

抗菌肽药物的局限性及应对策略

康 玮¹, 王 磊¹, 荆宝琴¹, 张金晓¹, 熊思敏², 申秀萍^{1*}

1. 天津药物研究院新药评价有限公司, 天津市新药非临床评价技术工程中心, 天津 300301

2. 安徽医科大学药学院, 安徽 合肥 230032

摘要: 随着多重耐药的病原体数量持续增加, 寻找合适的抗生素替代药物的需求日趋迫切。抗菌肽作为微生物自身的防御武器, 尽管还存在毒性高、稳定性低和生产成本高等限制其开发成药物的问题需要解决, 但由于其具有广泛的抗菌谱、特殊的抗菌机制以及不容易产生耐药性还是受到广泛的关注。近年来, 通过计算机辅助药物设计、化学合成等方式来规避劣势, 开发抗菌肽药物, 有望成为新一类用于临床的新型抗生素, 并取代传统的抗生素成为新的抗感染治疗药物。

关键词: 抗菌肽; 耐药性; 稳定性; 毒性; 生产成本

中图分类号: R976 文献标志码: A 文章编号: 1674-6376 (2018) 10-1911-05

DOI: 10.7501/j.issn.1674-6376.2018.10.032

Limitations and coping strategies Strategy of Antimicrobial Peptide Drugs

KANG Wei¹, WANG Lei¹, JING baoqin¹, ZHANG Jinxiao¹, XIONG Simin², SHEN Xiuping¹

1. TIPR Drug Assessment Co. Ltd, Tianjin Engineering Research Center of drug preclinical assessment technology, Tianjin 300301, China

2. Anhui Medical University, Hefei 230032, China

Abstract: As the number of multi-drug resistant pathogens continues to increase, the need to find suitable replacements is becoming more urgent. Antimicrobial peptides, as a defensive weapon of microorganisms, have received extensive attention by their wide range of antibacterial spectrum, special antibacterial mechanisms, and insusceptible to drug resistance. However, they are still exist many defects, such as high toxicity, low stability, and high production cost, which limits their development into drugs. In recent years, people have used computer-aided drug design and chemical synthesis to avoid disadvantages and develop antimicrobial peptides. This article reviews the self-limiting condition and design methods of antimicrobial peptides.

Key words: antimicrobial peptides; drug resistance; stability; toxicity; production costs

抗生素类药物在抗感染方面有着卓越的贡献, 然而, 抗生素类药物的广泛使用乃至滥用, 导致了許多重要的人类病原菌已经表现出越来越强的耐药性, 迫切需要找到不易产生耐药的新型抗生素。抗菌肽是动植物体内的一种天然“防御武器”, 它有着广泛的抗菌谱和高效的抗微生物活性, 通过不同的作用机制, 对细菌、真菌、寄生虫和病毒等均有抑制和杀灭作用^[1-2]。除了直接作用于微生物外, 抗菌肽还可以在在一定程度上促进巨噬细胞、淋巴细胞等的增殖, 从而影响人体免疫系统^[3-4]。抗菌肽甚至可以通过刺激血管生成来中和革兰阴性菌产生的内

毒素^[5]。对传统抗生素耐药的微生物可以在抗菌肽的作用下快速和直接的被清除^[6]。天然抗菌肽在治疗病原微生物引起的感染方面有着诸多优势, 因此与之相关的研究也有着广阔的前景。

1 进入市场时可能面临的挑战

尽管抗菌肽在药物特性上表现出了抗菌谱广、抗菌活性强、杀菌效果快以及不易产生耐药等巨大的潜力, 然而真正应用到临床时, 抗菌肽类药物仍然面临着许多问题, 如天然抗菌肽在生理环境下的稳定性、可能存在的副作用。此外, 与其他小剂量化学药物相比, 抗菌肽显得生产成本过高。

收稿日期: 2018-04-11

基金项目: 国家科技重大新药创制项目(2015ZX09501004); 天津市科技计划项目(16PTGCCX00090)

