, 23(4): 1163-1170.
- [70] YANG ZF, ZHENG JL, CHAN CF, WONG ILK, HEATER BS, CHOW LMC, LEE MMM, CHAN MK. Targeted delivery of antimicrobial peptide by Cry protein crystal to treat intramacrophage infection[J]. *Biomaterials*, 2019, 217: 119286.
- [71] HÅKANSSON J, CAVANAGH JP, STENSEN W, MORTENSEN B, SVENDSEN JS, SVENSON J. *In vitro* and *in vivo* antibacterial properties of peptide AMC-109 impregnated wound dressings and gels[J]. *The Journal of Antibiotics*, 2021, 74: 337-345.
- [72] ZOU PF, LEE WH, GAO ZQ, QIN D, WANG YX, LIU J, SUN TY, GAO YY. Wound dressing from polyvinyl alcohol/chitosan electrospun fiber membrane loaded with OH-CATH30 nanoparticles[J]. *Carbohydrate Polymers*, 2020, 232: 115786.
- [73] LI GY, LAI ZH, SHAN AS. Advances of antimicrobial peptide-based biomaterials for the treatment of bacterial infections[J]. *Advanced Science*, 2023, 10(11): e2206602.
- [74] PRANANTYO D, LIU P, ZHONG WB, KANG ET, CHAN-PARK MB. Antimicrobial peptide-reduced gold nanoclusters with charge-reversal moieties for bacterial targeting and imaging[J]. *Biomacromolecules*, 2019, 20(8): 2922-2933.
- [75] WANG XX, WANG YT, TANG MT, WANG XY, XUE W, ZHANG X, WANG YX, LEE WH, WANG YS, SUN TY, GAO YY, LI LL. Controlled cascade-release and high selective sterilization by core-shell nanogels for microenvironment regulation of aerobic vaginitis[J]. *Advanced Healthcare Materials*, 2023, 12(15): e2202432.
- [76] LI C, WANG YF, ZHANG S, ZHANG JJ, WANG F, SUN YH, HUANG LR, BIAN W. pH and ROS sequentially responsive podophyllotoxin prodrug micelles with surface charge-switchable and self-amplification drug release for combating multidrug resistance cancer[J]. *Drug Delivery*, 2021, 28(1): 680-691.
- [77] CHENG H, SHI Z, YUE K, HUANG XS, XU YC, GAO CH, YAO ZQ, ZHANG YS, WANG J. Sprayable hydrogel dressing accelerates wound healing with combined reactive oxygen species-scavenging and antibacterial abilities[J]. *Acta Biomaterialia*, 2021, 124: 219-232.
- [78] ZHAO H, HUANG J, LI Y, LV XJ, ZHOU HT, WANG HR, XU YY, WANG C, WANG J, LIU Z. ROS-scavenging hydrogel to promote healing of bacteria infected diabetic wounds[J]. *Biomaterials*, 2020, 258: 120286.
- [79] YAO L, LIU QY, LEI ZX, SUN TL. Development and challenges of antimicrobial peptide delivery strategies in bacterial therapy: a review[J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2023, 253(Pt 3): 126819.
- [80] PAL S, RAMU V, TAYE N, MOGARE DG, YEWARE AM, SARKAR D, REDDY DS, CHATTOPADHYAY S, DAS A. GSH induced controlled release of levofloxacin from a purpose-built prodrug: luminescence response for probing the drug release in *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*[J]. *Bioconjugate Chemistry*, 2016, 27(9): 2062-2070.
- [81] HU DF, DENG YY, JIA F, JIN Q, JI J. Surface charge switchable supramolecular nanocarriers for nitric oxide synergistic photodynamic eradication of biofilms[J]. *ACS Nano*, 2020, 14(1): 347-359.
- [82] ZHANG CY, GAO J, WANG ZJ. Bioresponsive nanoparticles targeted to infectious microenvironments for sepsis management[J]. *Advanced Materials*, 2018, 30(43): e1803618.