第一作者: 康 玮(1991—), 女, 实习研究员, 硕士, 主要从事药理毒理学研究。

*通信作者: 申秀萍, 研究员。Tel: (022)84845260 Email: shenxp@tjpr.com

1.1 天然抗菌肽的稳定性问题

天然抗菌肽在生理环境下的稳定性,受人体内的蛋白酶、血清、各种盐类以及pH的变化等多种因素影响。抗菌肽主要通过正负电荷之间的静电特性发挥作用,因此其结构会受到药物溶液中离子浓度的影响^[7]。溶液中负离子可能中和抗菌肽自身的正电荷,而使其无法发挥正常的药效。抗菌肽的稳定性是临床应用中的常见问题。抗菌肽的半衰期较短这一问题多数由蛋白质水解引起。抗菌肽是线性结构的,因此很容易成为蛋白酶和肽酶的目标^[8]。而且,血清中的酶水解活性更强,这使得抗菌肽在经由血液输送的给药方式上面临巨大的困难^[9]。这也是为什么抗菌肽的临床应用都是局限在诸如由烧伤或糖尿病伤口引起的皮肤感染^[10],以及眼部和牙龈感染的治疗。因此,若要解决这些问题,急需找到能够让抗菌肽摆脱蛋白质水解的方法。

1.2 天然抗菌肽可能存在的副作用

细菌的细胞膜由于存在电负性的脂类物质而成为阳离子抗菌肽的目标,而人类的细胞膜结构则与细菌不同,因此通常情况下抗菌肽可以通过这一差异识别它们的目标^[11]。但是,一些研究已经发现,哺乳动物的细胞膜也有一定几率会成为抗菌肽的目标,也就是说抗菌肽可能会和宿主细胞膜结合而造成不良后果^[12]。另外,由于抗菌肽的广谱抗菌特性,人体内固有的有益菌群也可能被清除,造成体内有益菌群紊乱,产生严重的影响^[13]。因此,目前所有抗菌肽的临床试验都限于局部的体表感染,而非口服或肠外用等方面^[14]。人工合成的抗菌肽类药物有望通过改变理化特性来解决上述问题。

1.3 抗菌肽药物的生产成本问题

与其他小剂量化学药物相比,抗菌肽生产成本过高。众所周知,抗菌肽在生物体内含量极微。从天然生物资源中提取抗菌肽的工艺繁琐、费时长、费用昂贵且得率低,无法实现大规模生产^[15]。考虑到这些方面,抗菌肽的生产应当从昂贵繁琐的天然肽类提取,转变为更加廉价的化学合成和构建微生物表达系统批量化生产。

2 抗菌肽药物开发的应对策略

为了将抗菌肽开发成为新的抗生素,稳定性、毒性和成本的基本问题目前正有针对性的通过一些不同的策略来解决。例如,改变抗菌肽的理化性质、引入非天然氨基酸、乙酰化或酰胺化以及诸如

分子靶向抗菌肽、脂质体制剂和药物递送系统等现代技术。生产成本的问题也可以考虑由天然提取转向化学合成或工程菌发酵批量化生产。

2.1 提高稳定性

2.1.1 环化和末端修饰 与线性抗菌肽相比,将抗菌肽的C-末端和N-末端首尾相连形成环化肽,无论在提高抗菌活性还是提高血清稳定性方面,都是一种很好的方法^[16]。这是由于环化肽通过空间位阻减少了抗菌肽与蛋白酶接触的机会^[17]。研究表明,一种indolicidin类似物CP-11,其线性肽和环状肽的比较研究证明,首尾环化能够提高抗菌肽的稳定性并且抗蛋白酶降解^[18]。通过在N-端和C-端增加半胱氨酸残基,线性的CP-11的抗菌肽环化,形成更受约束的结构骨架。环肽CP-11的紧凑结构可在空间上保护其碱性残基免于成为人体内胰蛋白酶样蛋白酶的选择性靶点。

通过末端乙酰化或酰胺化对N-末端或C-末端分别进行修饰:N-末端乙酰化的多肽可以抵抗蛋白酶的水解^[19-20]。C-末端酰胺化通常可以提高抗菌肽的抗菌活性、降低抗菌肽的溶血活性,其原因主要是由于C-末端酰胺化可以中和掉1个负电荷并且维持抗菌肽的天然两亲性构象。来源于乳铁蛋白的六聚体抗菌肽能够通过N-末端乙酰化或C-末端酰胺化的方法抵抗外肽酶的降解^[21]。

2.1.2 氨基酸定点突变 替换掉对蛋白酶不稳定的氨基酸、引入非天然氨基酸或者改变抗菌肽的理化性质,也是提高抗菌肽对蛋白酶稳定性的方法^[22]。例如,引入D型氨基酸或非天然氨基酸:由于机体内的蛋白酶能够识别并降解富含天然L型氨基酸的抗菌肽,将天然的L型氨基酸替换为同分异构的D型氨基酸或者非天然氨基酸可以保护多肽免于被蛋白酶识别和降解。对于LL-37内部区段抗菌肽EFK17的研究,证明了抗菌肽D-异构化的有效性^[23]。调整抗菌肽两亲性平衡:一些抗菌肽的研究通常使用赖氨酸和亮氨酸,这是因为这两种氨基酸更倾向于形成 α -螺旋,在抗菌肽中通过改变两亲性的比例来影响螺旋程度,从而提高其稳定性。另一种研究证明,通过调整黄蜂蜂毒肽中酸性氨基酸和碱性氨基酸的数量,能够提高酶稳定性并提高抗菌活性^[24]。

阳离子抗菌肽的快速降解通常是由于其阳离子残基成分,如精氨酸残基和赖氨酸残基。Kim等^[25]认为,在精氨酸或赖氨酸的羧基端放置脯氨酸,可以保护抗菌肽不被胰蛋白酶降解,从而设计

出稳定性高的抗菌肽。另外,他们还用赖氨酸取代精氨酸,研究表明胰蛋白酶对精氨酸的亲合力要高于赖氨酸。Kang等^[26-27]将酶切位点上的赖氨酸突变为同样带有正电荷的鸟氨酸,从而降低螺旋结构的侧链空间位阻,并在一定程度上防止其水解,以达到提高稳定性的同时提高抗菌活性的目的。为了避免被胰蛋白酶降解,也可以引入 α -氨基-3-胍基丙酸,这种精氨酸的类似物来取代精氨酸。研究证明,这种非天然氨基酸的替换能够有效地减少胰蛋白酶对于富含精氨酸抗菌肽的酶切位点,提高酶稳定性^[28]。

2.2 降低毒性

抗菌肽的高疏水性与高溶血性呈正相关,调节抗菌肽的疏水性和电荷大小可以降低抗菌肽的毒性,并提高其对细菌的选择性^[29]。一些源于brevinin-1EMa的抗菌肽同系物,通过替换氨基酸来研究其疏水性对抗菌肽毒性的影响。其中一条同系物多肽在两亲性螺旋结构的疏水面,将亮氨酸替换为丙氨酸,降低了疏水性,表现出对人血细胞更低的溶血性和相比于母肽更高的抗菌效果^[30]。另一项研究,一系列mastoparan-X的同系物在1,8,14位点分别或全部将亮氨酸替换为丙氨酸,比较它们的溶血活性从而得出结论:降低N-端的疏水性比降低C-端的疏水性,对降低抗菌肽的毒性更有效^[31]。