- [83] LU SZ, GUO XY, ZOU MS, ZHENG ZQ, LI YC, LI XD, LI LL, WANG H. Bacteria-instructed *in situ* aggregation of AuNPs with enhanced photoacoustic signal for bacterial infection bioimaging[J]. *Advanced Healthcare Materials*, 2020, 9(1): e1901229.
- [84] WANG X, WU J, LI PL, WANG LN, ZHOU J, ZHANG GK, LI X, HU BC, XING XD. Microenvironment-responsive magnetic nanocomposites based on silver nanoparticles/gentamicin for enhanced biofilm disruption by magnetic field[J]. *ACS Applied Materials & Interfaces*, 2018, 10(41): 34905-34915.
- [85] LUO XF, CHEN HF, SONG YN, QIN ZD, XU LJ, HE NY, TAN YM, DESSIE W. Advancements, challenges and future perspectives on peptide-based drugs: focus

- on antimicrobial peptides[J]. *European Journal of Pharmaceutical Sciences: Official Journal of the European Federation for Pharmaceutical Sciences*, 2023, 181: 106363.
- [86] GREBER KE, DAWGUL M. Antimicrobial peptides under clinical trials[J]. *Current Topics in Medicinal Chemistry*, 2017, 17(5): 620-628.
- [87] MASCIO CTM, MORTIN LI, HOWLAND KT, van PRAAGH ADG, ZHANG SX, ARYA A, CHUONG CL, KANG CF, LI TC, SILVERMAN JA. *In vitro* and *in vivo* characterization of CB-183,315, a novel lipopeptide antibiotic for treatment of *Clostridium difficile*[J]. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 2012, 56(10): 5023-5030.
- [88] ZHANG CY, YANG M. Antimicrobial peptides: from design to clinical application[J]. *Antibiotics*, 2022, 11(3): 349.
- [89] MARON B, ROLFF J, FRIEDMAN J, HAYOUKA Z. Antimicrobial peptide combination can hinder resistance evolution[J]. *Microbiology Spectrum*, 2022, 10(4): e0097322.
- [90] PANT A, DAS B, ARIMBASSERI GA. Host microbiome in tuberculosis: disease, treatment, and immunity perspectives[J]. *Front Microbiol*, 2023, 14: 1236348.
- [91] SHTREIMER KANDIYOTE N, MOHANRAJ G, MAO CW, KASHER R, ARNUSCH CJ. Synergy on surfaces: anti-biofouling interfaces using surface-attached antimicrobial peptides PGLa and magainin-2[J]. *Langmuir: the ACS Journal of Surfaces and Colloids*, 2018, 34(37): 11147-11155.
- [92] LÜDERS T, BIRKEMO GA, FIMLAND G, NISSEN-MEYER J, NES IF. Strong synergy between a eukaryotic antimicrobial peptide and bacteriocins from lactic acid bacteria[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2003, 69(3): 1797-1799.
- [93] WU XZ, LI Z, LI XL, TIAN YM, FAN YZ, YU CH, ZHOU BL, LIU Y, XIANG R, YANG L. Synergistic effects of antimicrobial peptide DP7 combined with antibiotics against multidrug-resistant bacteria[J]. *Drug Design, Development and Therapy*, 2017, 11: 939-946.
- [94] KIM EY, RAJASEKARAN G, SHIN SY. LL-37-derived short antimicrobial peptide KR-12-a5 and its D-amino acid substituted analogs with cell selectivity, anti-biofilm activity, synergistic effect with conventional antibiotics, and anti-inflammatory activity[J]. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 2017, 136: 428-441.
- [95] DAI CS, WANG Y, SHARMA G, SHEN JZ, VELKOV T, XIAO XL. Polymyxins-curcumin combination antimicrobial therapy: safety implications and efficacy for infection treatment[J]. *Antioxidants*, 2020, 9(6): 506.