同样,设计细菌选择性抗菌肽、特异靶点抗菌肽和环境敏感抗菌肽,都能降低抗菌肽的毒性^[32]。Adepantin 1是先筛选出天然、抗革兰阴性菌活性高的螺旋抗菌肽,而后综合考虑抗革兰阴性菌的抗菌肽的氨基酸偏好、最低抑菌浓度(MIC)、治疗指数等,设计出最符合要求的抗菌肽,表现出较母本更好的抗菌活性和细胞选择性^[33]。另一类特异靶向肽的例子是一种融合肽M8G2。一般来说,融合肽具有两个基团:一个基团用于选择性靶向细胞,另一个基团用于发挥杀菌作用。两个基团由一段很短的接头连接。靶向基团由物种特异性单克隆抗体或靶细菌特有的信息素组成,通过识别并与靶细菌表面结合来达到靶向的作用^[34]。抗菌肽M8G2与能够特异识别链球菌突变菌株的靶向基团缀合,因此能够选择性的从人类正常菌群中杀灭链球菌突变菌株。环境敏感抗菌肽能够利用病原体微生物诱导所引起的周围环境的变化。例如,链球菌突变菌株的高度聚集能够引起周围pH的降低。因此抗菌肽AAP2被设计成在酸性条件下可以被激活,在pH超过7.5时失去抗菌效果,这种抗菌肽在链球菌

突变菌株密集的环境下就可以发挥最大的抗菌效果^[35]。

目前,其他技术例如抗菌肽的多聚纳米胶囊和脂质体制剂都被应用于解决稳定性和毒性的问题。对抗菌肽P34的磷脂纳米胶囊研究表明,使用纳米颗粒例如纳米球和纳米胶囊包装抗菌肽能够同时提高抗菌肽的抗菌活性和稳定性^[36]。此外,indolicidin和多黏菌素E的例子表明,抗菌肽的脂质体制剂可以降低抗菌肽的毒性并提高血清中的半衰期从而维持原始药效^[37]。此外,聚乙二醇(PEG)化的抗菌肽和药物递送系统的应用也可以解决这些问题。例如,对抗菌肽M33的C末端3个赖氨酸位点进行PEG化,使其相对于母肽对铜绿假单胞菌弹性蛋白酶具有抗水解作用,从而提高生物稳定性^[38]。人血清白蛋白作为药物递送系统,也是一种能很好降低毒性的载体^[39]。

2.3 降低生产成本

最终的目标是批量生产出足够稳定的、活性好的抗菌肽药物,这个问题主要与抗菌肽的生产成本有关。人们现在已经开始尝试通过缩短肽链、化学合成来降低成本。Faccione等^[40]从头设计了一系列具有不同长度、不同理化性质的阳离子肽。研究中,他们尝试找到保持生物活性的最短抗菌肽,最终证明具有18个氨基酸的抗菌肽P5具有最好的抗菌活性和低溶血活性。Ma等^[41-42]利用数据库和计算机辅助分析出金环蛇毒肽BF-30的活性区域,从而设计出了14个氨基酸的抗菌肽Cbf-14,相比于30个氨基酸的母肽序列,大大降低了合成成本。Won等^[43]合成了抗菌肽Gaegurin 5最短的同系物且具有很好的抗菌活性。他们发现11个氨基酸的序列已经是发挥抗菌作用的最短序列,且4、8位点的色氨酸在抗菌活性中的作用至关重要。

采用化学合成方法合成的小分子多肽,在活化的过程中可能存在氨基酸消旋化的可能,有些分子中还含有较多修饰氨基酸残基(如二硫键等),给合成造成了困难且合成成本昂贵,故化学合成法仅适用于肽链短、结构简单的多肽。某些不能用化学合成方法合成的抗菌肽,也可以用新的生产方式来缩减成本,最常见的方法是构建微生物表达系统。例如,菌丝霉素可以使用真菌表达系统量化生产^[44]。陈蹇等^[45]通过Infusion技术成功构建了含有pPIC9K-CAMPs和pPICZ α A-CAMPs的重组质粒,并最终成功获得了GS-PKZ-CAMPs可诱导表达菌株。此外,还可以使用原核表达系统和病毒表达系

统来批量化生产抗菌肽。例如,刘晖等^[46]使用 Bacto-Bac 杆状病毒表达系统,成功获得了含家蝇抗菌肽 attacin 重组杆状病毒表达载体,以求提高抗菌肽产量。

3 总结与展望

如今,病原体对抗生素耐药性的持续增长已经开始引起全世界的重视,抗生素耐药已对全球各个国家的国民健康安全造成威胁。由于其新的抗菌机制,抗菌肽已经成为一类重要的新型抗生素,尽管抗菌肽在药物特性上表现出了巨大的潜力,如抗菌谱广、抗菌活性强、杀菌效果快以及不容易产生耐药的特点。然而真正应用到临床,抗菌肽类药物仍然面临着许多问题。(1)天然抗菌肽的物理稳定性以及在生理环境下的稳定性低,由人体内的蛋白酶、血清、各种盐类以及 pH 的变化等因素决定。(2)天然抗菌肽可能存在副作用。一些研究已经发现,哺乳动物的细胞膜有一定几率也会成为抗菌肽的目标,也就是说抗菌肽可能会和宿主细胞膜结合而造成不良后果。由于抗菌肽的广谱抗菌特性,人体内固有的有益菌群也可能被清除,而造成严重的影响。(3)与其他小剂量化学药物相比,传统的分离提纯天然抗菌肽显得生产成本过高。

为了将抗菌肽开发成为新的抗生素,稳定性、毒性和成本的基本问题目前正有针对性的通过一些不同的策略来解决。而且,最近的研究和临床试验也提供了很多的可行方案。(1)通过环化、PEG 修饰、非天然氨基酸取代、末端乙酰化或酰胺化修饰等方法提高稳定性。(2)降低抗菌肽的毒性,通过调节抗菌肽的疏水性和电荷大小、设计靶向抗菌肽、制备抗菌肽的多聚纳米胶囊和脂质体制剂等手段。(3)化学合成出足够稳定的、肽链更短的抗菌肽,构建微生物表达系统、融合表达系统,降低生产成本。

有理由相信,抗菌肽具有很好的发展前景,有望成为新一类用于临床应用的新型抗生素,取代传统的抗生素成为新的抗感染治疗药物。

参考文献

- [1] 李冠楠,夏雪娟,隆耀航,等. 抗菌肽的研究进展及其应用 [J]. 动物营养学报, 2014, 26(1): 17-25.
- [2] Andreu D, Rivas L. Animal antimicrobial peptides: an overview [J]. Biopolymers, 1998, 47(6): 415-433.
- [3] Ganz T. The role of antimicrobial peptides in innate immunity [J]. Integr Comp Biol, 2003, 43(2): 300-304.
- [4] 刘纯钢,袁艳梅. 胸腺肽 $\alpha 1$ 联合抗结核药物治疗肺结核合并糖尿病患者的疗效观察 [J]. 临床肺科杂志, 2014, 19(3): 560-561.
- [5] Kai-Larsen Y, Agerberth B. The role of the multifunctional peptide LL-37 in host defense [J]. Front Biosci, 2008, 13: 3760-3767.
- [6] Zasloff M. Antimicrobial peptides of multicellular organisms [J]. Nature, 2002, 415(6870): 389-395.
- [7] Matsuzaki K, Sugishita K, Fujii N, et al. Molecular basis for membrane selectivity of an antimicrobial peptide, magainin 2 [J]. Biochemistry, 1995, 34(10): 3423-3429.
- [8] Ganz T. Defensins and host defense [J]. Science, 1999, 286(5439): 420-421.
- [9] Chan D I, Prenner E J, Vogel H J. Tryptophan - and arginine-rich antimicrobial peptides: structures and mechanisms of action [J]. Biochim Biophys Acta, 2006, 1758(9): 1184-1202.
- [10] 高磊,尹叶锋,王寿宇,等. 纯化蛔虫分泌物抗菌肽对糖尿病大鼠溃疡创面的抗菌作用 [J]. 中国组织工程研究, 2012, 16(24): 4437-4440.
- [11] Dawson R M, Liu C Q. Properties and applications of antimicrobial peptides in biodefense against biological warfare threat agents [J]. Crit Rev Microbiol, 2008, 34(2): 89-107.
- [12] Zheng R, Yao B, Yu H, et al. Novel family of antimicrobial peptides from the skin of *Rana shuchinae* [J]. Peptides, 2010, 31(9): 1674-1677.
- [13] Dathe M, Wieprecht T. Structural features of helical antimicrobial peptides: their potential to modulate activity on model membranes and biological cells [J]. Biochim Biophys Acta, 1999, 1462(1-2): 71-87.
- [14] 许垚,马帅,丁峰. 抗菌肽在脓毒症治疗中的应用进展 [J]. 上海交通大学学报(医学版), 2017, 37(8): 1161-1164.
- [15] 祁丽,姜宁,张爱忠,等. 抗菌肽研发现状及其改造策略 [J]. 中国畜牧兽医, 2016, 43(2): 450-456.
- [16] Oyston P C, Fox M A, Richards S J, et al. Novel peptide therapeutics for treatment of infections [J]. J Med Microbiol, 2009, 58(Pt 8): 977-987.
- [17] Pakkala M, Hekim C, Soininen P, et al. Activity and stability of human kallikrein-2-specific linear and cyclic peptide inhibitors [J]. J Pept Sci, 2007, 13(5): 348-353.
- [18] Rozek A, Powers J P, Friedrich C L, et al. Structure-based design of an indolicidin peptide analogue with increased protease stability [J]. Biochemistry, 2003, 42(48): 14130-14138.
- [19] Nguyen L T, Schibli D J, Vogel H J. Structural studies and model membrane interactions of two peptides derived from bovine lactoferricin [J]. J Pept Sci, 2005, 11(7): 379-389.

- [20] Nguyen L T, Chau J K, Perry N A, et al. Serum stabilities of short tryptophan - and arginine-rich antimicrobial peptide analogs [J]. PLoS One, 2010, 5(9), pii: e12684..
- [21] Kang S J, Won H S, Choi W S, et al. De novo generation of antimicrobial LK peptides with a single tryptophan at the critical amphipathic interface [J]. J Pept Sci, 2009, 15 (9): 583-588.
- [22] Zhang L, Falla T J. Antimicrobial peptides: therapeutic potential [J]. Expert Opin Pharmacother, 2006, 7(6): 653-663.
- [23] Stromstedt A A, Pasupuleti M, Schmidtchen A, et al. Evaluation of strategies for improving proteolytic resistance of antimicrobial peptides by using variants of EFK17, an internal segment of LL-37 [J]. Antimicrob Agents Chemother, 2009, 53(2): 593-602.
- [24] Leite N B, Da C L, Dos S A D, et al. The effect of acidic residues and amphipathicity on the lytic activities of mastoparan peptides studied by fluorescence and CD spectroscopy [J]. Amino Acids, 2011, 40(1): 91-100.
- [25] Kim H, Jang J H, Kim S C, et al. De novo generation of short antimicrobial peptides with enhanced stability and cell specificity [J]. J Antimicrob Chemother, 2014, 69(1): 121-132.
- [26] Wei Kang, Hanhan Liu, Lingman Ma, et al. Effective antimicrobial activity of a peptide mutant Cbf-14-2 against penicillin-resistant bacteria based on its unnatural amino acids [J]. Eur J Pharm Sci, 2017(105): 169-177.
- [27] 周长林, 刘含含, 魏杉杉, 等. 抗耐药性感染多肽 Cbf142 及其用途 [P]. 中国专利: CN201611120800.2, 2017-03-29.
- [28] Knappe D, Henklein P, Hoffmann R, et al. Easy strategy to protect antimicrobial peptides from fast degradation in serum [J]. Antimicrob Agents Chemother, 2010, 54(9): 4003-4005.
- [29] Chou H T, Kuo T Y, Chiang J C, et al. Design and synthesis of cationic antimicrobial peptides with improved activity and selectivity against *Vibrio spp* [J]. Int J Antimicrob Agents, 2008, 32(2): 130-138.
- [30] Won H S, Kang S J, Choi W S, et al. Activity optimization of an undecapeptide analogue derived from a frog-skin antimicrobial peptide [J]. Mol Cells, 2011, 31(1): 49-54.
- [31] Henriksen J R, Etzerodt T, Gjetting T, et al. Side chain hydrophobicity modulates therapeutic activity and membrane selectivity of antimicrobial peptide mastoparan-X [J]. PLoS One, 2014, 9(3): e91007.
- [32] Aoki W, Ueda M. Characterization of Antimicrobial Peptides toward the Development of Novel Antibiotics [J]. Pharmaceuticals (Basel), 2013, 6(8): 1055-1081.
- [33] Juretic D, Vukicevic D, Ilic N, et al. Computational design of highly selective antimicrobial peptides [J]. J Chem Inf Model, 2009, 49(12): 2873-2882.
- [34] 车春晓, 姜科宇, 马媛媛, 等. 针对变异链球菌的人源特异性靶向抗菌肽 C16LL-37 的生物学特性 [J]. 华西口腔医学杂志, 34(3): 295-301.
- [35] Tsuboi R, Matsuda K, Ko I J, et al. Correlation between culture medium pH, extracellular proteinase activity, and cell growth of *Candida albicans* in insoluble stratum corneum-supplemented media [J]. Arch Dermatol Res, 1989, 281(5): 342-345.
- [36] Brandelli A. Nanostructures as promising tools for delivery of antimicrobial peptides [J]. Mini Rev Med Chem, 2012, 12(8): 731-741.
- [37] Yount N Y, Yeaman M R. Emerging themes and therapeutic prospects for anti-infective peptides [J]. Annu Rev Pharmacol Toxicol, 2012, 52: 337-360.
- [38] Falciani C, Lozzi L, Scali S, et al. Site-specific pegylation of an antimicrobial peptide increases resistance to *Pseudomonas aeruginosa* elastase [J]. Amino Acids, 2014, 46(5): 1403-1407.
- [39] Falciani C, Lozzi L, Scali S, et al. Site-specific pegylation of an antimicrobial peptide increases resistance to *Pseudomonas aeruginosa* elastase [J]. Amino Acids, 2014, 46(5): 1403-1407.
- [40] Faccione D, Veliz O, Corso A, et al. Antimicrobial activity of de novo designed cationic peptides against multi-resistant clinical isolates [J]. Eur J Med Chem, 2014, 71: 31-35.
- [41] Ma L, Wang Y, Wang M, et al. Effective antimicrobial activity of Cbf-14, derived from a cathelin-like domain, against penicillin-resistant bacteria [J]. Biomaterials, 2016 (87): 32-45.
- [42] 周长林, 贾源宾, 田玉伟, 等. 抗耐药性细菌感染多肽 Cbf-14 及其用途 [P]. 中国专利: CN201410175880.6, 2014-07-16.
- [43] Won H S, Seo M D, Jung S J, et al. Structural determinants for the membrane interaction of novel bioactive undecapeptides derived from gaegurin 5 [J]. J Med Chem, 2006, 49(16): 4886-4895.
- [44] Mygind P H, Fischer R L, Schnorr K M, et al. Plectasin is a peptide antibiotic with therapeutic potential from a saprophytic fungus [J]. Nature, 2005, 437(7061): 975-980.
- [45] 陈骞, 万小平, 肖永乐, 等. 猪融合抗菌肽基因双质粒共转化重组毕赤酵母菌的构建 [J]. 四川畜牧兽医, 2016 (12): 28-31.
- [46] 刘晖, 王鑫, 蔡辉霞, 等. 抗菌肽 attacin 重组杆状病毒表达载体构建 [J]. 中国公共卫生, 2013, 12(29): 1871-1872.